论著

文章编号:1000-5404(2009)21-2106-03

亚临床甲状腺功能减退症患者血浆对氧磷酯酶1活性与氧化应激状态的评价

蒋兴亮,凡瞿明,张晓岚,刘素兰,张 均,王光华,唐 中 (川北医学院附属医院检验科,四川 南充 637000)

摘 要:目的 评价亚临床甲状腺功能减退症(subclinical hypothyroidism, SCH)患者血浆对氧磷酯酶1(paraoxonase 1, PON1)活性及氧化应激状态,以及PON1与氧化应激的关系。**方法** 测定56例亚临床甲减患者与48例年龄相匹配的健康体检者血浆PON1活性、血脂水平、氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)含量、丙二醛(MDA)水平及超氧化物歧化酶(SOD)活力,并进行相关性分析。**结果** 亚临床甲减患者血浆PON1[(142±56) kU/L]和SOD[(83.2±26.1) U/ml]明显低于对照组PON1[(167±60) kU/L, $P<0.01$]和SOD[(93.1±28.2) U/ml, $P<0.05$];MDA[(14.10±3.01) μmol/L]和ox-LDL[(596.2±68.1)μg/L]的水平明显高于健康对照组MDA[(10.25±3.34)μmol/L, $P<0.01$]和ox-LDL[(467.2±60.1)μg/L, $P<0.01$]。亚临床甲减患者血浆PON1活性与SOD呈显著正相关($r=0.302$, $P<0.05$),与ox-LDL($r=-0.398$, $P<0.01$)及MDA($r=-0.401$, $P<0.01$)呈显著负相关。**结论** 亚临床甲减患者活性氧(ROS)产生的增加导致氧化环境的改变,可能使血浆PON1活性显著降低。PON1可能通过降低抗氧化能力机制参与了亚临床甲状腺功能减退症的病理、生理过程。

关键词: 氧化应激;对氧磷酯酶1;亚临床甲状腺功能减退症

中图法分类号: R363; R446.112; R582.202 **文献标识码:** A

Assessment of plasma paraoxonase1 activity and oxidative stress in patients with subclinical hypothyroidism

JIANG Xing-liang, FAN Qu-ming, ZHANG Xiao-lan, LIU Su-lan, ZHANG Jun, WANG Guang-hua, TANG Zhong
(Department of Medical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China)

Abstract: Objective To evaluate the activity of antioxidant paraoxonase 1 (PON1) and the oxidative stress status in patients with subclinical hypothyroidism (SCH), and the relationship between PON1 activity and oxidative stress parameters. **Methods** The fasting plasma levels of free triiodothyronine (FT_3), free thyroxine (FT_4), thyroid stimulating hormone (TSH), PON1 activity, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA), oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) and lipids in 56 subclinical hypothyroidism patients and 48 matched normal controls were determined respectively. The correlation analysis was made between these variables. **Results** Compared with control, subclinical hypothyroidism had significantly lower PON1 [(142±56) kU/L *vs* (167±60) kU/L] ($P<0.01$), and SOD activity [(83.2±26.1) U/ml *vs* (93.1±28.2) U/ml] ($P<0.05$), and significantly higher MDA [(14.10±3.01) μmol/L *vs* (10.25±3.34) μmol/L] ($P<0.01$), and ox-LDL level [(596.2±68.1) μg/L *vs* (467.2±60.1) μg/L] ($P<0.01$). Linear correlation analysis showed PON1 was positively correlated with SOD ($r=0.302$, $P<0.05$), and negatively correlated with ox-LDL ($r=-0.398$, $P<0.01$), MDA ($r=-0.401$, $P<0.01$) in subclinical hypothyroidism. **Conclusion** Plasma PON1 activity is significantly decreased in patients with subclinical hypothyroidism. Increased reactive oxygen species (ROS) levels in these patients may result in a pro-oxidation environment, which in turn leads to decrease PON1 activity. PON1 may participate in the pathophysiologic process of subclinical hypothyroidism through reducing antioxidant properties.

Key words: oxidative stress; paraoxonase1; subclinical hypothyroidism

亚临床甲状腺功能减退症(简称亚临床甲减)是以血液中促甲状腺素(TSH)水平升高,而游离甲状腺素(FT_4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT_3)在正常范围,多数无任何临床症状,主要依靠实验室检查来诊断为特点的内分泌代谢性疾病[1]。对氧磷酯酶1(paraoxo-

作者简介:蒋兴亮,男,四川省遂宁市人,主任技师,主要从事临床生化检验及诊断方面的研究。电话:(0817)2252621, E-mail:jiangxl_666@163.com

通信作者:唐 中,电话:(0817)2262471,E-mail:tz5331@163.com

收稿日期:2009-03-11;修回日期:2009-04-15

nase 1, PON1)是存在于 HDL 分子中的一种钙依赖性蛋白酶,能够水解氧化型磷脂,防止脂质过氧化,是人体内重要的抗氧化酶。由于 PON1 能够防止 LDL 及 HDL 的氧化,因此以往的研究多集中于与脂类代谢和动脉粥样硬化有关的疾病[2]。本研究对亚临床甲减患者 PON1 活性、氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及血脂水平进行测定,以评价亚临床甲减患者 PON1 活性与氧化应激状态的变化,以及与氧化应激的关系。

1　资料与方法

1.1　一般资料

选择 2007 年 12 月至 2008 年 12 月临床送检中符合亚临床甲减患者 56 例作为观察组,其中男性 20 例,女性 36 例,年龄 17 ~ 52 岁,平均 42.1 岁。对照组为健康体检者,共 48 例,其中男性 18 例,女性 30 例,年龄 18 ~ 50 岁,平均 41.9 岁;经询问病史,体格检查,肝、肾功能和血糖化验正常。亚临床甲减组与对照组的年龄和性别构成比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2　方法

受检者禁食 12 h 以上,于清晨空腹采静脉血,离心分离血浆,-20 ℃保存待测。

1.2.1　血浆 PON1 活性测定　　采用速率法[3]。取试剂 1(0.05 mol/L 甘氨酸缓冲液,pH 10.5,含 1 mmol/L $CaCl_2$,1 mol/L NaCl)150 μl;试剂 2(试剂 1 中含 1 mol/L 对氧磷)50 μl,标本 8 μl,测定 350 ~ 500 s 对硝基苯酚产生的速度,波长 410/340 nm。对硝基苯酚的摩尔吸光系数为 18.05×10^3。

1.2.2　ox -LDL 的测定　　采用酶联免疫吸附实验(ELISA)双抗夹心法,试剂盒购自上海荣盛生物技术有限公司,具体操作参见产品说明书。

1.2.3　MDA 和 SOD 的测定　　分别用硫代巴比妥酸法和黄嘌呤氧化酶法。试剂盒由南京建成生物工程公司提供。操作见说明书。

1.2.4　血脂测定　　分别采用磷酸甘油氧化酶-过氧化酶法、胆固醇酯酶-胆固醇氧化酶法、清除法(一步法)、选择性遮蔽法(一步法)测定甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),透射免疫浊度法分别测定载脂蛋白 A(apoA)、载脂蛋白 B(apoB)和脂蛋白(a)[LP(a)]。

1.2.5　FT_3、FT_4、TSH 水平测定　　应用微粒子荧光酶免疫分析法,试剂盒购自美国雅培公司。

1.3　仪器

PON1、MDA、SOD、血脂水平在日本日立 7170S 全自动生化分析仪上测定。FT_3、FT_4、TSH 水平在美国雅培公司生产的 AXSYM 全自动免疫分析仪上测定。ox-LDL 含量在澳大利亚安图 2010 型酶标仪上测定。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数的比较采用独立样本 t 检验、方差分析,相关性分析采用 Pearson 相关分析。所有数据用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析。

2　结果

2.1　亚临床甲减组与对照组一般资料的比较

亚临床甲减组的 TC、LDL-C 和 LP(a)均显著高于对照组($P < 0.01$),apoB 高于对照组($P < 0.05$);而 HDL-C、apoA、TG 2 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

2.2　亚临床甲减患者 PON1、SOD、ox-LDL 和 MDA 的水平

亚临床甲减组患者 PON1 活性、SOD 显著低于对照组($P < 0.01$,$P < 0.05$);ox-LDL 和 MDA 的水平显著高于对照组($P < 0.01$,表 2)。

表 2　2 组 PON1、SOD、ox-LDL 和 MDA 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PON1 (kU/L)	SOD (U/ml)	MDA (μmol/L)	ox-LDL (μg/L)
对照组	48	167 ± 60	93.1 ± 28.2	10.25 ± 3.34	467.2 ± 60.1
亚临床甲减组	56	142 ± 56[a]	83.2 ± 26.1[b]	14.11 ± 3.01[a]	596.2 ± 68.1[a]

a:$P < 0.01$, b:$P < 0.05$,与对照组比较

2.3　亚临床甲减组患者 PON1 与 SOD、ox-LDL 和 MDA 的相关性分析

PON1 分别与 ox-LDL、SOD 和 MDA 进行直线相关分析,结果表明 PON1 活性与 SOD 呈显著正相关($r = 0.302$,$P < 0.05$),与 ox-LDL($r = -0.398$,$P < 0.01$)和 MDA($r = -0.401$,$P < 0.01$)呈显著负相关。

3　讨论

亚临床甲减是常见疾病,成年人发病率达 4.0% ~ 8.5 %。患病率随年龄增长而升高,女性是男性的 3 ~ 5 倍。亚临床甲减的主要不良后果是发展为临床甲状腺功能减低症,也是冠心病的重要危险因素之一[4],

表 1　2 组甲状腺功能及血脂水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FT_3 (pmol/L)	FT_4 (pmol/L)	TSH (mIU/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	apoA (g/L)	apoB (g/L)	LP(a) (mg/L)
对照组	48	4.34 ± 0.71	15.28 ± 2.80	2.02 ± 0.94	1.48 ± 1.15	4.49 ± 0.52	1.25 ± 0.70	2.65 ± 1.04	1.30 ± 0.33	0.79 ± 0.14	159 ± 57
亚临床甲减组	56	3.89 ± 0.69	14.38 ± 3.01	4.89 ± 1.21[a]	1.62 ± 1.12	5.82 ± 0.69[a]	1.20 ± 0.73	3.22 ± 1.35[a]	1.24 ± 0.29	0.92 ± 0.17[b]	256 ± 75[a]

a:$P < 0.01$, b:$P < 0.05$,与对照组比较

其发展趋势受到人们的关注。亚临床甲减患者由于各种原因使体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增加,抗氧化系统不能有效清除,导致脂质过氧化,引发氧化应激。已有的亚临床甲减患者氧化与抗氧化的研究报道较少且相互矛盾[5,6]。亚临床甲减患者抗氧化防御系统状态及脂质过氧化状态,以及对人体的影响目前还不清楚。

PON1 是人体内抗氧化的主要酶类,对脂质过氧化物具有降解作用,但其本身活性也受到影响[7]。本研究在测定 PON1 活性的同时,对反映脂质过氧化程度的 MDA 水平和反映抗氧化能力的 SOD 活性、反映氧化程度的 ox-LDL 水平,以及脂质和脂蛋白也进行了检测,并对他们之间的关系进行了研究。结果显示,亚临床甲减患者血浆 PON1 和 SOD 活性较正常对照组显著降低($P<0.05$),且 PON1 活性与 SOD 活性呈正相关,说明抗氧化能力显著下降。相反,MDA 和 ox-LDL 则较正常对照组显著升高($P<0.01$),且 PON1 活性与 ox-LDL 及 MDA 含量呈显著负相关,说明由于活性氧产生增加导致脂质过氧化增强。亚临床甲减患者由于种种原因使体内 ROS 增多,加之抗氧化能力严重下降,氧化与抗氧化之间的平衡被打破,不足以清除体内过多的 ROS,继而诱导不饱和脂肪酸和蛋白类等大分子物质发生过氧化反应导致氧化损伤,引起氧化应激,血浆 PON1 也显著降低。PON1 与 SOD 一样,作为体内重要的抗氧化酶类,对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用,该酶能清除脂质过氧化物,而自身也失活,其升高可降低脂质过氧化形成,减轻对组织细胞和大分子物质的氧化应激性损伤,其高低可间接反映机体抗氧化损伤的能力[8]。

本研究还发现,亚临床甲减患者 TC、LDL-C、LP(a)显著高于对照组($P<0.01$),与 Erdem 等[9]的报道一致。甲状腺素能诱导肝细胞表面的 LDL 受体的 mRNA 水平增加,使 LDL 受体的数量和活性增加。在亚临床甲减状态下,LDL 受体数目和活性下降,对循环中的 LDL 摄取减少,从而使 LDL 的降解与清除减少。亚临床甲减还可通过抑制脂蛋白脂酶活性,使 TC 的清除率下降。未清除的 LDL 反复接触各种能够使脂质过氧化形成和蓄积的氧化性物质,增加了 LDL 对氧化的易感性,使 ox-LDL 产生增加[10]。已经证实 ox-LDL 是动脉粥样硬化发生的始动因素,可通过多种机制在动脉粥样硬化的形成与发展中发挥重要作用[11]。亚临床甲减是冠心病等动脉粥样硬化相关性疾病的重要危险因素,其中 PON1 降低而致的 LDL 和 HDL 氧化可能是其原因之一。而 ox-LDL 反过来直接灭活部分 PON1 的活性,使血浆 PON1 活性降低[12]。

亚临床甲减患者由于其体内脂质及激素代谢紊乱,导致自由基产生增加,使脂质过氧化产物增加,导致 PON1 消耗使其血浆中活性降低。因此,通过检测患者的血浆 PON1 活性,结合其他氧化抗氧化指标及血脂指标,可较全面地认识亚临床甲减患者的脂质过氧化状态及抗氧化状态,为疾病的病因分析提供依据。但亚临床甲减患者血脂代谢异常、脂质过氧化及抗氧化之间因果关系的阐明,还需进一步临床和基础实验的深入研究。

参考文献:

[1] Surks M I, Ortiz E, Daniels G H, *et al*. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management[J]. JAMA, 2004, 291(2): 228-238.

[2] Mackness B, Hine D, McElduff P, *et al*. High C-reactive protein and low paraoxonase1 in diabetes as risk factors for coronary heart disease [J]. Atherosclerosis, 2006, 186(2): 396-401.

[3] 蒋兴亮, 周京国, 张晓岚. 2 型糖尿病微血管病变患者血浆对氧磷酯酶-1 活性与氧化应激的关系[J]. 中国微循环, 2007, 11(4): 253-255,281.

[4] Rodondi N, Aujesky D, Vittinghoff E, *et al*. Subclinical hypothyroidism and the risk of coronary heart disease: a meta-analysis[J]. Am J Med, 2006, 119(7): 541-551.

[5] Kebapcilar L, Akinci B, Bayraktar F, *et al*. Plasma thiobarbituric acid-reactive substance levels in subclinical hypothyroidism[J]. Med Princ Pract, 2007, 16(6): 432-436.

[6] Venditti P, Di-Meo S. Thyroid hormone-induced oxidative stress[J]. Cell Mol Life Sci, 2006, 63(4): 414-434.

[7] Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Stefanovic A, *et al*. Paraoxonase-1 (PON1) activity, but not PON1(Q192R) phenotype, is a predictor of coronary artery disease in a middle-aged Serbian population[J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(10): 1206-1213.

[8] 何 丽, 张 雪, 黄君富, 等. 67 例重度烧伤患者血清铜、锌、锰、硒含量变化与 SOD、GSH-Px 活性关系的研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(21): 2192-2194.

[9] Erdem T Y, Ercan M, Ugurlu S, *et al*. Plasma viscosity, an early cardiovascular risk factor in women with subclinical hypothyroidism[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2008, 38(4): 219-225.

[10] Brenta G, Berg G, Arias P, *et al*. Lipoprotein alterations, hepatic lipase activity, and insulin sensitivity in subclinical hypothyroidism: response to L-T_4 treatment[J]. Thyroid, 2007, 17(5): 453-460.

[11] Tsimikas S, Brilakis E S, Lennon R J, *et al*. Relationship of IgG and IgM autoantibodies to oxidized low density lipoprotein with coronary artery disease and cardiovascular events[J]. J Lipid Res, 2007, 48(2): 425-433.

[12] Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Jelic-Ivanovic Z, *et al*. PON1 status is influenced by oxidative stress and inflammation in coronary heart disease patients[J]. Clin Biochem, 2008, 41(13): 1067-1073.

(编辑 张 维)