

## 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  $(15.79 \pm 5.03)$  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  $(1.75 \pm 0.82)$  U/L、 $(1.85 \pm 0.62)$  U/L、 $(1.58 \pm 0.52)$  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 Enzyme 2 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 enzyme 2 (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  $(15.79 \pm 5.03)$  U/L,  $(18.85 \pm 6.46)$  U/L,  $(14.80 \pm 4.58)$  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  $(1.75 \pm 0.82)$  U/L,  $(1.85 \pm 0.62)$  U/L,  $(1.58 \pm 0.52)$  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%<sup>[1,2]</sup>, 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<sup>[3]</sup>。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  $\mu$ L, 37 °C 恒温箱孵育 15 min, 加入终止液 50  $\mu$ 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  $\mu$ L, 底物液 50  $\mu$ L, 37 °C 恒温箱孵育 15 min, 第 1 孔加入阴性液 20  $\mu$ 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 ( $\mu$ 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 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>
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<sup>[4]</sup>。

### 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<sup>[5]</sup>。

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<sup>[6]</sup>。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<sup>[7]</sup>。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)