

盘点心血管疾病新的生物标志物

李玉明

作者单位:300162 天津市,武警医学院附属医院

在过去的 20 年里,生物标志物已成为临床实践中越来越重要的工具,它有助于疾病的诊治和判断预后。而心血管系统又是生物标志物被广泛应用的领域。除了血脂、血糖等经典危险因素被应用于心血管疾病的常规临床检查外,目前还有肌酸激酶及其同工酶、心肌肌钙蛋白(cardiac troponin, cTn)、B 型脑钠肽(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, BNP or NT-proBNP)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等特异性及灵敏度较强的用于心血管疾病诊断的生物标志物。随着心血管疾病诊断技术的快速发展,近年来一些新的具有临床应用前景的心肌标志物不断涌现,且越来越受到临床的广泛重视。本文将常见的标志物作为基准来阐述一些新的候选生物标志物在有胸痛症状急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)患者的诊断和危险分层以及评估预后中的作用。

1 心肌组织特异性标志物

1.1 高敏心肌肌钙蛋白(high-sensitivity cardiac troponin, hs-cTn) 虽然与心肌缺血损伤相关的标志物众多,而且在不断出现,cTn 仍然是这一类的首选指标,因为它的心肌组织特异性和灵敏度较高,其在诊断急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)中的作用已被证实。然而,目前 cTn 检测最大的局限性是在 AMI 发生的最初几小时诊断的灵敏度较低^[1]。此外,也不能很好地区分不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)和非缺血原因胸痛。

近来,随着检测方法的不断改进,新型肌钙蛋白及 hs-cTn 检测方法的灵敏度已经达到现有测定方法的 50 倍^[2]。且 hs-cTn 已在健康人中检测到,这不能不引发思考:在健康人中检测到 cTn 的现象说明了什么?新近的研究^[3]认为,心肌细胞的新陈代谢是一个生理过程,少量的心肌细胞凋亡持续于整个生命周期,这种凋亡现象与年龄变化相关。凋亡的心肌会释放出 cTn。还有实验^[4]表明,某些大运动量的体育锻炼活动可使运动员外周血中的 cTn 增高。这种增高可能只是生理现象而并非 ACS。

hs-cTn 在患者自 AMI 症状发作前 3 h 的诊断价值已大为改善,因此 hs-cTn 具有很好的临床应用前景。但遗憾的是对 hs-cTn 的判断标准仍有不同看法。最近多数人推荐用

99% 以上的健康人群的 cTn 含量来定量分析诊断 AMI。检测出极低水平 cTn 提供了早期诊断 AMI 的可能性,但随着敏感性的提高,诊断 AMI 临床特异性也从 97% 降低到 90%,并且阳性预测值从 85% 降低到 77%^[5,6]。

目前临床上对 hs-cTn 研究结果较少。在对 718 名 AMI 患者的前瞻性研究中,同时检测 AMI 患者的 hs-cTn 及 cTn,其阳性率分别为 95% 和 72%,阳性预测值差异无统计学意义($P > 0.05$),但 hs-cTn 诊断 AMI 的特异性和阳性预测值下降到 50%^[6]。Wilson 等^[7]研究结果显示,使用 hs-cTn 检测 50 名 UAP 患者入院 2 h, 6-8 h 以后的 cTn,得出以对照组的 99% 上限为界,在各时间点 cTn 含量高于正常对照组,分别为 44%、62% 和 82%。另一项研究^[8]分析了 57 例表现为 ACS 但常规检测法无 cTn 升高的患者,在初步测试后 3 h 内 hs-cTn 达到初始的两倍,作为诊断 AMI 的特异性达 100%。

hs-cTn 的应用将增加用传统方法检测诊断为 UAP 的患者进一步确诊为非 ST 段抬高心肌梗死(non ST segment elevated myocardial infarction, NSTEMI)患者的数量,并能对 AMI 进行早期检测和诊断。然而,新的 cTn 检测方法会造成与 ACS 心肌损伤无关的 cTn 的假阳性。因此,详细的临床评估和心电图的解读是确诊 ACS 的关键,且连续的 cTn 水平监测将变得更加重要。使用 hs-cTn 检测使诊断为 AMI 患者人数增加的现象与第一代 cTn 检测替代肌酸激酶检测的情况类似。关于这类被新检测方法诊断为 AMI 的患者是否应该确诊为 AMI,以及他们是否会从早期介入治疗和血管重建中获益?这可能会再次引起争议。因此,hs-cTn 对于 AMI 的诊断价值和早期治疗的指导作用尚有待于进一步的研究。

对于 hs-cTn 检测标准,是否用 99% 的可信区间作为标准,或者基于年龄、性别和症状发作时间等临床因素选用不同的标准,还需进一步的临床研究结果为我们带来 hs-cTn 检测的最佳应用和解释的依据。

2 非心肌组织特异性标志物

在过去的十年中,先后提出一些与死亡风险和心血管终点事件相关的血清标志物。这些标志物与局部缺血、炎症、斑块不稳定或破裂、心肌功能障碍和应激反应有关,已经被证实具有较好的判断心血管疾病预后的价值。但是,目前临床

具有诊断作用和重要临床应用价值的心血管疾病血清标志物的数量还是相对较少的。现就三种典型的具有临床应用前景的新型标志物来进行论述。

2.1 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO) MPO 是存在于中性粒细胞、单核细胞、某些组织巨噬细胞及小胶质细胞的溶酶体酶中,可抗击细菌、真菌等病原菌入侵机体,参与多种疾病的发生,如炎症、肺癌、阿尔茨海默病、多发性硬化症、血管炎和动脉粥样硬化等^[9]。MPO 水平与中性粒细胞激活程度之间存在极显著的相关性,是中性粒细胞的活化标志物,在炎症状态下,它被释放入细胞外液,进入循环系统。

MPO 参与心血管疾病发生发展的机制主要有:氧化修饰低密度脂蛋白;选择性修饰载脂蛋白 A₁;产生功能障碍性高密度脂蛋白;促进内皮细胞功能障碍;在不稳定斑块的基础上促进血栓形成;引起冠状动脉痉挛;促进心肌功能紊乱和心肌梗死后异常心室重塑。

炎症细胞产生 MPO 在 ACS 患者病灶处比稳定型心绞痛(stable angina pectoris, SAP)患者病灶处更容易发现^[9]。MPO 与金属蛋白酶结合,降解粥样硬化动脉胶原层,导致斑块侵蚀或破裂的致命后果。因此,MPO 已被提议作为一种斑块不稳定的标志物,尽管它对心血管疾病不是特异的。

冠心病(coronary disease, CHD)患者具有较高的 MPO 水平,并相对独立于年龄、性别、白细胞计数和传统的心血管危险因素。研究^[11-12]表明,MPO 增高的水平在 CHD 中不尽相同:在 SAP 患者最低,在 UAP 患者中较 SAP 患者高,在 AMI 患者中最高。MPO 的诊断价值至少可以与 ACS 患者中的肌酸激酶同工酶相比较。然而,从较早的研究 MPO 诊断价值的资料中,证实对于 AMI 的 MPO 诊断为中等灵敏度(86%)和低特异性(32%),次于 cTn 水平。

一项对 1090 例 ACS 患者的 CAPTURE trial 分析证实 MPO 在 ACS 危险分层中的意义^[13]。以 MPO=350 μg/L 为界,高 MPO 组 6 个月死亡和发生 AMI 的风险均高于相应低 MPO 组。在 cTn 阴性的患者中预测价值更高。

另外两项关于 ACS 患者的研究^[14-15]也表明,MPO 的预后信息独立于 NT-proBNP。在一组 604 名疑似 ACS 的患者的队列研究中,即使患者基线 cTn 是阴性的,基线水平的 MPO 仍可以独立预测 AMI 的风险及其他主要不良冠脉事件,从而表明 MPO 可能在 ACS 患者早期危险分层中有帮助作用。因此 MPO 的预测能力是独立于 cTn、CRP、可溶性 CD40 配体水平之外的,这表明 MPO 的水平反映了 ACS 的不同方面。

MPO 的检测已应用于临床,但是对 ACS 患者早期危险分层使用 MPO 存在着一定的局限性。有文献^[16-17]提示,普通肝素治疗剂量可造成 MPO 的过量释放,导致 MPO 水平加倍,这会妨碍其在 ACS 中的临床应用。如何分析 MPO 的临床意义,还需作进一步研究。

2.2 和肽素 和肽素作为一种与精氨酸加压素/抗利尿激素(arginine vasopressin, AVP)同源的含有 39 个氨基酸残基的糖肽,为抗利尿激素原的 C 端部分肽段。和肽素与 AVP 相比在体内较稳定,检测方法更方便快捷,在多种临床疾病患者血浆中和肽素与 AVP 呈显著正相关,可以作为 AVP 释放的一个标记物。体内 AVP 水平的上升与心绞痛、心肌梗死等心血管疾病预后呈显著相关,故和肽素成为心血管领域国内外研究者的新热点。最近发表的一个 487 例疑似 ACS 患者的队列研究^[18]显示:和肽素与前一代 cTn 联合检测显著提高 ACS 诊断价值。对在 cTn 阴性患者中和肽素阴性预测值大于 99%,且和肽素水平 < 14 pmol/L 的患者可以排除 AMI。与 hs-cTn 研究结果类似,但这种灵敏度增加导致特异性从 cTn 单独的 93%降低到 77%,阳性预测值从 72%降低到 46%。在一项前瞻性研究^[19]中对 980 例 AMI 患者进行临床随访调查,平均随访 342 d,主要终点为死亡和心力衰竭,次要终点为再梗死。统计学分析表明,入院时血浆和肽素水平与患者病死率和心衰等事件发生密切相关。这些结果独立于 NT-proBNP,表明 AMI 后 AVP 系统被激活,和肽素可以预测不良预后,提示其是一种新的具有评估预后价值的 AMI 标志物。研究结果^[20-21]表明,和肽素和心梗后左室功能障碍、心室容积、心室重构和临床心力衰竭相关。和肽素可作为 AMI 后心衰及其他任何原因心衰患者的死亡和主要心脏事件的独立预测因子。基于此,和肽素被美国国家临床生化学会列为最有潜质的心脏标记物之一。

和肽素在慢性心力衰竭和 AMI 患者中的临床意义与血管加压素的多种活性相关。在慢性心力衰竭中,升高的 AVP 通过作用于 V1a 受体,可以增加外周血管收缩、心肌后负荷及收缩期和舒张期心室壁应力,直接导致心肌细胞蛋白质合成和左室肥厚,从而加速左心室功能紊乱。通过作用于 V2 受体,导致肾脏对水的重吸收增加,从而导致心肌前负荷和左室充盈增加。此外,AVP 可以加速心肌纤维化。AVP 可以成为心梗后治疗左室功能障碍、心室重构和临床心力衰竭的一个目标靶点。

作为血浆 AVP 检测的一个替代物,和肽素的检测在因血管加压素系统紊乱所介导的原发性(如电解质紊乱)和继发性(如慢性心力衰竭和脓毒败血症)疾病中有重要作用。但其临床应用仍有待进一步大型研究以证实其有效性。AVP 受体拮抗剂的使用是否可以改善诸多和肽素相关性疾病,以及使用 AVP 受体拮抗剂治疗是否只在 AVP 激活的情况下才有效,这些问题仍需研究者们进一步深入地研究和探讨。

2.3 生长分化因子 15 (growth differentiation factor 15, GDF15) GDF15 属 GDF 家族,是转化生长因子 β 超家族成员之一,目前发现 GDFs 家族成员共 16 个,被命名为 GDF1~16^[22]。GDFs 家族成员在各组织中的表达不尽一致,主要参与

调节多器官生长、分化及组织修复等多种细胞功能和生物学过程。GDF15 水平在肿瘤、妊娠、神经元损伤以及骨骼肌发育异常等多种疾病状态下增高,近年研究^[2]发现,GDF15 不但具有上述生物学功能,而且还参与心血管疾病的发生发展过程,在心肌急性缺血和缺血再灌注损伤、心肌肥厚及心力衰竭等病理过程中水平增高,并可能发挥保护性作用。

GDF15 在正常的心肌细胞中不表达,心肌细胞在缺血和再灌注情况下表达和分泌 GDF15。小鼠心肌缺血模型中发现,GDF15 的高水平表达可以持续到心肌损伤后 1 w。GDF15 基因敲除的小鼠在短暂的冠状动脉结扎之后心肌梗死面积比野生型小鼠更大,心肌细胞凋亡数目更多,梗死后死亡率明显增加,提示 GDF15 参与了心肌缺血和缺血再灌注损伤过程,并且可能发挥着保护性作用^[3]。在 Kempf 等^[24]对 741 名 ST 段抬高型心肌梗死(ST segment elevated myocardial infarction, STEMI)患者的临床研究发现,血清 GDF15 水平在 3 d 内无明显差别,至少能持续至心肌梗死后 5 d。并指出 GDF15 的峰浓度可能在成功再灌注治疗后的 90 min 左右。在 Wollert 等^[25]研究入选的 2081 名未接受再灌注治疗的非 ST 段抬高型 ACS(non ST segment elevated ACS, NSTEMI)患者中,测得大约 2/3 患者的 GDF15 水平增高,1/3 患者的 GDF15 水平明显升高。GDF15 的增加与一年内死亡风险的增加明显相关,而且,GDF15 是独立于 cTnT、NT-proBNP、CRP 和临床因素以外的预测因子。Kempf 等^[24]报道在 STEMI 患者中亦发现类似的结果。

临床研究亦发现 ACS 中 GDF15 在体循环中的浓度增高。此外,GDF15 水平对治疗方案的选择亦有预测价值。Wollert 等^[26]研究报道,在对 2079 名 NSTEMI 患者进行两年的随访中发现,入院时 GDF15 的水平对保守治疗组患者的死亡和再次心肌梗死联合终点事件具有独立预测价值,而在已接受介入治疗的患者中无类似发现。研究还发现,介入治疗可降低 GDF15 升高组患者心血管不良事件的发生率,且以 GDF15 明显升高组为著。正因为 GDF15 不仅独立提供预后的信息,而且也可以指导对 ACS 患者进行相应的治疗决策的选择,GDF15 正成为临床上有用的生物标志物。然而,Wollert 的研究是在将近十年前,并且现在对 ACS 的诊断和治疗都有了更深刻的认识和改变。因此还有待于前瞻性实验研究来为临床提供更可靠的依据。

另外,GDF15 作用于心脏的机制尚未清楚。目前认为 Smad 依赖和非依赖的信号通路可能共同参与 GDF15 调节心脏功能的信号传导。在心血管系统中,GDF15 的细胞起源、上游调节因子、代谢途径以及功能效应尚未被明确阐明,目前仍处于探索阶段。

3 展望

在对疑似 ACS 患者的评估中,生物标志物作为对病史和

心电图的补充已经越来越重要。理想的生物标志物是反映可逆性心肌缺血的生物标志物能被检测到并可作为特异性的标志物之一来诊断 ACS,且可以用来做为判断预后的工具。

本文讨论的四个新的生物标志物可以在血液中检测到并且有相应临床试验支持。诊断 ACS 敏感性更高的 hs-cTn,非心肌组织特异性标志物,如 MPO 及正在研发的和肽素和 GDF15,他们给我们带来了新的希望的同时,也带来了更深的思考:(1)hs-cTn 测定的高灵敏度提高了 ACS 的检出率,但是特异性的降低也许还需要通过使用其他的生物标志物来弥补。(2)在 ACS 的不同时期中使用不同的生物标志物进行风险分层及预后评估。对于早期风险诊断,MPO 是一个较好的候选标志物,而 CRP 显示出它对长期预后的影响。(3)提供了选择不同治疗决策的方法,如 GDF15 水平可提示是否能从介入治疗中得到更大的获益。然而,最重要的问题依然是这些新的生物标志物的测定能否最大程度地帮助临床医师对患者进行诊断和治疗,只有前瞻性临床试验才能够完全回答这个问题。

至今为止,众多的生物标志物作为排除缺血性心脏病仍缺乏特异性。近几年来,有人提出使用多标志物策略,即已证实的和新的生物标志物联合应用。因此需要更深层次的研究以便来确定这种联合使用多标志物策略,对于疑似 ACS 患者疾病诊断和更好的风险评估及治疗方法选择而言,是否是一种可行的策略。

4 参考文献

- Anderson JL, Adams CD, Antman EM, et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non ST-elevation myocardial infarction. *Circulation*, 2007, 116: e148-e304.
- Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem*, 2009, 55: 1303-1306.
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*, 2009, 324: 98-102.
- Giannitsis E, Roth HJ, Leithausner RM, et al. New highly sensitivity assay used to measure cardiac troponin T concentration changes during a continuous 216-km marathon. *Clin Chem*, 2009, 55: 590-592.
- Keller T, Zeller T, Peetz D, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2009, 361: 868-877.
- Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med*, 2009, 361: 858-867.
- Wilson SR, Sabatine MS, Braunwald E, et al. Detection of myocardial injury in patients with unstable angina using a novel nanoparticle cardiac troponin I assay: observations from the PROTECT-TIMI 30 Trial. *Am Heart J*, 2009, 158: 386-391.

8 Giannitsis E, Becker M, Kurz K, et al. High-sensitivity cardiac troponin T for early prediction of evolving non-ST-segment elevation myocardial infarction in patients with suspected acute coronary syndrome and negative troponin results on admission. *Clin Chem*, 2010, 56: 642-650.

9 Sugiyama S, Kugiyama K, Aikawa M, et al. Hypochlorous acid, a macrophage product induces endothelial apoptosis and tissue factor expression: involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 1309-1314.

10 Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, et al. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med*, 2002, 347: 5-12.

11 Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, et al. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *Eur J Clin Invest*, 2008, 38: 90-96.

12 Eggers KM, Dellborg M, Johnston N, et al. Myeloperoxidase is not useful for the early assessment of patients with chest pain. *Clin Biochem*, 2010, 43: 240-245.

13 Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*, 2003, 108: 1440-1445.

14 Moccata TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49: 1993-2000.

15 Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J*, 2008, 29: 1096-1102.

16 Shih J, Datwyler SA, Hsu SC, et al. Effect of collection tube type and preanalytical handling on myeloperoxidase concentrations. *Clin Chem*, 2008, 54: 1076-1079.

17 Baldus S, Rudolph V, Roiss M, et al. Heparins increase endothelial nitric oxide bioavailability by liberating vessel-immobilized myeloperoxidase. *Circulation*, 2006, 113: 1871-1878.

18 Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, et al. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54: 60-68.

19 Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, et al. C-terminal pro-vasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) study. *Circulation*, 2007, 115: 2103-2110.

20 Neuhold S, Huelsmann M, Strunk G, et al. Comparison of copeptin, B-type natriuretic peptide, and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with chronic heart failure: prediction of death at different stages of the disease. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52: 266-272.

21 Voors AA, von Haehling S, Anker SD, et al. C-terminal pro-vasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *Eur Heart J*, 2009, 30: 1187-1194.

22 Ago T, Sadoshima J. GDF15, a cardioprotective TGF-beta superfamily protein. *Circ Res*, 2006, 98: 294-297.

23 Xu J, Kimball TR, Lorenz JN, et al. GDF15/MIC1 functions as a protective antihypertrophic factor released from the myocardium in association with Smad protein activation. *Circ Res*, 2006, 98: 342-350.

24 Kempf T, Bjorklund E, Olofsson S, et al. Growth differentiation factor 15 improves risk stratification in ST segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J*, 2007, 28: 2858-2865.

25 Wollert KC, Kempf T, Peter T, et al. Prognostic value of growth-differentiation factor 15 in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation*, 2007, 115: 962-971.

26 Wollert KC, Kempf T, Lagerqvist B, et al. Growth differentiation factor 15 for risk stratification and selection of an invasive treatment strategy in non ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation*, 2007, 116: 1540-1548.

(收稿日期:2010-05-10)

(本文编辑:杨军)

消 息

欢迎订阅《实用检验医师杂志》

《实用检验医师杂志》2009 年 12 月创刊, 刊号:CN 11-5864/R,ISSN 1674-7151, 季刊, 国内外公开发行, 邮发代号:6-245, 10.00 元/期, 全年定价 40 元。欢迎单位和个人在当地邮局或《实用检验医师杂志》编辑部订阅, 也可通过中国医师协会检验医师分会网站(www.cmdal.org; www.cmdal.com)信箱订阅。