

B型利钠肽和N末端B型利钠肽原的过去、现在和未来

张真路



● 引言

B型利钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP)的发现和临床应用,在心血管病学发展史上具有里程碑意义。自从1988年在猪脑中发现BNP,特别是2001年Triage BNP assay作为第一台在美国商品化临床应用的半自动检测分析仪以及2年后由瑞士Roche研制的全球第一个N端B型利钠肽原(N-terminal pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP)检测系统问世以来,关于BNP/NT-proBNP的研究及临床应用文章呈几何倍增长。BNP/NT-proBNP已成为心力衰竭患者诊断和预后判断生物标志物的“金标准”和“基石”,心力衰竭相关指南也把其列为I a级推荐^[1]。相关报道从诊断、预后判断、指导治疗及心脏唯一性方面进行综合评价,与其他19个生物标志比较,其综合价值最高^[2-3]。在中国,BNP/NT-proBNP的临床应用已有15年以上的历史,2008年和2011年也分别制定出相关共识和指南^[4-5]。

尽管利钠肽(natriuretic peptides, NPs)家族发现已经超过30年,但涉及其错综复杂的生物学作用机制的一些重要问题仍未阐明。血循环中NPs表现的差异化、特殊人群中不同构型的表达、心力衰竭表现的异质性及与检测试剂特异性相关问题和分析前因素等都有待进一步研究。还有10多年临床应用累积下的一系列困惑及心力衰竭治疗新药的临床应用及疗效评价等,都有待重新解读与设计。我们对其的认识只是刚“拉开序幕”,有必要重新认识BNP/NT-proBNP^[6]。

要应用好BNP/NT-proBNP就必须熟知其生物学、实验室检测相关影响因素,并知晓如何做到其最佳的临床应用。

● BNP/NT-proBNP的研发史及生物学和病理生理学特性

一、NPs家族的历史

NPs家族最重要的作用是平衡血循环系统的容积、渗透压和压力,其净结果(net result)是降低心脏前、后负荷,即通过自分泌和旁分泌作用控制心脏的结构和功能。人们在20世纪50年代即怀疑心脏具有内分泌功能,当时Gauer发现右心房扩张引起利尿和尿钠排泄。de Bold将均一的心房组织注入鼠的体内,观测到钠的排泄和尿量都增加,并于1981年在鼠心房中发现了具有利钠、利尿作用的物质心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP),也叫A型钠尿肽(A-type natriuretic peptide)。1988年Sudoh等^[7]在猪脑中发现与ANP极其相似的具有利钠、利尿作用

作者单位:武汉亚洲心脏病医院检验医学中心,武汉亚心总医院检验医学中心 430022

通信作者:张真路, Email: zhenluzhangwh@163.com

基金项目:本文无基金资助

引用格式:张真路.B型利钠肽和N末端B型利钠肽原的过去、现在和未来[J/OL].中华心血管病杂志(网络版),2019,2(1):e11-e18(2019-03-12). http://www.cvjic.org.cn/index.php/Column/columncon/article_id/179.DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-1588.2019.01.002.

本文编辑:常青云,史红

收稿日期:2018-07-05

录用日期:2019-01-20

DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-1588.2019.01.002

的化合物,命名为脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP),后又规范命名为B型利钠肽(B-type natriuretic peptide)。随后发现BNP由心肌细胞产生,与ANP分享外围受体。1990年Sudoh等^[8]在猪脑中发现了NP家族第3个成员C型利钠肽(C-type natriuretic peptide, CNP),主要分布于中枢神经系统和血管内皮组织。目前已知的人类和非人类脊椎动物中至少有6种心血管肽,包括ANP、BNP、CNP、DNP、VNP以及肾肽尿扩张素(renal peptide urodilatin)。至少含有3个NP受体,即NPR-A、NPR-B和NPR-C。其中NPR-A、NPR-B为鸟苷酸环化酶配对受体并发挥生物学功能作用,NPR-C为缩短胞浆区受体,负责肽的清除并可能调节细胞增生^[9]。NP针对心血管内分泌部分包括ANP、BNP、DNP和VNP。尽管在人体全身很多细胞中都存在,但大部分NP主要来自于心肌细胞;而CNP来自血管内皮细胞,在脑部和脉管系统通过自分泌和旁分泌发挥生理作用。NP家族的每个成员都具有血管扩张或静脉舒张、利尿和利钠的生理效应,但彼此间发挥的效应存在平衡调节变化。

二、BNP/NT-proBNP的生物学和病理生理学特性

人类BNP基因位于1号染色体,于1989年完成全核苷酸序列的检测,1996年发现5'侧翼序列位于上游非翻译区。该基因包括3个外显子,2个内含子:外显子1编码5'非翻译区和部分per-proBNP(26信号肽及proBNP的前18氨基酸),外显子2编码氨基酸45-129,外显子3编码5'氨基酸末端(氨基酸130-134)加3'非翻译区,包括ATTTA不稳定序列。在组织表达方面,BNP在心房表达较心室更丰富,但由于心室重量远大于心房,故正常情况下70% BNP释放来自心室,病理生理情况下会超过88%。人类心外组织如脑、肺、肾脏、大动脉和肾上腺与心房壁也存在很小浓度BNP^[9]。刺激BNP基因表达的因素包括机械性拉伸、缺血损伤、缺氧、内皮素-1、血管紧张素II、白细胞介素-1 β 、 α -肾上腺及肾上腺素能激动剂等。BNP基因启动区有多个上调基因靶点,并且各种促炎和肥大刺激能激活多个不同信号通道,所以,要充分认识到引起BNP升高疾病状态的广泛性,而且,一般认为大多数BNP合成是由于“紧急情况”引起的爆发性基因表达所致^[9]。

BNP基因翻译后,初始基因产物是per-proBNP₁₋₁₃₄,该肽被快速切掉1段含26个氨基酸

的信号肽后成为含108个氨基酸的激素原proBNP₁₋₁₀₈,随后proBNP₁₋₁₀₈被蛋白水解酶furin和corin分解为两部分:一部分为不具生物学活性的含76个氨基酸的NT-proBNP₁₋₇₆,另一部分为具有生物学活性的含32个氨基酸的BNP₁₋₃₂,并具有第17氨基酸处半胱氨酸由二硫键连接形成环状结构以保持生物学活性的特征。上述理论上的裂解途径已流行多年,但近年又有新进展。

理论上furin和corin在76~77氨基酸处裂解proBNP,但真实结果并未明了。新近10年又有新发现^[9]:(1)运用敏感的质谱分析(mass spectrometry, MS)技术发现许多新的小分子BNP片段,且有些并非是具有完整活性的BNP₁₋₃₂;(2)在多个位点发现proBNP和NT-proBNP的糖基化位点;(3)血循环中辨别出短缩形式的proBNP和NT-proBNP;(4)发现裂解BNP的酶有脑啡肽酶(neprilysin)、二肽基肽酶IV(dipeptidyl peptidase IV)、胰岛素降解酶(insulin degrading enzyme)和甲基多巴(mepren),会产生许多种BNP片段。使用高效液相色谱(HPLC)技术发现BNP₁₋₃₂只是外周血浆中很少的一部分,其会快速转变为BNP₃₋₃₂。应用MS技术和免疫反应技术发现彼此BNP检测结果差异在90倍和40倍。心力衰竭患者中,由于其C端或N端被截断,至少有6种BNP肽生成,其中涉及N端截断的更普遍,如BNP₃₋₃₂、BNP₄₋₃₂和BNP₅₋₃₂,但少量的N端和C末端短截形式,如BNP₅₋₃₁、BNP₅₋₂₇和BNP₅₋₂₆同样存在外周血中。个体内,血循环中BNP₁₋₃₂浓度相似,范围为7~228 ng/L,但平均BNP₁₋₃₂通过MS技术发现只占总BNP的10%,这提示血循环中的BNP切实会被降解。终上所述,BNP₁₋₃₂代谢为小分子片段是明确的,起码在心力衰竭患者中是如此。裂解靠近N端和C端,短截程度小。proBNP和NT-proBNP糖基化会切实干扰目前相关BNP/NT-proBNP检测试剂。

● BNP/NT-proBNP实验室检测影响因素

实验室检测影响因素的规避与掌控对临床应用好BNP/NT-proBNP至关重要。为此,美国临床生物化学委员会(NACB)相关指南^[10]、NT-proBNP临床应用中国专家共识^[5]及相关文章^[11-12]专门强调关注实验室影响因素的重要性。

一、BNP/NT-proBNP检测分析前注意事项^[11]

1. 样本采集:无需固定体位,卧位与站立、坐位及步行后差别<7%,基本不受体位改变和日常活动

影响;站立或步行30 min会导致BNP上升15%,要避免剧烈运动(避免心率升高50%以上);不存在昼夜节律、天间的生理学波动(即无需固定采血时间);月经周期无显著影响。建议:(1)抽血前静息10~15 min,最好固定采血体位,如卧位。采血时止血带使用时间尽可能缩短。(2)采血前要考虑治疗药物的影响(尽可能在用药前抽血)。

2. 样本选择:NT-proBNP检测可选择血清或血浆,包括肝素、乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA),即时检验(point-of-care testing, POCT)方法可用全血,但EDTA抗凝血浆较血清或肝素血浆检测结果低10%~13%。BNP只能使用EDTA抗凝血。BNP/NT-proBNP的检测可以使用尿液。针对左心室收缩功能障碍(left ventricular systolic dysfunction, LVSD)患者,检测血浆与尿液BNP间的相关性弱,非LVSD患者则无显著不同。而针对LVSD患者检测尿液NT-proBNP与血浆相比则显示出高敏感性,但对结果的解释需谨慎。建议:NT-proBNP使用血清或肝素血浆(现有POCT肝素全血检测方法),不推荐使用柠檬酸钠抗凝血及草酸盐抗凝血;BNP检测只能用EDTA抗凝血浆或全血。

3. 采血管选择:采用玻璃或塑料试管。BNP必须使用塑料试管,因为非硅化的玻璃可使血中激肽释放酶激活导致BNP快速降解。

4. 标本送检:尽快送检,尽快检测。BNP的室温稳定性只有4 h,理想状态需使用冰试管,采血后快速分离血浆。虽然NT-proBNP离体后稳定性远好于BNP,25℃可稳定7 d,4℃稳定10 d,-20℃或以下至少可以稳定6个月,且5个冻融循环不会影响其浓度,但要考虑样本蒸发影响。

总体而言,NT-proBNP检测分析前的影响因素要少于BNP。

二、BNP/NT-proBNP检测分析的注意事项^[11]

当前检测试剂的总不精密度较小(<7%),能满足国际临床化学和实验室医学联盟(IFCC)的总体要求。尽可能在中心实验室检测BNP/NT-proBNP,且中心实验室要尽可能缩短检验周转时间(turn around time, TAT)以满足临床需要。建议:应列为急诊项目,TAT<1 h。如条件不具备,则急诊、重症监护病房可采用POCT的方法进行初步筛查,但要建立POCT方法的参考值、临界(cut-off)值,做好质控,操作人员要经过培训,且POCT检测与中心实验室方法之间的偏倚要≤20%。

由于NT-proBNP试剂的检测抗体及校准物具有唯一来源性(皆来自Roche Diagnostics),故其结果间的协调性较好。而BNP检测由于来自于不同的厂家,使用不同的抗体甚至不同的校准物,故同一样本检测结果会相差>30%~50%^[13]。

临床实验室要关注所使用试剂的具体检测片段。此外,BNP/NT-proBNP结果的报告单位均应以ng/L(pg/ml)报告,而非pmol/L。

三、BNP/NT-proBNP检测分析后注意事项^[11]

1. 关于生物参考区间的影响因素:应考虑年龄、性别、肥胖、贫血、肾功能和甲状腺功能等对BNP/NT-proBNP的影响,同时其参考范围非常依赖于所使用的检测方法,这些都会导致相关人群的诊断性能与参考值的不同。影响因素包括:(1)年龄:随年龄增加而升高(大于65岁者NT-proBNP平均值是小于65岁者的1.5倍);新生儿(出生时最高,3个月后达成人水平);妊娠后3个月升高,产后立即恢复。(2)性别:女性高于男性(健康女性NT-proBNP会高于男性1.4倍)。(3)肥胖患者(BMI>30 kg/m²):循环中BNP/NT-proBNP水平与体重指数呈反比。有一项研究显示,肥胖者比非肥胖者BNP/NT-proBNP下降17%。严重肥胖者(BMI>35 kg/m²)心力衰竭排除值(BNP cut-off值)由100 ng/L下降到60 ng/L,诊断阈值升高为200 ng/L。肥胖的心力衰竭患者NT-proBNP影响小于BNP。(4)肾功能:如果肾小球滤过率估计值(eGFR)<60 mL·(min·1.73 m²)⁻¹则要考虑调高cut-off值(BNP上调为200 ng/L)。有研究认为肾功能对NT-proBNP的影响大于BNP^[14-17]。BNP>4 000 ng/L时,这种情况大部分是由于肾功能不全引起,此时BNP浓度值并不反映相应程度的心力衰竭状况^[16-18]。(5)其他影响因素:贫血会增加BNP水平,NT-proBNP同样也会受低血红蛋白浓度影响。BNP/NT-proBNP浓度上升会与炎症和脓毒血症导致的心功能异常相关。外伤性脑损伤也会导致BNP/NT-proBNP浓度升高。

2. 关于生物参考区间的设定要求:参考值上限应取第97.5百分位值,并根据年龄(每10年)及性别分组分别建立。建议各实验室确认自身检测系统和应用人群的参考范围。应通过受试者操作特性(ROC)曲线来选择用于诊断的最佳医学决定cut-off值,建议设双“截点”,单一参考值范围不能满足临床需要。低值具有较高的心力衰竭阴性排除价值,而高值则具有高的阳性诊断价值。

3. 正常生物参考区间及诊断 cut-off 值: (1) 正常生物参考区间: BNP < 35 ng/L。美国食品药品监督管理局(FDA)建议 NT-proBNP 为 75 岁以下者 < 125 ng/L, 75 岁以上者 < 450 ng/L; 欧洲建议 NT-proBNP 为 50 岁以下男性 < 84 ng/L, 女性 < 155 ng/L, 50 岁以上男性 < 194 ng/L, 女性 < 222 ng/L。我国正常人群正常参考值略低于国外人群数值。非急症状态下, BNP/NT-proBNP 低于上述正常参考值, 则基本可排除心力衰竭。(2) 针对急性呼吸困难鉴别诊断, 建议设双“截点 cut-off”值。①BNP: < 100 ng/L 可排除心力衰竭, > 400 ng/L 可诊断心力衰竭, 100~400 ng/L 为灰区值。②NT-proBNP: < 300 ng/L 可排除心力衰竭, 诊断截点: 50 岁以下为 450 ng/L, 50~75 岁为 900 ng/L, 75 岁以上为 1 800 ng/L。“灰区”为心力衰竭程度较轻或非急性心力衰竭原因所致, 如心肌缺血、心房颤动、肺部感染、肺癌、肺动脉高压或肺栓塞等。(3) 针对慢性心力衰竭诊断: NT-proBNP 排除诊断的最佳范围在 100~160 ng/L, 阴性预测值为 92%~100%; BNP 为 < 35 ng/L^[19]。

总之, BNP/NT-proBNP 临床应用时, 首先要考虑哪些因素会导致其升高, 要知道其升高后的病理生理作用; 采血时要考虑当时患者的状态和用药情况; 观看检验报告单时要考虑患者的性别、年龄、肥胖及肾功能等因素对正常生物参考区间的影响; 要考虑实验室影响因素; 动态观察要考虑生物学变异, 最关键的是不能把其作为“一锤定音”(a stand-alone test) 的指标, 要结合临床实际并配合其他检测项目综合判断。

● 临床如何应用好 BNP/NT-proBNP

BNP/NT-proBNP 在心力衰竭诊断、预后判断、筛选及治疗监测方面的价值已得到肯定^[15], 特别获得 2013—2017 年指南 I a 级推荐^[1,20], 但临床实践中要用好 BNP/NT-proBNP 除了要了解上述生物学意义及实验室检测影响因素外, 还需把检测结果融入该患者此时此刻的“临床背景”^[12]。临床背景要注意如下几点。

一、神经内分泌激素在心力衰竭病变过程中所起的重要作用

近 20 年, 人们对心力衰竭病因学的认识由血流动力学说转变为神经内分泌学说, 因此针对心力衰竭治疗药物的理念也发生了重大转变, 从改善血流动力学进展到重点改善患者的肾素-血管紧张素-醛

固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 及交感神经系统(sympathetic nervous system, SNS) 等神经内分泌紊乱。慢性心力衰竭的发生发展机制中, 心室重构是最重要的环节。为此, 心力衰竭治疗药物, 如血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)/血管紧张素受体阻滞剂(angiotensin receptor blocker, ARB)、 β 受体阻滞剂及利尿剂等广泛用于临床心力衰竭治疗。治疗的有效性体现在 BNP/NT-proBNP 浓度的不断降低。同时 BNP 作为人体的一种激素, 其主要作用就是拮抗 RAAS 和 SNS, 一些心力衰竭治疗药物的目标之一就是提升 BNP 水平。由此可见 BNP/NT-proBNP 检测在心力衰竭疗效判断中起到十分重要的作用。但真实情况是, 输注有活性的含 BNP 成分的药物可能会被立即分解; 实验室提供的 BNP 或 NT-proBNP 结果“不纯”, 或大量为 proBNP^[21-22]。

二、引发心脏释放 NPs 的病理生理因素

心脏是一个内分泌器官。当室壁张力增加、心室扩张和(或)压力增加(容量超负荷), 低血流量、低血压及心肌缺血等情况出现时会引发心脏释放 NPs (主要包括 ANP、NT-proANP、BNP、NT-proBNP 和 proBNP 等)。所以, 血中 BNP/NT-proBNP 升高首先考虑上述问题。除心力衰竭外, 其他伴随心内压力增高的所有条件, 即许多“夹杂症”, 如冠状动脉疾病(CAD)、瓣膜病或孤立性心房颤动等都会引起 NPs 升高。肾功能衰竭患者的 BNP/NT-proBNP 可重叠升高 10 倍, 故在临床具体应用中要考虑心脏血流动力学的复杂性。BNP/NT-proBNP 只是一个心脏功能生物标志物。

三、结果判读时要考虑的因素

1. 关注治疗措施对结果的影响: 结果判读时要考虑抽血时机的影响。需强调的是: 第一, 在血流动力学稳定的情况下或体液负荷最小时, BNP/NT-proBNP 值才能客观评价心功能状态, 要注意抽血时的“干、湿”状态, 即基线水平称为“干”, 而由于急性压力增加或容量负荷过重时的水平为“湿”。当发生失代偿心力衰竭时, 患者的 BNP 水平将是其基线水平与容量负荷过重叠加的结果。第二, 由于 BNP 具有利钠、利尿、扩张血管、拮抗 RAAS 和 SNS 的作用, 所以凡是参与促进这一神经内分泌轴激活的激素, 如肾上腺素、糖皮质激素、甲状腺素等都会引起 BNP/NT-proBNP 水平的升高, 同样, 这些激素的拮抗剂及可使这些激素降低的药物, 如 ACEI、 β -受

体阻滞剂、肾上腺素拮抗剂和利尿剂等会使BNP/NT-proBNP浓度下降。另外,沙坦类、胺碘酮也会使其降低,而洋地黄类药物会使其升高。第三,注意外源性含BNP成分药物的影响。奈西立肽是人重组BNP分子。BNP检测结果在5个半衰期(2h)后则不会受其影响,而NT-proBNP不会受该药的影响。

2. 检测结果对治疗效果及预后判断要考虑的因素:临床要区分“湿BNP水平”和“最优容量BNP水平”。判断湿BNP水平有下列几点需考虑:超过患者最优容量BNP水平的25%~50%的任意BNP水平;如果患者就诊于急诊室,BNP常>600 ng/L;治疗后其水平迅速下降。最优容量BNP水平的判断要考虑:达到最优液体负荷状态时的BNP水平;与心功能分级及预后相关;依赖于病情严重程度,BNP水平可能波动在20~2 000 ng/L;治疗后BNP水平下降缓慢。出院时最优容量BNP水平(干BNP)越低,患者再入院的可能性就越小。了解患者的基线最优容量BNP水平对于调整患者的治疗非常重要。BNP水平明显高于基线水平(20%~50%),通常意味着平均容量负荷过重;BNP水平先前正常,而目前>600 ng/L,则通常与容量负荷过重有关。

BNP/NT-proBNP结果的动态观察对心力衰竭治疗效果判断非常有意义。急性心力衰竭治疗有效者NT-proBNP水平迅速降低,达30%以上才有价值。如果没有基线NT-proBNP信息,也可将NT-proBNP急性期治疗目标定为<4 000 ng/L。而针对慢性心力衰竭的诊断,其“排除”诊断的最佳范围为100~160 ng/L,阴性预测值为92%~100%。而“诊断”截点则难以确定,其总体水平低于急性心力衰竭。需要作出的鉴别诊断较多,包括许多非心力衰竭性疾病,如慢性肺部疾病、肺动脉高压、高血压及心房颤动等,需结合病史、临床表现和其他检查手段(心电图、X线胸片和超声心动图)。建议动态观察,但不必每天频繁检测。

3. 检测结果是否“正常”,要因人而异,避免“一刀切”:BNP/NT-proBNP水平应理解为一个连续的变量。但为了具体应用的简单化,有必要设定cut-off值。cut-off值的设定应考虑年龄、性别、肥胖和肾功能等因素对BNP/NT-proBNP结果判断的影响,相关人群诊断心力衰竭的cut-off值会不同。

4. BNP和NT-proBNP各自的特点^[8,13,15]:BNP和NT-proBNP密切相关。一般而言,BNP和NT-proBNP在心力衰竭诊断和预后判断中的价值相同。但也有

较多的报道显示,在一些患者中存在差异,两者在临床应用方面和生理学都不可能完全相同。尽管BNP和NT-proBNP会等摩尔释放入血,由于不同的清除机制和其他相关肽的作用,稳态(steady-state)NT-proBNP浓度水平比BNP高4~6倍。针对稳定状态心力衰竭患者的个体内每周间变异达50%~66%。BNP优缺点:半衰期短,对观察治疗效果的反应更快,受肾功能影响相对较小,但体外稳定性较差,对标本采集要求较高。要求用塑料试管,且只能使用EDTA抗凝,2h内会受外源性含BNP药物影响。NT-proBNP优缺点:半衰期较长,对治疗的反应较迟缓,但含量高,体外稳定性好,且对标本采集要求较低,血清、血浆均可(推荐血清),故对早期心功能判断,特别是心力衰竭A、B阶段(早期阶段)具有优势,并不受外源性含BNP成分药物影响。目前较普遍认同是沙库巴曲缬沙坦钠(sacubitril/valsartan, LCZ696)疗效判断的可用指标之一。

BNP和NT-proBNP间没有可靠固定的公式使两者相关连,因为两者不成线性关系,不能相互转换。一般不建议医疗机构频繁更换BNP或NT-proBNP检测。

5. 关于新药LCZ696疗效判断与监测^[7]:LCZ696是目前最先进的投入临床应用的血管紧张素受体-脑啡肽酶抑制剂(angiotensin receptor-neprilysin inhibitors, ARNis),其通过第二信使环磷酸鸟苷(circle guanosine phosphate, cGMP)进行肽传递,以增强NPs并发挥其生理作用,比单纯抑制脑啡肽酶潜在不良反应少,临床效果更好。所以,判断LCZ696临床应用疗效时建议使用BNP观察药性,检测NT-proBNP观察药效,检测cGMP判断药物的生物利用度。也有建议检测尿液中可溶性脑啡肽酶。

● 临床应用存在的困惑及目前的部分解读

BNP/NT-proBNP的临床应用已10多年,但仍存在许多困惑,如不同BNP检测平台有多大差异?现在发现由于标准化问题,不同检测系统差异在30%~50%^[13];NT-proBNP检测平台一致性是否存在问题?现在发现尽管全部抗体来源于Roche Diagnostics,但由于不同的检测系统、糖基化问题及与proBNP的交叉反应等问题,检测结果同样存在很大差异^[23]。可见,相关指南建议使用统一的cut-off值是否合适值得考虑。现在发现血循环中存在大量的proBNP,但其临床意义值得探讨:proBNP进一步分解受哪些关键环节影响?corin和furin在proBNP分解过程中如

何调控?其浓度高低、功能失调的意义是什么? proBNP的存在对BNP/NT-proBNP检测是否存在交叉干扰?目前试剂检测的BNP只是BNP₁₋₃₂,还有哪些BNP相关片段未检测(如BNP₃₋₃₂、BNP₄₋₃₂、BNP₅₋₃₂、BNP₇₋₃₂等)?这些BNP相关片段中哪些与急、慢性心力衰竭及预后最相关?什么是糖基化 proBNP/NT-proBNP?对目前的检测方法有什么影响?下一步检验如何解决?哪些病理情况下更易引发糖基化?为何注射外源性BNP的临床效用有限?抑制脑啡肽酶就能提高血中BNP浓度吗?通过LCZ696提升NPs临床获益的原因是什么?缬沙坦(valsartan)抑制RAAS,而沙库巴曲(sacubitril)的作用是什么?BNP升高到一定程度会有主动抑制作用(autoinhibition),即“分子开关(molecular switch)”作用,高浓度则会抑制脑啡肽酶活性,其有什么生理意义?ARNi所有临床获益能简单解释并归因于脑啡肽酶抑制或单独BNP的效应所致吗?其是否强化其他激素,如缓激肽(bradykinin)、P物质(substance P)和肾上腺髓质素(adrenomedullin),它们在治疗心力衰竭中的作用(每一种都有其自身的动力学特征)是什么?现在发现“先发制人”(pre-emptively)具有抑制脑啡肽酶的效应,即LCZ696可在失代偿发生前诱导利钠肽和其他血管活性肽浓度“飙升”,以提前控制或逆转失代偿。另外,要关注NPs缺乏,心力衰竭时心室容量及压力增加反应性持续生成NPs激素原,但这些激素原是否继续转变为有活性的部分?急、慢性期是否不同?要关注NPs抵抗问题,即尽管NPs在持续升高,但充血状态一直存在的原因是什么?还有受体脱敏问题(receptor desensitization),尽管慢性心力衰竭存在更多的受体,但能产生同样数量的cGMP吗?人们发现心力衰竭的持续时间及心力衰竭严重程度决定受体的脱敏程度,我们已经知道健康个体中,NPs与RAAS相互拮抗,但这种关系在心力衰竭时是否依然存在?现在我们已经知道NPs(心房扩张和心室舒张末期压增加时)和RAAS(血压和肾灌注压降低时)会同时活化,导致心力衰竭时呈正相关,即NPs和RAAS同时激活,尽管大多数NPs抵抗RAAS,但RAAS有能力完全掩盖掉NPs的作用吗?还有临床很关心的“BNP悖论”问题,即BNP值很高,但并没有展现出利钠及利尿效应。我们就要提出疑问,检验检测的是什么?BNP生物利用度如何?心力衰竭时NPs和RAAS同时活化(RAAS压倒性作用)等都与“悖论”相关。现在已明确“悖论”

的原因之一是不准确的实验结果所致,即由于BNP试剂与proBNP的交叉反应导致的BNP结果“虚高”(实际BNP缺乏)。上述困惑要归因于慢性心力衰竭,特别是存在多器官损伤并发症时所表现的不同NPs谱。新近困惑仍在继续,即哪些情况使用LCZ696更有效?是急性心力衰竭还是慢性心力衰竭?是射血分数保留的心力衰竭(heart failure with preserved ejection fraction, HF-PEF)还是射血分数降低的心力衰竭(heart failure with reduced ejection fraction, HF-REF)?目前推荐应用NT-proBNP对LCZ696进行监测,但药性、药效及生物利用度用什么指标判断?LCZ696疗效判断的新检验组合是什么?可溶性脑啡肽酶作为心力衰竭生物标志物前景如何?等等。所以,未来我们还有许多工作要做。

● 未来的方向

当下有几点已经明确,即各种心力衰竭类型会伴随不同的NPs表现谱(图1),同时围绕NPs家族的相关肽检测会不断出现,新的心力衰竭治疗药也会不断研发。可尽管已明确方向,但落实、用好还要继续努力。

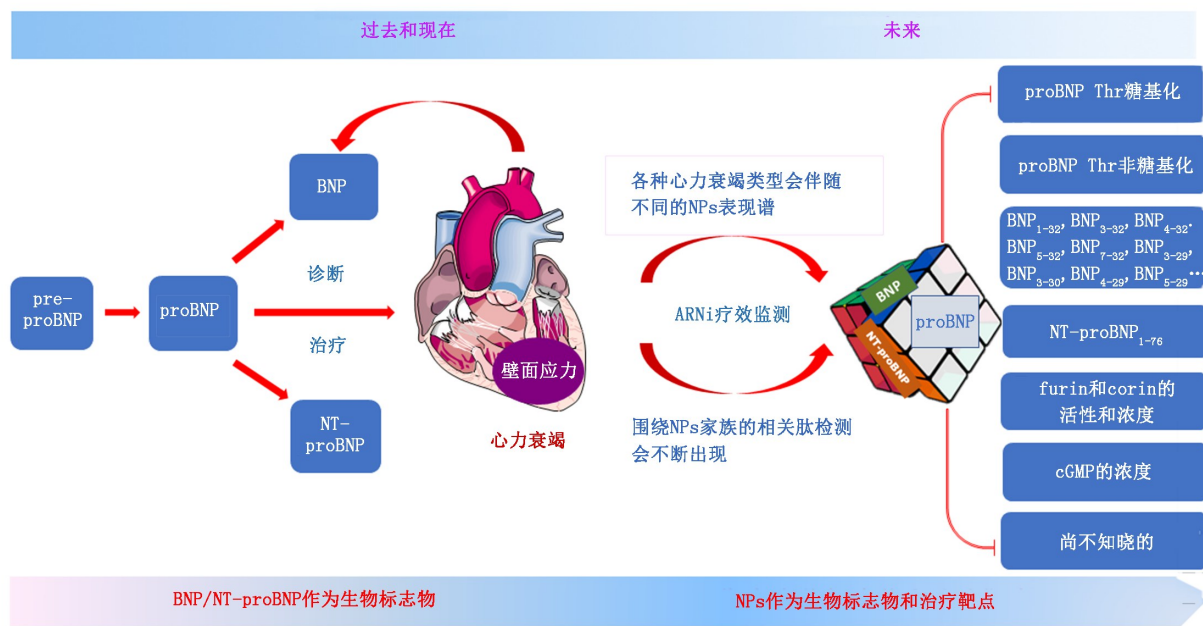
LCZ696用于心力衰竭治疗的目的是维持NPs在体内的活性。脑啡肽酶的作用是降解BNP,现发现BNP达到一定浓度会抑制脑啡肽酶的产生。因此,ARNi治疗后检测血中BNP、NT-proBNP、cGMP和可溶性脑啡肽酶浓度将是未来监测的新组合。

关于心力衰竭治疗新药的研发,已经提出“设计NPs”的概念,即新的肽工程,通过修改NPaa序列策略,生产嵌合NPs,其药理作用将超过天然NPs,同时尽可能减轻不良反应。另一目标是设计出高度耐受脑啡肽酶的NPs。

未来心力衰竭的管理方向是实现生物标志物指导的精准治疗(biomarker-guided therapy),随着对NPs家族的不断深入研究,相信不久的将来针对BNP/NT-proBNP的检测会更加精准,围绕着不同程度心力衰竭表现所体现的不同NPs片段表现谱研究会更加明确,围绕利钠肽生理作用会有更多的治疗药物产生。

参 考 文 献

- [1] Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation / American Heart Association Task Force on



注: proBNP Thr糖基化指 proBNP₇₁ 苏氨酸位点糖基化

图1 BNP/NT-proBNP的过去、现在和未来

- practice guidelines [J]. *Circulation*, 2013, 128(16): 1810-1852. DOI: 10.1161/CIR.0b013e31829e8807.
- [2] van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr. Emerging biomarkers in heart failure [J]. *Clin Chem*, 2012, 58(1): 127-138. DOI: 10.1373/clinchem.2011.165720.
- [3] Ibrahim NE, Januzzi JL Jr. Beyond Natriuretic Peptides for Diagnosis and Management of Heart Failure [J]. *Clin Chem*, 2017, 63(1): 211-222. DOI: 10.1373/clinchem.2016.259564.
- [4] Maise A, Mueller C, Peacock WF, et al. 2008 中西方 BNP 专家共识 [J]. *中国医药导刊*, 2009, 11(10): 1628-1637. DOI: 1009-0959(2009)10-1628-10.
- [5] NT-proBNP 临床应用中国专家共识小组. NT-proBNP 临床应用中国专家共识 [J]. *中国心血管病研究*, 2011, 9(6): 401-408. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5301.2011.06.001.
- [6] 张真路. 重新认识利钠肽家族的临床意义 [J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 40(6): 414-416. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2017.06.002.
- [7] Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, et al. A new natriuretic peptide in porcine brain [J]. *Nature*, 1988, 332(6159): 78-81. DOI: 10.1038/332078a0.
- [8] Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, et al. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 168(2): 863-870. DOI: 10.1016/0006-291X(90)92401-K.
- [9] Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, et al. Biology of the natriuretic peptides [J]. *Am J Cardiol*, 2008, 101(3A): 3-8. DOI: 10.1016/j.amjcard.2007.11.012.
- [10] Apple FS, Wu AH, Jaffe AS, et al. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for standardization of markers of cardiac damage laboratory medicine practice guidelines: Analytical issues for biomarkers of heart failure [J]. *Circulation*, 2007, 116(5): e95-98. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.185266.
- [11] 张真路. B 型利钠肽和 N 端 B 型利钠肽原检测结果判断要考虑的影响因素 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(2): 134-136. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2012.02.008.
- [12] 张真路. BNP 和 NT-proBNP 结果判断一定要结合临床背景 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(10): 874-877. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2012.10.003.
- [13] Clerico A, Franzini M, Masotti S, et al. State of the art of immunoassay methods for B-type natriuretic peptides: An update [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2015, 52(2): 56-69. DOI: 10.3109/10408363.2014.987720.
- [14] McCullough PA, Sandberg KR. Sorting out the evidence on natriuretic peptides [J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2003, 4 Suppl 4: S13-19.
- [15] 胡大一, 杨振华. B 型钠尿肽的临床应用和最新进展 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2006.
- [16] Vasile VC, Jaffe AS. Natriuretic peptides and analytical barriers [J]. *Clin Chem*, 2017, 63(1): 50-58. DOI: 10.1373/clinchem.2016.254714.
- [17] Yandle TG, Richards AM. B-type natriuretic peptide circulating forms: analytical and bioactivity issues [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 448: 195-205. DOI: 10.1016/j.cca.2015.07.004.
- [18] DeFilippi C, van Kimmenade RR, Pinto YM. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide testing in renal disease [J]. *Am J Cardiol*, 2008, 101(3A): 82-88. DOI: 10.1016/j.amjcard.2007.11.029.
- [19] 《基层医院心力衰竭临床诊疗中 B 型利钠肽和 N 末端 B 型利钠肽原的应用中国专家建议》专家组. 基层医院心力衰

- 竭临床诊疗中B型利钠肽和N末端B型利钠肽原的应用中国专家建议[J]. 中华全科医师杂志, 2017, 16(3): 169-173. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7368.2017.03.001.
- [20] Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2017 ACC/AHA/HFSA focused update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on clinical practice guidelines and the Heart Failure Society of America [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(6): 776-803. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.04.025.
- [21] Roubille F, Delseny D, Cristol JP, et al. Depletion of proBNP1-108 in patients with heart failure prevents cross-reactivity with natriuretic peptides [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75174. DOI: 10.1371/journal.pone.0075174.
- [22] Seferian KR, Tamm NN, Semenov AG, et al. Immunodetection of glycosylated NT-proBNP circulating in human blood [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(5): 866-873. DOI: 10.1373 / clinchem.2007.100545.
- [23] Saenger AK, Rodriguez-Fraga O, Ler R, et al. Specificity of B-type natriuretic peptide assays: cross-reactivity with different BNP, NT-proBNP, and proBNP peptides [J]. *Clin Chem*, 2017, 63(1): 351-358. DOI: 10.1373 / clinchem.2016.263749.