

老年急性 ST 段抬高型心肌梗死患者血浆 miR-499-5p 表达水平对并发急性心力衰竭的预测价值

李娟^a, 张芬红^a, 徐卓婧^a, 张涛^b

(西安市第五医院 a. 心血管二病区; b. 呼吸内科, 西安 710082)

摘要: 目的 探讨老年急性 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 患者血浆微小核糖核酸 -499-5p (miR-499-5p) 水平对并发急性心力衰竭 (AHF) 的预测价值。方法 连续性收集 2019 年 1 月~12 月就诊于西安市第五医院的 135 例老年急性 STEMI 患者纳入病例组, 并根据发病 48h 内是否发生急性心力衰竭 (AHF) 将病例组分为 AHF 亚组和非 AHF 亚组。另随机选择同期在该院行健康体检的志愿者 50 例为对照组。采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法检测血浆 miR-499-5p 的相对表达水平。结果 病例组血浆 miR-499-5p 相对表达水平显著高于对照组 ($Z=10.434$, $P<0.001$)。AHF 亚组血浆 miR-499-5p 相对表达水平显著高于非 AHF 亚组 ($Z=5.817$, $P<0.001$)。病例组患者血浆 miR-499-5p 相对表达水平与 cTnI, CK-MB, BNP 和 Killip 分级均呈正相关关系 ($r=0.339, 0.243, 0.477, 0.581$, 均 $P<0.01$)。多因素分析结果显示老年急性 STEMI 患者血浆 miR-499-5p 表达升高是并发 AHF 的独立危险因素 ($OR=3.192$, $P=0.011$)。血浆 miR-499-5p 预测 AHF 的 AUC 为 0.797 (0.725, 0.869)。结论 老年急性 STEMI 患者血浆 miR-499-5p 表达水平显著升高, 可能是并发 AHF 的独立危险因素。

关键词: 急性心肌梗死; 急性心力衰竭; 微小核糖核酸 -499-5p

中图分类号: R542.22; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 03-048-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.03.011

Predictive Value of Plasma miR-499-5p for Acute Heart Failure after Acute ST-Elevated Myocardial Infarction in Elderly Patients

LI Juan^a, ZHANG Fen-hong^a, XU Zhuo-jing^a, ZHANG Tao^b

(a.Cardiovascular Second Ward;b.Department of Respiratory Medicine, Xi'an No. 5 Hospital, Xi'an 710082, China)

Abstract: Objective To investigate the predictive value of plasma miR-499-5p for acute heart failure (AHF) after acute ST-elevated myocardial infarction (STEMI) in elderly patients. **Methods** 135 elderly patients with acute STEMI and 50 controls who hospitalized in the Fifth Hospital of Xi'an City from January 2019 to December 2019 were selected into this study as case group and control group, respectively. According to the occurrence of AHF during the initial 48 hours after the onset of disease, the patients of case group were divided into AHF subgroup and non-AHF subgroup. Real-time quantitative PCR was used to determine the expression of miR-499-5p in plasma. **Results** The plasma miR-499-5p level in case group was far higher than that in control group ($Z=10.434$, $P<0.001$). The plasma miR-499-5p level in AHF subgroup was far higher than that in non-AHF subgroup ($Z=5.817$, $P<0.001$). Correlation analysis showed that there was a positive correlation between plasma miR-499-5p and cardiac troponin I (cTnI), creatine kinase-MB (CK-MB), B-type natriuretic peptide (BNP), Killip classification ($r=0.339, 0.243, 0.477$ and 0.581 , all $P<0.01$). Binary logistics regression analysis showed that plasma miR-499-5p was independent risk factor for AHF in elderly patients with acute STEMI ($OR=3.192$, $P=0.011$). The area under the ROC curve of miR-499-5p predicting for AHF was 0.797(0.725, 0.869). **Conclusion** Plasma miR-499-5p level was significantly increased in elderly patients with acute STEMI, and the higher admission plasma miR-499-5p maybe an independent predictor of AHF.

Keywords: acute myocardial infarction; acute heart failure; miR-499-5p

急性心力衰竭 (acute heart failure, AHF) 是心肌梗死患者最常见的院内并发症之一, 尤其在老年患者中发生风险更高, 严重影响患者预后^[1-2]。近年来, 越来越多研究证据表明存在多种微小

RNA (micro RNA, miRNA) 可能参与冠心病、心力衰竭、心律失常等心脏疾病的发生发展过程^[3-4]。MiR-499 即是其中代表之一, 研究报道 miR-499 与 NKx2.5, GATA4 和 MEF2C 等多种心肌细胞特征性

作者简介: 李娟 (1987-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 心内、糖尿病, E-mail: xianlijuan19870513@163.com。

通讯作者: 张涛 (1980-), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 重症呼吸, E-mail: 1113003531@qq.com。

基因密切相关,可通过多条途径参与调控心肌细胞的病理生理功能^[5]。多项临床研究结果显示血浆 miR-499 水平对急性心肌梗死具有较高的诊断价值和判断预后价值,且不易受年龄、性别、肾功能等临床指标影响,可与心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI) 等指标相互补充,提高诊断准确性^[6-7]。然而,目前鲜有报道 miR-499 与心力衰竭的相关性,心肌梗死并发 AHF 患者外周血 miR-499 水平的相关研究更为罕见。因此,本研究拟分析老年急性 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 患者血浆 miR-499-5p 对并发 AHF 的预测价值,为临床提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 连续性选择 2019 年 1 月~12 月西安市第五医院心血管二病区住院治疗的年龄 ≥ 60 岁的 135 例急性 STEMI 患者纳入病例组,其中男性 74 例,女性 61 例,年龄 60~83 岁,平均年龄 68.02 ± 5.53 岁。另随机于同期在我院行健康体检人员中选择 50 例老年志愿者作为对照组,其中男性 25 例,女性 25 例,年龄 60~77 岁,平均年龄 66.34 ± 4.88 岁。两组研究对象年龄、性别差异均无统计学意义 ($t=1.895$, $\chi^2=0.340$, 均 $P > 0.05$)。急性 STEMI 诊断符合 2015 年版《中国急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南》^[8],且发病到入院时间 < 12 h。排除标准:①并发陈旧性心肌梗死;②既往并发慢性心力衰竭;③并发心肌病、心脏瓣膜病等其他心脏疾病;④并发恶性肿瘤、严重肝肾功能障碍、严重感染。参照 2014 年版《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014》^[9],结合急性 STEMI 患者入院后 48h 内的临床表现、体格检查和相关辅助检查等结果,评估患者是否并发 AHF,并以此标准进行分组。

1.2 仪器与试剂 miRNeasy Serum/Plasma 试剂盒 (QIAGEN 公司),HG TaqMan miRNA 反转录试剂盒 (新海基因检测有限公司),Biosystems7500 实时 PCR 系统 (Thermo Fisher 公司)。

1.3 方法

1.3.1 血浆 miR-499-5p 相对表达水平检测: STEMI 患者于入院时采集外周静脉血样本,对照组成员则于体检日清晨采集空腹静脉血样本。按照说明书操作步骤提取总 RNA,采用反转录试剂盒,以实时荧光定量 PCR 法检测血浆 miR-499-5p 表达水平。以 U6 为内参基因,miR-499-5p 引物为上游: 5'-CGTGTCGACCAAGTCTGGGGTGAAAGAGAAG-3'; 下游: 5'-TGTGTGTCGACGGTCATGAGCTTGTGAGGTTTC-3'。病例组及两亚组均以对照组为对照,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 miR-499-5p 相对表达水平。

1.3.2 一般临床资料收集: 包括年龄、性别、体质指数 (body mass index, BMI)、吸烟史、饮酒史、高血压病史、糖尿病病史、血脂异常病史、再灌注治疗情况、入院时收缩压及舒张压等。对于病例组患者还需记录 Killip 分级评估情况,并采集患者 cTnI,肌酸激酶-MB 同工酶 (creatin kinase-MB, CK-MB) 和脑钠肽 (B-type natriuretic peptide, BNP) 的动态监测结果,本研究均取入院 24 h 内的峰值作为结果进行统计。

1.4 统计学分析 本研究采用 SPSS19.0 统计软件分析处理,对于同时符合正态分布和方差齐性检验的计量资料,其结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间均数比较采用 t 检验;对于不符合正态分布和 (或) 方差齐性检验的计量资料,其结果采用四分位数法表示,两组间比较采用 Mann-Whitney 检验。计数资料结果以构成百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析法或 Spearman 相关分析法。多因素分析采用二分类 Logistic 回归分析法。绘制 ROC 曲线评价 miR-499-5p 和 BNP 对 AHF 的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般临床特征比较 见表 1,病例组与对照组在 BMI,吸烟、饮酒、高血压、糖尿病、收缩压、舒张压等方面差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。病例组患者血脂异常比例及 cTnI, CK-MB, BNP 血清水平均显著高于对照组,差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。AHF 亚组与非 AHF 亚组在 BMI,吸烟、饮酒、高血压、糖尿病、血脂异常、再灌注治疗、收缩压、舒张压等方面差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。AHF 亚组患者 cTnI, CK-MB, BNP 血清水平均显著高于非 AHF 亚组,差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

2.2 各组血浆 miR-499-5p 相对表达水平比较 见表 1。病例组血浆 miR-499-5p 相对表达水平显著高于对照组, AHF 亚组显著高于非 AHF 亚组,差异均具有统计学意义 ($Z=10.434, 5.817$, 均 $P < 0.001$)。

2.3 病例组血浆 miR-499-5p 相对表达水平与 cTnI, CK-MB 及 BNP 的相关性分析 Pearson 相关性分析结果显示病例组患者血浆 miR-499-5p 相对表达水平与 cTnI, CK-MB 及 BNP 均呈正相关关系 ($r=0.339, 0.243, 0.477$, 均 $P < 0.01$)。

2.4 病例组血浆 miR-499-5p 相对表达水平与 Killip 分级的相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示病例组患者血浆 miR-499-5p 相对表达水平与 Killip 分级呈正相关关系 ($r=0.581, P < 0.001$)。

表1 各组一般临床特征比较

类 别	对照组 (n=50)	病例组 (n=135)	AHF 亚组 (n=82)	非 AHF 亚组 (n=53)
BMI(kg/m ²)	24.30 ± 3.79	24.91 ± 4.21	25.17 ± 3.86	24.49 ± 4.70
吸烟 [n(%)]	18(36.00)	54(40.00)	35(42.68)	19(35.85)
饮酒 [n(%)]	5(10.00)	11(8.15)	7(8.54)	4(7.55)
高血压 [n(%)]	27(54.00)	81(60.00)	47(57.32)	34(64.15)
糖尿病 [n(%)]	10(20.00)	21(15.56)	11(13.41)	10(18.87)
血脂异常 [n(%)]	22(44.00)	88(65.19) ^a	54(65.85)	34(64.15)
再灌注治疗 [n(%)]	-	120(88.89)	70(85.37)	50(94.34)
收缩压 (mmHg)	142.46 ± 20.89	147.55 ± 18.59	148.87 ± 18.88	145.51 ± 18.14
舒张压 (mmHg)	78.70 ± 13.67	75.36 ± 16.26	76.13 ± 15.47	74.15 ± 17.50
cTnI(μg/L)	0.51(0.45,0.60)	4.19(2.54,6.41) ^a	4.85(3.17,7.18)	3.44(2.32,4.67) ^b
CK-MB(U/L)	8.21(7.97,8.28)	25.89(19.88,32.55) ^a	27.88(21.18,34.66)	23.57(18.27,27.88) ^b
BNP(pg/ml)	174.02(116.07,227.27)	1 635.92(1 127.05,2 355.62) ^a	2 068.64(1 587.33,2 827.04)	1 186.93(750.81,1 522.93) ^b
miR-499-5p	0.97(0.67,1.25)	70.85(53.45,86.38) ^a	83.00(63.35,100.01)	58.91(43.38,70.79) ^b

注：与对照组比较 ^a $P < 0.05$ ；与 AHF 组比较 ^b $P < 0.05$ 。

2.5 老年急性 STEMI 患者并发 AHF 的危险因素分析 见表 2。以是否并发 AHF 为因变量，以表 1 中单因素分析 $P < 0.05$ 的参数为自变量，包括年龄、cTnI, CK-MB, BNP 和 miR-499-5p 等，采用二分

表2 二分类 Logistic 回归分析结果

变 量	β	S.E	Wals	OR	95%CI	P
年龄 (≥ 70 岁)	0.420	0.483	0.759	1.523	(0.591~3.920)	0.384
cTnI[> 4.2 μg/L(中位数)]	0.382	0.466	0.672	1.466	(0.588~3.655)	0.412
CK-MB[> 26U/L(中位数)]	0.537	0.454	1.403	1.712	(0.703~4.166)	0.236
BNP[> 1650pg/ml(中位数)]	2.200	0.464	22.457	9.029	(3.634~22.431)	< 0.001
miR-499-5p[> 70(中位数)]	1.161	0.455	6.499	3.192	(1.308~7.791)	0.011

2.6 miR-499-5p 和 BNP 对老年急性 STEMI 患者并发 AHF 的预测价值分析 见图 1。绘制血浆 miR-499-5p, BNP 及两者的联合因子预测 AHF 的 ROC 曲线，曲线下面积 (area under curve, AUC) 分别为 0.797(0.725, 0.869), 0.864(0.805, 0.922) 和 0.895(0.844, 0.945)。血浆 miR-499-5p 预测 AHF 的 cut-off 值为 80.56，敏感度和特异度分别为 52.4% 和 100%。

3 讨论

多项临床研究指出年龄是急性心肌梗死患者并发 AHF 的独立危险因素，年龄愈大，并发 AHF 的风险愈高^[2]。因此，对于老年心肌梗死患者，早期预测 AHF 发生风险，及时进行干预尤为关键。BNP 是目前临床应用最为广泛的心力衰竭预测和预后评估指标之一，有研究报道 BNP 对 AHF 的阴性预测值可达到 95% 左右，但也有研究发现其阳性预测值相对较低^[10]。因此，继续寻找其他可预测 AHF，且准确性高，检测方便，并能稳定表达的生物学标志物具有重要临床意义。

类 Logistic 回归分析法，结果显示老年急性 STEMI 患者血浆 miR-499-5p 表达水平增高是并发 AHF 的独立危险因素 (OR=3.192, 95%CI 1.308~7.791, $P=0.011$)。

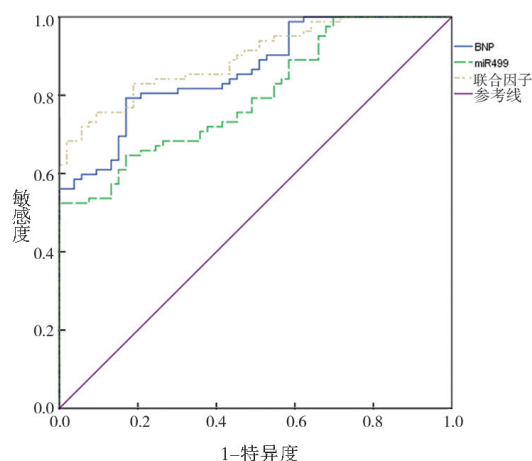


图1 miR-499-5p 和 BNP 预测老年急性 STEMI 患者并发 AHF 的 ROC 曲线

MiRNAs 是近年来备受关注的非编码小 RNA，广泛参与机体各类生理病理活动，已有大量研究报道多个 miRNAs 可能与高血压、冠心病、心律失常等心血管疾病的发生发展密切相关^[3-4]。

MiR-499-5p亦是其中之一,多项临床研究证实血浆miR-499-5p水平可用于急性心肌梗死诊断及预后评估^[7,13-15]。GIDLÖF等^[13]研究结果显示血浆miR-499-5p水平诊断急性心肌梗死的AUC可高达0.989,敏感度和特异度均大于90%。文献[9]以中国人为研究对象,检测结果显示血浆miR-499-5p水平诊断急性心肌梗死的AUC为0.852。肖蕾等^[14]对1 091例患者进行荟萃分析,结果显示血浆miR-499-5p水平诊断急性心肌梗死的敏感度为0.83,特异度为0.88,AUC为0.84。本研究结果显示病例组患者血浆miR-499-5p表达水平显著增高,且与外周血cTnI,CK-MB呈正相关关系,与蔡新宇等^[15]研究结论一致,进一步验证了血浆miR-499-5p水平对急性心肌梗死具有较高的诊断价值,同时也表明血浆miR-499-5p水平可一定程度反映心肌梗死患者心肌损伤状态,可能对AHF发生具有潜在的预测价值。

相对而言,目前关于miR-499与心力衰竭的相关性研究开展较少。SHIEH等^[16]在转基因小鼠模型中发现miR-499过表达能损伤对压力负荷的应激反应,加重心功能障碍,加剧心力衰竭。TIJSEN等^[17]采用基因芯片技术进行筛查,并通过实时荧光定量PCR法检测进行验证,确认了包括miR-499在内的6个miRNAs可能成为心力衰竭的诊断标记。CORSTEN等^[18]研究发现AHF患者血浆miR-499表达水平显著升高,并发现其机制可能与miR-499可平衡快慢心肌纤维比例调节心肌细胞功能有关。本研究发现AHF亚组血浆miR-499-5p显著高于非AHF亚组,多因素分析结果显示血浆miR-499-5p表达水平升高是急性STEMI患者合并AHF的独立危险因素。此外,本研究还发现病例组患者血浆miR-499-5p水平与BNP及Killip分级均呈正相关关系,提示血浆miR-499-5p不仅能预测AHF发生风险,还可用于评估病情严重程度。最后,本研究ROC曲线分析结果显示血浆miR-499-5p预测AHF的AUC为0.797(0.725,0.869),cut-off值对应的敏感度和特异度分别为52.4%和100%,虽与BNP比较其AUC稍低,且诊断敏感度偏弱,但其预测特异度较强,且与BNP联合时AUC最高,提示血浆miR-499-5p检测有利于提高AHF预测准确性,尤其对于血浆miR-499-5p表达水平显著升高患者更具意义。

综上所述,老年急性STEMI患者血浆miR-499-5p表达水平显著升高,可能是并发AHF的独立危险因素。本研究的不足之处在于:首先,本研究纳入样本例数相对较少,可能存在选择偏倚;其次,本研究纳入的研究对象均为年龄≥60岁的老年人,一

定程度限制了本研究结果的适用性;最后,本研究未就miR-499-5p预测AHF的直接分子机制进行探讨,未对AHF相关的可能靶基因进行筛查和验证。

参考文献:

- [1] SHAH M, PATNAIK S, PATEL B, et al. The day of the week and acute heart failure admissions: Relationship with acute myocardial infarction, 30-day readmission rate and in-hospital mortality[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 249:292-300.
- [2] 黄晖,郭玉刚,朱伟俊.强离子隙对急性心肌梗死致急性心力衰竭的预测作用研究[J].*现代检验医学杂志*,2020,35(4):143-146.
- [3] HUANG Hui, GUO Yugang, ZHU Weijun. Effect of strong ion gap on prediction of acute heart failure induced by myocardial infarction[J].*Journal of Modern Laboratory Medicine*,2020,35(4):143-146.
- [4] LEE J S, SONG D W, PARK J H, et al. MiR-374 promotes myocardial hypertrophy by negatively regulating vascular endothelial growth factor receptor-1 signaling[J]. *BMB Rep*, 2017, 50(4):208-213.
- [5] VIRTUE A, JOHNSON C, LOPEZ-PASTRANA J, et al. MicroRNA-155 deficiency leads to decreased atherosclerosis, increased white adipose tissue obesity and nonalcoholic fatty liver disease: a novel mouse model of obesity paradox[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(4):1267-1287.
- [6] ZHOU Rui, HUANG Wenjun, FAN Xinrong, et al. miR-499 released during myocardial infarction causes endothelial injury by targeting α 7-nAChR[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 6085-6097.
- [7] PINCHI E, FRATI P, AROMATARIO M, et al. MiR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 6005-6016.
- [8] LI Ping, LI Siyao, LIU Ming, et al. Value of the expression of miR-208, miR-494, miR-499 and miR-1303 in early diagnosis of acute myocardial infarction[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116547.
- [9] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J].*中华心血管病杂志*,2015,43(5):380-393.
- [10] Chinese Society of Cardiology, Editorial Board of Chinese Journal of Cardiovascular Diseases. Guidelines for the diagnosis and management of patients with ST-segment elevation myocardial infarction[J]. *Chinese Journal of Cardiology*, 2015, 43(5):380-393.
- [11] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南2014[J].*中华心血管病杂志*,2014,42(2):98-122.
- [12] Chinese Society of Cardiology, Editorial Board of Chinese Journal of Cardiovascular Diseases. Guidelines for diagnosis and treatment of heart failure in China 2014[J]. *Chinese Journal of Cardiology*, 2014, 42(2):98-122.
- [13] KAGIYAMA N, KITAI T, HAYASHIDA A, et al. Prognostic value of bnp reduction during hospitalization in patients with acute heart failure[J]. *J Card Fail*, 2019, 25(9): 712-721.

(下转第57页)