

冠心病患者血清对氧磷酶活性的测定

苏显明¹, 崔长琮¹, 崔翰斌³, 王新阳²

(西安交通大学医学院附属第一医院 1. 老年心血管内科; 2. 泌尿外科;

3. 陕西省人民医院心血管内科, 陕西省 西安市 710061)

[关键词] 内科学; 冠心病; 对氧磷酶; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 乙酸苯酯法; 高密度脂蛋白

[摘要] 目的 探讨冠心病患者血清对氧磷酶 1 活性及其与冠心病之间的关系。方法 选择冠状动脉造影确诊的冠心病患者 106 例和非冠心病组 62 例, 用乙酸苯酯法和比色法分别测定两组血脂、血清对氧磷酶 1 活性、超氧化物歧化酶及丙二醛含量, 并进行对比分析。结果 冠心病组血清中对氧磷酶 1 活性和超氧化物歧化酶水平分别为 113 ± 64 Ukat/L 和 43.8 ± 8.2 kU/L, 均较对照组降低 (134 ± 72 Ukat/L 和 63.4 ± 5.7 kU/L) ($P < 0.05$); 而丙二醛含量较对照组升高 (9.4 ± 1.8 μmol/L 比 4.1 ± 0.5 μmol/L, $P < 0.01$)。对氧磷酶 1 活性与高密度脂蛋白和超氧化物歧化酶水平呈正相关, 与丙二醛水平呈负相关。冠状动脉狭窄者对氧磷酶 1 活性较无狭窄者明显减低 ($P < 0.001$), 2、3 支血管病变者较 1 支血管病变者对氧磷酶 1 活性降低 ($P < 0.05$)。结论 冠心病患者血清对氧磷酶 1 活性降低, 低对氧磷酶 1 活性与冠心病严重程度有关。

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

Analysis of Paraoxonase Activity in the Patients with Coronary Artery Disease

SU Xian-Ming¹, CUI Chang-Cong¹, CUI Han-Bin³, and WANG Xin-Yang²

(1. Department of Cardiology, 3. Institute of Urinary Surgery, First Hospital of Xi'an Jiaotong University; 2. Department of Cardiology of Shanxi People's Hospital, Xi'an 710061, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Paraoxonase; Superoxide Dismutase; Malondialdehyde; Phenyl Acetate Method; High Density Lipoprotein

[ABSTRACT] Aim To understand the paraoxonase (PON) activity in the patients with coronary heart disease, and the relationship between paraoxonase activity and coronary heart disease. Methods 106 cases having one or more than two branches narrow ($\geq 50\%$), and 62 control group with no coronary artery narrow or narrow $\leq 50\%$, were diagnosed by coronary angiography. Blood paraoxonase (PON1) activity, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels were tested and analyzed by phenyl acetate method and colorimetric method respectively in these two groups. Results Compared with the control group, PON1 activity and SOD were markedly decreased ($P < 0.05$), MDA were increased in coronary heart disease ($P < 0.01$); PON1 activity was positively associated with high density lipoprotein (HDL) cholesterol and SOD, was negatively associated with MDA. Compared with no coronary artery narrow or narrow $\leq 50\%$, the PON1 activity were markedly decreased ($P < 0.05$), with the more severe lesion of coronary artery, the more lower PON1 activity. Conclusion PON1 activity were lower in the patients with coronary heart disease, lower PON1 activity was relative with the severe degree of coronary heart disease.

高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 抗氧化及抗动脉粥样硬化作用主要归功于与其相关的各种蛋白成分, 作为与 HDL 结合的芳香酯酶, 对氧磷酶 (paraoxonase, PON) 是唯一可与 HDL 结合并防止 LDL 被氧化修饰的蛋白。本文对冠心病患者 PON1 活性及血脂、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和丙二醛水平进行测定, 以了解对氧磷

酶 1 活性与冠心病之间的关系。

1 对象与方法

1.1 对象及分组

选择 2003 年 3 月至 2004 年 8 月本院心血管内科住院患者 168 例, 其中男性 116 例, 年龄 56.4 ± 9.7 岁 (38~78 岁); 女性 52 例, 年龄 57.5 ± 8.3 岁 (40~73 岁), 入院时均经过询问病史、体格检查、X 线检查、心电图、超声心动图以及相关实验室检查等。纳入标准: 入院并行冠状动脉造影 (coronary angiography, CAG) 术者。排除标准: 急慢性肝肾疾病、肿瘤、脑血管病和周围血管性疾病等。

按 CAG 结果左冠状动脉主干 (LM)、左前降支

[收稿日期] 2005-08-30

[修回日期] 2006-04-11

[基金项目] 美国沙漠基金资助项目 (2002DFUSA); 陕西省科技攻关项目 (2005J13-G1)

[作者简介] 苏显明, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为老年冠心病诊治, E-mail 为 suyanger@pub.xaonline.com。崔长琮, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为临床电生理及介入心脏病, E-mail 为 czeui@263.net。崔翰斌, 博士, 副主任医师, 研究方向为冠心病介入治疗, E-mail 为 hbcui@yahoo.com.cn。

(LAD)、左回旋支(LCX)及右冠状动脉(RCA)中至少一支血管狭窄程度 $\geq 50\%$ 者为冠心病组;未发现冠状动脉狭窄或狭窄程度 $< 30\%$ 者为对照组。168例中冠心病组患者106例,年龄 58.4 ± 8.2 岁(42~78岁);对照组62例,年龄 57.8 ± 9.6 岁(38~72岁)。

按冠状动脉病变狭窄程度分为4组。0支病变组:LAD、LCX或RCA中任何一支血管均无狭窄或狭窄程度 $< 30\%$;1支病变组:LAD、LCX或RCA中任何一支血管狭窄程度 $\geq 50\%$ 者;2支病变组:任何2支血管狭窄程度 $\geq 50\%$ 者;3支病变组:任何3支血管狭窄程度 $\geq 50\%$ 者。对于LM病变者,无论LAD及LCX有无病变,均归为2支病变组,若同时合并RCA病变则归为3支病变组。

1.2 冠状动脉造影

采用荷兰飞利浦公司生产的Integris H5000C型数字减影机,按Judkin's法依次行CAG,常规多体位投照,均经过至少2位有经验的医生阅片,阅片前均不知本研究内容。采用直接法用定量冠状动脉造影分析软件(QCA)测定病变血管的狭窄程度。

1.3 标本采集

患者于行CAG术前空腹取外周静脉血10 mL,置于密闭干燥管中,注入10% EDTA-Na 30 μ L和抑肽酶40 μ L,混匀,2 h内于4℃ 3 000 r/min离心10 min,分离血浆,立即冻存于-45℃低温冰箱中备测。测量前将样本置室温下复融,再次4℃ 3 000 r/min离心5 min,取上清液。

1.4 观察指标

总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、载脂蛋白AI、载脂蛋白B及脂蛋白(a)均采用酶法应用全自动生物化学分析仪测定。对氧磷酶1活性参照文献[1]采用乙酸苯酯法测定。SOD和丙二醛分别按照试剂盒说明(购自南京聚力生物医学工程研究所)进行操作。

1.5 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS11.0/PC软件包进行统计分析。两组间均数采用成组 t 检验,多组间均数采用 F 检验,指标间关系采用直线相关性分析。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 冠心病组与对照组血脂水平的比较

冠心病组脂蛋白(a)浓度为显著高于对照组($P < 0.05$);高密度脂蛋白显著低于对照组($P < 0.05$)。其他血脂指标差异无显著性(表1)。

表1. 冠心病组与对照组血脂水平的比较($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组($n=62$)	冠心病组($n=106$)
总胆固醇(mmol/L)	4.56 ± 0.98	4.61 ± 1.08
甘油三酯(mmol/L)	1.88 ± 1.23	1.90 ± 1.13
HDL(mmol/L)	1.25 ± 0.74	1.09 ± 0.67^a
LDL(mmol/L)	2.91 ± 1.04	2.96 ± 0.83
载脂蛋白AI(g/L)	1.33 ± 0.33	1.27 ± 0.31
载脂蛋白B(g/L)	0.79 ± 0.13	0.81 ± 0.11
脂蛋白(a)(mg/L)	154 ± 13	198 ± 13^a

a为 $P < 0.05$,与对照组比较。

2.2 冠心病患者对氧磷酶1、超氧化物歧化酶和丙二醛的水平

冠心病组患者PON1活性显著低于对照组($P < 0.01$),SOD显著低于对照组($P < 0.05$);丙二醛显著高于对照组($P < 0.01$)(表2)。

表2. 各组对氧磷酶1、超氧化物歧化酶和丙二醛水平的比较($\bar{x} \pm s$)

参 数	n	PON1(μ kat/L)	SOD(kU/L)	丙二醛(μ mol/L)
对照组	62	134 ± 72	63.4 ± 5.7	4.1 ± 0.5
冠心病组	106	113 ± 64^a	43.8 ± 8.2^b	9.4 ± 1.8^a

a为 $P < 0.01$,b为 $P < 0.05$,与对照组比较。

2.3 冠心病患者对氧磷酶1活性与血脂、超氧化物歧化酶和丙二醛的关系

以对氧磷酶1分别与血脂、SOD和丙二醛进行直线相关分析发现,PON1活性与高密度脂蛋白和SOD呈正相关($r = 0.392, r = 0.485, P < 0.05$),与丙二醛呈负相关($r = -0.426, P < 0.05$)。与其余血脂无相关性。

2.4 对氧磷酶1活性与冠状动脉病变程度之间的关系

冠状动脉狭窄者PON1活性较无狭窄者明显减低($P < 0.001$),且随着冠状动脉病变支数的增多,PON1活性呈减少趋势,2、3支病变组较1支病变组PON1活性降低($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

流行病学研究显示,血脂异常、高血压、糖尿病以及吸烟等是引起冠心病的主要危险因素,其中低水平的高密度脂蛋白(HDL)与冠心病的关系更为密切^[2]。研究表明,HDL水平每降低1%,冠心病的危险增加2%~3%^[3]。本研究采用冠状动脉造影确

表 3. 不同冠状动脉病变程度时对氧磷酶 1 活性的比较($\bar{x} \pm s$, Ukat/L)

病变支数	n	PON1 活性
0 支病变组	62	134 \pm 72
1 支病变组	32	126 \pm 62 ^b
2 支病变组	30	115 \pm 55 ^{ab}
3 支病变组	44	108 \pm 57 ^{ab}

a 为 $P < 0.05$, 与 1 支病变组比较; b 为 $P < 0.001$, 与 0 支病变组比较。

诊冠心病, 对其血脂指标进行检查, 结果发现, 冠心病患者 HDL 胆固醇水平显著低于非冠心病者 ($P < 0.05$), 除脂蛋白(a)外, 其他血脂指标两组之间无显著差别 ($P > 0.05$), 再次说明低 HDL 胆固醇可以导致动脉粥样硬化的发生, 在冠心病发病中起重要的作用。

众所周知, HDL 作为胆固醇逆转运过程中的脂质转运体, 将多余胆固醇从周围组织转运到肝脏进行代谢。其次, HDL 可通过抑制低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 氧化修饰发挥抗动脉粥样硬化作用。研究显示, 氧化型 LDL 能促进动脉粥样硬化的发生和发展, 磷脂和 LDL 在血管内皮下通过脂氧合酶和髓过氧化物酶等途径进行氧化修饰, 特别是花生四烯酸包括磷脂的氧化物这些炎症前期物质, 能够激发免疫反应, 诱导粘附分子和单核细胞化学吸附, 最终促进泡沫细胞的形成^[4]。HDL 不仅可以防止 LDL 氧化修饰, 同时可以降低氧化型 LDL 的生物活性^[5,6]。而 HDL 这些抗氧化作用及抗动脉粥样硬化作用主要归功于与其相关的各种蛋白成分。其中对氧磷酶 (PON) 与冠心病相关性的研究已成为近年来研究的热点。PON 是由肝脏合成的与 HDL 结合的芳香酯酶, 为一种钙依赖性糖蛋白, 分子量 43 kDa, 属酯水解酶。研究证明, PON 能部分水解脂质过氧化物, 保护 LDL 免受氧化修饰, 减少氧化型脂质积聚^[5]。体外研究显示 PON1 是唯一与 HDL 结合并防止 LDL 被氧化修饰的蛋白^[7]。

通常机体通过酶系统与非酶系统产生氧自由基, 氧化损伤生物膜, 形成脂质过氧化物丙二醛等, 丙二醛的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度。SOD 对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用, 该酶能清除脂质过氧化物, 其升高可减轻对组织细胞的过氧化损伤, 降低脂质过氧化形成, 保护血管内皮免受氧化损伤, 防止动脉粥样硬化的形成, 其高

低可间接反应机体抗氧化损伤的能力。本研究在测定 PON1 活性的同时, 对反映脂质过氧化程度和反映抗氧化能力的丙二醛和 SOD 水平也进行了检测。结果发现, 冠心病患者 PON1 活性显著低于非冠心病组 ($P < 0.01$), 丙二醛水平均显著高于非冠心病组 ($P < 0.01$), SOD 水平显著低于非冠心病组 ($P < 0.05$)。对 PON1 活性与血脂、SOD、丙二醛进行了相关性分析发现, PON1 活性与 HDL、SOD 呈正相关 ($r = 0.392, r = 0.485, P < 0.05$), 与丙二醛呈负相关 ($r = -0.426, P < 0.05$), 这与以往研究结果一致^[1,8]。说明冠心病患者体内脂质过氧化水平增强, 血管内皮功能受损, PON1 与 HDL 胆固醇和 SOD 一样, 对心血管具有保护作用, PON1 活性降低可以导致机体抗氧化能力下降, 从而促进动脉粥样硬化的发生和发展, 是冠心病的独立危险因素。

我们还对 PON1 活性与冠状动脉病变程度之间的关系进行了分析, 发现冠状动脉狭窄者 PON1 活性较无狭窄者明显减低, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 2、3 支病变较 1 支病变 PON1 活性降低 ($P < 0.05$), 说明 PON1 活性与冠状动脉病变程度有关, 冠状动脉病变程度越严重, PON1 活性越低。提示我们, 检测 PON1 活性, 可以初步了解冠状动脉病变的严重程度, 对判断患者的预后有着非常重要的临床意义。

[参考文献]

- [1] 白玲, 马爱群, 耿涛. 冠心病患者血清对氧磷酶活性的意义. 第四军医大学学报, 2002, 23 (18): 封 3
- [2] Castelli WP. Lipid, risk factors and ischaemic heart disease[J]. *Atherosclerosis*, 1996, 124(Suppl): S1-S9
- [3] Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Naton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: fore prospective American studies[J]. *Circulation*, 1989, 79: 8-15
- [4] Navab M, Ananthramiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansel BJ, Fonarow GC, et al. Thematic review series: the pathogenesis of atherosclerosis: the oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL [J]. *J Lipid Res*, 2004, 45: 993-1007
- [5] Navab M, Hama Y, Cook CJ, Ananthramiah GM, Chaddha M, Jin L, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps1[J]. *J Lipid Res*, 2000, 41: 1481-494
- [6] Navab M, Hama SY, Ananthramiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson AD, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps2 and 3[J]. *J Lipid Res*, 2000, 41: 1495-508
- [7] Drington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraonase and atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21: 473-480
- [8] Watson AD, Berliner JA, Hama SY. Protective effect of high density lipoprotein associated paraonase. *J Clin Invest*, 1995, 96: 2882-891

(此文编辑 朱雯霞)