doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.03.010

❖临床研究❖

冠心病合并慢性心力衰竭患者血清 miR-133a 表达与冠状动脉病变程度的相关性

曹荣元,赵思源,顾遵才
(连云港市第二人民医院心血管内科,江苏 连云港 222023)

【摘要】**目的:** 探讨冠心病合并慢性心力衰竭(CHF)患者血清微小 RNA-133a(miR-133a)表达水平与冠状动脉病变程度的相关性。**方法:** 选取 102 例冠心病合并 CHF 患者为研究对象,根据 Gensini 评分分为冠脉轻度狭窄组(<30 分,$n=56$)和冠脉重度狭窄组(≥30 分,$n=46$);根据冠状动脉病变支数分为单支组($n=45$)、双支组($n=39$)和三支组($n=18$)。比较不同冠脉狭窄程度组患者 C 反应蛋白(CRP)、D-二聚体、N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、左室射血分数(LVEF)和 miR-133a 水平及冠脉不同病变支数组患者 miR-133a 水平,分析 miR-133a 水平与冠状动脉病变程度的相关性及对重度冠脉狭窄的诊断价值。**结果:** 重度狭窄组患者 NT-proBNP、CRP、D-二聚体及血清 miR-133a 水平均高于轻度狭窄组($P<0.05$);冠脉不同病变支数组患者血清 miR-133a 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且三支病变组 > 双支病变组 > 单支病变组($P<0.05$)。相关性分析显示,血清 miR-133a 水平和 NT-proBNP 是 CHF 患者冠脉重度狭窄的独立影响因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,miR-133a 对重度冠脉狭窄诊断的曲线下面积(*AUC*)为 0.811,大于 NT-proBNP 的 0.676,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:** CHF 患者血清 miR-133a 水平与冠状动脉病变程度相关,对重度冠脉狭窄有重要诊断价值。

【关键词】冠心病;心力衰竭;微小 RNA-133a;冠状动脉狭窄
【中图分类号】R541.4 【文献标志码】A

Correlation between serum miR-133a expression and severity of coronary artery disease in patients with coronary heart disease complicated with chronic heart failure

CAO Rong-yuan, ZHAO Si-yuan, GU Zun-cai
(*Department of Cardiovascular Medicine, the Second People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang* 222023, *Jiangsu*, *China*)

【**Abstract**】**Objective:** To investigate the correlation between the expression level of serum microRNA-133a (miR-133a) and the severity of coronary artery disease in patients with coronary heart disease complicated with chronic heart failure (CHF). **Methods:** 102 patients with coronary heart disease complicated with CHF were selected and divided into mild coronary stenosis group (<30 points, $n=56$) and severe coronary stenosis group (≥30 points, $n=46$) according to Gensini score. According to the number of coronary artery lesions, they were divided into single branch group ($n=45$), double branch group ($n=39$) and three branch group ($n=18$). The levels of C-reactive protein (CRP), D-dimer, N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), left ventricular ejection fraction (LVEF) and miR-133a in patients with different degree of coronary artery stenosis and the levels of miR-133a in patients with different number of coronary artery lesions were compared. The correlation between the level of miR-133a and the degree of coronary artery disease and its diagnostic value for severe coronary artery stenosis were analyzed. **Results:** The levels of NT-proBNP, C-reactive protein, D-dimer and serum miR-133a in severe coronary stenosis group were higher than those in mild coronary stenosis group ($P<0.05$). The serum miR-133a level of patients with different number of coronary artery lesions was statistically significant ($P<0.05$), and the level of serum miR-133a in double-vessel disease group and three-vessel disease group was higher than that in single-vessel disease group ($P<0.05$), and the level of serum miR-133a in three-vessel disease group was higher than that in double-vessel disease group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that serum miR-133a level and NT-proBNP were independent influencing factors of severe coronary stenosis in CHF patients ($P<0.05$). The ROC curve showed that the AUC of miR-133a was 0.811, which was greater than that of NT-proBNP (0.676), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** The level of serum miR-133a in patients with CHF is correlated with the severity of coronary artery stenosis and has important diagnostic value for identifying severe

基金项目: 江苏省连云港市卫生计生科技项目(201717)
作者简介: 曹荣元(1979-),男,硕士,副主任医师。E-mail:fengyun5162002@126.com
通讯作者: 赵思源。E-mail:zhaosiyuanlz@126.com

coronary artery stenosis.

【Key words】 Coronary heart disease; Heart failure; microRNA-133a; Coronary artery stenosis

慢性心力衰竭(chronic heart failure,CHF)是各种心脏病发展至终末阶段的临床综合征,可表现为心肌收缩力减弱、心排出量降低、组织灌注不足,致残率和致死率均较高[1]。冠心病作为CHF的常见诱因,主要由于心脏冠状动脉粥样硬化、冠状动脉阻塞所致[2]。微小RNA(micro RNA,miR)是一种内源性、单链非编码RNA分子,有多种生物学功能,其被发现在动脉粥样硬化过程中有着重要作用,参与心血管疾病的病理过程[3]。研究[4]表明,miR-133a在冠心病中异常表达,通过介导多种信号通路促进冠心病的发生发展,可能是冠心病治疗的潜在靶点。但目前关于miR-133a与冠心病患者冠脉病变严重程度的关系尚不清楚。本研究旨在探讨冠心病合并CHF患者血清miR-133a水平与冠脉病变严重程度的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月至2021年12月连云港市第二人民医院收治的102例冠心病合并CHF患者为研究对象,根据Gensini评分分为冠脉轻度狭窄组(<30分,$n=56$)与冠脉重度狭窄组(≥30分,$n=46$);根据冠状动脉病变支数分为单支组($n=45$)、双支组($n=39$)和三支组($n=18$)。本研究符合伦理规定并获得审批,患者知情并签署知情同意书。纳入标准:(1)符合CHF诊断标准[5];(2)有冠心病病史;(3)CHF病程>6个月。排除标准:(1)非冠心病所致的慢性心衰患者;(2)近期行急诊PCI或冠脉移植者;(3)严重感染或肝肾功能不全者;(4)恶性肿瘤患者;(5)合并慢性阻塞性肺疾病者;(6)先天性冠脉畸形者;(7)合并严重血液系统疾病者。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集 包括患者性别、年龄、吸烟史、饮酒史、体质量指数(BMI)、合并疾病(高血压、糖尿病)、空腹血糖(FPG)、TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、C反应蛋白(CRP)、D-二聚体、N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)和左室射血分数(LVEF)等。

1.2.2 血清miR-133a测定 采集患者清晨空腹外周静脉血5 mL,3 500 r/min离心10 min,上清液置于-80 ℃冰箱内保存。应用microRNAcute提取分离试剂盒提取外泌体RNA,严格遵照试剂盒说明书操作。反转录试剂盒完成RNA的逆转录,反应体系:SYBR Green Mix和上下游引物(5′-CTGATGCACTACTGACTGA-3′和 5′-CTGATGCTGAGCTGACTGA-3′)各0.5 μL、cDNA 1 μL,以双蒸水补充至10 μL;反应程序:42 ℃ 15 min;85 ℃ 15 min,将获得的cDNA产物迅速于冰上进行冷却。采用qRT-PCR法检测miR-133a表达量。PCR反应程序:95 ℃ 10 s→95 ℃ 10 s→60 ℃ 20 s→72 ℃ 10 s,共40个循环。以U6作为内参,以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示miR-133a的相对表达量。

1.2.3 Gensini积分评定 患者采用标准Judkins法实施冠脉造影,根据结果进行Gensini积分量化积分。评定标准[6]:(1)病变部位:病变血管为主计5分,病变血管为左前降支近端和回旋支近端计2.5分,病变血管为左前降支中段计1.5分,病变血管为左前降支远段或左回旋支中远段计1分,右冠状动脉或后降支计1分,此外第一对角支、第二对角支和其余对角支分别计1分、0.5分和0.5分。(2)官腔狭窄程度:狭窄≤25%计1分;26%≤狭窄≤50%计2分;51%≤狭窄≤75%计4分;76%≤狭窄≤90%计8分;91%≤狭窄≤99%计16分;完全闭塞计32分。

1.3 观察指标

(1)不同冠脉狭窄程度组患者一般资料;(2)冠脉不同病变支数组患者血清miR-133a水平;(3)影响冠脉重度狭窄的因素;(4)miR-133a对冠脉重度狭窄的诊断价值。

1.4 统计学分析

采用SPSS 28.0软件对数据进行分析与处理。符合正态分布的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验或方差分析;不符合正态分布的计量资料$M(P_{25},P_{75})$表示,组间比较采用秩和检验;计数资料以[n(%)]表示,组间比较采用独立样本χ^2检验;影响因素采用Logistic回归模型分析;诊断价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同冠脉狭窄组患者一般资料比较

重度狭窄组患者NT-proBNP、CRP、D-二聚体及血清miR-133a水平高于轻度狭窄组($P<0.05$);两组患者其余一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表 1　不同冠脉狭窄组临床资料比较[$\bar{x} \pm s$,n(%),$M(P_{25},P_{75})$]

资料	轻度狭窄组(n=56)	重度狭窄组(n=46)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	57.62±10.96	58.73±10.35	0.522	0.603
性别			0.226	0.634
男	39(69.64)	34(73.91)		
女	17(30.36)	12(26.09)		
吸烟	20(35.71)	22(47.83)	1.530	0.216
饮酒	18(32.14)	19(41.30)	0.917	0.338
BMI(kg/m^2)	25.46±2.59	24.71±2.63	1.445	0.152
高血压	23(41.07)	19(41.30)	0.001	0.981
糖尿病	14(25.00)	13(28.26)	0.138	0.710
FBG(mmol/L)	6.12±1.35	5.98±1.49	0.497	0.620
TC(mmol/L)	4.49±0.71	4.53±0.84	0.261	0.795
TG(mmol/L)	1.65±0.51	1.74±0.59	0.826	0.411
LDL(mmol/L)	2.59±0.82	2.66±0.79	0.436	0.664
HDL(mmol/L)	1.21±0.34	1.17±0.29	0.631	0.529
NT-proBNP(pg/mL)	672.00 (341.65,1894.25)	1421.00 (489.66,1912.65)	2.394	0.021
LVEF(%)	47.12±6.74	46.84±7.12	0.204	0.839
CRP(mg/L)	1.84±0.51	2.69±0.62	7.598	<0.001
D-二聚体(mg/L)	0.27±0.08	0.35±0.11	4.246	<0.001
miR-133a	1.98±0.29	2.40±0.32	6.946	<0.001

2.2　不同病变支数组患者血清 miR-133a 水平比较

冠脉不同病变支数组患者血清 miR-133a 水平比较,差异有统计学意义(P<0.05),且三支病变组>双支病变组>单支病变组(P<0.05)。见表 2。

表 2　不同病变支数组患者血清 miR-133a 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-133a 水平
单支病变组(n=45)	1.74±0.25
双支病变组(n=39)	2.05±0.28*
三支病变组(n=18)	3.51±0.31*#
F 值	20.781
P 值	<0.001

*P<0.05,与单支病变组相比;#P<0.05,与双支病变组相比。

2.3　影响冠脉重度狭窄的因素

以 CHF 患者冠脉病变严重程度为因变量(轻度狭窄=0,重度狭窄=1),以表 1 中有统计学意义的因素及冠脉病变支数为自变量,回归分析结果显示,血清 miR-133a 水平和 NT-proBNP 是 CHF 患者冠脉重度狭窄的独立影响因素(P<0.05)。见表 3。

表 3　影响冠脉重度狭窄的因素

变量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值	95%CI
miR-133a	0.429	0.138	9.664	0.002	1.536	1.172~2.013
NT-proBNP	0.387	0.134	8.341	0.004	1.473	1.132~1.915

2.4　miR-133a 对 CHF 患者冠脉重度狭窄的诊断价值

ROC 曲线分析显示,miR-133a 对 CHF 患者冠脉重度狭窄诊断的曲线下面积(AUC)为 0.811(95% CI:0.721~0.882),大于 NT-proBNP 的 0.676(95% CI:0.576~0.765),差异有统计学意义(Z=2.068,P=0.041);二者联合诊断的 AUC 为 0.837(95% CI:0.751~0.903),高于 NT-proBNP(Z=3.063,P=0.002),但与 miR-133a 的差异无统计学意义(Z=1.217,P=0.224)。其中,miR-133a 的截断值为 2.1,诊断的敏感度为 78.3%,特异度为 71.4%;二者联合诊断的敏感度为 67.4%,特异度为 91.1%。见图 1。

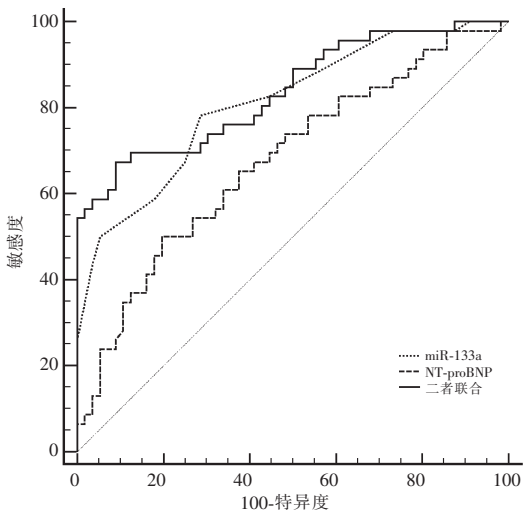


图 1　血清 miR-133a、NT-proBNP 预测 CHF 患者冠脉狭窄程度的 ROC 曲线

3　讨论

miRNA 是一种单链非编码 RNA 分子,可通过与靶 mRNA 分子相结合使 mRNA 发生降解和引起蛋白质翻译过程受抑制,从而对靶基因表达发挥调控作用,介导多种疾病的病理过程[7]。近年来,研究[8-9]表明,多种 miRNA 在心血管疾病有着异常表达,可作为基因调控分子,通过不同调控机制参与着心血管疾病的发生发展,有望成为冠心病诊治的生物标志物。

研究[10]表明,miR-133a 作为一种心肌特异性 miRNA,在心肌细胞凋亡、心肌纤维化及心肌发育等过程中有着重要调控作用。有研究[11]认为,miR-133a 可能通过介导 MAPK/ERK 信号通路对心肌细胞的生长产生调控作用。miR-133a 还可能通过调控脂质代谢,参与动脉粥样硬化过程,进而促进冠心病的发生发展[12]。徐振宇等[13]报道,CHF 患者血清 miR-133a 相对表达量随着心功能分级的提高而增加,且与左室质量指数呈正相关关系。张雪莲等[14]研究也显示,CHF 患者血清 miR-133a 呈高表达,且与心脏功能有着紧密关联。还有研究[15]发现,miR-133a 与心肌肥厚相关,在体外 miR-133a 的

过表达能够抑制心肌肥厚的发生。因此,miR-133a与冠心病的发生发展有密切关联。

本研究结果显示,重度狭窄组患者血清miR-133a相对表达量高于轻度狭窄组($P<0.05$),与何亚磊等[16]报道一致,提示miR-133a可能与CHF患者冠脉病变严重程度相关联。本研究还发现,血清miR-133a相对表达量在单支血管病变、双支血管病变、三支血管病变患者中依次增高($P<0.05$),表明血清miR-133a相对表达量与冠脉病变支数呈正相关,提示miR-133a可能不仅参与了冠心病罪犯血管的形成,还与非罪犯血管病变有关。

研究[17]发现,miRNA参与了动脉粥样硬化过程,可能与冠脉病变的严重程度相关。还有研究[18]表明,miRNA的表达增高与冠心病严重程度显著相关,可作为动脉粥样硬化评估的生物标志物。为进一步明确血清miR-133a与CHF患者冠脉病变程度的关系,本研究对可能的影响因素进行了回归分析,结果显示,血清miR-133a是冠脉重度狭窄的独立影响因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,miR-133a对重度狭窄的识别能力明显高于传统标志物NT-proBNP,敏感度为78.3%,特异度为71.4%,有着较高的诊断价值。

综上,冠心病合并CHF患者血清miR-133a水平增高,且高表达可提示冠脉重度狭窄,有着较为严重的病情,临床上可通过早期检测冠心病患者血清miR-133a水平,用于辅助评估患者冠脉病变严重程度,为临床诊疗提供参考。本研究存在不足主要是样本量较小、病例选择偏倚和统计学偏差,因此未来仍需进一步扩大样本研究来验证本研究结果。

参考文献

[1] Bryce YC, Perez-Johnston R, Bryce EB, *et al*. Pathophysiology of right ventricular failure in acute pulmonary embolism and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a pictorial essay for the interventional radiologist[J]. Insights into Imaging, 2019, 10(1): 18.

[2] 王怡萌,栾波,郭鹏,等. 血脂沉积指数与冠心病动脉粥样硬化的相关性研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(7): 584-588.

[3] 田开疆,周坤,桂丹丹,等. 血浆miR-1228-5p、miR-34a-5p、miR-192-5p和miR-30a-3p水平与早发冠心病的相关性及其初筛价值[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(8): 681-690.

[4] Rubiś P, Totoń-Żurańska J, Wiśniowska-Śmiałek S, *et al*. The relationship between myocardial fibrosis and myocardial microRNAs in dilated cardiomyopathy: A link between mir-133a and cardiovascular events[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2018, 22(4): 2514-2517.

[5] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员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2018[J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(10): 760-789.

[6] Rampidis GP, Benetos G, Benz DC, *et al*. A guide for Gensini Score calculation[J]. Atherosclerosis, 2019, 287: 181-183.

[7] 丁汀,曾小莉,李禹龙,等. 冠心病患者血浆环状RNA表达谱分析[J]. 中国医药, 2020, 15(10): 1500-1504.

[8] 艾世宜,李佳娜,李星. miRNA-126和miRNA-92a在冠心病患者血清中的表达水平及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(4): 443-446.

[9] Wang J, Liu X, Zhuang Q, *et al*. Long noncoding RNA homeobox A11 antisense promotes transforming growth factor β1-induced fibrogenesis in cardiac fibroblasts[J]. Molecular Medicine Reports, 2019, 19(4): 2817-2824.

[10] Wexler Y, Nussinovitch U. The Diagnostic Value of Mir-133a in ST Elevation and Non-ST Elevation Myocardial Infarction: A Meta-Analysis[J]. Cells, 2020, 9(4): 793.

[11] 田丹,王梓,夏利民,等. 冠状动脉旁路移植术后miR-1、miR-133a、miR-208a、miR-499与炎性因子和高血压病史的相关性[J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(4): 364-369.

[12] 张永杰,林飞,闫志刚,等. miR-133a介导Bcl-xl表达调节内皮细胞的凋亡[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(8): 814-819.

[13] 徐振宇,杨立明,李广平,等. 慢性心力衰竭患者血清miR-133a、miR-133 b水平与心功能和心肌重构的关系[J]. 山东医药, 2018, 58(4): 82-84.

[14] 张雪莲,原芳. 微小RNA-133在慢性心力衰竭患者血清中表达及与心肌重构和心功能的相关性[J]. 安徽医药, 2016, 20(10): 1879-1882.

[15] Carè A, Catalucci D, Felicetti F, *et al*. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy[J]. Nature Medicine, 2007, 13(5): 613-618.

[16] 何亚磊,魏引,蔡叶锐,等. 急性冠状动脉综合征患者血浆miR-133a、miR-208b表达水平及其与心肌损伤和冠状动脉病变程度的相关性[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(4): 329-333.

[17] 李奎,冯健,余丹,等. LncRNA TUG1和miR-138-5p在慢性心力衰竭患者中的表达及意义[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(3): 219-223.

[18] 田开疆,周坤,桂丹丹,等. 血浆miR-1228-5p、miR-34a-5p、miR-192-5p和miR-30a-3p水平与早发冠心病的相关性及其初筛价值[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(8): 681-690.

(**收稿日期**:2022-10-11 **修回日期**:2022-11-21)