

HDL 功能检测与冠状动脉斑块的相关性

曹佳¹, 刘发权^{1,2}, 喻红¹

(1. 武汉大学基础医学院 湖北省发育源性疾病重点实验室, 湖北省武汉市 430071;

2. 宜昌市中医医院, 湖北省宜昌市 443100)

[关键词] 对氧磷酶 1; HDL 氧化/抗氧化指数; 高密度脂蛋白胆固醇; 冠状动脉斑块

[摘要] **目的** 针对正常高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)水平(≥ 1.03 mmol/L)的冠心病患者,分析其血浆高密度脂蛋白(HDL)功能与冠状动脉狭窄及斑块性质的相关性。**方法** 选取2015年10月至2017年12月在宜昌市中医医院接受64排螺旋CT冠状动脉造影(CTA)检查,并具有正常HDLC水平的疑似冠心病患者129例为研究对象,利用CTA检测进行冠状动脉狭窄程度及斑块性质分组,统计分析血浆HDL功能指标对氧磷酶1(PON1)活性及HDL氧化/抗氧化指数与其相关性。**结果** 与非冠心病组比较,冠心病组HDLC水平、PON1活性下降,HDL氧化/抗氧化指数升高,显示为氧化状态,而ApoAI水平没有差异。随着冠状动脉狭窄程度增加,PON1活性逐渐降低,HDL氧化/抗氧化指数逐渐增高,而HDLC水平、ApoAI水平无明显差异。不同斑块性质分组分析显示,钙化斑块组PON1活性高于软斑块组及混合斑块组。PON1活性与HDLC、HDL氧化/抗氧化指数有一定相关性。**结论** HDL的功能检测中PON1活性对于冠心病的斑块性质及狭窄程度有良好的评价价值。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation between HDL function and coronary artery plaque

CAO Jia¹, LIU Faquan^{1,2}, YU Hong¹

(1. School of Basic Medical Sciences, Wuhan University & Hubei Provincial Key Laboratory of Developmentally Originated Disease, Wuhan, Hubei 430071, China; 2. Yichang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yichang, Hubei 443100, China)

[KEY WORDS] paraoxonase 1; HDL oxidation/antioxidant index; high density lipoprotein cholesterol; coronary artery plaque

[ABSTRACT] **Aim** To explore the correlation between plasma HDL function and coronary artery stenosis and plaque property in coronary artery disease (CAD) patients with normal HDLC levels (≥ 1.03 mmol/L). **Methods** 129 cases suspected CAD with normal HDLC levels in Yichang Hospital of Traditional Chinese Medicine from October 2015 to December 2017 were enrolled, and grouped according to the severity of coronary artery stenosis and plaque property by 64-slice spiral CT coronary angiography (CTA). Paraoxonase 1 (PON1) activity and HDL oxidation/antioxidant index were detected. **Results** Compared with non-CAD group, plasma HDLC level and PON1 activity were significantly decreased, and HDL oxidation/antioxidant index was increased in the CAD group, showing an oxidized state, while ApoAI level had no difference. Although there were no difference in HDLC and ApoAI levels, PON1 activity was gradually decreased and HDL oxidation/antioxidant index was increased, accompanying with increased stenosis of coronary artery. The data also showed that PON1 activity of calcified plaque group was higher than that of soft plaque group and mixed plaque group. There is a correlation between PON1 activity and HDLC, HDL oxidation/antioxidant index. **Conclusion** PON1 activity as an index of HDL function may be a potential biomarker for assessment of the plaque property and severity of CAD.

冠心病(coronary artery disease, CAD)是严重威胁人类健康的心血管疾病。临床研究表明,高密度

脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)水平与冠心病发生呈负相关。然而,近年发

[收稿日期] 2018-07-24

[修回日期] 2018-09-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81670423, 81201335)

[作者简介] 曹佳,博士,实验师,研究方向为动脉粥样硬化分子机制与防治,E-mail为 caojia1210@whu.edu.cn。通信作者喻红,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化分子机制与防治,E-mail为 yu.hong@whu.edu.cn。

现,近一半的心血管临床事件发生在 HDLC 水平正常甚至高水平的受试者中;胆固醇酯转移蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)抑制剂增加 HDLC 的治疗策略且未能降低心血管事件风险;血浆 HDLC 正常或升高的冠心病患者,可检测到“失功能性”HDL 的存在,这些研究表明, HDL 的相关功能不仅是 HDLC 水平的检测,可能对于冠心病风险评估和治疗更为重要^[1-4]。对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, PON1) 是循环中与 HDL 紧密结合的一种钙依赖性酯酶,也是 HDL 抗氧化活性的最重要成分之一。临床研究表明,较低的血浆 PON1 活性与冠心病风险增加有关^[5],我们前期研究发现, PON1 活性的降低与临床冠心病患者的冠状动脉狭窄程度有直接关系^[6]。其次,我们最近改良建立一种 HDL 抗氧化能力的无细胞检测方法,以 HDL 氧化/抗氧化指数来反映 HDL 氧化炎症状态^[7]。本研究采用 64 排螺旋 CT 血管造影 (CT angiography, CTA) 作为冠心病的诊断方法,旨在针对正常 HDLC 水平 (≥ 1.03 mmol/L) 的冠心病人群,分析其血浆 HDL 相关功能与冠状动脉狭窄及斑块性质的相关性。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 10 月至 2017 年 12 月在宜昌市中医医院就诊,疑似冠心病接受 CTA 检查且 HDLC ≥ 1.03 mmol/L (40 mg/dL) 处于正常水平的患者 129 例,其中男 66 例,女 63 例,平均年龄 61.0 ± 8.6 岁。排除标准:甲状腺功能亢进、妊娠、心律失常、急性心肌梗死、严重心力衰竭、感染、电解质紊乱;具有严重的精神障碍、神经系统疾病的患者;有过敏不良反应病史;检查前曾进行过冠状动脉支架植入术;心脏、呼吸伪影严重;CTA 重建图像差。入选患者签署知情同意书,检查前近 2 周内正常饮食,未服用降脂药物。通过查询临床电子病历、询问病史的方式获取患者基本临床资料,包括性别、吸烟史、过敏史及是否有高血压、高血脂、糖尿病病史,详细咨询其家族有无心血管疾病病史。

1.2 血脂检测

空腹 12 h 于次日清晨采集静脉血,采用生化分析仪检测血脂指标,包括总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、HDLc、载脂蛋白 AI (apolipoprotein AI, ApoAI)。部分血浆于 -80 °C 冰箱储存备用。

1.3 冠状动脉 CTA 检查

采用西门子公司 Preventive Maintenance 型 64 排 128 层螺旋 CT,进行冠状动脉 CTA 检查。扫描范围:包括自气管分叉下 1.5 cm 至心脏膈面处。首先行冠状动脉钙化积分扫描,采用造影剂碘海醇及自动跟踪技术监测升主动脉根部造影剂 CT 值的变化,当 CT 值升至 100 HU 时即自动触发扫描。采用回顾性心电门控技术对心脏进行容积扫描,应用 TCOT 算法得到容积数据,在 Syngo.via 工作站上进行图像重建;由两位有诊断资质的影像科副主任医师对数据进行容积再现、多平面重建、最大密度投影、曲面重组 (curved planar reformation, CPR) 等图像后处理分析,选取 R-R 间期的 30%、45%、55%、65% 和 75% 为时相点采集图像,当图像由于心动周期的原因致冠状动脉各支显示不佳时,采用心电图编辑等后处理方法补救,以获得满意的最佳冠状动脉图像进行分析。

1.4 冠心病的诊断标准及分组

根据 CTA 检查结果,计算冠状动脉狭窄程度,计算公式为 $A = (B - C) / D \times 100\%$,其中 A 为冠状动脉血管狭窄的程度, B 为冠状动脉狭窄部位近心端正常血管直径数值, C 为冠状动脉狭窄处直径数值, D 为冠状动脉狭窄处远心端正常血管直径数值。冠状动脉管腔狭窄 $\geq 50\%$,临床上具有相应症状,视为有临床意义的狭窄,确诊为冠心病;冠状动脉狭窄程度 $< 50\%$,未出现相应临床症状,则排除冠心病。将患者分为非冠心病组和冠心病组。根据狭窄程度分级将冠心病组分为轻度组 (冠状动脉管腔狭窄程度 $< 50\%$)、中度组 (冠状动脉管腔狭窄程度 50% ~ 75%),重度组 (冠状动脉管腔狭窄程度 $\geq 75\%$ 或完全闭塞)。依据 CT 值区分冠状动脉斑块性质, 42 ~ 48 HU 为软斑块, 60 ~ 118 HU 为混合斑块, 126 ~ 736 HU 为钙化斑块,混合斑块包含软斑块和钙化斑块。根据斑块性质进一步将冠心病组分为软斑块组、混合斑块组和钙化斑块组。

1.5 PON1 活性测定

采用对氧磷 (Sigma 公司) 为酶作用底物,按本实验室建立的酶学动力学方法进行血浆 PON1 活性测定^[6]。即以 100 mmol/L Tris-Cl 缓冲液 (pH 8.5) 建立 200 μ L 的分析体系:含 50 μ L 样品、1.2 mmol/L 对氧磷、2 mmol/L CaCl_2 、2 mol/L NaCl,于 25 °C 下,利用酶标仪 (Eon, Biotek 公司) 在 405 nm 处连续扫描记录 4 min 内产物生成速率。酶活性以每毫升血清每分钟生成产物对硝基酚的纳摩尔数 [nmol / (min · mL)] 表示 1 个 PON1 酶活性单位值 (U)。

1.6 HDL 氧化/抗氧化指数检测

参照 Navab 等^[7]建立无细胞 HDL 抗氧化炎症功能检测,并进行条件改良^[8],利用 ApoE^{-/-}小鼠禁食后的血浆(含高浓度 VLDL 及 LDL 的氧化脂质)作为氧化底物,诱发荧光试剂 DCFH 激发荧光。使用硫酸葡聚糖沉淀法去除血浆中含 ApoB 的脂蛋白,获得含 HDL 的样品。测试 HDL 存在或不存在的条件下由血浆氧化 DCFH 引起的荧光强度的变化。HDL 氧化/抗氧化指数 = $[F_{(HDL\text{样品}+氧化脂质)} - F_{HDL\text{样品}}] / F_{氧化脂质}$ 。以只加 ApoE^{-/-}小鼠血浆(氧化脂质)的空白管荧光强度值标化为 1,则 HDL 氧化/抗氧化指数值 <1.0 表示抗氧化 HDL, >1.0 表示氧化性 HDL。

1.7 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非配对 *t* 检验用于两组之间的差异性检验,单因素方差分析(ANOVA)用于多组之间的差异性检验,然后通过 Fisher's 最小显著差异(LSD)进行配对比较,偏相关分析各变量的相关性。计数资料以百分数表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 时表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及血液生化指标比较

非冠心病组 30 例,冠心病组 99 例。与非冠心病组相比,冠心病组高血压患病率、吸烟比例明显升高, HDLC 水平下降,差异有统计学意义;而 TG、TC、LDLC、ApoAI 水平没有差异。冠心病组血浆 PON1 活性较非冠心病组下降了 33.9% ($P < 0.01$)。

非冠心病组 HDL 氧化/抗氧化指数小于 1,表示其 HDL 具有抗氧化活性;而冠心病组 HDL 氧化/抗氧化指数高于 1,说明冠心病组 HDL 抗氧化能力大大降低,呈现出氧化状态(表 1)。

表 1. 两组患者的临床和实验室指标比较

Table 1. Comparison of clinical and laboratory indexes between the two groups

项目	非冠心病组 (n=30)	冠心病组 (n=99)	P 值
年龄(岁)	57.30±5.89	62.7±8.85	0.002
男性[例(%)]	12(46.55)	54(54.55)	0.163
高血压[例(%)]	7(23.33)	47(47.47)	0.019
糖尿病[例(%)]	6(20.00)	36(36.36)	0.094
吸烟[例(%)]	6(20)	44(44.44)	0.016
TC(mmol/L)	4.84±1.10	4.75±1.05	0.669
TG(mmol/L)	1.50±0.85	1.72±1.07	0.315
LDLC(mmol/L)	2.80±0.87	2.80±0.86	0.984
HDLC(mmol/L)	1.56±0.41	1.35±0.31	0.002
ApoAI(g/L)	1.07±0.21	1.05±0.21	0.812
PON1 活性(U)	683.3±258.5	451.7±159.6	0.000
HDL 氧化/抗氧化指数	0.89±0.21	1.34±0.32	0.000

2.2 冠状动脉狭窄程度的相关因素分析

根据 CTA 对冠心病患者的冠状动脉狭窄程度进行分组,轻度组 25 例,中度组 45 例,重度组 29 例,各组间 TC、TG、LDLC、HDLC 及 ApoAI 水平无明显差异。随着冠状动脉狭窄程度的加重, PON1 活性逐渐降低, HDL 氧化/抗氧化指数逐渐增高 ($P < 0.05$)。说明冠心病患者体内 HDL 的抗氧化抗炎能力随冠心病严重程度增高而降低(表 2)。

表 2. 血管狭窄程度与冠心病危险因素的相关性分析

Table 2. The correlation analysis of vascular stenosis degree and risk factors of CAD

项目	轻度组(n=25)	中度组(n=45)	重度组(n=29)	F/ χ^2 值	P 值
年龄(岁)	62.36±7.78	61.71±7.53	64.52±11.32	0.909	0.406
男性[例(%)]	11(44.00)	28(62.22)	15(51.72)	2.284	0.319
高血压[例(%)]	7(57.14)	14(40.35)	26(40.35)	29.326	0.000
糖尿病[例(%)]	6(20.69)	20(36.36)	10(36.36)	2.996	0.227
吸烟[例(%)]	11(44.00)	24(53.55)	9(31.03)	3.554	0.169
TC(mmol/L)	4.96±0.93	4.46±1.07	5.00±1.03	3.138	0.050
TG(mmol/L)	1.75±1.31	1.70±1.01	1.71±0.95	0.19	0.981
LDLC(mmol/L)	2.92±0.75	2.70±0.84	2.85±0.98	0.621	0.539
HDLC(mmol/L)	1.33±0.28	1.32±0.30	1.41±0.35	0.838	0.436
ApoAI(g/L)	1.09±0.24	1.08±0.20	0.99±0.21	1.914	0.153
PON1 活性(U)	536.2±172.1	438.8±156.0 ^a	398.9±126.6 ^{ac}	5.74	0.004
HDL 氧化/抗氧化指数	1.13±0.26	1.35±0.28 ^a	1.50±0.35 ^{ac}	10.578	0.000

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与轻度组比较; c 为 $P < 0.05$, 与中度组比较。

2.3 冠状动脉斑块性质分类比较

非钙化斑块一般 CT 值较低,主要包括脂肪斑块和纤维斑块;稳定性较好的钙化斑块表现为血管壁清晰规则边缘锐利且 CT 值较高;两者兼有则称为混合斑块。图 1 展示了软斑块、混合斑块和钙化斑块的 CPR 图像。本研究中,软斑块组 24 例,混合斑块组 37 例,钙化斑块组 38 例;软斑块组 CT 值为 48 ± 33 HU,混合斑块组 CT 值为 85 ± 22 HU,钙化斑

块组 CT 值为 1200 ± 380 HU。

HDLC 水平、ApoAI 水平及 HDL 氧化/抗氧化指数在软斑块组、混合斑块组和钙化斑块组之间均无明显差异,而 PON1 活性在各组间有差异,其中钙化斑块组 PON1 活性最高,显著高于软斑块组和混合斑块组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而混合斑块组 PON1 活性较软斑块组有降低趋势,但无统计学差异(表 3)。

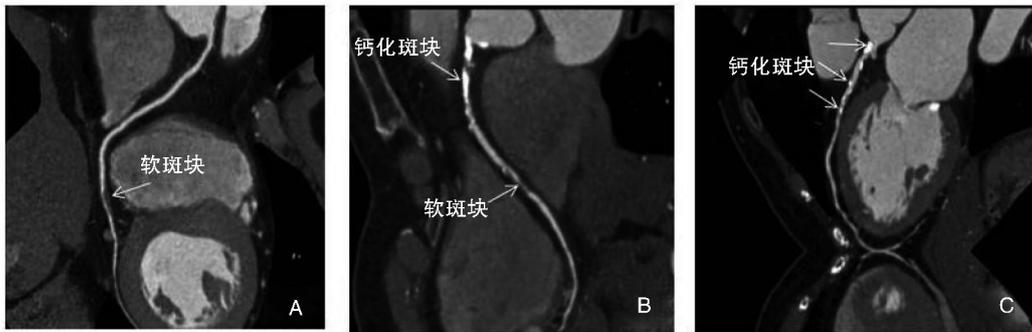


图 1. 血管分析 CPR 图像 A 为右冠状动脉节段性软斑块,管腔中度狭窄;B 为右冠状动脉节段性混合斑块,管腔中度狭窄;C 为左冠状动脉节段性钙化斑块,管腔轻度狭窄。

Figure 1. CPR image of vascular analysis

表 3. 冠状动脉斑块性质与冠心病危险因素的相关性分析

Table 3. The correlation analysis of vascular plaque property and risk factors of CAD

项目	软斑块组 (n=24)	混合斑块组 (n=37)	钙化斑块组 (n=38)	F/ χ^2 值	P 值
年龄(岁)	59.54±7.86	64.05±7.99	63.37±9.91	2.117	0.406
男性[例(%)]	10(41.67)	21(56.76)	23(60.53)	2.284	0.319
高血压[例(%)]	8(33.33)	19(51.35)	20(52.63)	2.553	0.279
糖尿病[例(%)]	8(33.33)	19(51.35)	9(23.68)	6.327	0.042
吸烟[例(%)]	14(62.50)	18(48.65)	12(31.57)	4.687	0.096
TC(mmol/L)	5.06±0.94	4.60±1.05	4.69±1.09	1.516	0.225
TG(mmol/L)	1.94±1.36	1.45±0.82	1.83±1.04	1.942	0.149
LDLC(mmol/L)	2.98±0.75	2.62±0.87	2.86±0.91	1.444	0.241
HDLC(mmol/L)	1.28±0.27	1.39±0.32	1.33±0.32	1.011	0.368
ApoAI(g/L)	1.11±0.26	1.00±0.20	1.08±0.18	2.436	0.093
PON1 活性(U)	469.8±150.8	384.5±154.7	505.7±149.4 ^{ab}	6.201	0.003
HDL 氧化/抗氧化指数	1.34±0.30	1.38±0.40	1.31±0.27	0.391	0.677

a 为 $P<0.05$,与软斑块组比较;b 为 $P<0.01$,与混合斑块组比较。

2.4 HDL 功能指标与冠心病危险因素的相关性分析

考虑到 HDL 功能指标可能与冠心病危险因素之间存在相关性,将 PON1 活性、HDL 氧化/抗氧化指数分别与临床、生化指标进行相关性分析。偏相关分析显示,PON1 活性与 HDLC 水平正相关,与性

别、高血压、吸烟负相关,但与糖尿病、TC、TG、LDLC、ApoAI 等因素无显著相关性。此外,非冠心病组和冠心病组的年龄有统计学差异,但在此多因素分析中未见到年龄与 PON1 活性的显著相关性(表 4)。

HDL 氧化/抗氧化指数代表了 HDL 的整体抗

氧化抗炎功能,但其变化与年龄、性别、吸烟、高血压、糖尿病、TC、TG、LDLC、HDLc、ApoAI 等因素无显著相关(表 4),将 PON1 活性与 HDL 氧化/抗氧化指数进一步进行相关性分析,发现两者显著负相关($P<0.01$;图 2),说明 PON1 活性越低,HDL 抗氧化抗炎能力越弱,致炎能力越强。

表 4. PON1 活性、HDL 氧化/抗氧化指数与冠心病危险因素的相关性

Table 4. Correlation between PON1 activity, HDL oxidation/antioxidant index and risk factors of CAD

项目	PON1 活性		HDL 氧化/抗氧化指数	
	<i>r</i>	<i>P</i> 值	<i>r</i>	<i>P</i> 值
年龄	-0.136	0.143	-0.026	0.777
性别	-0.264	0.004	0.151	0.102
高血压	-0.205	0.026	0.227	0.221
糖尿病	-0.112	0.227	0.159	0.636
吸烟	-0.432	0.000	0.114	0.220
TC	-0.073	0.434	-0.100	0.283
TG	0.291	0.071	0.112	0.228
LDLC	0.106	0.254	0.060	0.518
HDLc	0.268	0.003	-0.040	0.666
ApoAI	0.054	0.559	-0.060	0.517

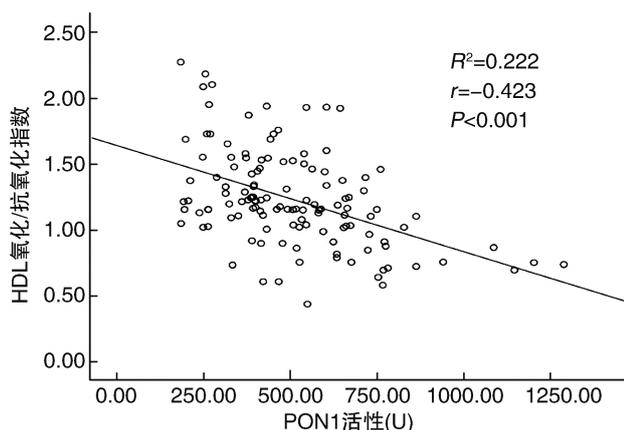


图 2. PON1 活性与 HDL 氧化/抗氧化指数的相关性

Figure 2. Correlation between PON1 activity and HDL oxidation/antioxidant index

3 讨论

HDL 具有介导胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)、抗氧化抗炎、抑制血栓形成、保护内皮等抗动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)作用,而被公认为一种重要的心血管保护性脂蛋白。近

年研究发现,炎症、氧化应激、血脂紊乱、高糖等环境下可引起 HDL 的病理性修饰,导致其结构发生改变,生物学功能降低甚至丧失,转变为致 As 性质的“失功能性”HDL,与冠心病的发生发展有关^[9]。本研究结果表明,排除遗传性高脂血症、在正常 HDLC 水平(≥ 1.03 mmol/L)的人群中,血浆 TC、TG 和 LDLc 水平与冠心病的发生无显著相关,而 PON1 活性和 HDL 氧化/抗氧化指数较 HDLC 和 ApoAI 水平指标能更好地显示与冠心病的发生及冠状动脉狭窄程度密切相关,且斑块进展中不稳定的软斑块组及混合斑块组 PON1 活性低于钙化斑块组,说明 HDL 的功能检测可作为冠心病疾病程度的良好评价指标。

临床以冠状动脉血管造影术作为冠心病的诊断标准方法,近年发展了 64 排螺旋 CTA,作为一项无创性、相对安全方便的血管检查方法,能够较准确计算冠状动脉管腔的狭窄范围及狭窄程度,并根据斑块 CT 值区分软斑块、纤维斑块和钙化斑块,评估斑块易损性(稳定性),在冠心病病变斑块的诊断中有重要的价值^[10]。因此,本研究利用 CTA 影像对冠状动脉狭窄程度及斑块性质进行较准确分组分级,以便明确分析不同组冠心病患者的“失功能”HDL 的变化特征,为评估患者的心血管风险和治疗方案提供重要信息。

HDL 中胆固醇含量比较稳定,目前临床上多通过检测血浆 HDLC 水平间接反映 HDL 水平。根据 2016 中国成人血脂异常防治指南^[11]提示:当血浆中 HDLC ≥ 1.03 mmol/L 表示其处于正常水平。尽管大量调研结果显示血浆 HDLC 水平与冠心病发病危险呈负相关,但 HDL 是一类异质性脂蛋白,不同 HDL 亚组分的组成、形状大小、密度、电荷和抗 As 特性等方面均不相同,因此近年研究认为,除了 HDLC 水平检测,针对 HDL 功能的评价指标将对冠心病的风险评估具有重要价值。ApoAI 是 HDL 主要组成及功能蛋白,临床上血浆 ApoAI 含量检测已成为 HDL 水平及功能检测的重要指标,本研究中选择高于正常 HDLC 水平的患者为研究对象,发现非冠心病组的 HDLC 水平高于冠心病组,但在冠状动脉不同狭窄程度和斑块稳定性分组中并无显著相关,说明 HDLC 水平检测对于冠心病的风险评价有意义;而本研究利用了正常 HDLC 水平的病例,则并未体现 ApoAI 水平在非冠心病组和冠心病组及不同程度冠心病组间的显著差异。

除了介导 RCT, HDL 组成中 ApoAI、ApoE、PON1 等均发挥着重要的抗氧化抗炎作用。大量证据显示, PON1 是 HDL 上的专有酯酶, 可水解 LDL 的氧化磷脂, 减少溶血磷脂含量, 保护脂蛋白免受氧化修饰, 并能够去除高半胱氨酸硫内酯毒性, 减少 N-端高半胱氨酸化对蛋白损伤的能力^[12], 是体现 HDL 抗氧化抗炎的主要成分, 具有抗 As 作用。在 PON1 基因敲除小鼠中或其表达下调时, LDL 氧化性及 As 进程明显增快^[13], 而 PON1 高表达则表现出很好的抗 As 特性。有研究发现, 人群中 PON1 活性与冠心病的危险因素存在一定的相关性^[14], 血浆/血清中 PON1 活性越低, 患冠心病的可能性就越大^[15]; 糖尿病患者 PON1 活性降低后, 将会加快 As 的进展^[16]; 我们前期也曾报道, 经冠状动脉血管造影术并进行 Gensini 评分分组的冠心病患者 PON1 活性显著低于正常组, 且随着冠状动脉 Gensini 评分的上升, PON1 活性逐渐降低, PON1 活性与冠状动脉狭窄程度负相关^[6]。本研究采用 CTA 检测分级分组, 结果不仅再次证实 PON1 活性与冠心病发生风险及冠状动脉狭窄程度密切相关, 也进一步关注 PON1 活性与 As 进程中斑块性质的相关性, 显示 PON1 活性与斑块稳定性相关, 不稳定斑块(软斑块、混合斑块)组 PON1 活性明显低于稳定斑块(钙化斑块)组。尽管 PON1 的调节机制尚未完全阐明, PON1 的酶活性也会受其基因多态性及环境因素, 如年龄、炎症、烟酒、饮食及药物的影响^[17], 本研究中也发现冠心病危险因素如高血压、吸烟以及血浆 HDLC 水平与 PON1 活性具有显著相关性, 但未见到 PON1 活性与年龄显著相关。总之, PON1 活性与冠心病的发生、冠状动脉狭窄程度和斑块稳定性的密切相关性, 说明 HDL 的功能检测中 PON1 活性可作为冠心病疾病程度的良好评价指标。

我们进一步以 HDL 颗粒整体功能为检测对象, 改良建立一种 HDL 抗氧化抗炎的无细胞检测方法。早期实验室传统检测 HDL 抗氧化抗炎能力主要是观测 HDL 对 LDL 氧化及其刺激单核细胞产生炎症因子的抑制作用; 2001 年, Navab 等^[7]开发了一种新的快速无细胞分析法, 用于检测“失功能”HDL 抑制或灭活氧化磷脂的能力; 其后, Ansell 等^[18]将该法应用于临床样本 HDL 抗炎功能检测, 定义为 HDL 炎症/抗炎症指数, 证实该指标比 HDLC 水平对冠心病的风险性有更好的预测价值。我们利用相似原理, 以 ApoE^{-/-}小鼠的稀释血浆作为氧化脂质, 检测

HDL 能否抑制血浆氧化脂质引发的 DCFH 激发荧光, 并定义该指标为 HDL 氧化/抗氧化指数^[8]。该方法操作简便、操作时间不长、能够同时检测多个样本, 较适合临床检测, 我们证实该方法结果与细胞炎症实验结果趋势相一致。本研究结果也充分说明, 非冠心病组 HDL 氧化/抗氧化指数小于 1, 即 HDL 具有抗氧化抗炎功能, 而冠心病组的指数均大于 1, 表示其 HDL 的抗氧化能力降低或丧失, 成为致炎状态的 HDL; 虽然 HDL 氧化/抗氧化指数无法区分不同性质斑块, 但其与冠心病患者冠状动脉狭窄程度呈正相关, 也说明冠心病病情越严重, 其 HDL 抗氧化抗炎能力越弱, 致炎性越强。同时, 我们也首次针对正常血浆 HDLC 水平的冠心病人群, 证实 PON1 活性与 HDL 氧化/抗氧化指数作为 HDL 功能检测指标密切相关, 为 HDL 的功能研究及临床冠心病的辅助诊断发掘新的指标, 也为指导临床冠心病的治疗方案提供依据。

综上所述, PON1 活性及 HDL 氧化/抗氧化指数均能从抗氧化角度评价 HDL 功能, 与冠心病的风险评估和冠状动脉狭窄程度有关, 且两者之间存在显著相关性; PON1 活性对于冠心病的斑块性质及狭窄程度有良好的评价价值, 为进一步关注其临床应用提供有利参考。

[参考文献]

- [1] Cao YN, Xu L, Han YC, et al. Recombinant high-density lipoproteins and their use in cardiovascular diseases [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(1): 180-185.
- [2] 张诗岚, 杜晓, 刘玲. 高密度脂蛋白胆固醇水平与高密度脂蛋白功能: 孰是孰非 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(1): 90-94.
- [3] 尔璐, 边云飞, 宋晓苏, 等. 失功能高密度脂蛋白与心血管疾病研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(3): 309-313.
- [4] Otocka-Kmieciak A, Mikhailidis DP, Nicholls SJ, et al. Dysfunctional HDL: a novel important diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease [J]. *Prog Lipid Res*, 2012, 51(4): 314-324.
- [5] Zhao Y, Ma Y, Fang Y, et al. Association between PON1 activity and coronary heart disease risk: a meta-analysis based on 43 studies [J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 105(1): 141-148.
- [6] Zhou C, Cao J, Shang L, et al. Reduced paraoxonase 1 activity as a marker for severe coronary artery disease [J]. *Dis Markers*, 2013, 35(2): 97-103.

- [7] Navab M, Hama SY, Hough GP, et al. A cell-free assay for detecting HDL that is dysfunctional in preventing the formation of or inactivating oxidized phospholipids [J]. *J Lipid Res*, 2001, 42(8): 1308-1317.
- [8] Cao J, Xu Y, Li F, et al. Protein markers of dysfunctional HDL in scavenger receptor class B type I deficient mice [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 155.
- [9] Kontush A, Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein; a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis [J]. *Pharmacol Rev*, 2006, 58(3): 342-374.
- [10] 肖冲冲, 黄贤胜, 丁振江, 等. 64 排螺旋 CT 冠状动脉成像对冠心病诊断准确性的影响因素分析 [J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(3): 245-250.
- [11] 诸骏仁, 高润霖, 赵水平, 等. 中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版) [J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(10): 937-953.
- [12] Perla-Kajan J, Jakubowski H. Paraoxonase 1 and homocysteine metabolism [J]. *Amino Acids*, 2012, 43(4): 1405-1417.
- [13] Ng DS, Chu T, Esposito B, 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(4): 226-232.
- [14] Getz GS, Reardon CA. Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2004, 15(3): 261-267.
- [15] Sun T, Hu J, Yin Z, et al. Low serum paraoxonase1 activity levels predict coronary artery disease severity [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19443-19454.
- [16] Gupta N, Binu KB, Singh S, et al. Low serum PON1 activity; an independent risk factor for coronary artery disease in North-West Indian type 2 diabetics [J]. *Gene*, 2012, 498(1): 13-19.
- [17] Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2018, 14: 137-143.
- [18] Ansell BJ, Navab M, Hama S, et al. Inflammatory/anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment [J]. *Circulation*, 2003, 108(22): 2751-2756.

(此文编辑 文玉珊)