

先天性心脏病心脏重构患者血清血管紧张素转化酶 2 水平研究

郭 玥, 吕 宁, 尹小龙

(昆明医科大学附属延安医院心内科, 云南 昆明 650051)

[摘要] **目的** 观察先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 伴心脏重构 (Cardiac remodeling) 患者血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 含量和活性的变化, 探讨它们与心脏重构的关系. **方法** 收集被确诊为先天性心脏病的患者 104 例, (其中无心脏重构组 80 例, 合并心脏重构组 24 例), 正常对照组 33 例. 抽取受试者静脉血, 应用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 ACE2 酶含量, 用比色法检测 ACE2 酶活性的水平, 所得实验数据使用 SPSS 统计软件进行分析. **结果** (1) 正常对照组、先天性心脏病无心脏重构组、先天性心脏病心脏重构组 ACE2 酶含量测定值分别为 (15.79 ± 5.03) U/L、 (18.85 ± 6.46) U/L、 (14.80 ± 4.58) U/L. 正常对照组与先天性心脏病无心脏重构组比较, ACE2 含量差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 正常对照组与先天性心脏病心脏重构组比较, ACE2 含量无差异 ($P > 0.05$); 先天性心脏病无心脏重构组与心脏重构组比较, ACE2 含量差异有统计学意义 ($P < 0.01$); (2) 正常对照组、先天性心脏病无心脏重构组、先天性心脏病心脏重构组 ACE2 酶活性测定值分别为 (1.75 ± 0.82) U/L、 (1.85 ± 0.62) U/L、 (1.58 ± 0.52) U/L, 3 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$). **结论** (1) 先天性心脏病无心脏重构患者血清中的 ACE2 酶含量显著升高; (2) 先天性心脏病无心脏重构患者与心脏重构患者血清中 ACE2 酶活性无变化.

[关键词] 心脏缺损; 先天性; 心脏重塑; 血管紧张素转化酶 2

[中图分类号] R541.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2013) 02 - 0071 - 04

The Serum Levels of Angiotensin-converting Enzyme2 in Patients of Congenital Heart Disease with Cardiac Remodeling

GUO Yue, LV Ning, YIN Xiao-long

(Dept. of Cardiology, The Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University,
Kunming Yunnan 650051, China)

[Abstract] **Objective** To observe the Angiotensin-converting enzyme2 (ACE2) protein contents and activity in the serum of patients with Congenital Heart Disease (CHD) combined with cardiac remodeling (CR), and investigate the correlation of those with cardiac remodeling. **Methods** 104 patients with Congenital Heart Disease and 33 normal control patients were collected. The patients with congenital heart disease were divided into 80 cases of non-cardiac remodeling group, and 24 cases of cardiac remodeling group. The serum levels of ACE2 protein were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), ACE2 activity was detected by colorimetric method. Statistical analysis was performed by using SPSS software. **Results** (1) The ACE2 protein contents in serum measured by enzyme-linked immunosorbent assay were (15.79 ± 5.03) U/L, (18.85 ± 6.46) U/L, (14.80 ± 4.58) U/L in normal control group, Congenital Heart Disease with non-cardiac remodeling group, Congenital Heart Disease with cardiac remodeling group. The levels of ACE2 protein showed significant difference between normal control group and Congenital Heart Disease with non-cardiac remodeling group ($P < 0.05$). The levels of ACE2 protein showed no significant difference between normal control group and Congenital Heart Disease with cardiac remodeling group ($P > 0.05$). The levels of ACE2 protein showed significant difference between

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目 (2012FB009)

[作者简介] 郭玥 (1981~), 女, 甘肃兰州市人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事心血管内科临床工作.

[通讯作者] 尹小龙. E-mail: yinxl001@gmail.com

Congenital Heart Disease with non-cardiac remodeling group and Congenital Heart Disease with cardiac remodeling group ($P < 0.01$). (2) The ACE2 activities in plasma measured by activity colorimetric were (1.75 ± 0.82) U/L, (1.85 ± 0.62) U/L, (1.58 ± 0.52) U/L in normal control group, Congenital Heart Disease with non-cardiac remodeling group, and Congenital Heart Disease with cardiac remodeling group. There were no significant differences among three groups ($P > 0.05$). **Conclusions** (1) ACE2 protein contents in the patients with Congenital Heart Disease combined with non-cardiac remodeling have significantly increased. (2) ACE2 activity has no differences in the patients with Congenital Heart Disease combined with non-cardiac remodeling and Congenital Heart Disease combined with cardiac remodeling.

[**Key words**] Heart defects; Congenital; Cardiac remodeling; Angiotensin-converting enzyme2

先天性心脏病是胚胎时期心脏血管发育异常所导致的心血管畸形, 是小儿最常见的心血管疾病, 先天性心脏病在不同地区及种族的发病率约为 6%~8%^[1,2], 先天性心脏病随年龄增长发生心脏重构使得病情逐渐恶化, 最终发生心力衰竭。

ACE2 是血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 的同源物。它存在于所有器官的细胞膜, 并以一种可溶的具活性的形式存在于血浆和尿液中^[3]。目前国内外对于 ACE2 的研究主要涉及冠心病、心力衰竭、高血压及原发性肺动脉高压患者血清 ACE2 水平的研究, 但对先天性心脏病合并心脏重构患者血清 ACE2 水平的研究较少。本实验采集先天性心脏病患者血, 检测 ACE2 酶含量及酶活性, 探讨 ACE2 与先天性心脏病心脏重构的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

为昆明市延安医院心血管内科 2011 年 4 月至 2011 年 8 月收治的先天性心脏病患者 104 例 (其中无心脏重构 80 例, 合并心脏重构 24 例); 正常对照组 33 例。纳入标准: 先天性心脏病单纯的房间隔缺损或室间隔缺损, 年龄 > 14 岁的患者; 排除合并冠心病、高血压、心脏瓣膜病、慢性阻塞性肺疾病、肺血栓栓塞、肺血管病变的患者, 合并严重肝肾功能不全、糖尿病、自身免疫性疾病、血液系统疾病、甲状腺疾病及 HIV 感染的患者。研究对象分为正常对照组 (A 组), 先天性心脏病无心脏重构组 (B 组) 和先天性心脏病心脏重构组 (C 组) 3 组。

1.2 方法

所有入选对象均于入院次日清晨空腹在无菌操作下, 抽取肘正中静脉血 4 mL 装入普通干管内, 血样放置 60~90 min 使其自然凝固, 然后离心 (3 000 r/min) 15 min, 吸取上层血清 2.5 mL 分装于 3 个 EP 管中, 置入 -80 °C 冰箱保存备用。

1.2.1 心脏彩色超声心动图检查 患者平卧位或左侧卧位, 常选取主动脉根部短轴切面、心尖四腔心切面、胸骨旁四腔心切面、剑突下四腔心切面及剑下双房切面。记录打印检查结果。

1.2.2 ELISA 法检测血清 ACE2 酶含量 本实验采用酶联免疫吸附法检测血清 ACE2 酶含量, 待测标本加入 (HRP) 检测抗体, 37 °C 恒温箱孵育 1 h, 洗涤缓冲液 500 mL 清洗反应孔, 静置 1 min, 弃去液体, 拍干。重复洗涤、拍干过程 5 次, 加入底物 A、B 液各 50 μ L, 37 °C 恒温箱孵育 15 min, 加入终止液 50 μ L, 15 min 内, 在 450 nm 波长处测定平均吸光度 OD 值, 将每份标准品的平均吸光度 (OD) 值及其对应浓度 (U/L) 在线性坐标纸绘制标准曲线 (X 轴为浓度, Y 轴为 OD 值), 得出公式, 根据每份样品平均 OD 值代入公式得出其相应的浓度 (U/L)。

1.2.3 比色法检测血清 ACE2 酶活性测定 本实验用比色法检测血清 ACE2 酶活性, 待测标本每孔中分别加入缓冲液 180 μ L, 底物液 50 μ L, 37 °C 恒温箱孵育 15 min, 第 1 孔加入阴性液 20 μ L, 其余孔各加入不同剂量的样本, 在 340 nm 波长处测定 OD 值, 0 min 和 30 min 各读数 1 次, 根据每份样品 OD 值代入公式:

$$\frac{(\text{样本读数} - \text{背景读数}) \times \text{样本稀释倍数} \times 0.25}{0.02 \times 0.758 \times 30 \times 0.6}$$

得出其相应的活性 (U/mL)。

1.3 统计学处理

实验数据应用 SPSS 统计软件进行分析。统计指标均进行正态性检验。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间均数比较, 如为正态分布且方差齐时采用方差分析, 两两比较时应用 SNK 检验 (q 检验); 两因素间的相关性研究应用简单线性相关 (pearson 积矩相关系数) 分析。统计结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况比较

本实验显示, 入选3组间年龄和性别比较均

无差异 ($P > 0.05$). 3组间血液生物化学检测指标比较均无差异 ($P > 0.05$). 在成人中, 先心病以房间隔缺损多见, 房间隔缺损与室间隔缺损的比例约为2:1, 见表1.

表1 3组间一般临床检测资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of the clinical data of patients among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

项 目	A 组	B 组	C 组
男/女 (例)	17/16	23/47	12/12
房缺/室缺 (例)	-	65/15	8/16
年龄 [$\bar{x} \pm s$], 岁]	41.39 \pm 12.64	34.64 \pm 16.72	33.90 \pm 17.02
肝功			
丙氨酸氨基转移酶 ALT (U/L)	28.6 \pm 7.69	29.9 \pm 5.93	34.7 \pm 8.32
天门冬氨酸氨基转移酶 AST (U/L)	29.9 \pm 6.93	31.5 \pm 6.47	30.2 \pm 7.01
肾功			
尿素氮 BUN (mmol/L)	5.51 \pm 0.58	6.03 \pm 0.16	5.98 \pm 0.38
肌酐 Cr (μ mol/L)	68 \pm 14	73 \pm 8	70 \pm 12
血脂			
总胆固醇 CHOL (mmol/L)	4.82 \pm 0.70	5.01 \pm 0.85	4.43 \pm 0.84
甘油三酯 TRIG (mmol/L)	1.12 \pm 0.15	0.98 \pm 0.79	1.07 \pm 0.46

2.2 ACE2 酶含量对心脏重构的影响

正常对照组、先心病无心脏重构组、先心病心脏重构组 ACE2 酶含量测定值分别为 (15.79 \pm 5.03) U/L、(18.85 \pm 6.46) U/L、(14.80 \pm 4.58) U/L. 正常对照组与先心病无心脏重构组比较, ACE2 酶含量有统计学意义 ($P < 0.05$); 正常对照组与先心病心脏重构组比较, ACE2 酶含量无统计学意义 ($P > 0.05$); 先心病无心脏重构组与心脏重构组比较, ACE2 酶含量有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表2.

表2 3组间 ACE2 酶含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of ACE2 protein contents of patients among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	ACE2 含量 (U/L)
正常对照组	33	15.79 \pm 5.03
无心脏重构组	80	18.85 \pm 6.46 ^{*$\Delta\Delta$}
心脏重构组	24	14.80 \pm 4.58

与正常对照组比较, * $P < 0.05$; 与心脏重构组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$.

2.3 ACE2 酶活性对心脏重构的影响

正常对照组、先心病无心脏重构组、先心病心脏重构组 ACE2 酶活性测定值分别为 (1.75 \pm 0.82)

U/L、(1.85 \pm 0.62) U/L、(1.58 \pm 0.52) U/L. 正常对照组与先心病无心脏重构组比较, ACE2 酶活性无统计学意义 ($P > 0.05$); 正常对照组与先心病心脏重构组比较, ACE2 酶活性无统计学意义 ($P > 0.05$); 先心病无心脏重构组与心脏重构组比较, ACE2 酶活性无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表3.

表3 3组间 ACE2 活性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of the activity of ACE2 among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	ACE2 活性 (U/L)
正常对照组	33	1.75 \pm 0.82
无心脏重构组	80	1.85 \pm 0.62
心脏重构组	24	1.58 \pm 0.52

3 讨论

3.1 先心病导致心脏重构的原因

先心病房间隔缺损引起左向右分流, 右心容量负荷过重, 肺血流量增加, 持续的肺血流量增加导致肺淤血, 肺血管顺应性下降, 从功能性肺动脉高压发展为器质性肺动脉高压, 右心系统压力随之增高, 右心肥厚和右心腔扩大.

室间隔缺损收缩期部分血流通过缺损处自左室分流至右室, 由于肺循环血流量增加, 一方面使回流至左心的血流量增多, 左心容量负荷增加, 引起左室重构; 另一方面使肺小动脉痉挛, 肺动脉压增高, 而右心室压力负荷增大时导致右心室肥厚^[4]。

3.2 ACE2 与先心病心脏重构的关系

先心病随年龄增长发生心脏重构使得病情逐渐恶化, 最终导致心力衰竭。引起心肌肥厚的因素如压力负荷、Ang II、正肾上腺素、甲状腺素等均能诱导原癌基因的表达, 对细胞生长分化也有促进作用。Ang II 在诱发心肌细胞肥大, 心脏成纤维细胞增生并促使心肌胶原的增加^[5]。

ACE2 水解血管紧张素 I 和血管紧张素 II, 生成 Ang (1~7), Ang (1~7) 具有扩血管, 抗增殖, 抗血小板凝集的生物学效应, 对抗 Ang II 的作用。有报道 ACE2 基因敲除的动物模型中, 出现心室扩大, 心肌肥厚, 心功能下降及心肌纤维化的表现^[6]。ACE2 高表达可以抑制大鼠在 Ang II 灌注、高血压、心肌梗塞等情况下出现的心肌肥厚、心肌细胞凋亡以及心肌纤维化^[7]。提示 ACE2 和 Ang (1~7) 具有防止心脏重构的作用。

本研究发现, 先心病心脏重构患者的 ACE2 酶含量较先心病无心脏重构患者显著降低, ACE2 酶活性有降低趋势但未达到统计学差异。表明 ACE2 可能在先心病患者心脏重构过程中起重要作用。ACE2 酶活性差异未达统计学差异可能与样本量小

有关。

[参考文献]

- [1] TURNER A J. Angiotensin-converting enzyme 2: cardio-protective player in the renin-angiotensin system [J]. *Hypertension*, 2008, 52(5): 816 - 817.
 - [2] BRILLA C G, ZHOU G, RUPP H, et al. Role of angiotensin II and prostaglandin E2 in regulating cardiac fibroblast collagen turnover [J]. *Am J Cardiol*, 1995, 76(13): 8 - 13.
 - [3] CRACKOWER M A, SARAO R, OUDIT G Y. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function [J]. *Nature*, 2002, 417(6891): 822 - 828.
 - [4] HUENTELMAN M J, GROBE J L, VAZQUEZ J, et al. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(5): 783 - 790.
 - [5] BRILLA C G, ZHOU G, RUPP H, et al. Role of angiotensin II and prostaglandin E2 in regulating cardiac fibroblast collagen turnover [J]. *Am J Cardiol*, 1995, 76(34): 8 - 13.
 - [6] CRACKOWER M A, SARAO R, OUDIT G Y. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function [J]. *Nature*, 2002, 417 (6891): 822 - 828.
 - [7] HUENTELMAN M J, GROBE J L, VAZQUEZ J, et al. Protection from angiotensin induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(5): 783 - 790
- (2012 - 12 - 08 收稿)