

冠心病患者血清对氧磷酶 1 活性与糖化血红蛋白水平及冠状动脉病变的关系

杨盛, 张菲斐, 韩战营, 邱春光, 黄振文

(郑州大学第一附属医院内科, 河南省郑州市 450052)

[关键词] 冠心病; 对氧磷酶 1; 糖化血红蛋白; 高密度脂蛋白

[摘要] **目的** 探讨冠心病患者血清对氧磷酶 1 (PON1) 活性与糖化血红蛋白 (HbA1c) 水平及冠状动脉病变严重程度的关系。**方法** 入选心内科入院拟诊冠心病患者 133 例, 根据冠状动脉造影结果分为冠心病组 101 例及对照组 32 例, 冠心病组再依据 HbA1c 水平分为三个亚组: HbA1c < 6.5% 组 31 例、6.5% ≤ HbA1c < 9% 组 41 例、HbA1c ≥ 9% 组 29 例。分光光度法测定 PON1 活性, 冠状动脉病变结果采用 Gensini 积分。比较各组 PON1 活性及 Gensini 积分, 分析 PON1 活性与 HbA1c 水平及冠状动脉病变程度的相关性。**结果** 血清 PON1 活性在冠心病组 (2.17 ± 0.18) 较对照组 (2.49 ± 0.19) 明显降低 ($P < 0.01$); 冠心病三个亚组间比较, HbA1c ≥ 9% 组较 HbA1c < 6.5% 组 PON1 活性明显下降 ($P < 0.01$) 且冠状动脉狭窄 Gensini 积分显著升高 ($P < 0.01$), HbA1c ≥ 9% 组较 6.5% ≤ HbA1c < 9% 组 PON1 活性有所下降 ($P < 0.05$) 而冠状动脉狭窄 Gensini 积分升高 ($P < 0.05$)。相关分析表明, 血清 PON1 活性对数值与 HbA1c 水平呈负相关 ($r = -0.534, P < 0.01$), 与冠状动脉造影 Gensini 积分呈负相关 ($r = -0.742, P < 0.01$)。**结论** 冠心病患者血清 PON1 活性明显降低并与 HbA1c 水平升高及冠状动脉狭窄严重程度密切相关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlative Relationship Between Serum Paraoxonase-1 Activity and Glycosylated Hemoglobin, Coronary Artery Lesions in Patients with Coronary Heart Disease

YANG Sheng, ZHANG Fei-Fei, HAN Zhan-Ying, QIU Chun-Guang, and HUANG Zhen-Wen

(First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Paraoxonase-1; Glycosylated Hemoglobin; High Density Lipoproteins

[ABSTRACT] **Aim** To study the relationship between serum paraoxonase-1 (PON1) activity and glycosylated hemoglobin (HbA1c), coronary artery lesions in patients with coronary heart disease. **Methods** A total of 133 patients with suspected diagnosis of coronary artery disease, according to the coronary angiography results, were divided into coronary heart disease group ($n = 101$) and control group ($n = 32$). According to HbA1c levels, 101 cases of coronary heart disease were divided into three sub-groups: group A 31 cases (HbA1c < 6.5%), group B 41 cases (6.5% ≤ HbA1c < 9%), group C 29 cases (HbA1c ≥ 9%). Serum PON1 activity was measured spectrophotometrically, and coronary lesions were detected by Gensini integral result. PON1 activity and Gensini integral among groups were compared, relationship between PON1 activity and HbA1c level, coronary lesions degree was analysed. **Results** Serum PON1 activity in the coronary heart disease group (2.17 + 0.18) was significantly lower than that in control group (2.49 + 0.19, $P < 0.01$); PON1 activity in group C declined obviously ($P < 0.01$) and coronary stenosis Gensini integral increased ($P < 0.01$) compared with group A, in group C PON1 activity had fallen ($P < 0.05$) and coronary stenosis Gensini integral increased ($P < 0.05$) compared with group B. The correlation analysis showed that the serum PON1 activity was negatively related to HbA1c levels ($r = -0.534, P < 0.01$), and negatively related to Gensini integral ($r = -0.742, P < 0.01$).

[收稿日期] 2011-09-05

[作者简介] 杨盛, 硕士研究生, E-mail 为 yangsheng00@163.com。通讯作者张菲斐, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病及血脂异常的基础和临床研究。韩战营, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为急性冠状动脉综合征的基础和临床研究及介入治疗。

Conclusion Serum PON1 activity significantly reduced in the patients with coronary heart disease and was closely related to HbA1c levels rising and coronary artery lesions.

冠心病经典危险因素包括年龄、血脂异常、吸烟、糖尿病及高血压。大量临床资料显示,在其他危险因素相当情况下,糖代谢异常患者冠状动脉病变程度较重且进展迅速,但具体机制不明。已知糖基化终末产物可能通过启动炎症反应及导致机体氧化应激增加引发动脉壁损伤,也可通过削弱机体固有的抗氧化能力使动脉壁损伤不易修复^[1]。人体全部抗氧化系统中高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)发挥至关重要的作用,有研究^[2]显示血清对氧磷酶 1 (paraoxonase-1, PON1) 活性与 HDL 抗氧化能力密切相关,并可以此预示 HDL 抗氧化能力。但 PON1 活性与糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)水平及冠状动脉病变程度的关系尚未见报道,本文通过分析不同程度糖代谢异常患者血清 PON1 活性的改变,并根据冠状动脉造影结果对这一问题进行探讨。

1 对象与方法

1.1 研究对象

入选 2010 年 9 月至 2011 年 5 月入院拟诊冠心病并行冠状动脉造影检查者共 133 例作为研究对象。根据造影结果分为:冠心病组 101 例,男 55 例,女 46 例,年龄 62 ± 8 岁;对照组 32 例,男 17 例,女 15 例,年龄 59 ± 10 岁。冠心病组再依据 HbA1c 水平分为 3 个亚组:HbA1c $< 6.5\%$ 组 31 例、 $6.5\% \leq$ HbA1c $< 9\%$ 组 41 例及 HbA1c $\geq 9\%$ 组 29 例。冠心病诊断依照 1979 年 WHO 诊断标准:选择性冠状动脉造影左主干狭窄 $> 30\%$,或其他 3 支至少有 1 支冠状动脉狭窄 $> 50\%$ 为阳性者诊断为冠心病;未见明显狭窄病变者归入对照组。有以下情况者予以剔除:合并感染、高热者,严重肝肾功能不全,合并自身免疫疾病者,哮喘,肿瘤。所有受试者均自愿参加并签署了知情同意书。所有患者中 71 例高血压患者,其中规律服用降压药 62 例(87.3%),未服药或未规律用药患者 9 例,其中服用钙离子拮抗剂 25 例,血管紧张素转换酶抑制剂 23 例, β 受体阻滞剂 10 例,服用 2 种或 2 种以上降压药 13 例。而 82 例合并有糖尿病患者规律用降糖治疗者 51 例,其中单纯口服降糖药物 25 例,应用胰岛素 15 例,胰岛素与口服降糖药同时应用 11 例。所有患者 NYHA 心功

能 I ~ III 级。

1.2 基本资料搜集及标本处理

记录患者年龄、性别、身高、体重等基本资料及有无高血压、糖尿病、脑卒中、心肌梗死等病史及吸烟史。收集空腹血糖(fasting plasm glucose, FPG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、HDL 等生物化学指标,均经检验科专人质控检验。在行冠状动脉造影前抽取空腹静脉全血约 3 mL 入干燥试管,3000 r/min 离心 10 min,收集上层血清入 -80°C 冰箱保存待测。

1.3 对氧磷酶活性和糖化血红蛋白水平测定

PON1 活性采用分光光度法测量,试剂由上海希美生物科技有限公司提供,产品编号为 CSB-E15009h;HbA1c 使用 Nycocard Reader 多功能全定量金标监测仪及配套试剂由我院检验科测定。

1.4 冠状动脉造影检查

冠状动脉造影检查采用 Judkins 法经桡动脉或股动脉行冠状动脉造影术。造影结果由 2 名有经验的医师分析完成,冠状动脉狭窄程度由计算机系统测量并计算出血管直径狭窄的百分数,计算出每位患者的 Gensini 总积分^[3]。(1)根据狭窄程度评估积分:①狭窄 $\leq 25\%$ 计 1 分;② $25\% <$ 狭窄 $< 50\%$ 计 2 分;③ $50\% \leq$ 狭窄 $< 75\%$ 计 4 分;④ $75\% \leq$ 狭窄 $< 90\%$ 计 8 分;⑤ $90\% \leq$ 狭窄 $< 99\%$ 计 16 分;⑥ 狭窄为 $99\% \sim 100\%$ 计 32 分。(2)根据病变部位不同,求出单处病变积分与系数乘积:①左主干病变 $\times 5$;②前降支近段 $\times 2.5$;③前降支中段 $\times 1.5$;④回旋支开口处 $\times 3.5$;⑤回旋支近段 $\times 2.5$;⑥左心室后侧支 $\times 0.5$;⑦前降支第一对角支和第二对角支、心尖部、回旋支的钝缘支和远段、右冠状动脉近段、中段和远段及后降支 $\times 1$ 。(3)以上积分求和,为每位患者的 Gensini 总积分。

1.5 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,冠心病组与对照组间采用两样本比较的 t 检验;冠心病各亚组间比较采用单因素方差分析,在各组差异有统计学意义基础上再行两两比较的 t 检验;正偏态分布的资料经对数转换后统计;各指标的相关性比较采用直线相关分析及多因素相关回归分析。所有数据采用 SPSS17.0 统计软件进行统计。

2 结果

2.1 一般资料

冠心病组吸烟者所占比例及 FPG 水平高于对照组, LDLC 水平低于对照组, 但差异均无显著性; 冠心病组 HbA1c 水平明显高于对照组 ($P < 0.01$; 表 1)。冠心病三个亚组间年龄、性别、体质指数 (BMI)、血脂谱等指标差异无显著性 (表 2 及表 3)。

表 1. 冠心病组与对照组间一般资料比较

Table 1. Baseline data in the CHD group and control group

参 数	对照组 ($n = 32$)	冠心病组 ($n = 101$)
年龄 (岁)	59 ± 10	62 ± 8
男/女 (例)	17/15	55/46
吸烟 (例)	11 (34.4%)	39 (38.6%)
BMI (kg/m^2)	23.0 ± 3.8	23.0 ± 4.1
FPG (mmol/L)	4.7 ± 1.6	5.8 ± 2.1
TC (mmol/L)	3.9 ± 1.3	4.0 ± 1.1
TG (mmol/L)	1.4 ± 1.0	1.7 ± 1.2
HDLC (mmol/L)	1.08 ± 0.22	0.99 ± 0.24
LDLC (mmol/L)	2.29 ± 0.56	2.48 ± 0.86
HbA1c	5.6% ± 0.6%	7.4% ± 1.7% ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

表 2. 冠心病各亚组一般资料比较

Table 2. Baseline data in each sub-group of the coronary heart disease

参 数	HbA1c < 6.5% 组	6.5% ≤ HbA1c < 9% 组	HbA1c ≥ 9% 组
年龄 (岁)	62 ± 7	63 ± 10	61 ± 7
男/女 (例)	19/12	21/20	15/14
吸烟 (例)	13 (41.9%)	16 (39.0%)	10 (34.5%)
BMI (kg/m^2)	22.0 ± 4.7	23.0 ± 3.7	24.0 ± 4.3
FPG (mmol/L)	4.6 ± 0.6	5.1 ± 1.4	8.1 ± 2.3 ^{ac}
TC (mmol/L)	4.0 ± 1.2	3.9 ± 1.1	4.6 ± 1.1
TG (mmol/L)	1.3 ± 1.0	1.8 ± 1.2	1.9 ± 1.1
HDLC (mmol/L)	1.04 ± 0.24	0.99 ± 0.28	0.92 ± 0.15
LDLC (mmol/L)	2.36 ± 0.77	2.30 ± 0.88	2.75 ± 0.86
HbA1c	6.0% ± 0.4%	6.9% ± 0.3% ^a	9.8% ± 0.8% ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 HbA1c < 6.5% 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 6.5% ≤ HbA1c < 9% 组比较。

2.2 对氧磷酶 1 活性及 Gensini 积分

冠心病组血清 PON1 活性 (lgPON1 为 2.17 ± 0.18) 低于对照组 (lgPON1 为 2.49 ± 0.19, $P < 0.01$)。冠心病各亚组间比较, HbA1c ≥ 9% 组血清 PON1 活性较 HbA1c < 6.5% 组明显降低 ($P < 0.01$), 较 6.5% ≤ HbA1c < 9% 组亦有所下降 ($P <$

0.05); Gensini 积分 HbA1c ≥ 9% 组较 HbA1c < 6.5% 组明显增加 ($P < 0.01$), 较 6.5% ≤ HbA1c < 9% 组亦有所增加 ($P < 0.05$; 表 4)。

表 3. 各组患者合并症与并发症情况 (例)

Table 3. Occurrence of complications in each group

分 组	n	高血压	糖尿病	心肌梗死	卒中中
对照组	32	14	0	0	0
冠心病组	101	57	82	19	5
HbA1c < 6.5% 组	31	16	11	4	0
6.5% ≤ HbA1c < 9% 组	41	24	41	7	2
HbA1c ≥ 9% 组	29	17	29	8	3

表 4. 冠心病各亚组对氧磷酶 1 活性及 Gensini 积分比较

Table 4. Serum paraoxonase-1 (PON1) activity and Gensini score in each sub-group of the coronary heart disease

分 组	n	lgPON1	Gensini 积分
HbA1c < 6.5% 组	31	2.46 ± 0.28	49 ± 12
6.5% ≤ HbA1c < 9% 组	41	2.25 ± 0.19 ^a	57 ± 17 ^a
HbA1c ≥ 9% 组	29	2.09 ± 0.27 ^{bc}	76 ± 20 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 HbA1c < 6.5% 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 6.5% ≤ HbA1c < 9% 组比较。

2.3 相关性分析

冠心病组冠状动脉病变程度与 HbA1c、PON1 活性、BMI 及年龄密切相关 (表 5), 血清 PON1 与 Gensini 积分呈负相关 ($r = -0.742, P < 0.01$)。冠心病各亚组间随着 HbA1c 水平的逐步增加, r 值绝对值逐步降低 (HbA1c < 6.5% 组、6.5% ≤ HbA1c < 9% 组、HbA1c ≥ 9% 组的 r 值分别为 -0.812、-0.781、-0.526, 均 $P < 0.01$; 图 1); PON1 活性与 HbA1c 水平呈负相关 ($r = -0.534, P < 0.01$; 图 2)。

表 5. 冠心病患者冠状动脉病变 Gensini 积分的非条件多因素 Logistic 回归分析

Table 5. Non-conditional Logistic regression analysis of Gensini score of coronary artery disease

因 素	B	SE	P	t
HbA1c	11.148	1.801	0.000	6.189
PON1 活性	-0.006	0.002	0.011	-2.594
BMI	0.435	0.184	0.020	2.364
年龄	0.444	0.203	0.031	2.186

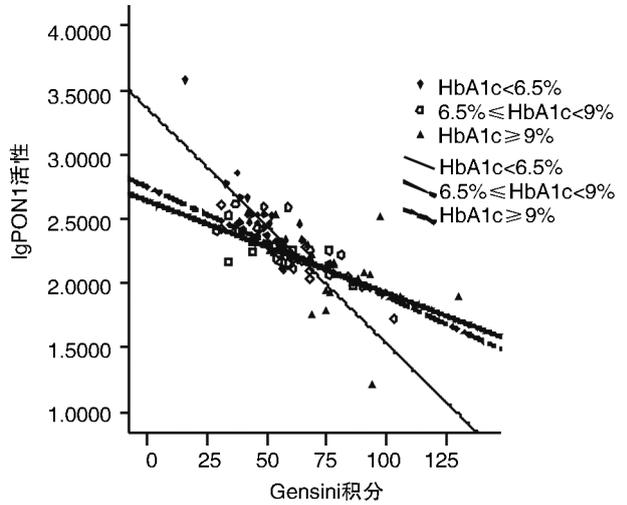
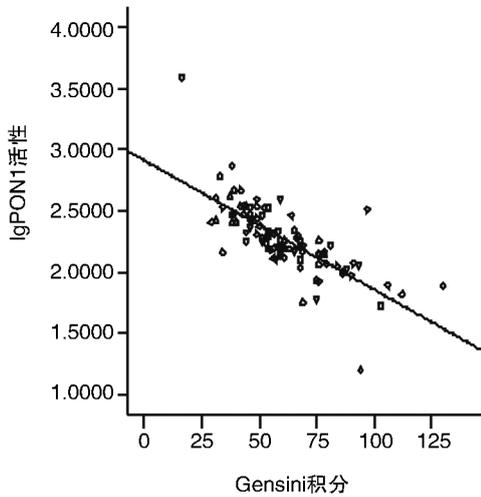


图 1. 冠心病患者(左)及各亚组间(右)血清 PON1 活性与 Gensini 积分的关系

Figure 1. Relation between PON1 activity and Gensini scores in coronary heart disease patients and each sub-group of the coronary heart disease

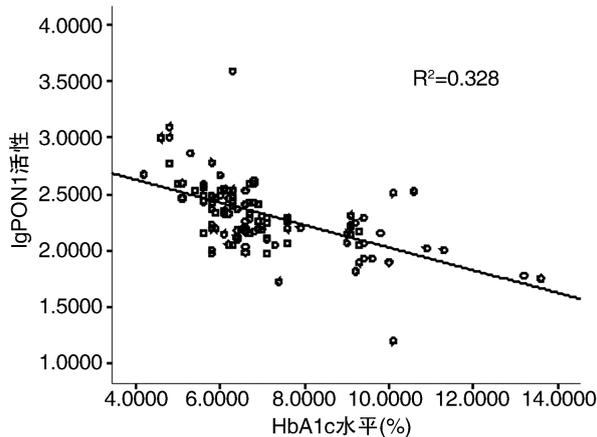


图 2. 糖化血红蛋白水平与血清 PON1 活性的关系

Figure 2. Relation between HbA1c levels and Gensini scores

3 讨论

本研究结果表明,冠心病组 PON1 活性较对照组显著下降,HbA1c 水平显著升高。冠心病各亚组间对比显示,随着 HbA1c 水平增加,血清 PON1 活性下降明显,同时冠状动脉病变的 Gensini 积分明显增加,提示 PON1 活性下降与 HbA1c 水平的升高及冠状动脉狭窄严重程度之间存在密切关系。在动脉粥样硬化的发展过程中,冠状动脉粥样斑块形成的关键步骤是:LDL 被氧化修饰形成氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL),后者由巨噬细胞吞噬为泡沫细胞。正常机体存在着固有抗氧化系统可阻止 LDL 的氧化修饰,其中 HDL 的抗氧化作用值得关注。已知 HDL 具有抑制动脉粥样硬化形成的作用主要通过两大途径实现:其一是胆固醇逆转运作用,其二就是抗氧化

作用。新近研究^[4]表明,HDLC 水平高低并不能完全代表其抗氧化能力的强弱。血清 PON1 是与 HDL 紧密相连的钙离子依赖型蛋白酶,通过抑制 LDL 的氧化修饰、降低体内 ox-LDL 水平及破坏已形成的 ox-LDL 中具有细胞毒性的溶血磷脂使 HDL 发挥抗氧化功能^[5]。国外基础研究^[6]揭示了 PON1 与 HDL 抗氧化作用的机制:PON1 首先与小而扁平的 HDL3 颗粒结合,然后这些 HDL3 转变成大而圆的 HDL 颗粒,并促使细胞内胆固醇外流并在 HDL 中积聚。同时 PON1 作为 HDL 的组成部分,直接参与脂蛋白中过氧化物的水解,防止过氧化物在 LDL 中聚集,甚至减少过氧化低密度脂蛋白中溶血磷脂的量,进而抑制过氧化低密度脂蛋白的生物活性,发挥血管保护作用。有研究^[7]发现,HDL 如果缺失 PON1 就不具有抗氧化功能。本研究结果亦显示,冠状动脉病变最严重组其血清 PON1 活性下降也最为显著,严重冠状动脉病变组 HDL 水平下降与轻、中度病变组相比差异未达统计学意义,说明血清 PON1 活性较单纯 HDL 水平更能反映机体抗氧化系统的变化。

本研究结果还显示,冠心病患者血清 PON1 活性降低与其 HbA1c 水平呈显著负相关。HbA1c 水平持续升高,提示患者长期处于高血糖状态,该类患者体内与 HDL 相关的 PON1 会发生持续非酶促的糖基化反应,糖基化的 PON1 本身抗氧化活性下降同时损害 HDL 清除红细胞膜过氧化脂质水平的能力,从而影响 HDL 整体抗氧化功能^[8]。同时糖基化终末产物本身直接使 LDL 发生氧化,导致 ox-LDL 产生

明显增加,因此以 HbA1c 为代表的糖基化终末产物一方面通过削弱 HDL 抗氧化能力,另一方面通过直接参与氧化应激促使冠状动脉粥样斑块的形成与进展,这可能就是糖代谢异常患者冠状动脉病变更加严重的原因所在。本研究结果也发现,HbA1c 水平严重升高组,冠状动脉病变程度明显加重,同时 PON1 活性也显著下降,说明与 HDL 抗氧化能力密切相关的 PON1 活性可以用以反映个体糖代谢的异常程度,并预测冠状动脉病变的严重性。既往研究^[9]已发现血清 PON1 活性与 HbA1c 水平呈负相关,而本研究进一步证实,PON1 活性下降除提示血糖控制不佳外,还与冠状动脉病变的严重程度密切相关,提示 PON1 活性改变可作为糖尿病患者 HDL 功能异常及冠状动脉病变的预测指标之一。

总之,本研究结果证实,合并糖代谢异常冠心病患者血清 PON1 活性下降与冠状动脉病变严重程度密切相关。显示血清 PON1 活性在预测冠状动脉病变程度方面较 HDL 水平更为敏感。同时测定 PON1 活性结合 HbA1c 水平可更准确判断冠心病危险程度,并有助于解释合并糖代谢异常患者其冠状动脉病变更加复杂的病理机制。

[参考文献]

[1] Vasudevan AR, Burns A, Fonseca VA. The effectiveness of intensive glycaemic control for the prevention of vascular complications in diabetes mellitus[J]. *Treat Endocrinol*, 2006, 5(5): 273-286.

[2] Rosenblat M, Aviram M. Paraoxonases role in the prevention of cardiovascular diseases [J]. *Biofactors*, 2009, 35(1): 98-104.

[3] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease[J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51(3): 606.

[4] Davidson WS, Silva RA, Chantepie S, et al. Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(6): 870-876.

[5] 于碧莲, 赵水平. 对氧磷酶 1 与动脉粥样硬化的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, 13(5): 655-658.

[6] James RW, Deakin SP. The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity [J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37(12): 1 986-994.

[7] Shih DM, Gu L, Xia YR, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis[J]. *Nature*, 1998, 394(6690): 284-287.

[8] Mastorikou M, Mackness B, Liu Y, et al. Glycation of paraoxonase-1 inhibits its activity and impairs the ability of high-density lipoprotein to metabolize membrane lipid hydroperoxides[J]. *Diabet Med*, 2008, 25(9): 1 049-055.

[9] 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 (Lond)*, 2005, 109(2): 189-197.

(此文编辑 许雪梅)