

慢性心力衰竭不同心功能阶段患者血浆脂肪因子 Apelin12、Apelin13 的表达研究

唐关敏 汪世军 胡惠林 朱良枫 陈浩 王华伟 徐文博 祝玉娟 王志勇
金丹丹 丁韧烨

【摘要】 目的 研究未经系统治疗、不同心功能阶段的慢性心力衰竭(CHF)患者血浆脂肪因子 Apelin12 和 Apelin13 的水平,探索 Apelin 在不同心功能状态下的表达差异及相关临床意义和机制。方法 选取未经系统治疗、不同心功能阶段的 CHF 患者 186 例,分为心衰早期组 86 例(NYHA 心功能分级 I~II 级)、心衰晚期组 100 例(NYHA 心功能分级 III~IV 级);另选健康体检人员 30 例作对照组。CHF 组在治疗前、对照组在体检时抽取空腹外周血,用酶联免疫吸附试验法(ELISA)测定外周血浆 Apelin12 和 Apelin13 水平,常规方法测定血脂水平,放射免疫法测定血浆 NT-proBNP,心脏彩色多普勒超声测定 LVIDd 及 EF,对检测结果进行统计学检验及相关性分析。结果 CHF 患者 Apelin12、Apelin13 总体平均值和对照组比较无统计学差异($P>0.05$),但心衰早期组分别高于对照组($P<0.05$)和心衰晚期组($P<0.01$),心衰晚期组低于对照组($P<0.05$),晚期心衰组随心功能的下降 Apelin 表达水平呈明显下降;多因素回归分析提示不同心功能阶段 CHF 患者 Apelin12、Apelin13 表达与 EF 呈正相关($P<0.05$),而与 LVIDd、NT-proBNP 呈负相关($P<0.05$),与年龄、血脂水平无明显相关性。结论 不同心功能阶段且未经治疗的 CHF 患者血浆 Apelin12、Apelin13 水平有明显差异,心衰早期 Apelin 明显升高,心衰晚期则明显下降并且低于对照组,在早、晚期心力衰竭患者中 Apelin 表达的差异可能是适应心脏功能改变的结果;检测血浆 Apelin12、Apelin13 水平可作为一种观察 CHF 心功能状况和预后的辅助指标。

【关键词】 心力衰竭; NYHA 分级; Apelin12; Apelin13

Study of plasma levels of adipokines Apelin12 and Apelin13 in the patient with chronic heart failure classified by NYHA grading TANG Guan-min, WANG Shi-jun, HU Hui-lin, ZHU Liang-feng, CHEN Hao, WANG Hua-wei, XU Wen-bo, ZHU Yu-juan, WANG Zhi-yong, JIN Dan-dan, DING Ren-ye. Department of Cardiology, Jiaxing First Hospital, Jiaxing 314000, China

Corresponding author: TANG Guan-min, Email: ssdgchina@126.com

【Abstract】 Objective Determining plasma levels of Apelin 12 and Apelin 13 in NYHA class I-IV CHF patients without medical treatment, to study the difference of Apelin in vary cardiac function and the possible mechanism and clinical signification. **Methods** 186 CHF patients (86 in CHF early stage NYAH I - II, 100 in CHF end stage NYAH III-VI) without hospital medical treatment and 30 normal controls were studied. Plasma Apelin12 and Apelin13 levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), plasma lipid, NT-proBNP, EF and LVIDd were measured by radioimmunoassay and echocardiography respectively. Statistic analysis was used to determine the significances of differences and correlations. **Results** There was not significant statistical difference in Apelin12 and Apelin13 average level between CHF group and control group($P>0.05$), however, Apelin12 and Apelin13 were significantly higher in CHF early stage group comparing to those in control group($P<0.05$), and in end stage group ($P<0.01$). In addition, lower Apelin12 and Apelin13 were found in end stage group comparing to that in normal control ($P<0.05$). Then Apelin12 and Apelin13 decreased with depressed cardiac function, and showing a positive correlation with EF ($P<0.05$), and a negative correlation in LVEDd ($P<0.05$), and a negative correlation in NT-proBNP($P<0.05$). There was not significant correlation was found between Apelins and age, gender as well as plasma lipid. **Conclusions** Plasma levels of Apelin12 and Apelin13 are significant differences in patient with untreated chronic heart failure classified by NYHA grading.

Apelin was increased in early-stage of CHF, and decreased in end-stage of CHF, indicating that these changes may depend on cardiac function. Plasma Apelin12, Apelin13 levels could be monitored as indicators for determining cardiac function in CHF patients.

【Key words】 Heart failure; NYHA classification; Apelin12; Apelin13

Apelin 是 1998 年日本学者 Tatemoto 等^[1]首先从牛胃分泌物中提取并纯化的孤儿 G 蛋白耦联受体 APJ (angiotensin II protein J) 的内源性配体, 2005 年被确认为一种新的脂肪因子。Apelin 可发挥多种生物学效应, 对心血管功能、水盐平衡、下丘脑内分泌等具有重要的调节作用^[2-3]。Apelin 的表达异常与心力衰竭的发生、发展密切相关, 其作为一种新的血管活性物质可能参与心力衰竭的过程。本研究选取不同心功能阶段并且未经系统治疗的慢性心力衰竭 (CHF) 患者 186 例, 检测血浆 Apelin12、Apelin13 的表达水平, 初步探索其在 CHF 中的相关临床意义和机制。

资料与方法

1. 研究对象: 收集我院 2010 年 1 月至 2012 年 12 月在心内科住院, 既往未经系统治疗的 CHF 患者 186 例, 分为心衰早期组 86 例 (NYHA 心功能分级 I~II 级), 心衰晚期组 100 例 (NYHA 心功能分级 III~IV 级)。心衰早期组男 47 例, 女 39 例; 心衰晚期组男 60 例, 女 40 例。186 例 CHF 中扩张型心肌病 56 例、高血压性心脏病 68 例、冠心病 62 例。入选标准: 未经系统治疗的 CHF 患者。剔除标准: 有新近 3 个月内心肌梗死、慢性阻塞性肺疾病、严重肝肾功能异常、糖尿病以及恶性肿瘤者。同时选取 3 个月内未曾服用过任何药物的健康体检人员 30 例作为对照组, 其中男 18 例, 女 12 例。所有入选研究对象均签署知情同意书。

2. 检测指标及方法: (1) 均予以血液生化、心电图、胸片、心脏彩色多普勒以及血浆 N 末端脑钠肽原 (NT-proBNP) 检测。血清总胆固醇 (TC)、血清甘油三酯 (TG) 采用氧化酶法检测, 高密度脂蛋白 (HDL-C) 测定采用磷钨酸沉淀法, 低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测采用过氧化氢酶清除法, 均由日本 Olympus 全自动生化分析仪进行检测; 心脏彩色多普勒超声检查采用

飞利浦彩色多普勒超声诊断仪 IE-33, 探头频率 2.5 MHz 测量左室舒张末期内径 (LVIDd), 计算左室射血分数 (EF); 血浆 NT-proBNP 采用胶体金/双向侧流免疫法检测。(2) CHF 组在治疗前、对照组在体检时采集平卧空腹静脉血 4 ml, 注入含有 EDTA-Na₂ 抗凝剂试管中混匀, 24 h 内 4 °C 离心 10 min (转速 3000 r/min), 分离血浆, 样品立即置于 -40 °C 冰箱保存待测, 等收集一定量的标本后, 采用酶联免疫吸附试验法 (ELISA) 测定 Apelin12 和 Apelin13 水平, 具体操作严格按试剂盒说明书进行, 试剂盒由联欣科技有限公司提供。

3. 统计学处理: 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用方差分析, Pearson 及 Spearman's 相关分析; 计数资料比较采用 χ^2 检验。计算均采用 SPSS 13.0 统计软件完成。

结果

1. 研究对象一般资料结果: 见表 1。心衰早期组、晚期组和对照组年龄、血脂水平差异无统计学意义; CHF 组收缩压和舒张压高于对照组 ($P < 0.05$)。

2. CHF 不同心功能阶段和对照组 LVIDd、EF、Apelin12、Apelin13、NT-proBNP 检测结果: 见表 2。结果显示, 对照组 LVIDd、EF、NT-proBNP 和心衰早期组、晚期组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 心衰早期组和心衰晚期组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 血浆 Apelin12、Apelin13 水平在心衰早期组分别高于对照组 ($P < 0.05$) 和心衰晚期组 ($P < 0.01$), 心衰晚期组 Apelin12、Apelin13 水平低于对照组 ($P < 0.05$), 但 CHF 组 (心衰早期组+心衰晚期) Apelin12、Apelin13 总体平均值和对照组比较无统计学差异; 相关性分析提示, CHF 患者 Apelin12、Apelin13 水平与 EF 呈正相关 ($r = 0.252, P < 0.05$), 而与 LVIDd、NT-proBNP 呈负相关 ($r = -0.194, P < 0.05$)。

表 1 研究对象的一般资料 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 年龄(岁) | 收缩压(mm Hg) | 舒张压(mm Hg) | TC(mmol/L) | TG(mmol/L) | HDL-C(mmol/L) | LDL-C(mmol/L) |
|-------|-----|-------|------------|------------|------------|------------|---------------|---------------|
| 对照组 | 30 | 60±12 | 118±18 | 70±11 | 4.66±0.45 | 1.72±1.01 | 1.38±0.24 | 2.86±0.77 |
| 心衰早期组 | 86 | 62±13 | 132±14 | 88±13 | 4.98±0.62 | 1.76±1.38 | 1.40±0.20 | 3.02±0.09 |
| 心衰晚期组 | 100 | 64±11 | 138±20 | 86±13 | 4.68±0.52 | 1.90±0.90 | 1.30±0.16 | 2.96±0.07 |
| P 值 | | >0.05 | <0.05 | <0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |

表2 CHF不同心功能阶段LVIDd、EF、NT-proBNP、Apelin12、Apelin13检测结果($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | LVIDd(mm) | EF(%) | NT-proBNP(pg/ml) | Apelin12(ng/ml) | Apelin13(pg/ml) |
|-------|-----|-----------|-------|------------------|-------------------------|--------------------------|
| 对照组 | 30 | 43±6.0 | 60±13 | 78±20 | 3.42±0.46 | 29.78±6.02 |
| 心衰组 | 186 | 54±12 | 47±12 | 3772±252 | 3.43±0.42 | 31.05±4.16 |
| 心衰早期组 | 86 | 49±12 | 53±11 | 1648±109 | 4.58±0.40 ^{ab} | 41.87±4.75 ^{ab} |
| 心衰晚期组 | 100 | 59±11 | 41±14 | 5896±395 | 2.28±0.43 ^a | 20.23±3.57 ^a |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与心衰晚期组比较,^b $P < 0.01$

3. CHF不同心功能分级Apelin12、Apelin13的变化趋势:心功能I级时Apelin12、Apelin13即有上升,至心功能II级时上升至顶峰,但至心功能III级时Apelin12、Apelin13水平即开始明显下降,至心功能IV级时降至低谷,心功能III级是Apelin12、Apelin13水平下降的拐点,见图1,2。

讨 论

人Apelin基因位于染色体Xq25~26.3,分子量约12 876,包含了3个外显子和2个内含子,mRNA长度为3125 bp。Apelin前体蛋白的C末端富含碱性氨基酸,内含多个潜在的酶切位点,可生成多种长度的Apelin活性多肽片段,包括Apelin13、Apelin12、Apelin36等。人类Apelin主要存在于心脏、肾、肺的血管内皮细胞中,在心肌细胞、肺上皮细胞等同样也有表达^[4]。Apelin可发挥多种生物学效应,对心血管功能、水盐平衡、下丘脑内分泌等具有重要调节作用,Apelin的表达异常与心力衰竭的发生、发展密切相关。研究^[5-6]发现Apelin具有正性肌力作用,可降低左室前后负荷,增强心肌收缩力,且并不使心肌细胞肥大;Apelin可以扩张血管并参与血压的调控,在中枢和外周均可对心血管系统的调节发挥作用,且这种作用具有内皮依赖性。心力衰竭患者和动物模型输注外源性Apelin12和Apelin13可显著降低平均动脉压、外周血管阻力,能显著增加心输出量,减少心肌细胞凋亡改善心脏功能^[6-9]。近来,Apelin在心力衰竭中的作用已经被学者广泛关注。

据Foldes等^[10]的研究,血浆Apelin水平与心脏Apelin水平正相关,测定外周血Apelin水平能真实反映心脏水平的Apelin表达。本研究选取不同心功能阶段的慢性心力衰竭(CHF)住院患者186例及健康对照组30例,各组研究对象入选时既往均未曾服用过血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)及血管紧张素II受体拮抗剂(ARB)等药物,除外经药物治疗后可能对本研究结果导致的影响,以确保检测结果能真实反映CHF患者在不同病理生理阶段外周血Apelin表达的水平。本研究结果显示,心功能I级时Apelin12、Apelin13即有上升,至心功能II级时上升至顶峰,但至心功能III级时Apelin12、Apelin13水平即开始明显下降,至

心功能IV级时降至低谷,心功能III级是Apelin12、Apelin13水平开始下降的拐点。这一结果可能与Apelin的双向性有关,即在心力衰竭不同阶段,Apelin水平不同,处于NYHA分级低阶段的CHF患者Apelin水平升高,而在NYHA分级高级阶段Apelin水平则下降。根据Andersen等^[11]研究发现,使用左心室辅助设备(LVAD)治疗晚期CHF在心功能改善后,患者血浆Apelin水平也随之得到升高,表明Apelin水平可随心功能的改变而改变,进一步证实了Apelin在CHF中具有双向性的特点。Andersen等^[11]同时也发现Apelin水平对左室收缩功能下降的评估价值优于BNP,但BNP比Apelin预测心力衰竭严重性和病死率的价值更高。Chong等^[12]和Przewlocka等^[13]研究也发现,不论心力衰竭的病因如何,晚期心力衰竭患者的Apelin水平均显著下降,降低的水平与心脏的收缩/舒张功能障碍密切相关。国内庞慧等^[14]经研究认为,Apelin参与心室的病理改变,在高血压性心脏病心室重构发生、发展过程中起重要作用,是改善心功能异常的主要因素之一。结合国内外和本研究结果提示,Apelin和CHF心功能变化密切相关,CHF患者血浆Apelin水平能从一个侧面反映患者的心功能状态,心功能处于代偿期时Apelin水平呈上升趋势,心功能一旦发生失代偿时Apelin水平则急剧下降;但当心功能处于晚期经治疗得到改善时,Apelin水平也会随之升高;故可将CHF患者血浆Apelin水平作为一种观察CHF心功能状况和预后的辅助指标,对临床实践有一定的指导意义。但CHF患者Apelin12和Apelin13的总体水平与对照组比较差异无统计学意义,分析与早、晚期心衰患者血浆Apelin水平的变化与对照组比较存在明显正负落差有关。

Apelin在CHF不同阶段表达水平出现如此明显变化,可能和以下机制有关:在CHF中,随着疾病的发生、发展,心脏的结构发生重构,可逐渐发生心肌肥厚、心腔扩大以及射血功能的下降;在心衰早期,虽然心脏射血功能和心腔结构尚未明显发生改变,但心脏的前后负荷的增加可致心房、心室内压力增加,心脏由于张力增加而牵张,致心内膜内皮组织、血管内皮及心肌细胞合成及分泌Apelin增加,正如Ennis等^[15]的研究,心肌牵张可以显著增加Apelin的表达,从而

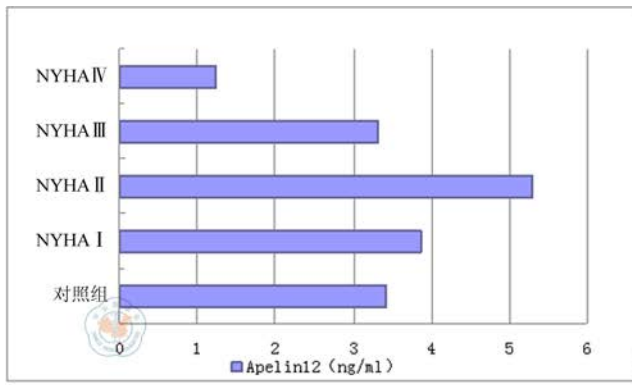


图1 不同心功能分级Apelin12浓度变化趋势

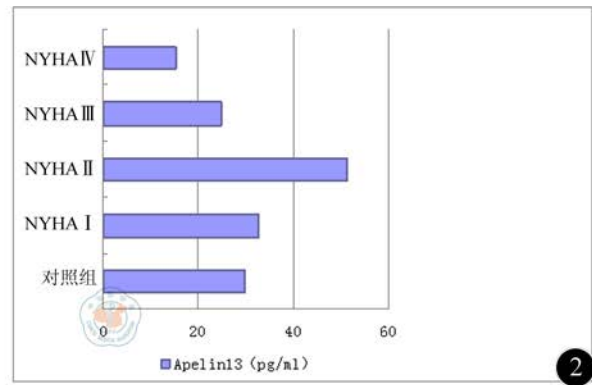


图2 不同心功能分级Apelin13浓度变化趋势

使血浆 Apelin 也显著升高; Apelin 水平的增加, 可以增加心肌收缩力, 抑制心肌细胞的肥大; 同时, Apelin 通过结合并活化邻近的 APJ 受体来激活血管内皮细胞的内皮型一氧化氮合酶, 刺激一氧化氮的产生和释放, 发挥一氧化氮强大的舒张血管作用, Apelin 这些有益的作用可能在一定程度上代偿心衰早期心功能的下降, 对受损的心脏功能起保护作用^[16]; 而在心衰晚期, 心腔明显扩大, 心功能已极度低下, 明显的肺淤血使 Apelin 在肺血管中高表达, 而进入体循环的 Apelin 则减少, 同时由于内皮功能严重破坏, 导致合成分泌 Apelin 明显减少以及 Apelin 受体水平的下调, Apelin 的心脏保护作用逐渐发生枯竭, 受损的心脏功能得不到有益的保护而失代偿, 使疾病进一步恶化, 以致发生心脏功能越低, Apelin 表达也越低的恶性循环; 在早晚期心力衰竭中 Apelin 及其受体表达的差异可能是适应心脏功能改变的结果^[17]。

由于本研究样本量小, 且是观察性研究, 针对 Apelin 在 CHF 患者中的合成、分泌的具体机制、影响因素以及其完整的生理作用仍需作更深入的研究探索。如运用基因组学手段, 发现与 Apelin 及其受体表达有关的变异位点, 探讨基因变异与心脏血管的结构与功能的关系, 可能有助于进一步认识这一新的生理、病理调节系统与 CHF 的关系, 并有可能找到 CHF 新的治疗和预防途径。

参 考 文 献

[1] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 251: 471-476.

[2] Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem*, 2000, 275: 21061-21067.

[3] Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, et al. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1538: 162-171.

[4] Kleinz MJ, Davenport AP. Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide Apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regul Pept*, 2004, 118: 119-125.

[5] Agiyama S, Fukuhara M, Matsumura K, et al. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul Pept*, 2005, 125: 55-59.

[6] Ashley EA, Powers J, Chen M, et al. The endogenous peptide apelin potentially improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res*, 2005, 65: 73-82.

[7] Japp AG, Cruden NL, Barnes G, et al. Acute cardiovascular effects of Apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 2010, 121: 1818-1827.

[8] Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al. Characterization of Apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*, 2000, 74: 34-41.

[9] 张志, 于波. Apelin 13 对急性缺血诱导的大鼠心肌细胞凋亡的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16: 693-696.

[10] Foldes G, Horkay F, Szokodi I, et al. Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 308: 480-485.

[11] Andersen CU, Hilberg O, Mellemejaer S, et al. Apelin and pulmonary hypertension. *Pulm Circ*, 2011, 1: 334-346.

[12] Chong KS, Gardner RS, Morton JJ, et al. Plasma concentrations of the novel peptide are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, 2006, 8: 355-360.

[13] Przewlocka-Kosmala M, Kotwica T, Mysiak A, et al. Reduced circulating apelin in essential hypertension and its association with cardiac dysfunction. *J Hypertens*, 2011, 29: 971-979.

[14] 庞慧, 张培影. 高血压性心脏病心室重构进展中的 apelin 含量变化 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 6: 64-67.

[15] Ennis IL, Garcarena CD, Perez NG. Endothelin isoforms and the response to myocardial stretch. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288: 2925-2930.

[16] Koguchi W, Kobayashi N, Takeshima H, et al. Cardioprotective effect of apelin-13 on cardiac performance and remodeling in end-stage heart failure. *Circ J*, 2012, 76: 137-144.

[17] Pitkin SL, Maguire JJ, Kuc RE, et al. Modulation of the Apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. *British Journal of Pharmacology*, 2010, 160: 1785-1795.

(收稿日期: 2013-07-25)

(本文编辑: 张岚)