

# 心钠肽、脑钠肽与心房颤动的相关性研究

刘文洁 杨 浩 蔚有权 王劲风 曹 衡

( 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 心血管内科 安徽 芜湖 241001)

**【摘要】**目的: 通过检测房颤患者血浆中的心钠肽( ANP)、脑钠肽( BNP) 水平以及 ANP 基因 rs5065、BNP 基因 rs198389 单核苷酸多态性, 从而探讨其与房颤的关系。方法: 选取房颤患者 60 例为房颤组, 非房颤患者 30 例为对照组。采用酶联免疫吸附法( ELISA) 测定血浆心钠肽、脑钠肽水平, 采用 Sanger 测序法进行 rs5065、rs198389 的 DNA 检测。结果: 房颤组血浆心钠肽水平明显高于对照组 [( 982. 24 ± 139. 44) pg/mL vs ( 884. 42 ± 136. 79) pg/mL]; 房颤组血浆脑钠肽水平明显高于对照组 [( 160. 14 ± 24. 28) pg/mL vs ( 129. 00 ± 27. 11) pg/mL] ( $P < 0. 01$ )。ANP rs5065 位点的基因型频率在房颤组及对照组无差别 ( AA vs AG + GG  $P > 0. 05$ ), rs5065 的 A、G 等位基因在房颤组与对照组之间均无统计学差异。rs198389 位点的基因型频率在房颤组及对照组无差别 ( AA vs AG + GG  $P > 0. 05$ )。rs198389 的 A、G 等位基因在两组间也无统计学差异。BNP 的水平增高与房颤发生的风险存在关联 (  $OR = 1. 051$ , 95%  $CI = 1. 020 \sim 1. 083$ ,  $P = 0. 001$ )。结论: 房颤患者血浆 ANP、BNP 水平显著高于对照组。rs5065、rs198389 位点单核苷酸多态性与房颤发生的风险无显著相关性。BNP 水平的增高与房颤发生的风险存在关联。

**【关键词】**房颤; 心钠肽; 脑钠肽; 单核苷酸多态性

**【中图分类号】**R 541. 75 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2016. 01. 010

## Association of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide with atrial fibrillation

LIU Wenjie, YANG Hao, WEI Youquan, WANG Jinfeng, CAO Heng

Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

**【Abstract】Objective:** To determine the plasma level of atrial natriuretic peptide( ANP) and brain natriuretic peptide( BNP) as well as single nucleotide polymorphism( SNP) of ANP gene rs5065 and BNP gene rs198389 for clarifying the association of these peptides with incidence of atrial fibrillation( AF) .

**Methods:** Sixty patients with AF were included as AF group and another 30 subjects without AF as controls. Enzyme-linked immunosorbent assay ( ELISA) was used to measure the plasma ANP and BNP concentration and Sanger sequencing was performed to determine minor alleles of rs5065 and rs198389.

**Results:** Higher ANP and BNP levels were observed in AF group [ANP: ( 982. 24 ± 139. 44) pg/mL vs ( 884. 42 ± 136. 79) pg/mL; BNP: ( 160. 14 ± 24. 28) pg/mL vs ( 129. 00 ± 27. 11) pg/mL, respectively,  $P < 0. 01$ ]. There was no difference between AF group and control group regarding the ANP rs5065 ( AA vs AG + GG  $P > 0. 05$ ) and rs198389 genotype frequencies ( AA vs. AG + GG  $P > 0. 05$ ) and the difference was not statistically significant concerning A and G alleles at rs5065 and rs198389 in the two groups. However, incidence of AF was increased with elevated BNP levels (  $OR = 1. 051$ , 95%  $CI = 1. 020 - 1. 083$ ,  $P = 0. 001$ ) . **Conclusion:** Patients complicated with AF have higher plasma ANP and BNP concentration, and the minor alleles of rs5065 and rs198389 are not risk genes for AF, yet increased BNP level may be risks associated with incidence of AF.

**【Keywords】**atrial fibrillation; atrial natriuretic peptide; brain natriuretic peptide; single nucleotide polymorphis

心房颤动( 简称房颤) 是临床上最常见的心律失常, 指心房活动失去协调性导致心房电、机械功能重塑为特征的一种室上性心律失常。房颤是多种心脑血管疾病的独立危险因素, 如心力衰竭和脑血栓栓塞等。作为一种由环境因素和遗传因素共同决定的复杂性疾病, 房颤的发病机制十分复杂。大量的

研究表明遗传因素与房颤的发病机制有相关性。本文通过对房颤人群血浆 ANP、BNP 浓度的水平变化以及 ANP 基因 rs5065、BNP 基因 rs198389 位点的检测, 探讨其与房颤的关系。

收稿日期: 2015-06-03

作者简介: 刘文洁( 1979-), 女, 副主任医师, 硕士, ( 电话) 13955369423, ( 电子信箱) 853600954@qq. com;

曹 衡, 女, 主任医师, 教授, 硕士生导师, ( 电话) 13956196933, ( 电子信箱) yjscaoheng@163. com, 通讯作者。

1 资料和方法

1.1 病例资料 2013年11月~2014年2月皖南医学院弋矶山医院心内科门诊及住院诊治的房颤患者根据NYHA分级选择心功能I~II级,结合心电图经临床诊断房颤的患者同时排除风湿性瓣膜病、先天性心脏病、肺源性心脏病、扩张性心肌病等器质性疾病以及甲状腺疾病、肿瘤及恶液质、急性重症感染、严重电解质紊乱的患者。60例均来自皖南地区的汉族人群房颤患者入选。其中男性35例,女性25例。年龄38~81岁,平均年龄(63.95±10.34)岁。另选取同期非房颤患者30例为对照组,其中男性20例,女性10例;年龄42~77岁,平均年龄(60.10±9.10)岁,所有患者均获得知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 研究对象调查 包括性别、年龄、身高、体重、血压、吸烟史、饮酒史、有无合并症(如冠心病、高血压、糖尿病)等。

1.2.2 血样采集及检测 清晨抽取研究对象空腹静脉血液共2 mL(肝素抗凝)放于-80℃冻存,以酶联免疫分析测定盒检测患者血浆ANP、BNP浓度水平(上海生工)。

1.2.3 Sanger测序的方法检测 ANP 基因 rs5065 及 BNP 基因 rs198389 多态性位点 静脉血提取 DNA 后进行 PCR 扩增, Rs5065 正向引物 GCGAGGAAGT-CACCATCA, 反向引物 GCCACTAGCACTGGGAAA。Rs198389 正向引物 TCCTGGAGCTGAGTGTCCG, 反向引物 AGAGCATAGGGAAAGGTCTCG, 扩增之后的 PCR 产物再使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳分离, 之后用 DNA 回收试剂盒进行回收纯化后用 Sanger 法在核苷酸某一固定的点开始, 在某个特定的碱基处随机终止, 用荧光对每个碱基后面进行标记, 产生四组长度不同以 A、T、C、G 结束的一系列核苷酸, 之后用电泳进行检测, 获得可见的 DNA 碱基序列。

1.3 统计学处理 所有数据采用 SPSS 17.0 软件分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较分别采用 *t* 检验; 计数资料采用率表示,  $\chi^2$  检验及 Fisher 精确概率法, 以 0.05 为检验水准。采用 Logistic 多因素回归模型分析房颤发生风险的因素, 计算 OR 值。

表 3 rs5065 基因型及等位基因在房颤组及对照组的分布

分组	基因型频率				等位基因频率	
	AA	AG	GG	AG + GG	A	G
房颤组 (n = 60)	59 (0.983)	1 (0.017)	0	1 (0.017)	119 (0.992)	1 (0.008)
对照组 (n = 30)	30 (1.000)	0	0	0	60 (1.000)	0
P 值	>0.05*				>0.05*	

\* Fisher 精确概率法。

Hardy-Weinberg 平衡定律用于检验群体代表性。

2 结果

2.1 两组一般临床资料比较 根据入选标准一共入选了 60 例房颤患者, 30 例非房颤患者作为对照组进行研究。其中男性 55 例, 占 61.1%, 女性 35 例, 占 38.9%。房颤组中男性 35 例占 58.3%, 女性 25 例, 占 41.7%, 对照组中男性 20 例, 占 66.7%, 女性 10 例, 占 33.3% (见表 1)。

表 1 房颤组与对照组一般资料

分组	例数	性别		年龄 ( $\bar{x} \pm s$ ) / 岁
		男	女	
房颤组	60	35	25	63.95 ± 10.34
对照组	30	20	10	60.10 ± 9.10
$\chi^2$ (或 <i>t</i> 值)		0.584		1.805
P 值		>0.05		>0.05

2.2 两组血浆 ANP、BNP 水平比较 房颤组血浆 ANP 水平和 BNP 水平与对照组相比有统计学差异, 见表 2。

表 2 房颤组与对照组 ANP、BNP 的血浆水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

	ANP / (pg/mL)	BNP / (pg/mL)
房颤组 (n = 60)	982.24 ± 139.44	160.14 ± 24.28
对照组 (n = 30)	884.42 ± 136.79	129.00 ± 27.11
<i>t</i> 值	3.157	5.516
P 值	<0.05	<0.05

2.3 rs5065、rs198389 基因型等位基因在两组的分布 ANP rs5065 和 BNP rs198389 位点用 Hardy-Weinberg 平衡定律检验房颤组和对照组的等位基因均符合遗传平衡定律。ANP rs5065 位点的 AA、AG、GG 基因型频率在房颤组与对照组比较差异无统计学意义。BNP rs198389 SNPs 位点的 AA、AG、GG 基因型频率在房颤组和对照组之间比较统计学也无差异。rs5065 的 A 等位基因及 G 等位基因在房颤组与对照组之间无统计学差异。rs198389 的 A 等位基因及 G 等位基因在两组间均无统计学意义 (见表 3、4)。

2.4 单因素 Logistic 回归分析 结果表明, ANP、BNP 这两个因素与房颤相关性有统计学意义 ( $P < 0.01$ ) (见表 5)。

表4 rs198389 基因型及等位基因在房颤组及对照组的分布

分组	基因型频率				等位基因频率	
	AA	AG	GG	AG + GG	A	G
房颤组( n = 60)	49( 0. 817)	11( 0. 183)	0	11( 0. 183)	109( 0. 908)	11( 0. 092)
对照组( n = 30)	25( 0. 833)	5( 0. 167)	0	5( 0. 167)	55( 0. 917)	5( 0. 083)
$\chi^2$ 值						0. 034
P 值	0. 097*					>0. 05

\* Fisher 精确概率法。

表5 单因素 Logistic 回归分析结果

影响因素	赋值	B	OR	$\chi^2$	P
高血压	否 = 0 ,是 = 1	0. 560	1. 750	1. 499	0. 221
冠心病	否 = 0 ,是 = 1	-0. 067	0. 935	0. 022	0. 881
糖尿病	否 = 0 ,是 = 1	-0. 125	0. 882	0. 042	0. 837
ANP	≤900 = 1 , >900 = 2	0. 005	1. 005	8. 327	0. 004
BNP	≤130 = 1 , >130 = 2	0. 049	1. 051	17. 709	0. 000
体质质量指数	≤23 = 1 , >23 = 2	0. 112	1. 118	1. 654	0. 198
吸烟	否 = 0 ,是 = 1	-0. 579	0. 560	1. 559	0. 212
饮酒	否 = 0 ,是 = 1	-0. 784	0. 457	2. 650	0. 104
收缩压	≤140 = 1 , >140 = 2	-0. 002	0. 998	0. 024	0. 878
舒张压	≤90 = 1 , >90 = 2	0. 005	1. 005	0. 082	0. 774

2.5 多因素 Logistic 回归分析 结果显示 BNP 水平的增高与房颤发生的风险存在关联( OR = 1. 051 , 95% CI = 1. 020 ~ 1. 083 , P = 0. 001) , 见表 6。

表6 多因素 Logistic 回归分析结果

影响因素	B	OR	OR 95% CI	$\chi^2$	P
BNP	0. 050	1. 051	1. 020 ~ 1. 083	10. 462	0. 001
ANP	-0. 001	0. 999	0. 994 ~ 1. 004	0. 266	0. 606

### 3 讨论

房颤是临床上最常见的室上性心律失常,由于心房活动失去协调性导致心房电、机械功能重塑为特征的一种心律失常。中国房颤患者接近 800 万,房颤已成为心脑血管疾病高发的重要危险因素。心房颤动发生是多种因素的结果,不仅与遗传有关,也与外部环境、年龄和其他因素有关,因此导致基因型和表型不完全一致,从而使房颤的发生机制复杂。目前已发现多种房颤致病基因及房颤易感基因。在 2008 年,Hodgson-Zingman 等<sup>[1]</sup>对乌拉圭国内的一个房颤家系的研究中发现 NPPA 这个房颤的非离子通道致病基因变异,系一个移码突变(c. 456-457delAA)使 ANP 羧基端氨基酸增加,导致 ANP 降解延长,从而影响了心肌细胞的离子电流,使心房动作电位的持续时间以及有效不应期时间均缩短,因此引起房颤的发生及维持。这一发现使人们对房颤

的认识有了新的领域,并提出了导致房颤发生的新的机制。

利钠肽是一类在水钠平衡、血流动力学调节及改善心肌重构中都具有重要作用的多肽类激素,经临床研究发现其中心钠肽和脑钠肽是与心血管疾病发生存在关联较多的多肽激素。

本文结果表明房颤患者体内 ANP 浓度增高,可能与其分泌增多有关。ANP 主要由心房分泌,其分泌受心房压力影响,心室仅分泌少量的 ANP。当房颤发作时心房由原来的窦性节律下的规则激动变成极不规则的颤动,同时在房颤发作时的心房无效收缩使心房内血液排空速度减慢,心房压力持续升高,并且房颤患者交感神经兴奋性增高,作用于血管紧张素 II,使其受体激活,介导心房肌细胞产生增生和间质纤维化,从而出现心房体积增大、心房肌细胞发生重塑,最终激动心房肌细胞合成和释放大量 ANP<sup>[2]</sup>。房颤患者体内存在高浓度 ANP 可能是机体的一种代偿机制,尤其是由于房颤长期持续发作可引起心脏功能不全,心排量下降,此时机体的 ANP 升高可以通过加强利钠利尿、扩血管,改善心功能从而起到一定程度的代偿。Mandalenakis 等<sup>[3]</sup>发现被调查老年男性对象发生房颤的风险与 ANP 血浆水平增高存在明显相关性,Ren 等<sup>[4]</sup>进行研究表明 NPPA 多态性在中国人群与孤立性房颤的风险呈相关性。因此,NPPA 是孤立性房颤的一个易感基。

rs5065 是 ANP 基因外显子 3 上的一个位点,其终止码的改变导致 ANP 功能变化。Roberts 等<sup>[5]</sup>在欧洲及北美两大人群中 NPPA 调查发现常见的 rs5065 的单核苷酸变异与房颤的发生没有关联。2013 年 Francia<sup>[6]</sup>研究发现 rs5065 的单核苷酸多态性与房颤无相关性。本文的研究结果也进一步证实了在皖南地区汉族人群中房颤的发病与 rs5065 的多态性无相关性。

房颤患者 BNP 水平的升高可能与心房受牵拉以及容量负荷过重的时候 BNP 释放增加有关,其水平变化与房颤的病程有关。其机制可能是由于房颤时心房丧失收缩能力致左心室充盈受限,左室收缩能力下降,导致血流动力学紊乱心室牵张受刺激后出现 BNP 的分泌增加。Deqener 等<sup>[7]</sup>报道,阵发性房颤及持续性房颤经导管消融后 3 个月检测患者的血浆脑钠肽的水平明显降低。而 Sacher 等<sup>[8]</sup>报道,慢性房颤导管消融后 3 个月时患者血浆 BNP 的水平均可恢复至正常范围内。这些研究均表明 BNP 的血浆浓度与房颤存在明显相关性。本研究也通过对房颤组及对照组的比较分析得出房颤患者体内 BNP 浓度较非房颤患者明显增高,提示 BNP 升高可能与房颤发生存在相关性,是房颤发生的独立预测因素。Del Greco 等<sup>[9]</sup>研究结果发现,在 MTHFR-CLCN6-NPPA-NPPB 这个基因座中,血 NTproBNP 水平增高与 4 个单倍型包括 22 个 SNPs 的组成显著相关。NPPB 的 rs198389 位点位于 5' 启动子区域,该位点的单核苷酸多态性与高血压病存在相关性,但关于房颤的相关性未见报道。本研究的结果 BNP rs198389 基因型没有被纳入回归模型最后步骤,提示基因型可能不是房颤的独立危险因素。虽然表明其多态性与房颤无明显相关性,但由于研究的病例数有限,未能进行大量样本的研究,因此仍需进一步更深入的研究来证实 rs198389 位点多态性与房颤的关系。

BNP 主要是由心室分泌,心室的体积、压力增高均可导致血浆内 BNP 水平的升高,其升高的程度与心室扩张和压力增高成正相关。Inoue 等<sup>[10]</sup>通过检测发现房颤患者冠状窦处脑钠肽水平明显高于前室间静脉处,表明房颤发生时脑钠肽是来源于心房分泌的。复律前高水平的 BNP 是房颤复发的独立危

险因素,测定复律前血 BNP 水平可以预测房颤患者复律后房颤复发的危险,本文研究结果显示 BNP 水平的增高与房颤发生的风险存在显著相关,BNP 是房颤发生的独立危险因素( $OR = 1.051$ ,  $95\% CI = 1.020 \sim 1.083$ ,  $P = 0.001$ )。BNP 是目前最好的用于评价心力衰竭的实验室检测指标,与 ANP 相比,BNP 在血管再重塑中及在血压调节中起重要作用,BNP 能更好地提示房颤发生的风险。

## 【参考文献】

- [1] HODGSON-ZINGMAN DM, KARST ML, ZINGMAN LV *et al.* Atrial natriuretic p-peptide frameshift mutation in familial atrial fibrillation[J]. *New Engl J Med* 2008, 359: 158 - 165.
- [2] GLOBIS S, FRANK H, PACHER B *et al.* Atrial natriuretic peptide release is more dependent on atrial filling volume than filling pressure in chronic congestive heart failure[J]. *Am Heart J*, 1998, 135: 592 - 597.
- [3] MANDALENAKIS Z, ERIKSSON H, WELIN L *et al.* Atrial natriuretic peptide as a predictor of atrial fibrillation in a male population study. The study of men born in 1913 and 1923 [J]. *Int J Cardiol* 2014, 171(1): 44 - 48.
- [4] REN X, XU C, ZHAN C *et al.* Identification of NPPA variants associated with atrial fibrillation in a Chinese GeneID population [J]. *Clin Chim Acta* 2010, 411(7/8): 481 - 485.
- [5] ROBERTS JD, DAVIES RW, LUBITZ SA *et al.* Evaluation of non-synonymous NPPA single nucleotide polymorphisms in atrial fibrillation [J]. *Europeace* 2010, 12(8): 1078 - 1083.
- [6] FRANCA P, RICOTTA A, FRATTARI A *et al.* Atrial Natriuretic Peptide Single Nucleotide Polymorphisms in Patients with Nonfamilial Structural Atrial Fibrillation [J]. *Clin Med Insights Cardiol*, 2013, 7(7): 153 - 159.
- [7] DEGENER S, PATTERQ SV, FEUERSEMER H *et al.* Predictive value of B-type natriuretic peptide levels in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation undergoing pulmonary vein isolation [J]. *J Inter Card Electrophysiol* 2011, 30(3): 217 - 215.
- [8] SACHER F, CORCUFF JB, SCHRAUB *et al.* Chronic atrial fibrillation ablation impact on endocrine and mechanical cardiac functions [J]. *Euro Heart J* 2008, 29(10): 1290 - 1295.
- [9] DEL GRECO MF, PATTARO C, LUCHNER A *et al.* Genome-wide association analysis and fine mapping of NT-proBNP levels provide novel insight into the role of the MTHFR-CLCN6-NPPA-NPPB gene cluster [J]. *Hum Mol Genet* 2011, 20(8): 1660 - 1671.
- [10] INOUE S, MURAKAMI Y, SANO K *et al.* Atrium as a source of brain natriuretic polypeptide in patients with atrial fibrillation [J]. *Journal of Cardiac Failure* 2000, 6: 92 - 96.