

冠心病患者高密度脂蛋白抗氧化能力及其对内皮细胞增殖、迁移的影响研究

李红文¹, 李 喆¹, 张 炜¹, 王旭兰², 王群让³, 刘新宏¹, 邢 坤¹, 常凤军¹

【摘要】 目的 探究冠心病 (CHD) 患者高密度脂蛋白 (HDL) 抗氧化能力及其对内皮细胞增殖、迁移的影响。方法 选取 2015 年 6—12 月就诊于陕西中医药大学附属医院心内科的 CHD 患者 48 例, 另选取同期在陕西中医药大学附属医院体检健康者 28 例, 采用密度梯度离心法提取 CHD 患者和体检健康者 HDL, 采用 cell-free 法检测 HDL 抗氧化能力, 比较 CHD 患者和体检健康者 HDL 的相对荧光强度值 (RFU)。将 4 代人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 分为空白对照组 (不做任何处理)、阳性对照组 (加入血管内皮生长因子)、对照组 (加入体检健康者 HDL)、实验组 (加入 CHD 患者 HDL), 采用 CCK-8 细胞增殖检测试剂盒检测内皮细胞增殖情况, 比较 4 组内皮细胞吸光度值; 采用细胞划痕实验检测内皮细胞迁移能力, 比较 4 组内皮细胞“水渠”宽度比值; 采用 Western blotting 法检测 HDL 对内皮细胞磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT)、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶 (P-PI3K)、磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶 (P-AKT) 蛋白表达的影响, 比较空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K/GAPDH、AKT/GAPDH、P-PI3K/PI3K、P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值。结果 CHD 患者 HDL 的 RFU 高于体检健康者 ($P < 0.05$)。空白对照组和实验组内皮细胞吸光度值高于阳性对照组和对照组 ($P < 0.05$)。实验组内皮细胞“水渠”宽度比值低于阳性对照组和对照组 ($P < 0.05$)。空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K/GAPDH 和 AKT/GAPDH 蛋白灰度值比值比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 对照组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值高于空白对照组和实验组, 实验组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值低于空白对照组 ($P < 0.05$)。结论 CHD 患者 HDL 抗氧化能力减弱, HDL 可能通过抑制 PI3K-AKT 通路而影响内皮细胞增殖和迁移。

【关键词】 冠心病; 高密度脂蛋白; 内皮细胞; 细胞增殖; 细胞迁移

【中图分类号】 R 541.4 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2017.06.006

李红文, 李喆, 张炜, 等. 冠心病患者高密度脂蛋白抗氧化能力及其对内皮细胞增殖、迁移的影响研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25 (6): 23-28. [www.syxnf.net]

LI H W, LI Z, ZHANG W, et al. Antioxidant ability of high density lipoprotein and the impact on proliferation and migration of endothelial cells in patients with coronary heart disease [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2017, 25 (6): 23-28.

Antioxidant Ability of High Density Lipoprotein and the Impact on Proliferation and Migration of Endothelial Cells in Patients with Coronary Heart Disease LI Hong-wen¹, LI Zhe¹, ZHANG Wei¹, WANG Xu-lan², WANG Qun-rang³, LIU Xin-hong¹, XING Kun¹, CHANG Feng-jun¹

1. The Third Department of Cardiovascular Medicine, the People's Hospital of Shaanxi Province, Xi'an 710000, China

2. Medical School of Xianyang Vocational and Technical College, Xianyang 712000, China

3. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Corresponding author: CHANG Feng-jun, E-mail: mss0392@126.com

【Abstract】 **Objective** To study the antioxidant ability of high density lipoprotein and the impact on proliferation and migration of endothelial cells in patients with coronary heart disease. **Methods** From June to December in 2015 in the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, 48 patients with coronary heart disease in the Department of Cardiology and 28 healthy people admitted to this hospital for physical examination were selected, density-gradient centrifugation

基金项目: 国家自然科学基金专项基金资助项目 (81341112)

1. 710000 陕西省西安市, 陕西省人民医院心血管内三科

2. 712000 陕西省咸阳市, 咸阳职业技术学院医学院

3. 712000 陕西省咸阳市, 陕西中医药大学附属医院心内科

通信作者: 常凤军, E-mail: mss0392@126.com

method was used to extract high density lipoprotein, and cell – free method was used to detect the antioxidant ability of high density lipoprotein, then relative fluorescence unit (RFU) was compared between patients with coronary heart disease and healthy people. The fourth generation of HUVECs were divided into A group (without any intervention), B group (added with vascular endothelial growth factor), C group (added with high density lipoprotein of healthy people) and D group (added with high density lipoprotein of patients with coronary heart disease), CCK-8 Cell Proliferation Detection Kit was used to detect the proliferation of endothelial cells, and absorbance value was compared among the four groups; cell scratch – wound test was used to detect the migration of endothelial cells, and the ratio of "channel" width was compared among the four groups; Western blotting method was used to detect the impact of high density lipoprotein on protein expression of PI3K, AKT, P-PI3K and P-AKT of endothelial cells, and protein gray value ratio of PI3K/GAPDH, AKT/GAPDH, P-PI3K/PI3K and P-AKT/AKT was compared among A group, C group and D group. **Results** RFU of high density lipoprotein of patients with coronary heart disease was statistically significantly higher than that of healthy people ($P < 0.05$). Absorbance value of endothelial cells of A group and D group was statistically significantly higher than that of B group and C group, respectively ($P < 0.05$). Ratio of "channel" width of endothelial cells of D group was statistically significantly lower than that of B group and C group, respectively ($P < 0.05$). No statistically significant differences of protein gray value ratio of PI3K/GAPDH or AKT/GAPDH of endothelial cells was found among A group, C group and D group ($P > 0.05$); protein gray value ratio of P-PI3K/PI3K and P-AKT/AKT of endothelial cells of C group was statistically significantly higher than that of A group and D group, respectively, while protein gray value ratio of P-PI3K/PI3K and P-AKT/AKT of endothelial cells of D group was statistically significantly lower than that of A group ($P < 0.05$). **Conclusion** Antioxidant ability of high density lipoprotein is significantly decreased in patients with coronary heart disease, high density lipoprotein may affect the proliferation and migration of endothelial cells through inhibiting PI3K-AKT signal pathway.

[Key words] Coronary disease; High density lipoprotein; Endothelial cells; Cell proliferation ; Cell migration

冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是冠状动脉粥样硬化引起血管腔狭窄或阻塞所致的心肌缺血、缺氧或坏死性心脏病, 心肌缺血后机体可通过毛细血管新生及建立侧支循环而代偿性增加冠状动脉血供, 进而防止和延缓心肌损伤^[1-4]。血管新生包括内皮细胞增殖、迁移及分化等过程, 该生理过程由多种生长因子和信号通路参与^[5]。临床研究表明, 高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 具有逆向转运胆固醇、抗炎、保护内皮细胞、促进血管新生、抗氧化、抗凝等作用, 已被证实是心血管事件的独立预测因子^[6-8]。但近年有关胆固醇酯转移蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 抑制研究的失败使研究者意识到 HDL 的“质量”可能比 HDL 的“数量”更具临床意义^[9-14]。本研究旨在探究冠心病患者 HDL 抗氧化能力及其对内皮细胞增殖、迁移的影响, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6—12 月就诊于陕西中医药大学附属医院心内科的 CHD 患者 48 例, 均符合 2007 年欧洲心脏学会 (ESC)、美国心脏病学会基金会 (ACCF)、美国心脏学会 (AHA) 联合发布的 CHD 诊断标准, 另选取同期在陕西中医药大学附属医院体检健康者 28 例, 排除合并糖尿病、高血压、肾衰竭、严重感染性疾病者。两组受试者年龄、性别、体质指数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 见表 1), 具有可比性。本研究经陕西中医药大学附属医院医学伦理委员会审核

批准, 所有受试者对本研究知情同意并自愿签署知情同意书。

表 1 CHD 患者与体检健康者一般资料比较

Table 1 Comparison of general information between patients with coronary heart disease and healthy people

受试者	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女)	体质指数 ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)
体检健康者	28	44.5 ± 9.1	16/12	20.32 ± 0.76
CHD 患者	48	45.8 ± 10.7	26/22	22.84 ± 0.65
$t(\chi^2)$ 值		1.08	1.14 ^a	2.36
P 值		0.14	0.12	0.21

注: CHD = 冠心病; ^a 为 χ^2 值

1.2 主要试剂及仪器 超高速离心管 (38 ml, Beckman Coulter 公司, 美国), 乙二酰四乙酸 (EDTA) (Sigma 公司, 美国), BHT (Sigma 公司, 美国), 滤器 (Merk Millipore 公司, 美国), BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Thermo Scientific 公司, 美国), 4 °C 冰箱 (海尔, 中国), 氯化铜 (CuCl₂) (Sigma 公司, 美国), 2', 7' - 二氯荧光素二乙酸酯 (DCFH - DA) (Calbiochem 公司, 美国), 酶标仪 (Spectra Max Gemini XS, Molecular Devices 公司, 美国), 人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) (ScienCell 公司, 美国), 96 孔细胞板 (Corning Coster 公司, 美国), 血管内皮生长因子 (VEGF) (R&D 公司, 美国), ECM 培养基 (ScienCell 公司, 美国), CCK-8 细胞增殖检测试剂盒 (凯基生物科技有限公司,

南京), 24 孔细胞板 (Corning Coster 公司, 美国), 显微镜 (Olympus 公司, 美国), 磷酸盐缓冲液 (Gibco 公司, 美国), 6 孔细胞板 (Corning Coster 公司, 美国)。

1.3 方法

1.3.1 HDL 提取方法 参考文献 [15], 采用密度梯度离心法提取 HDL, 具体步骤如下: 将体检健康者和 CHD 患者空腹静脉血在 4 °C 环境下 4 000 r/min 离心 10 min, 分离血浆并移入预冷的超高速离心管中, 加入 1:500 比例的 EDTA 134 mM 和 1:10 000 比例的 BHT 200 mM 后离心 3 次 (4 °C, 50 000 r/min 离心 21 h)。离心结束后血浆因成分密度不同而发生分层, 采用无菌注射器小心吸取 HDL 并用 0.22 μm 滤器过滤后采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定其浓度, 提取完毕的 HDL 存放于 4 °C 冰箱备用 (有效储存时间为 3 周)。

1.3.2 抗氧化能力检测方法 参考文献 [16], 采用 cell-free 法检测 HDL 抗氧化能力, 具体步骤如下: 取体检健康者和冠心病患者相同质量 HDL (100 μg/ml), 分别加入 CuCl₂ (21.7 μmol/L) 10 μl 孵育 1 h, 孵育至 30 min 时分别加入 2.0 mg/ml 的 DCFH-DA 10 μl (注意避光), 继续孵育 30 min。采用酶标仪连续 12 h 检测 HDL 的相对荧光强度值 (relative fluorescence units, RFU)。

1.3.3 内皮细胞增殖能力检测方法 将 4 代 HUVECs 按 6 000 个/cm² 的密度加入 96 孔细胞板内培养至细胞铺满细胞板约 50%, 将细胞板分为空白对照组、阳性对照组、对照组和实验组。空白对照组不做任何处理, 阳性对照组加入含 50 ng/ml VEGF 的无血清 ECM 培养基, 对照组加入含体检健康者 100 μg/ml HDL 的无血清 ECM 培养基, 实验组加入含冠心病患者 100 μg/ml HDL 的无血清 ECM 培养基。继续孵育 12 h 后采用 CCK-8 细胞增殖检测试剂盒检测内皮细胞吸光度值 (450 nm)。

1.3.4 内皮细胞迁移能力检测方法 采用细胞划痕实验检测内皮细胞迁移能力, 具体步骤如下: 将 4 代 HUVECs 按 8 × 10⁴ 个/ml 的密度加入 24 孔细胞板内培养至细胞铺满细胞板 >95%, 将细胞板分为空白对照组、阳性对照组、对照组和实验组。采用 200 μl 移液嘴将 24 孔细胞板直径一分为二, 采用磷酸盐缓冲液洗去细胞碎屑。空白对照组不做任何处理, 阳性对照组加入含 50 ng/ml VEGF 的无血清 ECM 培养基, 对照组加入含体检健康者 100 μg/ml HDL 的无血清 ECM 培养基, 实验组加入含冠心病患者 100 μg/ml HDL 的无血清 ECM 培养基, 孵育 12 h 后于显微镜下拍照记录内皮细胞“水渠”宽度, 以空白对照组内皮细胞“水渠”宽度作为 1, 分别计算阳性对照组、对照组和实验组内皮细胞“水渠”宽度比值。

1.3.5 蛋白表达检测方法 将 4 代 HUVECs 加入 6 孔细胞板内培养至细胞铺满细胞板 >95%, 将细胞板分为空白对照组、对照组和实验组。空白对照组不做任何处理, 对照组加入体检健康者 100 μg/ml HDL, 实验组加入冠心病患者 100 μg/ml HDL。孵育 1 h 后提取内皮细胞蛋白, 采用 Western blotting 法检测 3 组内皮细胞磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT)、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶 (P-PI3K)、磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶 (P-AKT) 蛋白表达情况, 主要步骤为蛋白电泳、基质胶转膜、封闭液封闭蛋白-4 °C 摇床过夜孵育一抗、室温孵育二抗 1 h、显影、定影、曝光胶片、烘干胶片、扫描胶片, 记录灰度值。以内参 GAPDH 灰度值作为对照, 分别计算内皮细胞 PI3K/GAPDH、AKT/GAPDH 蛋白灰度值比值; 分别以 PI3K 灰度值、AKT 灰度值作为对照, 计算 P-PI3K/PI3K、P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理, 采用 Graph pad prism 5 软件做图。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用成组 *t* 检验; 计数资料分析采用 χ^2 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HDL 抗氧化能力 体检健康者 HDL 的 RFU 为 (376.89 ± 56.45), CHD 患者为 (1 002.94 ± 104.33), CHD 患者 HDL 的 RFU 高于体检健康者, 差异有统计学意义 (*t* = 26.38, *P* < 0.05)。

2.2 HDL 对内皮细胞增殖的影响 4 组内皮细胞吸光度值比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 空白对照组和实验组内皮细胞吸光度值高于阳性对照组和对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05, 见表 2)。

2.3 HDL 对内皮细胞迁移的影响 4 组内皮细胞“水渠”宽度比值比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 实验组内皮细胞“水渠”宽度比值高于阳性对照组和对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05, 见表 2、图 1)。

2.4 HDL 对内皮细胞 PI3K、AKT、P-PI3K、P-AKT 蛋白表达的影响 空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K/GAPDH 和 AKT/GAPDH 蛋白灰度值比值比较, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 对照组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值高于空白对照组和实验组, 实验组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值低于空白对照组, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05, 见表 3、图 2~3)。

表 2 4 组内皮细胞吸光度值和“水渠”宽度比值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of absorbance value and ratio of "channel" width of endothelial cells among the four groups

组别	吸光度值	“水渠”宽度比值
空白对照组	0.35 ± 0.02 ^{ab}	1
阳性对照组	1.38 ± 0.03	0.13 ± 0.04
对照组	1.26 ± 0.03	0.23 ± 0.09
实验组	0.45 ± 0.02 ^{ab}	0.53 ± 0.13 ^{ab}
F 值	405.60	368.50
P 值	<0.0001	<0.001

注：与阳性对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与对照组比较，^b $P < 0.05$

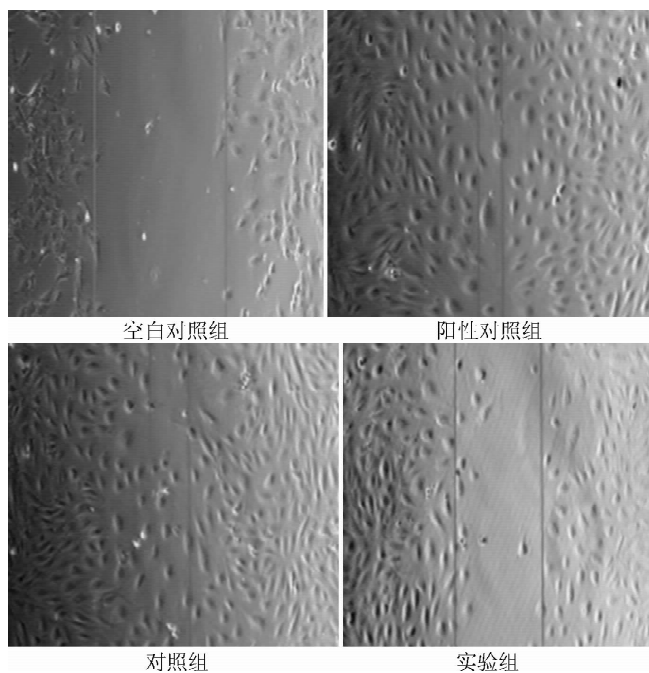


图 1 4 组内皮细胞“水渠”宽度

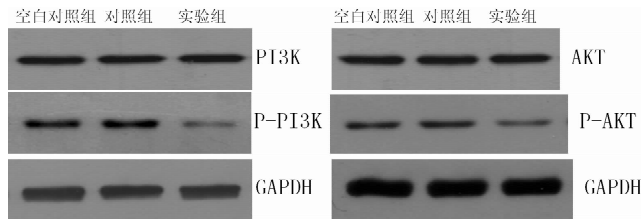
Figure 1 "Channel" width of endothelial cells of the four groups

表 3 空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K/GAPDH、AKT/GAPDH、P-PI3K/PI3K、P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of protein gray value ratio of PI3K/GAPDH, AKT/GAPDH, P-PI3K/PI3K and P-AKT/AKT of endothelial cells among the three groups

组别	PI3K/GAPDH	AKT/GAPDH	P-PI3K/PI3K	P-AKT/AKT
空白对照组	0.51 ± 0.19	0.41 ± 0.09	0.47 ± 0.09 ^a	0.35 ± 0.06 ^a
对照组	0.50 ± 0.17	0.43 ± 0.11	0.58 ± 0.11	0.50 ± 0.04
实验组	0.49 ± 0.21	0.43 ± 0.08	0.17 ± 0.06 ^{ab}	0.10 ± 0.03 ^{ab}
F 值	2.11	2.32	6.54	7.13
P 值	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

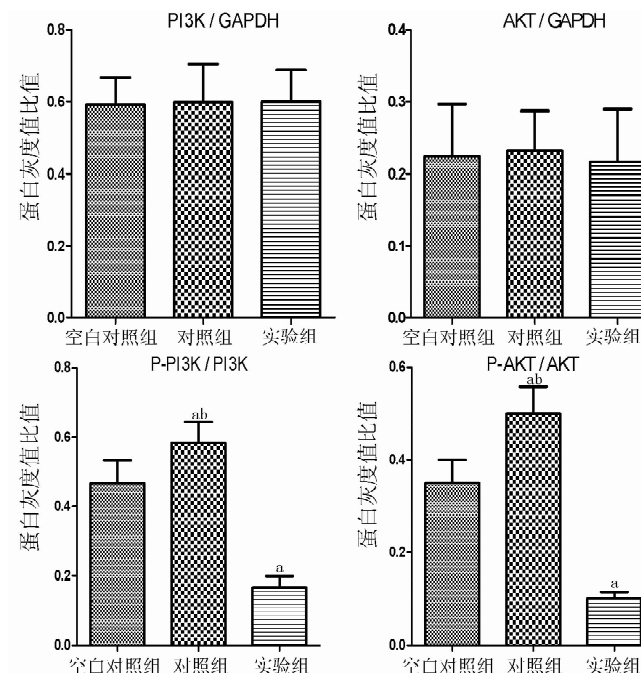
注：PI3K = 磷脂酰肌醇 3 - 激酶，AKT = 丝氨酸/苏氨酸激酶，P-PI3K = 磷酸化磷脂酰肌醇 3 - 激酶，P-AKT = 磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶；与对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与空白对照组比较，^b $P < 0.05$



注：PI3K = 磷脂酰肌醇 3 - 激酶，AKT = 丝氨酸/苏氨酸激酶，P-PI3K = 磷酸化磷脂酰肌醇 3 - 激酶，P-AKT = 磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶

图 2 空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K、AKT、P-PI3K、P-AKT 蛋白电泳结果

Figure 2 Protein electrophoresis results of PI3K, AKT, P-PI3K and P-AKT of endothelial cells of the three groups



注：与空白对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与实验组比较，^b $P < 0.05$

图 3 空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K/GAPDH、AKT/GAPDH、P-PI3K/PI3K、P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值比较的柱状图

Figure 3 Histogram plot for comparison of protein gray value ratio of PI3K/GAPDH, AKT/GAPDH, P-PI3K/PI3K and P-AKT/AKT of endothelial cells among the three groups

3 讨论

心肌缺血和心肌梗死可危及患者生命安全，而心肌缺血后血管新生可有效挽救患者梗死心肌，但目前血管新生的确切机制尚未完全明确。血管新生包括内皮细胞增殖、迁移和分化等过程，且该生理过程由多种信号通路和生长因子参与^[5]。HDL 因具有逆向转运胆固醇等作用而被认为是心血管保护因子^[6]；除此之外，HDL 还具有抗炎、保护内皮细胞、促进血管新生、抗氧化、抗凝等作用^[6-8]。ZHANG 等^[17]研究表明，从健康对照

者血液中提取出来的 HDL 可通过活化 PI3K/AKT 信号通路而活化细胞周期蛋白并诱导内皮细胞增殖、迁移及血管生成。SUMI 等^[18]研究发现,人工合成的 HDL 刺激内皮细胞增殖、分化及血管新生的通路亦是 PI3K/AKT 信号通路。正常 HDL 无疑是恢复 CHD 患者梗死心肌血液供应的强心剂^[19],但越来越多的研究表明,CHD 患者和健康对照者 HDL 的结构和功能均存在差异^[20-23];冠心病患者 HDL 的载脂蛋白 A I 中的酪氨酸易被髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 修饰而使其抗氧化能力减弱;CHD 患者 HDL 的组成成分也与健康对照者 HDL 不同,CHD 患者 HDL 失去了健康对照者 HDL 活化 AKT/内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 的能力^[24]。近期有研究显示,失功能 HDL 促进内皮细胞管状形成的能力减弱^[25]。

本研究结果显示,CHD 患者 HDL 的 RFU 高于体检健康者,提示 CHD 患者 HDL 抗氧化能力减弱;空白对照组和实验组内皮细胞吸光度值高于阳性对照组和对照组,实验组内皮细胞“水渠”宽度比值低于阳性对照组和对照组,提示 CHD 患者 HDL 促进内皮细胞增殖、迁移能力减弱。PI3K 可参与调节细胞内多种生理过程,主要包括控制细胞周期、细胞分化、细胞存活、细胞侵袭及血管生成等,其下游靶分子是 AKT。AKT 被激活后可诱导细胞核反应、促进基因表达,导致细胞增殖与分化。本研究结果显示,空白对照组、对照组和实验组内皮细胞 PI3K/GAPDH 和 AKT/GAPDH 蛋白灰度值比值间无差异,对照组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值高于空白对照组和实验组,实验组内皮细胞 P-PI3K/PI3K 和 P-AKT/AKT 蛋白灰度值比值低于空白对照组,提示 CHD 患者的 HDL 可抑制内皮细胞 PI3K 和 AKT 蛋白磷酸化(激活),进而导致 HDL 促进内皮细胞增殖、迁移能力减弱。

综上所述,CHD 患者 HDL 抗氧化能力减弱,HDL 可能通过抑制 PI3K-AKT 通路而影响内皮细胞增殖和迁移,改善 HDL 抗氧化能力可能是 CHD 患者血管新生疗法的新途径。

作者贡献:常凤军进行实验设计与实施、撰写论文、成文并对文章负责;李红文、李喆、张炜、王旭兰进行实验实施、评估、资料收集整理;王群让、刘新宏、邢坤进行质量控制及审校。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] TOYOTA E, WARLTIER D C, BROCK T, et al. Vascular endothelial growth factor is required for coronary collateral growth in the rat [J]. *Circulation*, 2005, 112 (14): 2108 - 2113.

[2] GOLDBERG H L, GOLDSTEIN J, BORER J S, et al. Functional importance of coronary collateral vessels [J]. *Am J Cardiol*, 1984,

53 (6): 694 - 699.

- [3] KOERSELMAN J, VAN DER GRAAF Y, DE JAEGERE P P, et al. Coronary collaterals: an important and underexposed aspect of coronary artery disease [J]. *Circulation*, 2003, 107 (19): 2507 - 2511.
- [4] SABIA P J, POWERS E R, RAGOSTA M, et al. An association between collateral blood flow and myocardial viability in patients with recent myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 1992, 327 (26): 1825 - 1831.
- [5] BABAEI S, STEWART D J. Overexpression of endothelial NO synthase induces angiogenesis in a co-culture model [J]. *Cadivasc Res*, 2002, 55 (1): 190 - 200.
- [6] BROWN B G, ZHAO X Q. Nicotinic acid, alone and in combinations, for reduction of cardiovascular risk [J]. *Am J Cardiol*, 2008, 101 (8A): 58B - 62B. DOI: 10.1016/j.amjcard.2008.02.039.
- [7] GORDON D J, RIFKIND B M. High-density lipoprotein - the clinical implications of recent studies [J]. *N Engl J Med*, 1989, 321 (19): 1311 - 1316. DOI: 10.1056/NEJM198911093211907.
- [8] TOTH P P, DAVIDSON M H. High-density lipoproteins: marker of cardiovascular risk and therapeutic target [J]. *J Clin Lipidol*, 2010, 4 (5): 359 - 364. DOI: 10.1016/j.jacl.2010.08.002.
- [9] SMYTHIES L E, WHITE C R, MAHESHWARI A, et al. Apolipoprotein A - I mimetic 4F alters the function of human monocyte-derived macrophages [J]. *Am J Physiol*, 2010, 298 (6): C1538 - C1548. DOI: 10.1152/ajpcell.00467.
- [10] BOTS M L, VISSEREN F L, EVANS G W, et al. Torcetrapib and carotid intima-media thickness in mixed dyslipidaemia (RADIANCE 2 study): a randomised, double-blind trial [J]. *Lancet*, 2007, 370 (9582): 153 - 160.
- [11] KASTELEIN J J, VAN LEUVEN S I, BURGESS L, et al. Effect of torcetrapib on carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356 (16): 1620 - 1630.
- [12] NICHOLLS S J, TUZCU E M, BRENNAN D M, et al. Cholesteryl ester transfer protein inhibition, high-density lipoprotein raising, and progression of coronary atherosclerosis: insights from ILLUSTRATE (Investigation of Lipid Level Management Using Coronary Ultrasound to Assess Reduction of Atherosclerosis by CETP Inhibition and HDL Elevation) [J]. *Circulation*, 2008, 118 (24): 2506 - 2514. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.790733.
- [13] NISSEN S E, TARDIF J C, NICHOLLS S J, et al. Effect of torcetrapib on the progression of coronary atherosclerosis [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356 (13): 1304 - 1316.
- [14] SCHWARTZ G G, OLSSON A G, ABT M, et al. dal-OUTCOMES Investigators. Effects of Dalcetrapib in Patients with a Recent Acute Coronary Syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367 (22): 2089 - 2099.
- [15] GORDON D J, PROBSTFIELD J L, GARRISON R J, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies [J]. *Circulation*, 1989, 79(1): 8 - 15.

CYP2C19 基因多态性与高龄缺血性脑卒中患者氯吡格雷抵抗的关系研究

刘闻莺¹, 王卫卫¹, 孙斌¹, 谢丹¹, 李英梅²

【摘要】 目的 探讨 CYP2C19 基因多态性与高龄缺血性脑卒中患者氯吡格雷抵抗的关系。方法 选取 2015 年 6 月—2016 年 6 月上海中医药大学附属普陀医院神经内科和急诊内科收治的高龄缺血性脑卒中患者 85 例, 根据 CYP2C19 基因型分为 A 组 (快代谢型, $n=31$)、B 组 (中间代谢型, $n=42$)、C 组 (慢代谢型, $n=12$)。所有患者口服氯吡格雷和阿司匹林。比较 3 组患者一般资料、血小板聚集抑制率、氯吡格雷抵抗发生率。结果 3 组患者性别、年龄、吸烟率、饮酒率、高血压发生率、糖尿病发生率、高血脂症发生率、他汀类药物使用率、 β -受体阻滞剂使用率、血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素 II 受体拮抗剂 (ACEI/ARB) 使用率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。B、C 组患者血小板聚集抑制率低于 A 组, C 组患者血小板聚集抑制率低于 B 组 ($P<0.05$)。A 组患者氯吡格雷抵抗发生率低于 C 组 ($P<0.05$), 而 A 组与 B 组、B 组与 C 组患者氯吡格雷抵抗发生率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 CYP2C19 基因多态性与高龄缺血性脑卒中患者氯吡格雷抵抗有关, 携带慢代谢型 CYP2C19 基因型的高龄缺血性脑卒中患者氯吡格雷抵抗发生风险较高。

【关键词】 卒中; 老年人, 80 以上; CYP2C19; 氯吡格雷; 血小板

【中图分类号】 R 743 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2017.06.007

刘闻莺, 王卫卫, 孙斌, 等. CYP2C19 基因多态性与高龄缺血性脑卒中患者氯吡格雷抵抗的关系研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25 (6): 28-31. [www.syxnf.net]

1. 200333 上海市普陀区真如镇社区卫生服务中心
2. 200062 上海中医药大学附属普陀医院
通信作者: 李英梅, E-mail: liyingmei@yeah.net

[16] MILLER G J, MILLER N E. Plasma - high - density - lipoprotein concentration and development of ischaemic heart - disease [J]. Lancet, 1975, 1 (7897): 16 - 19.

[17] ZHANG Q, YIN H, LIU P, et al. Essential role of HDL on endothelial progenitor cell proliferation with PI3K/Akt/cyclin D1 as the signal pathway [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2010, 235 (9): 1082 - 1092. DOI: 10.1258/ebm.2010.010060.

[18] SUMI M, SATA M, MIURA S, et al. Reconstituted high - density lipoprotein stimulates differentiation of endothelial progenitor cells and enhances ischemia - induced angiogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27 (4): 813 - 818.

[19] MIURA S, FUJINO M, MATSUO Y, et al. High density lipoprotein - induced angiogenesis requires the activation of Ras/ MAP kinase in human coronary artery endothelial cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23 (5): 802 - 808.

[20] BESLER C, LUSCHER T F, LANDMESSER U. Molecular mechanisms of vascular effects of High - densitylipoprotein: alterations in cardiovascular disease [J]. EMBO Mol Med, 2012, 4 (4): 251 - 268. DOI: 10.1002/emmm.201200224.

[21] KHERA A V, CUCHEL M, DE LA LLERA - MOYA M, et al. Cholesterol efflux capacity, high - density lipoprotein function, and atherosclerosis [J]. N Engl J Med, 2011, 364 (2): 127 - 135. DOI: 10.1056/NEJMoa1001689.

[22] ALWAILI K, BAILEY D, AWAN Z, et al. The HDL proteome in acute coronary syndromes shifts to an inflammatory profile [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1821 (3): 405 - 415. DOI: 10.1016/j.bbali.2011.07.013.

[23] PANENI F, COSENTINO F, MARRARA F, et al. The clinical relevance of dysfunctional HDL in patients with coronary artery disease: a 3 - year follow - up study [J]. Int J Cardiol, 2012, 158 (1): 158 - 160. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.04.032.

[24] BESLER C, HEINRICH K, ROHRER L, et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS - activating pathways in patients with coronary artery disease [J]. J Clin Invest, 2011, 121 (7): 2693 - 708. DOI: 10.1172/JCI42946.

[25] 李芸, 曹德勇. 失功能高密度脂蛋白对冠心病患者血管新生的影响 [J]. 2016, 47 (10): 909 - 913. DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2016.10.007.

(收稿日期: 2017-03-06; 修回日期: 2017-06-20)

(本文编辑: 谢武英)