

论著·临床研究

慢性心力衰竭患儿血清卵泡抑素样蛋白1的变化及临床意义

李冰露 安金斗 冯嵩 葛薇

(郑州大学第一附属医院儿内科, 河南 郑州 450052)

[摘要] **目的** 探讨卵泡抑素样蛋白1 (FSTL1) 在慢性心力衰竭 (CHF) 患儿血清中的变化及与左心室重构的相关性。**方法** 选取2014年5月至2015年5月CHF患儿45例为心衰组, 其中心内膜弹力纤维增生症21例, 扩张型心肌病24例; 另选取门诊健康儿童30例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法测定血清FSTL1水平; 采用放射免疫分析法测定氨基末端脑利钠肽前体; 超声心动图测定左心室重构指标; Pearson相关或Spearman秩相关分析血清FSTL1与左心室重构指标的相关性。**结果** 心衰组治疗前血清FSTL1水平高于健康对照组 ($P<0.05$), 并随心衰程度加重而升高 ($P<0.05$)。心内膜弹力纤维增生症与扩张型心肌病患儿间血清FSTL1水平比较差异无统计学意义 ($P=0.176$)。血清FSTL1与左心室舒张末径 ($r=0.485$, $P=0.001$)、左心室质量 ($r=0.322$, $P=0.031$)、左心室质量分数 ($r=0.353$, $P=0.017$)、氨基末端脑利钠肽前体 ($r=0.562$, $P<0.001$) 呈正相关, 与左室射血分数 ($r=-0.436$, $P=0.003$)、左室短轴缩短率 ($r=-0.436$, $P=0.003$) 呈负相关。**结论** FSTL1可能参与CHF患儿左心室重构, 血清FSTL1可以作为儿童CHF临床诊断、病情评估的客观指标之一。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(2): 136-140]

[关键词] 慢性心力衰竭; 卵泡抑素样蛋白1; 左心室重构; 儿童

Change in serum follistatin-like protein 1 and its clinical significance in children with chronic heart failure

LI Bing-Lu, AN Jin-Dou, FENG Song, GE Wei. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (An J-D, Email: anjindou@zzu.edu.cn)

Abstract: Objective To investigate the change in the serum level of follistatin-like protein 1 (FSTL1) in children with chronic heart failure and its correlation with left ventricular remodeling. **Methods** A total of 45 children with chronic heart failure (CHF) between May 2014 and May 2015 were selected as the CHF group, among whom 21 had endocardial fibroelastosis (EFE) and 24 had dilated cardiomyopathy (DCM); another 30 healthy children were selected as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay was applied to measure the serum level of FSTL1. Radioimmunoassay was applied to measure N-terminal pro-brain natriuretic peptide, and echocardiography was applied to measure the indicators of left ventricular remodeling. The correlation between the serum level of FSTL1 and left ventricular remodeling was analyzed by Pearson correlation and Spearman's rank correlation analysis. **Results** Before treatment, the CHF group had a significantly higher serum level of FSTL1 than the control group ($P<0.05$), which gradually increased with aggravation of CHF ($P<0.05$). The serum level of FSTL1 showed no significant difference between the EFE and DCM groups ($P=0.176$). Serum level of FSTL1 was positively correlated with left ventricular end-diastolic diameter ($r=0.485$, $P=0.001$), left ventricular mass ($r=0.322$, $P=0.031$), left ventricular mass index ($r=0.353$, $P=0.017$), and N-terminal pro-brain natriuretic peptide ($r=0.562$, $P<0.001$), and was negatively correlated with left ventricular ejection fraction ($r=-0.436$, $P=0.003$) and left ventricular minor axis decurtation rate ($r=-0.436$, $P=0.003$). **Conclusions** FSTL1 might take part in the left ventricular remodeling in children with CHF, and the serum level of FSTL1 can be used as an objective index for clinical diagnosis and severity assessment of CHF in children.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(2): 136-140]

Key words: Chronic heart failure; Follistatin-like protein 1; Left ventricular remodeling; Child

[收稿日期] 2015-12-13; [接受日期] 2015-12-31

[作者简介] 李冰露, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 安金斗, 男, 主任医师, 教授。

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是由于神经-内分泌系统被激活所导致的心脏收缩与舒张功能障碍, 致使心脏泵血功能减退的一种复杂临床综合征^[1]。是婴幼儿期常见的临床危重病症, 病死率高。目前其诊断主要依据临床表现, 应用最广泛的实验室指标仍是氨基末端脑利钠肽前体 (amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-pro-BNP), 但其受年龄、BMI、左室肥大、肾功能不全等因素影响较多^[2-3], 因此寻找反映 CHF 的指标一直是临床医师关注的热点问题。国内外研究发现, 在压力负荷持续增加、缺血等条件下, 卵泡抑素样蛋白 1 (follistatin-like protein 1, FSTL1) 在心肌细胞中表达明显上调^[4-5]。在人晚期衰竭心肌中, FSTL1 表达上调, 且其表达水平随心衰加重而升高^[6]。但 FSTL1 与小儿 CHF 心室重构是否有相关性未见研究报道。本研究通过观察 CHF 患儿血清 FSTL1 水平变化, 并通过超声心动图测定心室重构指标, 探讨其与心室重构的相关性, 且与 NT-pro-BNP 作相关分析, 以判断其在临床诊断、病情评估中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 5 月至 2015 年 5 月在郑州大学第一附属医院儿科确诊为 CHF 的 45 例患儿为心衰组, 其中男 19 例, 女 26 例, 年龄 3.4 ± 1.9 岁; 包括扩张型心肌病 (DCM) 24 例、心内膜弹力纤维增生症 (EFE) 21 例。依据心功能分级将 45 例心衰患儿分为心功能 II 级组 ($n=10$)、心功能 III 级组 ($n=18$) 和心功能 IV 级组 ($n=17$)。心衰诊断标准参照中华医学会儿科学分会心血管学组制定的《小儿心力衰竭诊断与治疗建议》, 心功能分级根据改良的 Ross 评分标准^[7]。DCM 的诊断参考我国在 WHO/ISFC 报告基础上于 1995 年重新修订的诊断标准^[8]。EFE 的诊断参考 1988 年 Ino 提出的诊断标准^[9-10]。排除标准: 先天性心脏病、肺部疾病导致的急性心功能不全、严重肝肾功能不全者; 急性感染、各种恶性肿瘤、外伤、结缔组织病引起的心功能不全者。另选取同期在我院门诊行健康体检的儿童 30 例为健康对照组, 其中男

14 例, 女 16 例, 年龄 3.0 ± 2.0 岁。本研究已获得医院伦理委员会批准, 并获得所有入组儿童家长的知情同意。

1.2 标本采集

心衰组于入院后第 2 天清晨, 健康对照组于门诊体检早晨空腹 3~4 h 静脉采血 2 mL 注入红头干燥管中, 室温静置 30 min 后, 3000 r/min 离心 10 min, 分离的血清于 -80°C 冷冻保存待测。静脉给予心衰组患儿阿糖腺苷抗病毒, 给予丹参川芎嗪改善循环, 同时静脉给予果糖、磷酸肌酸钠、核黄素磷酸钠及甲硫氨酸维 B₁, 并口服强的松、地高辛、螺内酯和卡托普利治疗 2~3 周后, 再次抽取同一患儿空腹静脉血 2 mL, 方法同上。

1.3 标志物测定

FSTL1 采用酶联免疫吸附法测定, NT-Pro-BNP 采用放射免疫分析法测定。仪器为全自动酶标仪 (Multiskan FC), 美国 Thermo Fisher 公司生产, 试剂盒由上海酶联公司生产, 批号 GS-E709810。操作步骤按照试剂盒说明书进行。

1.4 心室重构参数测定

应用 PHILIP 公司 IE33 型多普勒超声心动图仪测定心衰组左心室舒张末径 (LVEDD)、舒张末室间隔厚度 (IVSD)、舒张末左心室后壁厚度 (PWT) 等左心室重构指标, 并记录左室射血分数 (LVEF)、左室短轴缩短率 (LVFS)。探头频率 2.5 Hz, 所有超声均由经验丰富的超声医师完成, 且医师不知情本研究。依据 Devereux 公式^[11]计算左心室质量 (LVM) $= 1.04 [(LVEDD + IVSD + PWT)^3 - LVEDD^3] - 14$ 。左心室质量分数 (LVMI) $= \text{LVM} / \text{体表面积}$ 。

1.5 统计学分析

应用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK- q 检验; 非正态分布的计量资料采用中位数 (四分位间距) [$M (P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料采用例数表示, 两组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 相关或 Spearman 秩相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

两组儿童年龄、性别、体重比较，差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ）。见表 1。

表 1 两组儿童一般情况比较

组别	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	体重 ($\bar{x} \pm s$, kg)	性别 (男/女, 例)
健康对照组	30	3.0 $\pm$ 2.0	13 $\pm$ 4	14/16
心衰组	45	3.4 $\pm$ 1.9	14 $\pm$ 4	19/26
$t(\chi^2)$ 值		0.868	1.154	(0.144)
P 值		0.389	0.252	0.813

2.2 治疗前不同心功能分级心衰患儿及健康对照组儿童血清 FSTL1 水平

治疗前心功能Ⅱ级、Ⅲ级、Ⅳ级组患儿血清 FSTL1 水平均高于健康对照组（ $P<0.05$ ）。且不同心功能分级组间两两比较差异均有统计学意义（ $P<0.05$ ）。见表 2。

表 2 治疗前不同心功能分级心衰患儿与健康对照组儿童血清 FSTL1 水平比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	例数	FSTL1 (ng/L)
健康对照组	30	440 $\pm$ 187
心功能Ⅱ级组	10	968 $\pm$ 431 ^a
心功能Ⅲ级组	18	1 654 $\pm$ 289 ^{ab}
心功能Ⅳ级组	17	2 348 $\pm$ 423 ^{abc}
F 值		49.22
P 值		<0.001

注：a 示与健康对照组比较， $P<0.05$ ；b 示与心功能Ⅱ级组比较， $P<0.05$ ；c 示与心功能Ⅲ级组比较， $P<0.05$ 。

2.3 不同病因导致的心衰患儿血清 FSTL1 水平

EFE、DCM 两组间血清 FSTL1 水平比较差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。见表 3。

表 3 不同病因心衰患儿血清 FSTL1 水平比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	例数	FSTL1 (ng/L)
EFE 组	21	1 624 $\pm$ 492
DCM 组	24	1 886 $\pm$ 743
t 值		1.375
P 值		0.176

注：[EFE] 心内膜弹力纤维增生症；[DCM] 扩张型心肌病。

2.4 相关性分析

相关分析结果显示血清 FSTL1 与 LVEDD、LVM、LVMI、心功能分级及 NT-pro-BNP 呈正相关（ r 分别为 0.485、0.322、0.353、0.814、0.562， $P<0.05$ ），与 LVEF、LVFS 呈负相关（ r 分别为 -0.436、-0.436， $P<0.05$ ），见图 1~7。

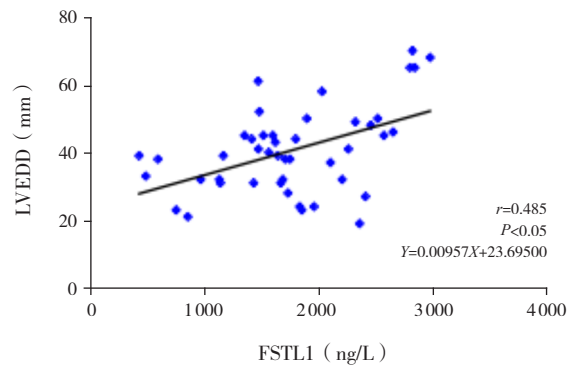


图 1 FSTL1 与 LVEDD 相关分析图

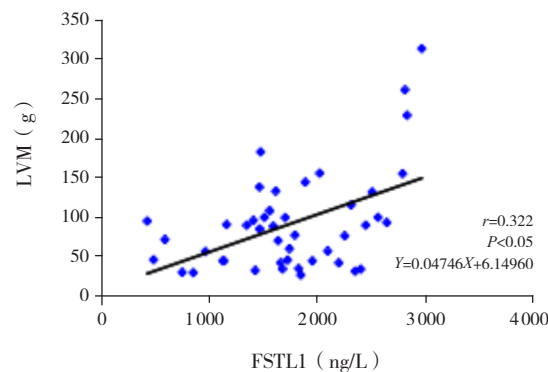


图 2 FSTL1 与 LVM 相关分析图

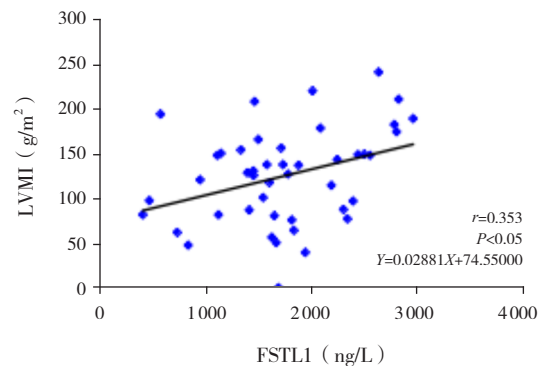


图 3 FSTL1 与 LVMI 相关分析图

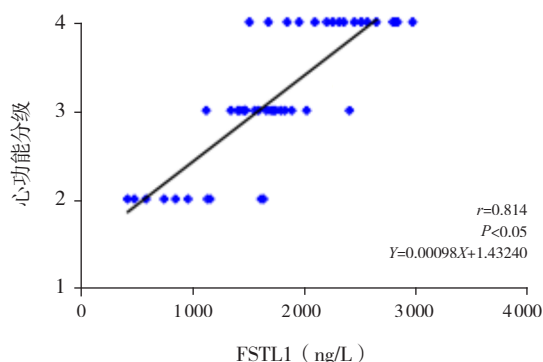


图 4 FSTL1 与心功能分级相关分析图

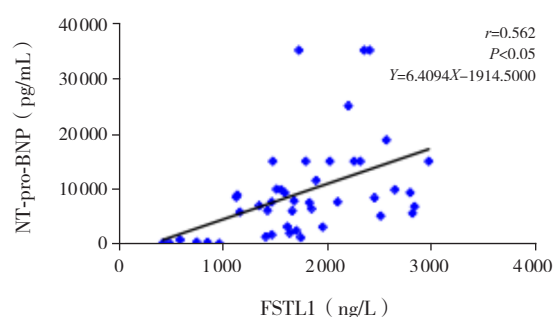


图 5 FSTL1 与 NT-pro-BNP 相关分析图

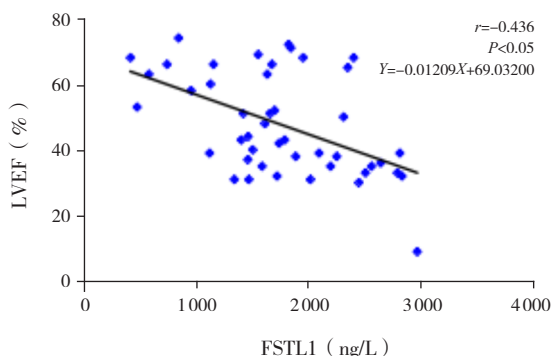


图 6 FSTL1 与 LVEF 相关分析图

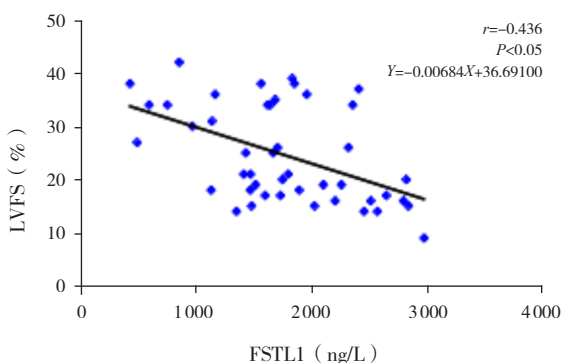


图 7 FSTL1 与 LVFS 相关分析图

3 讨论

FSTL1 是一种细胞外基质糖蛋白, 其分子量约 35 kD, 糖基化后分子量在 45~55 kD 范围内。其在胚胎发育、细胞增殖、迁移及器官的形成中发挥着重要作用^[12]。近年来 Oshima 等^[4]证实 FSTL1 是一种由心肌细胞分泌的心脏保护因子, 具有保护心肌细胞、抗凋亡的功能。在持续过表达 Akt 的转基因小鼠心肌中 FSTL1 表达显著上调, 而且压力负荷增加、心肌缺血和缺血-再灌注损伤均可以诱导心肌表达 FSTL1 上调。Ouchi 等^[13]发现给心肌缺血小鼠注射腺病毒载体介导的 FSTL1, 缺血区毛细血管密度增加, 局部血流恢复, 凋亡心肌细胞减少。给心肌缺血再灌注损伤模型小鼠注射重组人 FSTL1 蛋白后, 心肌梗死面积减少, 心肌收缩功能改善, 并且心肌凋亡和炎症反应下降^[14]。上述研究均说明 FSTL1 具有保护心肌细胞的作用。

Lara-Pezzi 等^[6]研究显示, 在心衰心肌中 FSTL1 的表达是升高的, 并随心衰加重表达水平升高, 在心衰缓解后, 其表达水平下调。本研究显示, 心衰患儿治疗前 FSTL1 水平明显高于健康对照组, 随心衰程度加重递增, 且不同心功能分级患儿血清 FSTL1 含量之间差异有统计学意义。说明随心肌损伤程度加重, 心肌细胞分泌 FSTL1 越多, 从而起到保护心肌细胞的作用。这也提示 FSTL1 可以作为评价心衰严重程度的一项指标。同时, 本研究还比较了不同病因导致的心衰患儿血清 FSTL1 水平变化, 显示差异无统计学意义, 说明该指标可能不受原发疾病的影响, 从而弥补了 NT-pro-BNP 的不足。

国外学者 El-Armouche 等^[15]及国内学者张芾等^[16]均证实, FSTL1 可能作为心肌细胞分泌的保护性因子参与心室重构, 心力衰竭患者血清 FSTL1 水平与 LVEDD、LVMI 及 NT-pro-BNP 呈正相关, 与 LVEF、PWT 呈负相关, 控制了年龄、性别、心血管危险因素和生化指标后, FSTL1 水平仍与 LVMI 呈正相关, 这提示心力衰竭患者血清 FSTL1 水平与左心室重构程度具有显著独立的相关性。本研究也证实了这一结果, 说明无论在成人或是儿童, 血清 FSTL1 可能参与左心室重构。

综上所述, 血清 FSTL1 表达水平不仅可以作

为成人诊断 CHF 的标志物, 而且也可以适用于儿童。其随着心衰严重程度递增, 且不受原发疾病的影响, 并与 NT-pro-BNP 及 LVM 等呈线性相关, 在一定程度上可判断心室重构。从而为临床诊断及判断心衰程度提供了新的生化标志物。

[参 考 文 献]

- [1] Shah AM, Mann DL. In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science[J]. *Lancet*, 2011, 378(9792): 704-712.
- [2] Karayannis G, Triposkiadis F, Skoularigis J, et al. The emerging role of Galectin-3 and ST2 in heart failure: practical considerations and pitfalls using novel biomarker[J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2013, 10(4): 441-449.
- [3] Tülüce K, Yakar Tülüce S, Yavuzgil O, et al. The left atrial phasic functions and the relationship with plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels and symptomatic states in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2014, 14(8): 719-727.
- [4] Oshima Y, Ouchi N, Sato K, et al. Follistatin-like 1 is an Akt-regulated cardioprotective factor that is secreted by the heart[J]. *Circulation*, 2008, 117(24): 3099-3108.
- [5] Widera C, Giannitsis E, Kempf T, et al. Identification of follistatin-like 1 by expression cloning as an activator of the growth differentiation factor 15 gene and a prognostic biomarker in acute coronary syndrome[J]. *Clin Chem*, 2012, 58(8): 1233-1241.
- [6] Lara-Pezzi E, Felkin LE, Birks EJ, et al. Expression of follistatin-related genes is altered in heart failure[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(11): 5822-5827.
- [7] 中华医学会儿科学分会心血管学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 小儿心力衰竭诊断与治疗建议[J]. *中华儿科杂志*, 2006, 44(10): 753-757.
- [8] 杨英珍, 王齐兵. 扩张型心肌病的诊断和治疗研究进展[J]. *中华心血管病杂志*, 2003, 31(9): 645-649.
- [9] 徐健. 心内膜弹力纤维增生症研究进展[J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(6): 475-480.
- [10] Ino T, Benson LN, Freedom RM, et al. Natural history and prognostic risk factors in endocardial fibroelastosis[J]. *Am J Cardiol*, 1988, 62(7): 431-434.
- [11] Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings[J]. *Am J Cardiol*, 1986, 57(6): 450-458.
- [12] Le Luque JB, Condamine T, Louvet C, et al. An immunomodulatory role for follistatin-like 1 in heart allograft transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2008, 8(11): 2297-2306.
- [13] Ouchi N, Oshima Y, Ohashi K, et al. Follistatin-like 1, a secreted muscle protein, promotes endothelial cell function and revascularization in ischemic tissue through a nitric-oxide synthase-dependent mechanism[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(47): 32802-32811.
- [14] Ogura Y, Ouchi N, Ohashi K, et al. Therapeutic impact of follistatin-like 1 on myocardial ischemic injury in preclinical models[J]. *Circulation*, 2012, 126(14): 1728-1738.
- [15] El-Armouche A, Ouchi N, Tanaka K, et al. Follistatin-like 1 in chronic systolic heart failure: a marker of left ventricular remodeling[J]. *Circ Heart Fail*, 2011, 4(5): 621-627.
- [16] 张芑, 郑哲, 魏英杰, 等. 人血清卵泡抑素样蛋白 1 与器质性心脏病左心室重构程度的相关性研究[J]. *心肺血管病杂志*, 2010, 29(3): 169-173.

(本文编辑: 万静)