

• 临床研究 •

[文章编号] 1007-3949(2010)18-11-0882-03

老年脑梗死患者血清对氧磷酶 1 活性与氧化应激的关系及其在动脉粥样硬化中的作用

黄建敏, 黄瑞雅, 简崇东, 蒙兰青, 李雪斌

(右江民族医学院附属医院神经内科, 广西百色市 533000)

[关键词] 脑梗死; 老年人; 对氧磷酶 1; 氧化应激; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨老年脑梗死患者血清对氧磷酶 1 活性与氧化应激的关系及其在动脉粥样硬化中的作用。方法 通过 DSA 检查确诊颈动脉狭窄的老年脑梗死患者 72 例作为研究对象(其中轻度狭窄 33 例, 中度狭窄 24 例, 重度狭窄 15 例), 以非脑血管病健康体检者 38 例作为对照组, 用分光光度计法、黄嘌呤氧化酶法和硫代巴比妥酸反应物质法分别测定血清对氧磷酶 1 活性、超氧化物歧化酶和丙二醛含量, 分析对氧磷酶 1 活性与超氧化物歧化酶、丙二醛之间的关系。结果 脑梗死组患者血清对氧磷酶 1 活性 (95.62 ± 18.26 ku/L) 和超氧化物歧化酶含量 (69.59 ± 10.56 ku/L) 显著低于对照组(分别为 168.36 ± 27.82 ku/L 和 98.34 ± 13.42 ku/L, $P < 0.01$), 而丙二醛含量 (24.46 ± 5.68 nmol/L) 显著高于对照组 (15.64 ± 8.26 nmol/L, $P < 0.01$)。轻度、中度和重度狭窄组患者对氧磷酶 1 活性(分别为 112.48 ± 19.32 , 98.64 ± 10.84 和 81.95 ± 13.42 ku/L)、超氧化物歧化酶(分别为 80.62 ± 13.26 , 70.26 ± 14.09 和 58.82 ± 10.06 ku/L) 和丙二醛含量(分别为 19.52 ± 8.48 , 23.56 ± 9.81 和 27.28 ± 9.89 nmol/L) 差异均有显著性(均 $P < 0.01$), 并且对氧磷酶 1 活性和超氧化物歧化酶含量随颈动脉狭窄程度加重, 呈逐渐下降的趋势, 而丙二醛含量随颈动脉狭窄程度加重呈上升趋势。相关分析表明, 对氧磷酶 1 活性与超氧化物歧化酶含量正相关($r = 0.628$, $P < 0.01$), 而与丙二醛含量负相关($r = -0.541$, $P < 0.01$)。结论 老年脑梗死患者血清对氧磷酶 1 活性降低及氧化应激增强, 对氧磷酶 1 活性和氧化应激及其复杂的相互作用参与动脉粥样硬化发生和发展。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Relationship Between Serum Paraoxonase-1 and Oxidative Stress in Elderly Patients with Cerebral Infarction and Their Roles in Atherosclerosis

HUANG Jian-Min, HUANG Rui-Ya, JIAN Chong-Dong, MENG Lan-Qing and LI Xue-Bin

(Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Guangxi Baise 533000, China)

[KEY WORDS] Cerebral Infarction; Old Age; Paraoxonase-1; Oxidative Stress; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between serum paraoxonase-1 (PON-1) and oxidative stress in elderly patients with cerebral infarction and their roles in atherosclerosis. **Methods** By DSA examination, 72 elderly patients with cerebral infarction combined carotid artery atherosclerosis were involved in the study. The light stenosis was seen in 33 cases, the middle stenosis was seen in 24 cases, the heavy stenosis was seen in 15 cases. 38 healthy people without cerebrovascular disease were adopted as control group. The activity of serum PON-1 was determined by spectrophotometer. The levels of serum superoxide dismutase (SOD) were detected by xanthine oxidase methods. The levels of serum malondialdehyde (MDA) were detected by thiobarbituric acid reactive substance. We have analyzed correlation between PON-1, SOD and MDA. **Results** The activity of serum PON-1 and the levels of serum SOD in the cerebral infarction group were significantly lower than those in the control group (95.62 ± 18.26 ku/L vs 168.36 ± 27.82 ku/L, 69.59 ± 10.56 ku/L vs 98.34 ± 13.42 ku/L, $P < 0.01$), while the levels of serum MDA in the cerebral infarction group were significantly higher than those in the control group (24.46 ± 5.68 nmol/L vs 15.64 ± 8.26 nmol/L, $P < 0.01$). There were significant differences in the activity of serum PON-1 (112.48 ± 19.32 ku/L vs 98.64 ± 10.84 ku/L vs 81.95 ± 13.42 ku/L), the levels of serum SOD (80.62 ± 13.26 ku/L vs 70.26 ± 14.09 ku/L vs 58.82 ± 10.06 ku/L) and MDA (19.52 ± 8.48 nmol/L vs 23.56 ± 9.81 nmol/L vs 27.28 ± 9.89 nmol/L) in the light, middle, heavy stenosis groups ($P < 0.01$). The activity of serum PON-1 and the levels of serum SOD in cerebral infarction group decreased with the progression of carotid artery stenosis, while the levels of serum MDA increased with the progression of carotid artery stenosis. The correlation analysis results showed that there was positive correlation between the activity of PON-1 and levels of SOD ($r = 0.628$, $P < 0.01$), while there was negative correlation between the activity of PON-1 and levels of MDA ($r = -0.541$, $P < 0.01$) in cerebral infarction groups. **Conclusion** The activity of PON-1 was significantly decreased, while oxidative stress was increased in elderly patients with cerebral infarction. The complicated interaction between oxidative stress and PON-1 may result in occurrence and development of atherosclerosis.

[收稿日期] 2010-10-12

[修回日期] 2010-11-16

[作者简介] 黄建敏, 副主任医师, 副教授, 从事脑血管疾病介入诊疗和动脉粥样硬化研究, Email为 bshuangjianm@126.com。黄瑞雅, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 从事高血压与动脉粥样硬化研究。简崇东, 主治医师, 从事脑血管疾病介入与基础研究。

对氧磷酶 1 (paraoxonase-1, PON-1) 作为体内重要抗氧化物质, 在缺血性脑卒中所起的作用受到人们日益关注。研究发现缺血性脑卒中患者氧化应激增强, 但目前国内外对缺血性脑卒中发病过程中 PON-1 与氧化应激的关系研究较少, 本研究通过对合并颈动脉狭窄的老年脑梗死患者血清 PON-1 活性、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 进行检测分析, 探讨血清 PON-1 活性与氧化应激的关系及其在动脉粥样硬化中的作用。

1 对象及方法

1.1 研究对象

选取 2008 年 8 月 ~ 2010 年 7 月在我院神经内科住院治疗、年龄大于 60 岁、确诊为缺血性脑卒中合并颈动脉狭窄患者 72 例作为脑梗死组, 其中男 49 例, 女 23 例, 平均年龄 70.16 岁。病例入选标准: 参照全国第四届脑血管会议制定的脑梗死诊断标准, 结合临床及影像学 (头颅 MRI /CT), 确诊为缺血性卒中; ④住院期间均行全脑血管造影术, 确诊颈总动脉或颈内动脉颅外段存在不同部位、不同程度狭窄。排除标准: 短暂性脑缺血发作、心源性脑梗死和冠心病; ④全身大动脉疾病和代谢性疾病者; ④严重肝肾功能不全者; ④急慢性感染患者。选择同期与病例组相匹配的非脑血管病健康体检者 38 例作为对照组, 其中男 25 例, 女 13 例, 平均年龄 68.72 岁。两组间年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压史、糖尿病史、空腹血糖、胆固醇、甘油三酯水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 数字减影脑血管造影 DSA 检查方法

采用德国西门子大型 C 臂数字减影血管造影机 AXIOM Artis dTA 进行检查, 用改良 Seldinger 法行股动脉穿刺置 5F 鞘, 插管, 分别行主动脉弓、双侧颈总动脉、颈内动脉、椎动脉造影。动脉狭窄程度判断: 狭窄率 (%) = (狭窄远端正常直径 - 最狭窄段直径) / 狭窄远端正常直径。轻度狭窄 $\leq 50\%$, 中度狭窄 $50\% \sim 69\%$, 重度狭窄 $70\% \sim 99\%$, 闭塞 100% 。

1.3 血样采集

所有受检者于清晨采集静脉血液 4 mL, 室温下 2500 r/min 离心 10 min , 取血清于 -20°C 保存, 用于 PON-1、SOD、MDA 及其它生化指标的检测。

1.4 血清对氧磷酶 1 活性测定

采用分光光度计法, 测定血清 PON-1 活性。

PON-1 活性 (ku/L) = $A \times 10^3 \times f \times FV / (t \times SV \times L \times \epsilon)$; A 为净吸光度值 (即标本吸光度值 - 血清对照和底物对照的吸光度值), f 为标本稀释倍数, FV 为反应终体积, t 为反应时间, SV 为样品体积, L 为光径, ϵ 为摩尔消光系数, 酶的活性单位定义为每分钟催化 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 乙酸苯酯水解所需的酶量为 1 u 。

1.5 血清超氧化物歧化酶和丙二醛含量测定

采用黄嘌呤氧化酶法测定血清 SOD 含量, 硫代巴比妥酸反应物质法测定血清 MDA 含量, 试剂盒均为上海生物工程技术公司提供, 具体操作严格按照试剂盒说明进行。

1.6 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数比较采用 t 检验; 多个样本均数比较采用单因素方差分析, 再用 LSD 法进行两两比较; 相关关系采用 Spearman 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑梗死组与对照组血清对氧磷酶 1 活性和超氧化物歧化酶及丙二醛含量

脑梗死组患者血清 PON-1 活性和 SOD 含量显著低于对照组 ($P < 0.01$), 而 MDA 含量显著高于对照组 ($P < 0.01$; 表 1)。

表 1 脑梗死组与对照组血清对氧磷酶 1 活性及超氧化物歧化酶和丙二醛含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 例数 | PON-1 (ku/L) | SOD (ku/L) | MDA (nmol/L) |
|------|----|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 对照组 | 38 | 168.36 \pm 27.82 | 98.34 \pm 13.42 | 15.64 \pm 8.26 |
| 脑梗死组 | 72 | 95.62 \pm 18.26 ^a | 69.59 \pm 10.56 ^a | 24.46 \pm 5.68 ^a |

a 为 $P < 0.01$ 与对照组比较。

2.2 脑梗死患者不同动脉狭窄程度组血清对氧磷酶 1 活性及超氧化物歧化酶和丙二醛含量

各动脉狭窄组患者 PON-1 活性及 SOD 和 MDA 含量差异均有显著性 (均 $P < 0.01$), 并且 PON-1 活性和 SOD 含量随颈动脉狭窄程度加重, 呈逐渐下降的趋势, 而 MDA 含量随颈动脉狭窄程度加重呈上升趋势 (表 2)。

表 2 脑梗死患者不同动脉狭窄程度组血清对氧磷酶 1 活性及超氧化物歧化酶和丙二醛含量 ($\bar{x} \pm s$)

| 分 组 | 例数 | PON-1 (ku/L) | SOD (ku/L) | MDA (nmol/L) |
|-------|----|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 轻度狭窄组 | 33 | 112.48 \pm 19.32 | 80.62 \pm 13.26 | 19.52 \pm 8.48 |
| 中度狭窄组 | 24 | 98.64 \pm 10.84 ^a | 70.26 \pm 14.09 ^a | 23.56 \pm 9.81 ^a |
| 重度狭窄组 | 15 | 81.95 \pm 13.42 ^{ab} | 58.82 \pm 10.06 ^{ab} | 27.28 \pm 9.89 ^{ab} |

a 为 $P < 0.01$ 与轻度狭窄组比较; b 为 $P < 0.01$ 与中度狭窄组比较。

2.3 血清对氧磷酶 1 活性与超氧化物歧化酶和丙二醛含量的关系

相关分析结果表明, PON-1 活性与 SOD 含量呈正相关 ($r=0.628$, $P<0.01$), 而与 MDA 含量呈负相关 ($r=-0.541$, $P<0.01$; 图 1 和图 2)。

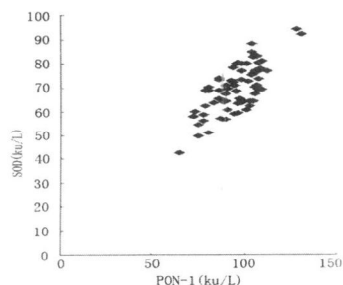


图 1. 对氧磷酶 1 与超氧化物歧化酶的相关关系

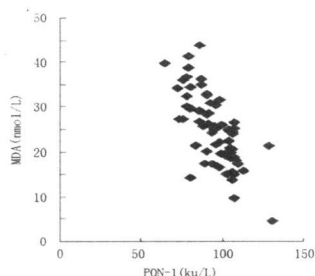


图 2. 对氧磷酶 1 与丙二醛的相关关系

3 讨论

PON-1 是一类具有抗动脉粥样硬化作用的芳香酯酶。Ng 等^[1]研究发现, PON-1 基因敲除小鼠血管抗黏附能力下降, 氧化应激损害加重及血栓形成增加。含有 PON-1 基因腺病毒转染载脂蛋白 E 基因敲除的小鼠后, 氧化应激和血管内皮功能改善, 动脉粥样硬化病灶部位的血管平滑肌细胞钙离子稳定^[2]。本研究发现脑梗死患者血清 PON-1 活性显著低于对照组, 并随颈动脉狭窄程度加重, 呈逐渐下降趋势, 进一步证实 PON-1 具有抗动脉粥样硬化的作用。其可能机制为: 一方面, 防止高密度脂蛋白 (HDL) 被氧化修饰, 保存 HDL 的抗氧化功能, 而经氧化修饰的 HDL 其脂质 (主要是磷脂和胆固醇酯) 和载脂蛋白 A1 发生改变, 引起一系列理化性质的改变, 使 HDL 丧失原有抗动脉粥样硬化的作用, 而具有致动脉粥样硬化的作用。骆杨平等^[3]研究发现, 调脂药物苯扎贝特能有效升高血清 PON-1 活性发挥抗氧化作用, 这种作用与升高 HDL 密切相关。另一方面, 保护低密度脂蛋白 (LDL) 免受氧化修饰, 降低体内氧化型低密度脂蛋白 (ox-LDL) 水平, 而

ox-LDL 损伤微血管内皮细胞的结构和功能, 诱导微血管平滑肌细胞增殖和金属蛋白酶的表达, 破坏凝血系统, 加剧炎症反应, 激活凝血因子、促进血小板黏附和聚集, 加速动脉粥样硬化和血栓形成^[4,5]。

SOD 是体内重要的抗氧化酶, 保护细胞膜免受氧化和脂质过氧化损伤。MDA 是氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的稳定代谢产物, 可间接反映氧自由基含量的变化。两者含量可用于评价氧化应激的严重程度。本研究结果提示合并动脉粥样硬化的脑梗死患者存在明显氧化应激, 而且随病变严重而加重。在糖尿病并发血管病变有类似报道^[6]。研究还发现, PON-1 活性与 SOD 含量呈显著正相关, 与 MDA 含量呈负相关, 提示 PON-1 活性与氧化应激之间存在联系, PON-1 下降和脂质过氧化增加形成恶性循环, 两者共同促进动脉粥样硬化的发生发展。正是由于脑梗死患者尤其是合并动脉粥样硬化患者存在明显的氧化应激, 导致抗氧化能力降低和体内产生大量自由基, 而且在水解这些过氧化物的过程中 PON-1 不断被消耗, 活性逐步下降, 最终不能有效清除过氧化物, 特别是脂质过氧化物, 使其在血中大量蓄积, 使细胞膜脂质、脂蛋白氧化增加, 导致大量 LDL 氧化为 ox-LDL, 加速动脉粥样硬化的发生发展。

本研究结果表明, 合并动脉粥样硬化的脑梗死患者 PON-1 活性下降及氧化应激增强, 机体抗氧化能力降低, 动脉易于发生粥样硬化。PON-1 和氧化应激及其复杂的相互作用参与动脉粥样硬化的发生、发展, 但它们的致病机制、影响因素和因果关系极为复杂, 仍需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Ng DS, Chu T, Esposito R, et al. Paraoxonase-1 deficiency in mice predisposes to vascular inflammation, oxidative stress, and thrombogenicity in the absence of hyperlipidemia [J]. *Cardiovasc Pathol* 2008; 17 (1): 226-232.
- [2] Guns PJ, Van Assche T, Verreth W, et al. Paraoxonase-1 gene transfer lowers vascular oxidative stress and improves vasomotor function in apolipoprotein E-deficient mice with preexisting atherosclerosis [J]. *Br J Pharmacol* 2008; 153 (1): 508-516.
- [3] 骆杨平, 赵水平, 聂赛. 急性炎症反应时血清对氧磷酶 1 活性变化及苯扎贝特的干预作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; 16 (2): 135-137.
- [4] Sampson MJ, Braschi S, Willis G, et al. Paraoxonase-1 (PON-1) genotype and activity and in vivo oxidized plasma low-density lipoprotein in Type II diabetes [J]. *Clin Sci* 2005; 109 (2): 189-197.
- [5] Ujihara N, Sakka Y, Takeda M, et al. Association between plasma oxidized low-density lipoprotein and diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Res Clin Pract* 2002; 58 (2): 109-114.
- [6] 蒋兴亮, 周京国, 张晓岚. 2 型糖尿病微血管病患者血浆对氧磷酶-1 活性与氧化应激的关系 [J]. *中国微循环*, 2007; 11 (4): 253-255.

(此文编辑 许雪梅)