

冠心病患者血浆 Alarin 水平变化及其与冠状动脉病变严重程度的关系

戴红艳¹, 邢明青², 孙文娟¹, 王守东¹, 丁华民¹

(青岛市市立医院 1. 心内科, 2. 检验科, 山东省青岛市 266011)

[关键词] 冠心病; 急性心肌梗死; 稳定型心绞痛; Alarin; 冠状动脉狭窄

[摘要] **目的** 测定冠心病患者血浆 Alarin 水平, 研究其与冠状动脉狭窄程度及其他临床指标的相关性。**方法** 采用酶联免疫法测定 48 例急性心肌梗死患者、74 例稳定型心绞痛患者及 34 例正常对照者血浆 Alarin 水平, 分析三组间 Alarin 表达差异; 根据造影结果对冠状动脉狭窄程度进行 Gensini 评分, 分析 Alarin 与 Gensini 评分及其他临床指标的相关性。**结果** 急性心肌梗死组、稳定型心绞痛组血浆 Alarin 水平明显高于正常对照组 ($P < 0.05$), 急性心肌梗死组与稳定型心绞痛组之间差异无显著性 ($P > 0.05$)。冠心病患者血浆 Alarin 水平与 Gensini 评分、低密度脂蛋白水平明显正相关 ($P < 0.05$)。**结论** 血浆 Alarin 水平在冠心病急性心肌梗死患者及稳定型心绞痛患者中明显增高, 且其水平与冠状动脉狭窄程度及低密度脂蛋白水平呈正相关, 提示 Alarin 很可能参与了冠心病的发生发展, 是冠心病发病机制中的一个重要因子。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Change of Plasma Alarin Levels in Patients with Coronary Heart Disease and Its Relationship with the Severity of Coronary Artery Stenosis

DAI Hong-Yan¹, XING Ming-Qing², SUN Wen-Juan¹, WANG Shou-Dong¹, and DING Hua-Min¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Clinical Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao, Shandong 266011, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Acute Myocardial Infarction; Stable Angina Pectoris; Alarin; Coronary Artery Stenosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the change of plasma alarin levels in patients with coronary heart disease (CHD) and its relationship with the severity of coronary artery stenosis. **Methods** Plasma alarin levels were measured in 48 patients with acute myocardial infarction (AMI), 74 patients with stable angina pectoris (SAP) and 34 controls. Coronary artery stenosis was evaluated by coronary angiography and characterized by Gensini scores. **Results** Plasma alarin levels were significantly higher in AMI patients and SAP patients compared with controls ($P < 0.05$) and there was no significant difference between AMI group and SAP group ($P > 0.05$). In patients with CHD, plasma levels of alarin were positively correlated with Gensini scores and low-density lipoprotein cholesterol (LDLC) levels ($P < 0.05$). **Conclusions** Plasma alarin levels were elevated in CHD patients and positively correlated with coronary stenosis and LDLC levels. Alarin may play an important role in the pathogenesis of CHD.

Alarin 是 Galarin 神经多肽家族的最新成员, 含 25 个氨基酸多肽, 其得名源于 C 端残基丙氨酸 (alamin) 及 N 端残基丝氨酸 (serine)^[1]。多项动物实验均证实大鼠脑室内注射 Alarin, 均可促进大鼠进食

从而引起体重增加^[2,3], 证实其为最新发现的饮食促进因子。但关于 Alarin 的病理调节作用及与临床疾病的相关性, 目前未见相关研究。既往研究证实, 饮食调节因子与冠心病 (coronary heart disease,

[收稿日期] 2013-09-26

[基金项目] 青岛市民生计划项目 (13-1-3-20-nsh)

[作者简介] 戴红艳, 博士, 主要从事冠心病与心衰的基础和临床研究, E-mail 为 daihy9@163.com。邢明青, 博士, 主要从事医学检验, E-mail 为 turbot2008@163.com。通讯作者丁华民, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病、心脏微创检查的基础和临床研究, E-mail 为 dinghuamin@163.com。

CHD)的发生发展关系密切。例如,具有食欲抑制作用的瘦素(leptin),能够通过促进内皮细胞功能障碍、刺激炎症反应、氧化应激、血小板聚集等作用促进动脉粥样硬化进展^[4]。Kadoglou 等^[5]研究证实,CHD 患者 Apelin、Ghrelin 水平明显低于对照组,且 Apelin 与冠状动脉积分独立负相关,而此三种因子均为能调节摄食和能量代谢的生物活性多肽。此外,我们最新研究证实,一种新的饮食抑制因子 Nesfatin-1 在急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)患者血浆中表达明显降低,且与冠状动脉积分负相关^[6]。Alarin 作为新发现的饮食促进因子,是否与 CHD 发病相关,目前未见相关研究。

1 对象和方法

1.1 研究对象

入选于 2012 年 3 月至 12 月期间入住青岛市市立医院心内科并行冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)患者共 156 例,其中 AMI 48 例,稳定型心绞痛(stable angina pectoris, SAP)74 例,临床怀疑 CHD、并具有 CHD 多重危险因素但 CAG 阴性患者 34 例作为对照组。排除标准包括:年龄大于 80 岁或小于 40 岁、先天性心脏病、入选前 1 月内做过外科手术或创伤患者、恶性肿瘤者、心力衰竭、急性或慢性炎症性疾病、精神疾病、神经源性疾病、消化系统疾病、肾功能不全或肝功能异常。

所有入选者记录年龄、性别、身高、体重、病史、吸烟史及直系亲属家族史。体质指数(body mass index, BMI)根据以下公式计算: $BMI = \text{体重}(\text{kg}) / \text{身高}(\text{m})^2$ 。吸烟患者记录吸烟年数及每日吸烟支数,并计算出吸烟指数(每日吸烟支数 \times 吸烟年数)。所有患者测量收缩压(systolic blood pressure, SBP)及舒张压(diastolic blood pressure, DBP), SBP ≥ 140 mmHg 和/或 DBP ≥ 90 mmHg 者及正在进行降压治疗者归为高血压患者。AMI 及 SAP 患者均接受包括阿司匹林、血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)或血管紧张素 II 受体拮抗剂(angiotensin II receptor blocker, ARB)、硝酸酯类、肝素类、 β 受体阻断剂及他汀类药物治疗。

1.2 血样收集

所有入选患者于 CAG 前清晨空腹采集静脉血,留取血清或血浆。用于测定 Alarin 的血样抽取后置入预混有乙二胺四乙酸和抑肽酶的试管。血清或血浆分离后保存于 -80°C 冰箱。

1.3 实验室检测

血浆 Alarin 测定采用酶联免疫法,试剂盒购于美国 Phoenix Pharmaceuticals 公司,测量范围为 $0.08 \sim 0.78 \mu\text{g/L}$ 。空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)及血常规采用常规实验室检测方法测定。高敏 C 反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)测定采用比浊法。胰岛素测定采用电化学发光法。胰岛素抵抗(homeostasis model of assessment-insulin resistance index, HOMA-IR)采用以下公式计算: $\text{FBG}(\text{mmol/L}) \times \text{空腹胰岛素}(\text{IU/mL}) / 22.5$ 。

1.4 冠状动脉造影及 Gensini 评分

所有患者均采用标准方法行 CAG。冠状动脉狭窄严重程度采用 Gensini 评分系统行定量评定^[7]:无狭窄记 0 分,1%~25%记 1 分,26%~50%记 2 分,51%~75%记 4 分,76%~90%记 8 分,91%~99%记 16 分,完全闭塞记 32 分。不同节段冠状动脉按以上得分乘以相应系数:左主干病变得分 $\times 5$;左前降支病变:近段 $\times 2.5$ 、中段 $\times 1.5$;对角支病变:D1 段 $\times 1$ 、D2 段 $\times 0.5$;左回旋支病变:近段 $\times 2.5$ 、中远段 $\times 1$ 、后降支 $\times 1$ 、后侧支 $\times 0.5$;右冠状动脉病变近、中、远段和后降支均 $\times 1$;即得出该处病变的积分。如患者有多处病变,则各病变处的积分累计总和为该患者冠状动脉病变狭窄程度的总积分。

1.5 统计学分析

所有数据应用 IBM SPSS 20.0 统计软件包进行处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以百分数表示。多组样本计量资料比较采用单因素方差分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基线资料

三组患者在年龄、性别、BMI、DBP、TG、HDL、胰岛素、HOMA-IR、吸烟指数、家族史、高血压史及糖尿病史方面差异均无显著性($P > 0.05$)。与 SAP 组或对照组比较,AMI 组 SBP 较低,同时 FBG、LDL、WBC、中性粒细胞比例、hs-CRP、Gensini 积分明显升高($P < 0.05$;表 1)。

表 1. 三组患者临床基线资料

Table 1. Demographic characteristic of patients in three groups

项 目	对照组 ($n=34$)	SAP 组 ($n=74$)	AMI 组 ($n=48$)
年龄(岁)	60.8 ± 10.7	62.1 ± 9.3	63.8 ± 11.2
男性(例)	24(71%)	54(73%)	36(75%)
BMI(kg/m^2)	27.8 ± 3.7	26.2 ± 3.8	27.9 ± 6.0
SBP(mmHg)	134.7 ± 19.5	139.9 ± 22.0	124.6 ± 22.0 ^b
DBP(mmHg)	78.8 ± 9.9	79.8 ± 9.2	76.9 ± 11.7
FBG(mmol/L)	6.2 ± 1.6	5.4 ± 1.4 ^a	7.4 ± 3.1 ^b
TG(mmol/L)	1.4 ± 0.6	3.1 ± 8.2	2.2 ± 1.4
TC(mmol/L)	4.5 ± 1.2	4.6 ± 2.3	4.9 ± 1.5 ^b
LDL(mmol/L)	2.49 ± 0.7	2.38 ± 1.1	2.86 ± 0.6 ^b
HDL(mmol/L)	1.23 ± 0.2	1.22 ± 0.3	1.24 ± 0.3
WBC($\times 10^9/\text{L}$)	6.6 ± 1.0	6.7 ± 1.6	8.8 ± 2.9 ^{ab}
中性粒细胞比例	51.5% ± 9.0%	56.6% ± 14.1%	65.0% ± 15.1% ^{ab}
hs-CRP(mg/L)	1.9 ± 0.6	2.4 ± 2.2	21.2 ± 30.1 ^{ab}
胰岛素(IU/mL)	9.3 ± 6.5	11.8 ± 18.1	15.3 ± 29.9
HOMA-IR	2.6 ± 1.8	3.1 ± 5.4	4.4 ± 7.4
吸烟指数	256.3 ± 314.2	241.2 ± 311.7	329.2 ± 371.0
Gensini 评分	0.0 ± 0.0	12.9 ± 11.4	15.7 ± 9.9 ^{ab}
家族史(例)	10(29%)	21(28%)	14(29%)
高血压(例)	24(71%)	54(73%)	28(58%)
糖尿病(例)	14(41%)	24(32%)	10(21%)

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 SAP 组比较。

2.2 空腹血浆 Alarin 水平

AMI 组、SAP 组血浆 Alarin 水平明显高于对照组, 但 AMI 组与 SAP 组之间比较血浆 Alarin 水平无统计学差异(表 2)。

表 2. 三组患者血浆 Alarin 水平比较

Table 2. Comparison of plasma alarin levels in patients in three groups

分 组	n	Alarin 水平($\mu\text{g}/\text{L}$)
对照组	34	0.285 ± 0.115
SAP 组	74	0.329 ± 0.114 ^a
AMI 组	48	0.347 ± 0.086 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.3 血浆 Alarin 水平与其他参数间的相关性

鉴于 AMI 组与 SAP 组血浆 Alarin 水平差异无显著性, 将两组统一归为 CHD 组, 并分析 CHD 组血浆 Alarin 水平与其他参数间的相关性, 发现 Alarin 与 LDL 水平及冠状动脉 Gensini 评分明显正相关(图

1)。此外 Alarin 与其他参数均无相关性(表 3)。

表 3. 冠心病患者血浆 Alarin 水平与其他参数的相关性

Table 3. The relationship of plasma alarin levels and other clinical parameters in patients with CHD

项 目	相关系数	P
年龄	-0.089	0.330
BMI	0.074	0.418
SBP	0.062	0.498
DBP	-0.089	0.330
FBG	-0.003	0.975
TG	0.043	0.641
TC	0.158	0.082
HDL	-0.046	0.618
WBC	-0.002	0.982
中性粒细胞比例	0.013	0.886
hs-CRP	-0.062	0.496
胰岛素	0.149	0.101
HOMA-IR	0.082	0.371
吸烟指数	0.003	0.975

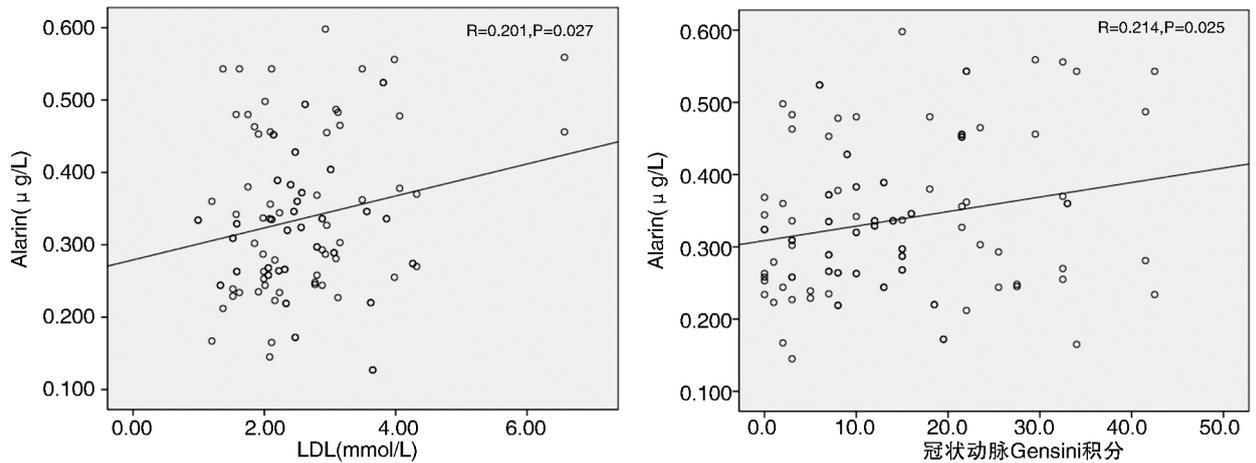


图 1. 冠心病患者血浆 Alarin 水平与 LDL 水平及冠状动脉 Gensini 评分的相关性

Figure 1. The relationship of plasma alarin levels with LDL levels and Gensini scores in patients with CHD

3 讨论

随着生活条件的改善、社会老龄化的进展,CHD 的发病率、死亡率逐年增加,已成为严重威胁人类健康的重要疾病。但其发病机制复杂,涉及多途径,人类目前尚未完全阐明其发病机制。近期,饮食调控因子在 CHD 发病中所发挥的作用已成为研究热点之一,此方面研究较多的包括瘦素、Ghrelin 等。瘦素是肥胖基因编码的一种蛋白质产物,通过与其受体结合发挥抑制食欲、减少能量摄入、增加能量消耗的作用^[8]。血清瘦素的浓度与多种 CHD 危险因素相关,如肥胖、胰岛素抵抗、高胰岛素血症、高 TG、低 HDL、高 LDL、代谢综合征、高血压等。此外,瘦素还能够通过促进内皮细胞功能障碍、刺激炎症反应、氧化应激、血小板聚集等作用促进动脉粥样硬化进展^[4,9]。Ghrelin 于 1999 年由日本学者 Kojima 在大鼠胃黏膜中分离纯化得到^[10],含 28 个氨基酸残基,通过与其受体生长激素促分泌物受体 (growth hormone secretagogue-receptor, GHS-R) 相结合而发挥多种生物学作用。最初的研究发现, Ghrelin 具有促进生长激素分泌^[11]及调节能量代谢的作用^[12],但随着研究的深入,发现其亦具有心血管系统的保护作用^[13,14],在抗动脉粥样硬化上可能具有重要意义。Nesfatin-1 为一新发现饮食抑制因子^[15],我们的近期研究发现急性心肌梗死患者血浆 Nesfatin-1 水平明显降低,且与冠状动脉积分、hs-CRP、中性粒细胞比例明显负相关^[16]。

Alarin 为一含 25 氨基酸多肽,归属于神经肽类 Galanin 家族成员之一,该家族还包括 Galanin 及 Galanin 样多肽 (galanin-like peptide, GALP),其得名源

于 C 端残基丙氨酸 (alanine) 及 N 端残基丝氨酸 (serine)^[17]。其 mRNA 来源于 GALP 基因的差别剪接,与 GALP 基因相比,失去了外显子 3,而此部位正是与 Galanin 受体相结合的部位,因此 Alarin 并非通过与 Galanin 受体结合而发挥作用。Alarin mRNA 最早发现于成神经细胞瘤的神经节细胞^[18],后续研究证实还存在于皮肤的血管周围、蓝斑、弓状核、嗅球、杏仁核等多个部位。关于其生理调节机制,来自美国和英国的 2 个独立的研究组同时于 2010 年发现脑室内注射 Alarin 能明显增加大鼠食物摄入量及体重^[2,3]。2012 年 Fraley 等进一步证实小鼠脑室内注射 Alarin 同样能增加食物摄入量及体重^[1]。上述研究证实 Alarin 为一新型饮食促进因子,能够增加食物摄入量及体重。鉴于已证实的瘦素、Ghrelin、Nesfatin-1 等饮食调控因子在 CHD 发病中的重要作用,本研究选取 AMI、SAP 及对照组人群,比较血浆 Alarin 水平,发现 AMI、SAP 组明显高于对照组,AMI、SAP 组间差异无显著性,且 CHD 患者 Alarin 水平与冠状动脉 Gensini 评分、LDL 水平正相关。尽管 AMI、SAP 在发病机制上有所差别,AMI 发病主要与斑块不稳定有关,但血脂异常、特别是 LDL 升高,是包括 AMI、SAP 在内的所有 CHD 患者最重要的危险因素,也是动脉粥样硬化病变形及进展的主要原因,我们在 AMI、SAP 患者中观察到的 Alarin 水平升高、且与 LDL 正相关,提示 Alarin 作为新发现的饮食促进因子,很有可能通过升高 LDL 水平从而在 CHD 的发生发展中发挥重要作用。此外,CHD 患者 Alarin 水平与冠状动脉 Gensini 评分正相关,也进一步支持 Alarin 与冠状动脉粥样硬化病变狭窄程度的相关性,但其在 CHD 发病中的具体机制尚需进一步

深入研究。本研究结果进一步丰富了 CHD 的病理生理机制,并为 CHD 的预防及治疗提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] Fraley GS, Leathley E, Lundy N, et al. Effects of alarin on food intake, body weight and luteinizing hormone secretion in male mice [J]. *Neuropeptides*, 2012, 46(2): 99-104.
- [2] Boughton CK, Patterson M, Bewick GA, et al. Alarin stimulates food intake and gonadotrophin release in male rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 161(3): 601-613.
- [3] Van Der Kolk N, Madison FN, Mohr M, et al. Alarin stimulates food intake in male rats and LH secretion in castrated male rats [J]. *Neuropeptides*, 2010, 44(4): 333-340.
- [4] Beltowski J. Leptin and atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 189(1): 47-60.
- [5] Kadoglou NP, Lampropoulos S, Kapelouzou A, et al. Serum levels of apelin and ghrelin in patients with acute coronary syndromes and established coronary artery disease: KOZANI STUDY [J]. *Transl Res*, 2010, 155(5): 238-246.
- [6] Dai H, Li X, He T, et al. Decreased plasma nesfatin-1 levels in patients with acute myocardial infarction [J]. *Peptides*, 2013, 46C: 167-171.
- [7] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51(3): 606.
- [8] Fruhbeck G. Peripheral actions of leptin and its involvement in disease [J]. *Nutr Rev*, 2002, 60(10 Pt 2): S47-55; discussion S68-84, 85-87.
- [9] 李绍梅, 祝俊琪, 张丽萍, 等. 慢性肾脏病患者血清瘦素水平与颈动脉内膜-中层厚度的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(6): 483-486.
- [10] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 656-660.
- [11] Date Y, Murakami N, Kojima M, et al. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275(2): 477-480.
- [12] Asakawa A, Inui A, Kaga T, et al. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin [J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(2): 337-345.
- [13] Zhang G, Yin X, Qi Y, et al. Ghrelin and cardiovascular diseases [J]. *Current Cardiol Rev*, 2010, 6(1): 62-70.
- [14] 张丹, 王玉霞, 王威, 等. Ghrelin 对棕榈酸诱导的大鼠主动脉内皮细胞凋亡的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(9): 747-750.
- [15] Oh IS, Shimizu H, Satoh T, et al. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus [J]. *Nature*, 2006, 443(7112): 709-712.
- [16] Dai H, Li X, He T, et al. Decreased plasma nesfatin-1 levels in patients with acute myocardial infarction [J]. *Peptides*, 2013, 46: 167-171.
- [17] Fraley GS, Leathley E, Lundy N, et al. Effects of alarin on food intake, body weight and luteinizing hormone secretion in male mice [J]. *Neuropeptides*, 2012, 46(2): 99-104.
- [18] Santic R, Fenninger K, Graf K, et al. Gangliocytes in neuroblastic tumors express alarin, a novel peptide derived by differential splicing of the galanin-like peptide gene [J]. *J Mol Neurosci*, 2006, 29(2): 145-152.

(此文编辑 许雪梅)