

急性冠状动脉综合征患者血清屏氧酶 1 活性的变化

骆杨平, 赵水平, 李江, 聂赛

(中南大学湘雅第二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[主题词] 屏氧酶 1; 动脉粥样硬化; 冠状动脉综合征, 急性

[摘要] 为了观察急性冠状动脉综合征患者血清屏氧酶 1 活性变化, 探讨血清屏氧酶 1 活性变化在急性冠状动脉综合征中的作用, 以苯乙酸作为屏氧酶 1 的底物, 采用分光光度法测定 60 例急性冠状动脉综合征者、32 例稳定性冠心病和 24 例正常健康者血清屏氧酶 1 活性。结果表明, 正常对照组血清屏氧酶 1 活性为 $136 \pm 64 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, 急性心肌梗死组为 $95 \pm 42 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, 不稳定心绞痛组为 $80 \pm 36 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, 均显著降低 ($P < 0.05$); 稳定性冠心病组 [$133 \pm 29 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$] 与正常对照组无差异。血清屏氧酶 1 活性与甘油三酯 ($r = 0.496$, $P = 0.001$) 及载脂蛋白 B ($r = 0.342$, $P = 0.002$) 呈正相关, 与高密度脂蛋白胆固醇无相关性。结果提示急性冠状动脉综合征患者血清屏氧酶 1 活性降低, 推测抗氧化能力下降可能参与该综合征的发病过程。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

The Changes of Serum Paraoxonase-1 Activity in Patients with Acute Coronary Syndrome

LUO Yang-Ping, ZHAO Shui-Ping, LI Jiang, and NIE Sai

(Department of Cardiology, Second Xiang-Ya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan, China)

[MeSH] Paraoxonase; Atherosclerosis; Coronary Syndrome, Acute

[ABSTRACT] **Aim** To observe serum PON-1 activity in patient with acute coronary syndrome (ACS) and investigate its role in acute coronary syndrome. **Methods** Serum PON-1 activity was assessed by use of phenylacetate (arylesterase) as substrate. PON-1 activity of 40 patients with acute coronary syndrome, 32 patients with stable coronary heart disease (SCHD) and 24 controls were determined by the use of a recording spectrophotometer. **Results** In patients with acute myocardial infarction (AMI) and unstable angina pectoris (UAP), serum PON-1 activity [$95 \pm 42 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, $80 \pm 36 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, respectively] were significantly lower ($P < 0.05$) than those in patients with SCHD [$133 \pm 29 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$] and controls [$136 \pm 64 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$]; there was no difference between SCHD group and controls. Serum PON-1 activity was positively correlated with serum triglyceride levels ($r = 0.496$, $P = 0.001$) and with ApoB ($r = 0.342$, $P = 0.002$), but serum PON-1 activity was not correlated with high density lipoprotein cholesterol (HDL). **Conclusions** The low serum PON-1 activity in patients with ACS indicated the reduction of antioxidant properties may involve in the production of ACS.

屏氧酶 1 (paraoxonase, PON-1) 是一种水解有机磷的钙依赖性脂酶, 血清中的 PON-1 由肝脏合成, 几乎全部存在于高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)^[1]。PON-1 能水解多种底物, 如对氧硫磷、苯乙酸、脂质过氧化物、胆固醇酯、氢过氧化物及 H_2O_2 。PON-1 担负着 HDL 的抗氧化作用。研究证明 PON-1 敲除鼠易于产生动脉粥样硬化, 且 PON-1 敲除鼠 HDL 和低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 较正常鼠更容易氧化^[2]。国外研究发现 PON-1 活性降低见于急性心肌梗死、高胆固醇血症和糖尿病等与动脉粥样硬化相关性疾病^[3,4]。国内少有这

方面的报道。本研究通过观察急性冠状动脉综合征患者 PON-1 活性的改变, 探讨 PON-1 在急性冠状动脉综合征中的作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 组 60 例, 其中急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 29 例, 男 18 例, 女 11 例, 平均年龄 63.4 ± 10.4 岁; 不稳定型心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP) 31 例, 男 19 例, 女 12 例, 平均年龄 62.1 ± 9.7 岁。稳定性冠心病 (stable coronary heart disease, SCHD) 组 32 例, 男 20 例, 女 12 例, 平均年龄 61.3 ± 8.1 岁, 包括陈旧性心肌梗死、典型稳定性心绞痛以及有心肌缺血心电图表现并经冠状动脉造影证实存在冠状动脉病变者。正常对照组 24 例, 其中

[收稿日期] 2002-01-21 [修回日期] 2002-06-12

[作者简介] 骆杨平, 女, 1966 年出生, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事心内科临床工作, 现工作单位为湖南省人民医院心内科。赵水平, 男, 1954 年出生, 湖南省湘潭市人, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂与冠心病。

男 14 例, 女 10 例, 平均年龄 56.7 ± 8.0 岁。以上研究对象均为我科同期住院患者及健康体检者。研究对象一般资料如年龄、体重指数、收缩压、舒张压、血糖、尿素氮、肌酐和尿酸等差异均无显著性(表 1, Table 1)。

表 1. 4 组研究对象的一般临床资料比较。

Table 1. Clinic characteristics of the four study groups($\bar{x} \pm s$).

Index	Controls	SCHD	AMI	UAP
n	24	32	29	31
Age(year)	56.7 ± 8.0	61.3 ± 8.1	63.4 ± 10.4	62.1 ± 9.7
Sex(M/F)	14/10	20/12	18/11	19/12
BMI	22.3 ± 3.7	24.3 ± 2.7	23.4 ± 2.6	23.8 ± 3.1
Smokers(%)	9(37.5%)	11(34.4%)	12(41%)	13(42%)
SBP(mm Hg)	113 ± 17	119 ± 15	123 ± 24	131 ± 21
DBP(mm Hg)	74.8 ± 8.9	75.8 ± 9.0	76.2 ± 9.0	79.1 ± 14.2
BS(mmol/L)	4.9 ± 1.1	5.4 ± 0.7	5.5 ± 0.7	5.3 ± 0.7
BUN(mmol/L)	4.8 ± 1.6	5.9 ± 1.7	6.0 ± 1.6	5.5 ± 1.8
Cr(μmol/L)	113 ± 15	115 ± 28	115 ± 32	121 ± 44
UA(μmol/L)	361 ± 95	399 ± 121	356 ± 100	407 ± 127

急性冠状动脉综合征确诊标准为: 根据典型的临床症状、心电图改变以及心肌酶学的酶谱变化而确诊 AMI; 入选的 AMI 均未经溶栓治疗。④典型的不稳定型心绞痛, 包括除稳定性劳累性心绞痛外的所有心绞痛, 并排除其他原因所致的类似心绞痛。稳定型心绞痛诊断标准: 劳力性心绞痛持续 3 月以上或运动试验阳性。其他如陈旧性心肌梗死和心电图有缺血表现且冠状动脉造影确定的冠状动脉病变患者归入稳定性冠心病组。凡有以下情况均在剔除之列: 合并周围血管疾病或周围血管栓塞性疾病者、脑卒中、严重肝、肾功能不全和糖尿病患者, 此外, 合并严重的感染、高热以及应用炎症抑制药物如非固醇类消炎镇痛药、类固醇和鸦片类药物者。

1.2 标本处理

所有研究对象均空腹 12 h 后, 于清晨采取肘静脉血 4 mL 注入普通试管, 3 kr/min 离心 10 min, 取血清 - 70 °C 冷冻待测 PON-1 活性。同时测定血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、载脂蛋白 A1 (apolipoprotein A1) 和载脂蛋白 B100 (apolipoprotein B100) 的水平。

1.3 血清屏氧酶 1 活性的测定

按 Gan 等^[5]提供的方法, PON-1 活性(芳香基酯酶活性)是以苯乙酸作为 PON-1 的底物应用 270 nm 分光光度仪测定。苯乙酸混合反应试剂由 1.0 mmol/L 苯乙酸、0.9 mmol/L 氯化钙和 20 mmol/L Tris HCl 组成, pH 为 8.0。在 25 °C 下用 270 nm 分光光度仪测定的血清 PON-1 活性(芳香基酯酶活性)由每分钟水解苯乙酸的最大反应速率决定。其水解速度需减去无血清时的反应速度。270 nm 的反应系数为 1 310 mmol/(L·min), 1 单位 PON-1 活性(芳香基酯酶活性)相当于每分钟每毫升水解 1 mmol 苯乙酸的量。

1.4 血脂的测定

采用常规方法测定血脂全套, 包括 TC、TG 和 HDLC。按 Friedewald 公式计算血清 LDLC 浓度: $LDLC(\text{mmol/L}) = TC - HDLC - TG/2.2$ (当 TG < 4.5 mmol/L 时)。用圆周免疫测定法测定载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B100 水平。

1.5 统计分析

应用 SPSS10.0 统计软件包进行统计分析, 主要统计指标均进行正态性检验, 正态分布的统计指标均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用直线相关分析法分析相关指标间相关性。正态分布的统计指标组间比较用 Oneway ANOVA 检验, 用 Bonferroni 方法进行两两比较。双测 P 值 < 0.05 为统计学显著性差异。

2 结果

2.1 急性冠状动脉综合征患者血清屏氧酶 1 活性变化

表 2 (Table 2) 表明, 在急性冠状动脉综合征患者中, 急性心肌梗死患者血清 PON-1 活性低于正常对照组 ($P < 0.05$), 不稳定型心绞痛患者血清 PON-1 活性显著低于正常对照组 ($P < 0.01$), 且急性心肌梗死患者及不稳定型心绞痛患者血清 PON-1 活性显著低于稳定性冠心病组, 而急性心肌梗死组与不稳定型心绞痛组之间血清 PON-1 活性无差异, 稳定性冠心病组和正常对照组之间血清 PON-1 活性亦无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.2 血清屏氧酶 1 活性与血脂的关系

相关性分析显示, 血清 PON-1 活性与 TG ($r = 0.496$, $P = 0.001$) 及载脂蛋白 B ($r = 0.342$, $P = 0.002$) 呈正相关, 与 HDLC 无相关性 (表 3, Table 3)。

表 2. 4 组间血脂和血清屏氧酶 1 活性的比较.

Table 1. Lipid and serum paraoxonase activity levels of the four groups($\bar{x} \pm s$).

Groups	n	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)	HDLC (mmol/L)	ApoA (g/L)	ApoB (g/L)	PON-1 activity [$\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})$]
Controls	24	1.69 \pm 0.4716	4.55 \pm 0.73	2.54 \pm 0.73	1.24 \pm 0.23	1.06 \pm 0.16	1.28 \pm 0.32	136 \pm 64
SCHD	32	1.74 \pm 0.69	4.43 \pm 0.63	2.44 \pm 0.73	1.20 \pm 0.36	1.11 \pm 0.26	1.18 \pm 0.35	133 \pm 29
AMI	29	1.36 \pm 0.57	4.62 \pm 1.08	2.79 \pm 1.02	1.21 \pm 0.30	1.20 \pm 0.26	0.95 \pm 0.38	95 \pm 42 ^{ac}
UAP	31	1.68 \pm 0.73	4.44 \pm 0.93	2.66 \pm 0.72	1.08 \pm 0.24	1.19 \pm 0.27	1.18 \pm 0.35	80 \pm 36 ^{bd}

a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$, compared with control groups; c: $P < 0.05$; d: $P < 0.01$, compared with stable coronary heart disease group.

表 3. 血清屏氧酶 1 活性与血脂的相关性关系.

Table 3. Correlation of serum paraoxonase activity with lipids and apolipoproteins.

	TG	TC	HDLC	LDLC	Apo A	Apo B
PON-1	0.496 ^b	0.160	-0.034	0.125	0.015	0.342 ^b
TG		0.306 ^b	-0.319 ^b	0.192 ^a	0.048	0.511 ^b
TC			0.087	0.813 ^b	0.247 ^a	0.541 ^b
HDLC				-0.042	0.354 ^b	-0.264
LDLC					0.269 ^a	0.439 ^b
APOA						-0.341 ^a

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$.

3 讨论

近 10 来,大量的研究表明人体内屏氧酶 1 活性与动脉粥样硬化性疾病的发生和发展密切相关^[3,4,6]。目前认为,屏氧酶 1 具有保护体内 LDL 和高密度脂蛋白免受氧化修饰的作用^[7]。LDL 被氧化修饰后形成氧化型 LDL(oxidized LDL, ox-LDL),后者易被巨噬细胞吞噬并形成泡沫细胞,是动脉粥样硬化发生的关键环节。高密度脂蛋白能将外周组织如动脉壁中过多的胆固醇转运到肝脏即参与胆固醇逆转运,因而具有抗动脉粥样硬化的作用。高密度脂蛋白被氧化修饰后,其参与胆固醇的逆转运和抗炎、抗氧化功能显著降低。Navab 等^[6]对高密度脂蛋白水平正常的冠状动脉粥样硬化患者研究,观察到血清屏氧酶 1 活性较正常人明显降低。然而,在本研究中,我们并没有观察到稳定性冠心病组与对照组之间血清屏氧酶 1 活性有差别,提示人体内屏氧酶 1 对稳定性冠心病发病过程的影响并不明显。

本研究显示不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者血清屏氧酶 1 活性均显著低于正常对照组和稳定性冠心病组,且不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者之间无显著差异,提示血清屏氧酶 1 活性的降低参与了急性冠状动脉综合征的发生过程,血清屏氧

酶 1 活性降低也可能是急性冠状动脉综合征炎症反应的一部分。Ayub 等^[3]研究发现急性心肌梗死组在症状出现后 2 h 血清屏氧酶 1 活性已经开始降低,以后未再进一步降低,在 42 天时屏氧酶 1 活性明显升高,但仍低于对照组,直到 6 周后才与对照组无明显差别。这与我们的研究结果是一致的。血清屏氧酶 1 活性的降低在急性冠状动脉综合征中的作用与其生物学作用密切相关。屏氧酶 1 保护脂蛋白免受氧化的作用主要是由屏氧酶 1 活性决定的^[8]。屏氧酶 1 能水解冠状动脉粥样斑块的氧化脂质^[9]。我们认为急性冠状动脉综合征由于屏氧酶 1 活性的降低,可使 ox-LDL 增加。ox-LDL 可诱导巨噬细胞分泌金属蛋白酶(MMP)降解基质而促进斑块的破裂^[10]。此外 ox-LDL 通过诱导血小板的粘附和降低内皮纤溶功能触发血栓的形成。因此屏氧酶 1 活性的降低可能通过增加 ox-LDL 途径促进动脉粥样斑块的破裂和血栓的形成,抗氧化能力下降可能是产生急性冠状动脉综合征的重要原因之一。炎症反应在急性冠状动脉综合征的病理生理学中起着决定性作用。研究发现用病毒接种鼠后,高密度脂蛋白抑制 LDL 氧化及 LDL 诱导单核细胞趋化活性的能力降低,同时屏氧酶 1 活性降低,表明急性炎症反应期屏氧酶 1 活性降低^[11]。结合本研究结果,我们认为血清屏氧酶 1 活性降低可能与 C 反应蛋白一样可以作为急性冠状动脉综合征炎症反应标识物。

血清屏氧酶 1 位于高密度脂蛋白,并与载脂蛋白 A1 紧密结合。一些对健康人群的研究显示屏氧酶 1 活性与高密度脂蛋白胆固醇有相关性^[4]。本研究并未发现屏氧酶 1 活性与高密度脂蛋白胆固醇有相关性。国外学者对于家族性高胆固醇血症、糖尿病和急性心肌梗死患者血清屏氧酶 1 活性研究得到相似的结果^[3,4]。急性心肌梗死和不稳定型心绞痛组平均高密度脂蛋白胆固醇水平较对照组无明显差别,但其血清屏氧酶 1 活性降低明显降低,提示血清

屏氧酶 1 活性的降低不依赖于高密度脂蛋白胆固醇改变。由于屏氧酶 1 担负着高密度脂蛋白的抗氧化作用,血清屏氧酶 1 活性降低则高密度脂蛋白的抗氧化能力降低,氧化脂质增加。体外的研究显示氧化磷脂培育人肝细胞(HEPG₂)屏氧酶 1 mRNA 水平降低,使得肝脏合成和分泌屏氧酶 1 减少^[6]。包含在高密度脂蛋白内的屏氧酶 1 颗粒仅占血清总高密度脂蛋白很小一部分,推测血清屏氧酶 1 活性降低可能依赖于高密度脂蛋白内屏氧酶 1 分子的数量。已知急性心肌梗死急性期,血脂水平可发生剧烈波动,在本研究中急性心肌梗死组标本在患者入院 24 h 内收集,此时多数患者胸痛发作在 24 h 至 72 h,所测血脂值并不能真实地反映患者的实际水平,加之标本数量有限,故尚不能充分说明血清屏氧酶 1 活性和高密度脂蛋白的关系。

血清屏氧酶 1 活性与血脂进行相关性分析,结果表明血清屏氧酶 1 活性与甘油三酯($r = 0.496$, $P < 0.001$)及载脂蛋白 B($r = 0.342$, $P = 0.002$)呈正相关,这与 Saha 等^[12]研究一致,他们提出屏氧酶 1 影响血脂代谢,高屏氧酶 1 活性可提高甘油三酯及载脂蛋白 B 水平,但其机制不明。应用甘油三酯饲养小鼠,其血清屏氧酶 1 活性较对照组明显增高,并与极低密度脂蛋白磷脂呈正相关,也与卵磷脂胆固醇酰基转移酶活性呈正相关,后者在高密度脂蛋白胆固醇的逆转运中起着重要作用^[13]。因此可能屏氧酶 1 活性增高使高密度脂蛋白氧化减少,高密度脂蛋白胆固醇逆转运功能增强,而增加乳糜微粒(CM)和极低密度脂蛋白内甘油三酯的相对含量。这可能部分解释了单纯的甘油三酯增高并不是冠心病的危险因素。在本研究中,各组甘油三酯水平无明显差别,但急性心肌梗死患者血清屏氧酶 1 活性较正常对照及稳定性冠心病组明显降低。所以血清屏氧酶 1 活性与血脂相互作用的机制有待于进一步研究。

血清屏氧酶 1 活性的降低加速了动脉粥样硬化

的不稳定性、损害纤维帽结构、促进斑块破裂和诱发急性冠状动脉综合征。屏氧酶 1 活性的降低也可能是急性冠状动脉综合征炎症反应的一部分,急性冠状动脉综合征患者血清屏氧酶 1 活性水平明显高于稳定性冠心病和正常对照组,且屏氧酶 1 活性的测定经济、简便、易行,因此血清屏氧酶 1 活性对于判定冠心病的临床类型有重要价值,同时动态观察屏氧酶 1 活性可能有助于不稳定型心绞痛的早期诊断,对于急性心肌梗死的预防有重要意义。

[参考文献]

- [1] Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, et al. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*, 1996, **7**: 69-76
- [2] Shih DM, Gu L, Xia YR, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*, 1998, **394**: 284-287
- [3] Ayub A, Mackness MJ, Arrol S, et al. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**: 330-335
- [4] Mackness B, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*, 1991, **86**: 193-199
- [5] Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, et al. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos*, 1991, **19**: 100-106
- [6] Navab M, Hama LS, Van LBJ, et al. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest*, 1997, **99**: 2 005-019
- [7] Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*, 1998, **101**: 1 581-590
- [8] Leveiv I, James RW. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON-1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 516-521
- [9] Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON-1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON-1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation*, 2000, **101**: 2 510-517
- [10] Xu XP, Meisel SR, Ong HM, et al. oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*, 1999, **99**: 993-998
- [11] Feingold KR, Memon RA, Moser AH. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis*, 1998, **139**: 307-315
- [12] Saha N, Roy AC, Teo SH, et al. Influence of serum paraoxonase polymorphism on serum lipids and apolipoproteins. *Clin genet*, 1991, **40**: 277-282
- [13] Kudchodkar BJ, Lacko AG, Dory L, et al. Dietary fat modulates serum paraoxonase 1 activity in rats. *J Nutr*, 2000, **130**: 2 427-433

(此文编辑 朱雯霞)