·临床研究·

慢性心功能不全患者血浆铜蓝蛋白水平改变及其临床意义

陈海威,张津津,李 娜,王 磊,翟红霞,夏云峰*
(解放军总医院第一附属医院干部病房一科,北京 100048)

【摘 要】 **目的** 探讨慢性心功能不全患者血浆铜蓝蛋白(CP)水平改变及其临床意义。**方法** 连续性纳入2013年1月至2014年1月于解放军总医院第一附属医院住院治疗的87例慢性心力衰竭(CHF)患者。出院随访12个月最终选取70例CHF患者,按照美国纽约心脏病学会(NYHA)心功能分级将CHF患者分为3组:NYHA Ⅱ级组30例,NYHA Ⅲ级组25例,NYHA Ⅳ级组15例。另选取20例年龄相符的心功能正常者作为对照组。记录分析入院时和出院后12个月时N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)和CP水平,并行超声心动图检查,评价心脏结构和功能。**结果** 入院时CHF患者NT-proBNP和CP明显高于对照组($P<0.05$)。出院后12个月CHF患者NT-proBNP水平较入院时明显下降($P<0.05$),但CP水平未见明显改变($P>0.05$)。通过ROC曲线分析可见,在CHF患者再入院方面,出院后12个月CP水平具有中度的预测诊断价值(AUC=0.82,$P=0.03$)。通过Pearson和Spearman相关性分析可见,入院时CHF患者CP和左心室收缩末期内径(LVESD)呈正相关($r=0.308$,$P=0.025$),与左室射血分数(LVEF)呈负相关($r=-0.332$,$P=0.023$);而NT-proBNP与LVEF呈负相关($r=-0.398$,$P=0.038$);NT-proBNP与CP相互之间存在正相关($r=0.408$,$P=0.042$)。但在出院后12个月时未见上述相关性。**结果** CHF患者血清CP明显升高,与CHF患者再住院率相关,CP是评价和预测CHF患者临床预后的潜在生物学标志物。

【关键词】 慢性心功能不全;铜蓝蛋白;临床意义
【中图分类号】 R541.6 【文献标识码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.01.008

Serum ceruloplasmin level and its clinical significance in patients with chronic heart failure

CHEN Hai-Wei, ZHANG Jin-Jin, LI Na, WANG Lei, ZHAI Hong-Xia, XIA Yun-Feng*
(First Department of Cadres' Ward, the First Affiliated Hospital, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

【**Abstract**】 **Objective** To determine the change of serum ceruloplasmin (CP) in the patients with chronic heart failure (CHF) and evaluate its clinical value. **Methods** Consecutive 70 CHF patients admitted in our hospital from January 2013 to January 2014 were enrolled in this study. According to the New York Heart Association (NYHA) cardiac function classification, they were divided into NYHA Ⅱ group ($n=30$), NYHA Ⅲ group ($n=25$), and NYHA Ⅳ group ($n=15$). Another 20 age-matched volunteers with normal cardiac function served as controls. The levels of CP and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) were measured at admission and 12 months after hospital discharge. Echocardiography was performed to evaluate the cardiac structure and function. **Results** The levels of NT-proBNP and CP were significantly higher in the CHF group than the control group ($P<0.05$) at admission. In the CHF group, the NT-proBNP level was decreased in 12 months after discharge compared to that at admission ($P<0.05$), but no such change was observed in the CP level ($P>0.05$). Receiver operation characteristic (ROC) curve analysis revealed that the CP level at 12 months after discharge was of predictive diagnostic value for re-hospitalization in the patients (AUC=0.82, $P=0.03$). Pearson and Spearman correlation analysis showed that the CP level at admission was positively correlated with left ventricular end systolic diameter (LVESD; $r=0.308$, $P=0.025$), and negatively with left ventricular ejection fraction (LVEF, $r=0.332$, $P=0.023$) in the CHF patients. And the NT-proBNP level was negatively correlated with LVEF ($r=-0.398$, $P=0.038$), and positively with CP level ($r=0.408$, $P=0.042$). But no such correlations were found in 12 months after discharge. **Conclusion** The serum CP level is obviously elevated in the CHF patients, and correlated with re-hospitalization. CP can be regarded as a potential biomarker for evaluation and prognostic prediction in the patients.

【Key words】chronic cardiac insufficiency; ceruloplasmin; clinical significance

Corresponding author: *XIA Yun-Feng*, *E-mail*: *xiayf3691@sina.com*

收稿日期:2016-08-22;**修回日期**:2016-11-06
通信作者:夏云峰,E-mail:xiayf3691@sina.com

研究发现血浆高铜蓝蛋白(ceruloplasmin,CP)水平是冠心病的独立危险因素,CP水平越高则发生冠心病的危险性越大,同时死亡率也增大[1-4]。目前,国内外对于CP在心功能不全患者体内水平改变和临床意义报道较少。因此,本研究连续性纳入70例慢性心力衰竭(chronic heart failure,CHF)患者,综合分析血清CP水平以及对临床预后的价值。现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

连续性纳入2013年1月至2014年1月于解放军总医院第一附属医院住院治疗的87例CHF患者,随访丢失17例,最后70例纳入研究。按美国纽约心脏病学会(American New York Heart Association,NYHA)心功能分级分为3组:NYHA Ⅱ级组30例,NYHA Ⅲ级组25例,NYHA Ⅳ级组15例。另选取20例年龄相符的心功能正常者作为对照组。入选标准:患者具有器质性心脏病病史,同时伴有体循环或肺循环淤血的表现,如活动后气促、乏力等心功能不全症状。心脏彩超示左室射血分数(left ventricular ejection fraction,LVEF)≤55%,排除肺部疾病、肥胖等其他原因所致的类似症状。排除标准:严重感染、恶性肿瘤、急性心肌梗死、阻塞性肺气肿、肝肾功能病变、糖尿病等其他疾病。所有研究对象均签署由医院伦理委员会批准的知情同意书,并符合医学伦理学规定。

1.2 临床数据收集

入院后详细记录患者性别、年龄、高血压、冠心病、糖尿病等慢性病病史,并完善血脂代谢、肝肾功能和N末端脑钠肽前体(N terminal-pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP)水平等测定。所有生化指标检测均由我院检验科完成。出院随访12个月,复查血清NT-proBNP和CP水平,并复查超声心动图。

1.3 血浆铜蓝蛋白的检测

本研究所有入选患者取空腹静脉血3 ml,分离血浆。CP测定采用血浆蛋白分析系统及其配套试剂(铜蓝蛋白测定试剂盒,Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH,德国)。采用散射比浊法,按照试剂盒说明书步骤操作检测程序,正常值为20~60 mg/dl。

1.4 左心室结构及功能指标测定

采用GE Vivid E9型彩色多普勒超声心动图仪,并根据美国超声心动图协会的标准获得左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter,LVEDD)、左心室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter,LVESD)、LVEF和E峰/A峰(E/A ratio)。

1.5 统计学处理

本研究所有数据经SPSS20.0统计学软件进行统计分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。符合正态分布且方差齐,两组比较采用t检验或单因素方差分析,多组间比较采用单因素方差分析。非正态分布或方差不齐,两组比较采用Mann-Whitney U检验,多组比较采用Kruskal-Wallis H检验,二元资料通过Fisher's精确检验分析。利用受试者工作特征(receiver operation characteristic,ROC)曲线综合分析NT-proBNP水平对CHF患者疾病预后的评价价值。利用约登指数分析最佳切点的NT-proBNP和CP数值。通过Pearson、Spearman相关性分析CP与各心脏功能指标间的关系。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 基线资料比较

随访12个月,共死亡6例,再入院12例。CHF患者和对照组患者在年龄、性别、冠心病、糖尿病、高血压病、血脂水平、肝肾功能等方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 各组患者心功能比较

表1结果表明,入院时和出院随访12个月时CHF患者的LVEDD大于对照组患者($P<0.05$),其中NYHA Ⅲ级和Ⅳ级组患者尤为明显。CHF患者LVEF低于对照组患者($P<0.05$)。CHF患者NT-proBNP及CP水平均明显高于对照组患者($P<0.05$)。出院后随访12个月时,心脏结构与入院时比较未见明显改变,但CHF患者射血指标明显恢复,LVEF水平较入院时明显升高,其中NHYA Ⅲ级和Ⅳ级组患者尤为明显。NT-proBNP水平也较入院时明显下降。但CP水平与入院时相比,未见明显改变($P>0.05$)。

2.3 ROC曲线分析

通过ROC曲线分析可见,在CHF患者死亡方面,CP和NT-proBNP水平有一定CHF死亡的预测价值,但诊断价值特异度和敏感度均不高($AUC_{CP}=0.78$, $P_{CP}=0.03$; $AUC_{NT\text{-}proBNP}=0.60$, $P_{NT\text{-}proBNP}=0.04$)。在CHF患者再入院方面,可见出院后12个月CP水平具有中度的预测诊断价值($AUC=0.82$, $P=0.03$)。具体结果见图1。

2.4 CP、NT-proBNP和心功能的相关性研究

通过Pearson和Spearman相关性分析可见，入院时CHF患者血清CP和LVESD呈正相关（$r=0.308$，$P=0.025$），与LVEF呈负相关（$r=-0.332$，$P=0.023$）；而NT-proBNP与LVEF呈负相关（$r=-0.398$，$P=0.038$）；NT-proBNP与CP相互之间存在正相关（$r=0.408$，$P=0.042$）。但在出院后12个月时未见上述相关性。具体结果见表2。

表1 各组患者入院时和出院后12个月心功能水平比较

Table 1 Comparison of cardiac function at admission and 12 months after discharge among the four groups ($\bar{x}\pm s$)

Item	Control group ($n=20$)	NYHA Ⅱ group ($n=30$)	NYHA Ⅲ group ($n=25$)	NYHA Ⅳ group ($n=15$)	t	P value
At admission						
LVEDD(mm)	51.3±3.4	54.5±3.2	56.8±2.7*	59.1±3.4*	6.45	0.01
LVESD(mm)	33.2±1.6	34.5±1.2	37.5±2.1	36.2±1.5	1.35	0.24
LVEF(%)	60.8±3.9	50.5±5.4*	47.8±7.1*	44.2±4.1*	6.45	0.01
E/A	1.2±0.1	0.8±0.2	0.9±0.4	0.8±0.2	1.25	0.22
NT-proBNP(ng/L)	75.7±33.6	370.2±116.3*	491.2±118.4*	558.4±89.8*	4.19	0.04
CP(mg/dl)	34.8±12.6	62.5±24.4*	77.2±26.9*	80.2±33.2*	5.02	0.02
12 months after discharge						
LVEDD(mm)	51.2±3.6	55.1±6.2	57.2±4.2*	59.4±5.1*	4.87	0.02
LVESD(mm)	32.7±1.8	34.7±1.8	37.2±2.3	36.2±1.9	1.63	0.20
LVEF(%)	60.2±5.5	57.5±7.4	52.9±11.1*#	52.2±9.2*#	4.43	0.03
E/A	1.2±0.2	0.8±0.2	0.9±0.3	0.8±0.4	1.35	0.24
NT-proBNP(ng/L)	70.7±24.7	112.2±46.3#	141.2±33.9*#	128.4±58.2*#	1.63	0.20
CP(g/L)	30.8±16.7	55.5±15.4*	79.2±12.6*	76.2±27.4*	5.25	0.02

NYHA: New York Heart Association; LVEDD: left ventricular end-diastolic diameter; LVESD: left ventricular end-systolic diameter; LVEF: left ventricular ejection fraction; NT-proBNP: N terminal-pro brain natriuretic peptide; CP: ceruloplasmin. Compared with the control group, *$P<0.05$; compared with data at admission, #$P<0.05$

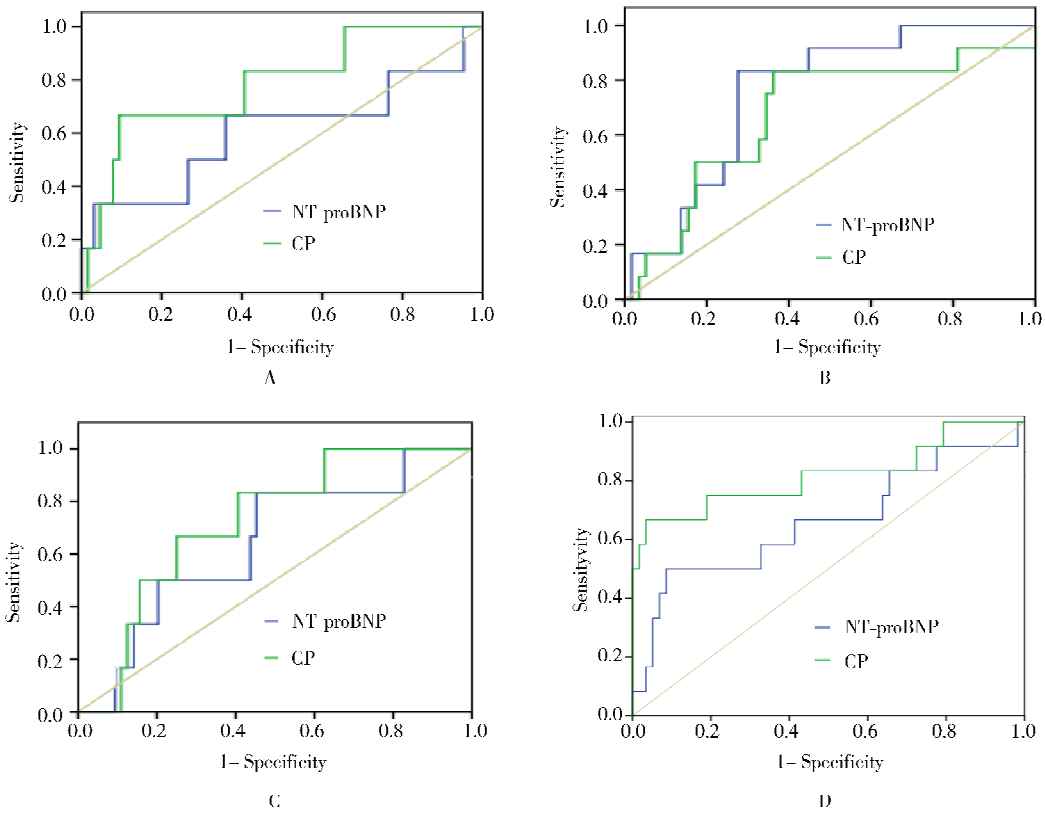


图1 CP和NT-proBNP水平预测死亡和再入院的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of CP and NT-proBNP level for predicting death(A,C) and readmission(B,D)

A: value of CP and NT-proBNP level at admission for predicting death; B: value of CP and NT-proBNP level at admission for predicting readmission; C: value of CP and NT-proBNP level at 12 months after hospital dicharge for predicting death; D: value of CP and NT-proBNP level at 12 months after hospital dicharge for predicting readmission. CP: ceruloplasmin; NT-proBNP: N terminal-pro brain natriuretic peptide; ROC: receiver operation characteristic

表2 CP和NT-proBNP与心功能的相关性

Table 2 Correlation of CP and NT-proBNP with cardiac function

Factor	At admission				12 months after discharge			
	CP		NT-proBNP		CP		NT-proBNP	
	r	*P* value	*r*	*P* value	*r*	*P* value	*r*	*P* value
Age	0.027	0.433	0.173	0.322	0.221	0.229	0.229	0.421
Gender	0.047	0.147	0.135	0.297	0.191	0.261	0.259	0.127
LVEDD	0.324	0.062	0.312	0.193	0.221	0.151	0.085	0.553
LVESD	0.308	0.025	0.143	0.310	0.287	0.418	0.219	0.633
LVEF	−0.332	0.023	−0.398	0.038	−0.102	0.224	0.128	0.249
Cardiac function classification	0.668	0.003	0.398	0.021	0.192	0.056	0.102	0.451
NT-proBNP	0.408	0.042	–	–	−0.123	0.649	–	–

CP: ceruloplasmin; LVEDD: left ventricular end-diastolic diameter; LVESD: left ventricular end-systolic diameter; LVEF: left ventricular ejection fraction; NT-proBNP: N terminal-pro brain natriuretic peptide

3 讨 论

本研究综合分析了70例CHF患者血清CP水平变化和临床预后关系，结果发现CHF患者血清CP水平明显升高，且升高幅度与心功能分级密切相关。CP水平有助于预测判断CHF患者临床预后以及再次入院风险。

CP是一种151 ku糖蛋白，主要在肝脏合成，是细胞色素和多种酶的重要组成部分，目前认为其主要作用是负责转运人体内≥95%的铜[5]。近年随着对CP研究的深入，CP被认为是一种多功能金属蛋白酶。它不仅参与体内铜的代谢调节，还调控铁的代谢[6]。CP也参与脂质过氧化反应和动脉粥样硬化的形成，可以通过氧化还原一氧化氮进而影响血管内皮细胞功能[7]。CP也被认为是一种急性反应蛋白，在急性炎症反应和妊娠状态下可反应性升高[8]。以往对CP其他功能的研究多见于Wilson综合征，该疾病是一种少见的常染色体隐性遗传的铜代谢疾病，表现为肝脏、神经系统和肾脏组织铜沉积[9]。CHF患者血清中CP水平升高的相关机制尚未见研究报道，过去的一系列研究表明CP与铜转运、凝血系统、血管新生、抗氧化应激以及铁代谢等相关[10]。CP参与铜依赖性铁氧化酶的激活过程，后者促进二价亚铁氧化为三价铁，进而减少亚铁离子调控的氧自由基损伤和脂质过氧化损伤[11]。上述研究大多数为体外实验，在体进一步验证实验较少。仅一些临床研究结果表明，帕金森患者和妊娠性高血压症患者血清CP水平较正常人明显下降。

本研究表明CHF患者血清CP水平较对照组明显升高，并且升高幅度与心功能分级相关。这可能是由于CHF患者心功能水平下降，组织灌注减少，而CP调控人体内多条缺血缺氧信号通路的激活，在组织慢性缺血状态下，会负反馈性地增加CP基因表达，促进CP蛋白生长[12]。这可能是CHF患者血清CP升高的原因之一。有研究表明，CP是预测心力衰竭患者全因死亡的独立危险因素，在帕金森患者脑脊液中也发现了CP结构的改变，可能和氧化应激、信号转导相关[5,12,13]。本研究发现CHF患者CP水平升高可提高再次入院治疗风险和死亡风险，其原因可能是由于CP参与调控一氧化氮(nitric oxide, NO)氧化酶的激活，促进NO转化为亚硝酸盐类物质。NO是一种速效的血管扩张剂和抗氧化剂，而转化为亚硝酸盐后其抗氧化活性降低，甚至有促氧化应激损伤的作用[14]。因此，血清CP水平升高有可能会使血清NO水平下降，增加体内氧化应激反应和组织细胞损伤。有研究表明[15]：与左心衰竭患者相比，即使是相似的NYHA心功能分级，右心衰竭患者运动状态下的心肺功能更差，病理生理原因不同，是否有CP的参与有待于进一步研究。通过生物工程技术对大鼠进行CP基因敲除后发现，大鼠体内亚硝酸盐含量下降[13]。通过对该类大鼠肝脏进行缺血再灌注损伤后发现肝脏细胞损伤明显加重，而外源性补充亚硝酸盐后可以一定程度地减少缺血再灌注引起的损伤。CP水平对于CHF患者再次入院或是死亡等临床预后影响的具体机制，需要后期进一步实验研究证实。

综上所述，本研究发现CHF患者血清CP明显升高，与CHF患者后期临床预后密切相关，是评价和预测CHF患者临床预后的潜在生物学标志物。

【参考文献】

[1] Chang S, Davidson PM, Newton PJ, *et al*. Composite outcome measures in a pragmatic clinical trial of chronic heart failure management: a comparative assessment[J]. Int J Cardiol, 2015, 185: 62-68. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.03.071.

[2] Gavazzi A, De Maria R, Manzoli L, *et al*. Palliative needs for heart

failure or chronic obstructive pulmonary disease: results of a multicenter observational registry [J]. Int J Cardiol, 2015, 184: 552-558. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.03.056.

[3] 韩景银, 杨文东. 急性期脑梗死患者伴发早期心功能及心肌细胞损害的监测[J]. 医学检验与临床, 2013, 24(1): 6-8. DOI:10.3969/j.issn.1673-5013.2013.01.003.
Han JY, Yang WD. Monitoring of the acute phase cerebral infarction patients combined with early cardiac function and myocardial cell damage [J]. Med Lab Sci Clin, 2013, 24(1): 6-8. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2013.01.003.

[4] 陈 伟, 胡志华, 陈 勉. 动态监测血清铜蓝蛋白水平对MODS早期诊断及预后的评估意义[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(6): 792-794. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20140424.001.
Chen W, Hu ZH, Chen M. Dynamic monitoring of serum ceruloplasmin levels for early diagnosis and prognosis of MODS[J]. J Hainan Med Univ, 2014, 20(6): 792-794. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20140424.001.

[5] Hammadah M, Fan Y, Wu Y, *et al*. Prognostic value of elevated serum ceruloplasmin levels in patients with heart failure[J]. J Card Fail, 2014, 20(12): 946-952. DOI: 10.1016/j.cardfail.2014.08.001.

[6] Cao DJ, Hill JA. Copper futures: ceruloplasmin and heart failure[J]. Circ Res, 2014, 114(11): 1678-1680. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.304091.

[7] Cabassi A, Binno SM, Tedeschi S, *et al*. Low serum ferroxidase I activity is associated with mortality in heart failure and related to both peroxynitrite-induced cysteine oxidation and tyrosine nitration of ceruloplasmin[J]. Circ Res, 2014, 114(11): 1723-1732. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.302849.

[8] Dadu RT, Dodge R, Nambi V, *et al*. Ceruloplasmin and heart failure in the Atherosclerosis Risk in Communities study[J]. Circ Heart Fail, 2013, 6(5): 936-943. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000270.

[9] Kaya Z, Kaya BC, Sezen H, *et al*. Serum ceruloplasmin levels in acute decompensated heart failure[J]. Clin Ter, 2013, 164(3): e187-e191. DOI: 10.7417/CT.2013.1558. DOI: 10.7417/CT.2013.1558.

[10] Vondrúková D, Málek F, Ošťádal P, *et al*. Short term effect of CRT on biomarkers of cardiac remodelling and fibrosis: NT-proBNP, sST2, galectin-3, and a marker of oxidative stress — ceruloplasmin — a pilot study[J]. Int J Cardiol, 2012, 159(2): 159-160. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.05.053.

[11] Wong BX, Ayton S, Lam LQ, *et al*. A comparison of ceruloplasmin to biological polyanions in promoting the oxidation of Fe(2+) under physiologically relevant conditions [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(12): 3299-3310. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.08.006.

[12] Barbariga M, Curnis F, Spitaleri A, *et al*. Oxidation-induced structural changes of ceruloplasmin foster NGR motif deamidation that promotes integrin binding and signaling[J]. J Biol Chem, 2014, 289(6): 3736-3748. DOI: 10.1074/jbc.M113.520981.

[13] Barbariga M, Curnis F, Andolfo A, *et al*. Ceruloplasmin functional changes in Parkinson's disease-cerebrospinal fluid [J]. Mol Neurodegener, 2015, 10: 59. DOI: 10.1186/s13024-015-0055-2.

[14] Brenner S. Aluminum may mediate Alzheimer's disease through liver toxicity, with aberrant hepatic synthesis of ceruloplasmin and ATPase7B, the resultant excess free copper causing brain oxidation, beta-amyloid aggregation and Alzheimer disease[J]. Med Hypotheses, 2013, 80(3): 326-327. DOI: 10.1016/j.mehy.2012.11.036.

[15] 罗 勤, 柳志红, 奚群英, 等. 老年慢性左心衰竭与右心衰竭患者心肺运动试验特点比较[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2015, 14(3): 184-187. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2015.03.042.
Luo Q, Liu ZH, Xi QY, *et al*. Comparison on the features of parameters of cardiopulmonary exercise testing between chronic left and right heart failure elderly patients[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2015, 14(3): 184-187. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2015.03.042.

(编辑: 周宇红)