

[文章编号] 1007-3949(2006)14-11-0983-03

·临床研究·

急性冠状动脉综合征患者血浆蛋白 氧化产物升高的机制及意义

冯毅, 王积慧, 沈成兴, 马根山

(东南大学附属中大医院心内科, 江苏省南京市 210009)

[关键词] 内科学; 急性冠状动脉综合征; 蛋白氧化产物; 丙二醛; 氧化应激; 低密度脂蛋白

[摘要] 目的 通过检测急性冠状动脉综合征患者体内晚期蛋白氧化产物、丙二醛的水平来探讨氧化应激损伤与冠状动脉粥样硬化斑块发生发展的关系。方法 入选 73 例急性心肌梗死(46 例择期和 27 例急诊冠状动脉介入治疗)、49 例不稳定型心绞痛及 21 例非冠心病患者, 均经造影证实。于入院即刻、24 h 和 48 h 采集外周静脉血标本。紫外荧光光度法测定晚期蛋白氧化产物浓度; 硫代巴比妥酸光度法测定丙二醛浓度。结果 晚期蛋白氧化产物浓度在急性心肌梗死择期冠状动脉介入治疗组、不稳定型心绞痛组较非冠心病组明显升高($P < 0.05$); 急性心肌梗死择期冠状动脉介入治疗组各时间点晚期蛋白氧化产物浓度较急性心肌梗死急诊冠状动脉介入治疗组高($P < 0.01$); 急性心肌梗死择期冠状动脉介入治疗组与不稳定型心绞痛组差异无统计学意义($P > 0.05$); 急性心肌梗死择期冠状动脉介入治疗组晚期蛋白氧化产物浓度与低密度脂蛋白呈正相关 [$r = 0.370$ (入院即刻)、 $r = 0.422$ (入院 24 h)、 $r = 0.559$ (入院 48 h)]。与非冠心病组对应各时间点丙二醛浓度比较, 急性心肌梗死择期冠状动脉介入治疗组、急诊冠状动脉介入治疗组升高($P < 0.05$), 而与不稳定型心绞痛组比较无统计学差异。结论 急性冠状动脉综合征患者血浆中晚期蛋白氧化产物、丙二醛浓度显著升高。氧化应激可能是急性冠状动脉综合征发生发展过程中的重要环节。晚期蛋白氧化产物、丙二醛是反映体内氧化应激水平较好的血清学指标。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Role of Advanced Oxidation Protein Products in Acute Coronary Syndrome

FENG Yi, WANG Ji-Hui, SHEN Cheng-Xing, and MA Gen-Shan

(Department of Cardiology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, China)

[KEY WORDS] Acute Coronary Syndrome; Advanced Oxidation Protein Products; Malondialdehyde; Oxidation Reaction; Low Density Lipoprotein

[ABSTRACT] Aim To examine the advanced oxidation protein products (AOPP) and malondialdehyde (MDA) in patients with acute coronary syndrome (ACS) and discuss the relationship between oxidative stress and the development of atherosclerosis (As). Methods Plasma were collected in 73 acute myocardial infarction (AMI) patients including 46 patients undergone selective percutaneous coronary intervention (PCI) and 27 patients undergone emergency PCI, 49 unstable angina pectoris (UAP) patients and 21 non-coronary artery disease (non-CAD) patients. All cases were undergone coronary angiography (CAG). Plasma were collected immediately, post-24 hours and post-48 hours after patients were recruited. AOPP were determined by measurements of optical density (OD) via spectrophotometry, and MDA was measured with TBA methods.

Results Compared with normal group (without CAD), plasma AOPP were significantly higher in AMI (selective PCI) and UAP patients ($P < 0.05$). Significant difference also existed between selective PCI group and emergency PCI group in AMI patients ($P < 0.01$).

AOPP levels of UAP patients were significantly decreased after 48 hours ($P < 0.05$); Pearson correlation analysis showed that AOPP was positively correlated to low density lipoprotein cholesterol (LDLC) in AMI patients ($P < 0.01$). Compared with normal group (without CAD), plasma MDA were significantly higher in all AMI patients ($P < 0.05$). Conclusions Oxidative stress may be an important step in development of ACS. AOPP and MDA may be as good markers in ACS patients.

斑块破裂和血栓形成是大多数冠心病急性发病即不稳定型心绞痛和心肌梗死的主要病理生理基

础^[1,2]。其中炎症反应、氧化应激损伤在这些急性血栓形成过程中可能起非常重要的作用^[3-5]。本研究观察了急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)病人血浆晚期蛋白氧化产物(advanced oxidation protein products, AOPP)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量, 探讨其在 ACS 发生发展中的意义, 现予报道。

[收稿日期] 2006-07-03 [修回日期] 2006-11-08

[基金项目] 江苏省卫生厅开放课题(WK 0510)

[作者简介] 冯毅, 硕士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病基础及临床研究, E-mail 为 jsnjfengyi@hotmail.com。王积慧, 硕士研究生, 主治医师, E-mail 为 jihuiwang@sohu.com。沈成兴, 博士, 副主任医师, 主要从事冠心病基础及临床研究, E-mail 为 shenchengxing@hotmail.com。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2004年6月至2005年10月共收集本院143例疑似ACS入院病人进入分析。其中男性97例,女性46例,年龄 67 ± 12 岁。其中122例符合2001年AHA/ACC诊断标准,列为ACS组,其中73例急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI) [46例择期冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)和27例急诊PCI], 49例不稳定型心绞痛(unsafe angina pectoris, UAP)^[6],另21例作为非冠心病组。所有病例均按常规进行冠状动脉造影,以明确冠状动脉有无动脉粥样病变及病变性质。

1.2 标本采集

所有入选病人在入院即刻、入院24h和48h共3个时间点采集外周静脉血,采血后分离血浆, -70°C 冰箱保存,以备检测。

1.3 血脂、总胆固醇及心肌酶等的测定

血脂、总胆固醇及心肌酶采用酶法测定,脂蛋白采用匀相法测定,载脂蛋白采用免疫比浊法测定,肌钙蛋白采用免疫渗滤法进行检测。

1.4 晚期蛋白氧化产物的测定^[5,7]

采用分光光度法测定AOPP,先用氯胺T(南京阿恩地生物公司产品)制作标准曲线。取0.3mL血浆标本在紫外分光光度计(上海医用分析仪器厂)340nm下测出OD值。在标准曲线中以相应氯胺T浓度($\mu\text{mol/L}$)来测定血浆AOPP浓度。

1.5 丙二醛的测定^[8]

采用硫代巴比妥分光光度法测定丙二醛,以四乙氧基丙烷作为标准品制作标准曲线,在荧光光度计(美国Varian公司)532nm处测得OD值,求得丙二醛浓度(试剂盒为南京建成生物工程公司产品)。

1.6 统计学处理

计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用方差分析,组内配对资料用配对 t 检验,相关分析使用Pearson相关分析。

2 结果

2.1 入选病人的一般情况

血常规检查发现,AMI组中性粒细胞较UAP组及非冠心病组显著增高($P < 0.001$);AMI组和UAP组高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)低于非冠心病组($P < 0.01$),而低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)及其余指标各组差异无统计学意义(表1)。

表1. 病人一般情况

临床资料	AMI组 ($n=73$)	UAP组 ($n=49$)	非冠心病组 ($n=21$)
年龄(岁)	67 ± 12	70 ± 11	60 ± 11
男/女(例)	51/22	35/14	11/10
吸烟(例)	12(21%)	8(16%)	3(15%)
高血压(例)	34(60%)	38(84%)	12(57%)
糖尿病(例)	14(25%)	8(16%)	5(24%)
白细胞($\times 10^6/\text{L}$)	9.27 ± 2.78^c	7.46 ± 2.34	6.77 ± 2.67
中性粒细胞	$73.7\% \pm 9.1\%^c$	$64.6\% \pm 9.4\%$	$65.4\% \pm 9.4\%$
甘油三酯(mmol/L)	1.62 ± 1.18	1.74 ± 1.35	1.54 ± 0.80
总胆固醇(mmol/L)	4.33 ± 1.12	4.30 ± 1.05	4.66 ± 1.01
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.77 ± 0.78	2.64 ± 0.75	3.04 ± 0.62
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.96 ± 0.21^b	0.95 ± 0.22^a	1.14 ± 0.22
肌钙蛋白(+/-)(例)	72/1	3/46	0/21

a为 $P < 0.05$, b为 $P < 0.01$, c为 $P < 0.001$,与非冠心病组比较。

2.2 晚期蛋白氧化产物检测结果

AMI择期PCI组、AMI急诊PCI组、UAP组和非冠心病组各时间点AOPP结果见表2。用氯胺T作得标准曲线方程为 $y = 0.0018x - 0.0149$, $R^2 = 0.9996$ 。依据标准方程分别计算各标本AOPP浓度。

表2. 各组晚期蛋白氧化产物浓度($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

分组	入院即刻	入院24h	入院48h
AMI择期PCI组	236.42 ± 30.41^b	207.84 ± 29.50^b	227.79 ± 35.18^b
AMI急诊PCI组	97.58 ± 23.41^{ac}	91.77 ± 17.40^{ac}	113.39 ± 17.24^{bd}
UAP组	239.95 ± 39.94^b	175.92 ± 29.46^b	156.54 ± 28.29^{ac}
非冠心病组	57.41 ± 13.60	56.11 ± 11.90	61.75 ± 12.28

a为 $P < 0.05$, b为 $P < 0.01$,与非冠心病组比较; c为 $P < 0.05$, d为 $P < 0.01$,与AMI择期PCI组比较; e为 $P < 0.05$,与UAP组入院即刻比较。

2.3 晚期蛋白氧化产物与低密度脂蛋白相关性

急性心肌梗死择期PCI组各时间点AOPP与LDL呈正相关,入院即刻点相关系数 r 为0.370($P < 0.01$),入院24h点 r 为0.422($P < 0.01$),入院48h点 r 为0.559($P < 0.01$)。在其他各组中相关性较差。AOPP与LDL Pearson相关分析亦提示AMI择期PCI组在各时间点上两者均有较好相关性。UAP组入院即刻AOPP与LDL呈正相关关系($r = 0.453$, $P < 0.05$)。

2.4 丙二醛测定结果

与非冠心病组比较,AMI择期PCI组各时间点血浆丙二醛含量均增高,差异有显著性($P < 0.05$ 或 0.01);AMI急诊PCI在入院即刻及入院48h点上丙

二醛含量较非冠心病组增加 ($P < 0.05$); UAP 组入院即刻丙二醛含量较非冠心病组升高 ($P < 0.05$), 余无统计学差异 ($P > 0.05$, 表 3)。

表 3. 各组丙二醛浓度 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

分 组	入院即刻	入院 24 h	入院 48 h
AMI 择期 PCI 组	2.74 \pm 0.17 ^b	2.52 \pm 0.12 ^a	2.36 \pm 0.12 ^a
AMI 急诊 PCI 组	2.58 \pm 0.21 ^a	2.24 \pm 0.14	2.26 \pm 0.14 ^a
UAP 组	2.26 \pm 0.16 ^a	2.32 \pm 0.23	2.13 \pm 0.11
非冠心病组	1.92 \pm 0.18	1.96 \pm 0.17	1.87 \pm 0.11

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与非冠心病组比较。

3 讨论

冠状动脉粥样硬化发生发展中氧化应激学说占有重要地位。AOPP 首先于 1996 年在慢性肾衰病人血浆中被发现, 是由吞噬细胞生成的次氯酸引起血浆白蛋白氧化的产物, 可作为蛋白氧化损伤的标志物反映体内氧化应激水平^[9,10]。AOPP 在冠心病 ACS 方面的研究报道不多。国外有研究结果发现冠心病组患者 AOPP 浓度显著高于非冠心病组患者^[11]; 稳定型心绞痛患者与健康对照组患者 AOPP 浓度差异无显著性, 而 ACS 患者 AOPP 浓度升高^[7]。

本研究观察到, ACS 患者(包括 AMI 与 UAP) 血浆 AOPP 浓度比非冠心病患者显著升高。AMI 择期 PCI 组较急诊 PCI 组升高, 可能是由于该组病人从发病到就诊时间已超过 12 h, 错过了 PCI 的最佳时机, 心肌细胞缺血缺氧持续时间长, 濒死心肌也进展为不可逆的坏死心肌, 体内大量氧自由基释放, 激活氧化应激损伤途径, 蛋白被氧化产生大量 AOPP^[7,11]。这也说明在 AMI 过程中可能发生了一系列氧化应激反应并参与组织细胞损伤的过程。

本研究发现 AMI 组与 UAP 组 AOPP 浓度差异无显著性, 这说明可能二者体内的氧化应激、血管内皮损伤过程和结果是类似的; 治疗后 UAP 组入院 48 h AOPP 下降幅度明显, 表明二者损伤程度上有所差异, UAP 患者病理改变经积极的干预后可逆转, 而 AMI 患者损伤程度更重、恢复较慢。

低密度脂蛋白(LDL) 升高是冠状动脉粥样硬化发生的独立危险因素^[12]。本研究观察到 AMI 择期 PCI 组 AOPP 与 LDL 呈正相关, 提示 AOPP 可能也是 ACS 发生发展过程中重要的危险因素。有研究发现, AOPP 可诱导内皮细胞产生活性氧, 还可通过激活单核细胞 NADPH 氧化酶, 释放细胞内活性氧, 因此推测 LDL 被氧化为氧化型低密度脂蛋白的过程

可能有 AOPP 参与^[13,14]。

机体通过酶系统和非酶系统产生氧自由基, 后者能攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸引发脂质过氧化作用, 形成脂质过氧化物, 如丙二醛等。测试丙二醛的量可反映机体内脂质过氧化的程度, 间接反映细胞损伤的程度。本研究观察到, AMI 组对应各时间点血浆丙二醛浓度较非冠心病组升高 ($P < 0.05$), 而与 UAP 组比较差异无统计学意义。说明在心肌梗死中组织细胞损伤及坏死可能较不稳定型心绞痛严重^[8]。

本研究发现, ACS 患者血浆中 AOPP、丙二醛浓度显著升高。氧化应激可能是 ACS 发生发展过程中的重要环节, AOPP、丙二醛应是反映体内氧化应激水平较好的血清学指标。

[参考文献]

- [1] Kaminen R, Alpert JS. Acute coronary syndromes: initial evaluation and risk stratification [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2004, **46** (5): 379-392
- [2] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease (see comments) [J]. *New Engl J Med*, 1999, **340** (2): 115-126
- [3] Zhang R, Brennum ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease [J]. *JAMA*, 2001, **286** (17): 2136-142
- [4] Ferrari R, Agnoletti L, Comini L, Gaia G, Bachetti T, Cargnoni A, et al. Oxidative stress during myocardial ischemia and heart failure [J]. *Eur Heart J*, 1998, Suppl B (19): B2-11
- [5] 郭志坚, 侯凡凡, 刘尚喜, 张卫茹, 周展眉, 刘志强, 等. 糖化和氧化产物修饰的蛋白质促进兔主动脉粥样斑块形成[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2004, **36** (2): 127-130
- [6] Pollack CV Jr, Roe MT, Peterson ED. 2002 update to the ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: implications for emergency department practice [J]. *Ann Emerg Med*, 2003, **41** (3): 355-369
- [7] Skvarilova M, Bulava A, Stejskal D, Adamovska S, Bartek J. Increased level of advanced oxidation protein products as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome [J]. *Biomol Papers*, 2005, **149** (1): 83-87
- [8] Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde modified LDL in patients with ACS and stable coronary artery disease [J]. *Circulation*, 1998, **98** (15): 1487-494
- [9] Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Colombo R, Milzani A. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2003, **29** (1-2): 23-38
- [10] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia [J]. *Kidney Int*, 1996, **49** (5): 1304-313
- [11] Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 2002, **162** (1): 221-225
- [12] Albert AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems [J]. *J Lipid Res*, 1998, **39** (8): 1529-542
- [13] Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, **280** (5): E685-E694
- [14] Cathcart MK. Regulation of superoxide anion production by NADPH oxides in monocytes/macrophages: contributions to atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (1): 23-28

(此文编辑 许雪梅)