

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.17.007

文章编号: 1005-8982 (2019) 17-0036-05

脑梗死患者动脉粥样硬化程度与载脂蛋白 A5-1131T/C、553G/T 2 位点的关系 *

郭生龙, 李鹏, 雷琦

(陕西省人民医院 神经内科, 陕西 西安 710068)

摘要: 目的 探讨脑梗死患者的动脉粥样硬化程度和载脂蛋白 A5 (ApoA5) -1131T/C 和 553G/T 2 位点的关系。**方法** 随机选取 2015 年 1 月—2017 年 1 月陕西省人民医院收治的脑梗死患者 120 例进行临床研究。所有患者给予颈动脉血管超声检查、基因 DNA 提取及血脂相关指标检查, 比较 -1131T/C 位点和 553G/T 位点间的颈总动脉内膜-中层厚度 (CCA-IMT) 和颈内动脉内膜-中层厚度 (ICA-IMT) 之间的差异, 比较 -1131T/C 位点和 553G/T 位点不同基因型的总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平, 比较常见单倍型对间的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 水平。**结果** -1131T/C 位点基因型为 CC 的患者与基因型为 TT+TC 的患者 CCA-IMT 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), -1131T/C 位点基因型为 CC 的患者与基因型为 TT+TC 的患者 ICA-IMT 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), CC 的 ICA-IMT 高于 TT+TC; 553G/T 位点基因型 GG 与 TT+GT 基因型的 CCA-IMT 与 ICA-IMT 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); -1131T/C 位点基因型 CC 与 TT+TC 位点 TC、HDL-C、LDL-C 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), -1131T/C 位点基因型 CC 与 TT+TC 位点 TG 水平比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), CC 位点 TG 水平高于 TT+TC 水平; 553G/T 位点基因型 GG 与 TT+GT 位点患者 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), TG-TG、TG-CG、TG-CT、CG-CG 的 CCA-IMT 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 而 ICA-IMT 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), 其中 CG-CG 型最高, TG-CG 型最低。**结论** 脑梗死患者载脂蛋白 A5 基因 -1131T/C 位点与 ICA-IMT、TG 的水平差异相关, 不同单倍型配对的患者 ICA-IMT 水平不同。

关键词: 脑梗死 / 脑梗塞; 动脉粥样硬化; 载脂蛋白类

中图分类号: R743.3

文献标识码: A

Correlation analysis of atherosclerosis and apolipoprotein A5-1131T/C and 553G/T in patients with cerebral infarction*

Sheng-long Guo, Peng Li, Qi Lei

(Department of Neurology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710068, China)

Abstract: Objective To observe the relationship between the degree of atherosclerosis and apolipoprotein A5 (ApoA5) - 1131T/C and 553G/T in patients with cerebral infarction. **Methods** A total of 120 patients with cerebral infarction who were admitted in our hospital from January 2015 to January 2017 were involved in this study. Carotid artery ultrasound, gene DNA extraction and blood lipid related indicators were recorded. The difference of CCA-IMT and ICA-IMT between - 1131T/C and 553G/T loci were observed. The levels of TC, TG, HDL-C and LDL-C of different genotypes at - 1131T/C and 553G/T loci were obtained. CCA-IMT and ICA-IMT levels were compared between common haplotype pairs. **Results** There was no significant difference in CCA-IMT (carotid intima-media thickness) between patients with CC genotype and TT+TC genotype at -1131T/C locus ($P>0.05$). However,

收稿日期: 2019-03-04

* 基金项目: 陕西省社会发展科技攻关项目 (No: 2017SF-289)

ICA-IMT was higher in CC type at -1131T/C locus when compared with that in TT+TC ($P < 0.05$). There was no significant difference in CCA-IMT and ICA-IMT of GG and TT+GT genotype at 553G/T locus ($P > 0.05$). No obvious difference in levels of TC, HDL-C, LDL-C and TG was observed between CC genotype and TT+TC genotype at -1131T/C locus ($P > 0.05$), while the levels of TG at CC locus were higher than that at TT+TC locus ($P < 0.05$). The levels of TC, HDL-C, LDL-C and TG at 553G/T locus were comparably similar between CC genotype and TT+GT genotype at -1131T/C locus ($P > 0.05$). There were no statistical differences in CCA-IMT between TC, HDL-C, LDL-C, TG-CG, TG-CT, and CG-CG ($P > 0.05$), while ICA-IMT was the highest in CG-CG type while the lowest in TG-CG type. **Conclusion** Apolipoprotein A5 gene-1131T/C locus is correlated to levels of ICA-IMT and TG in patients with cerebral infarction, which may interfere the atherosclerosis degree.

Keywords: cerebral infarction; atherosclerosis; apolipoprotein

脑梗死是临床常见的脑血管疾病,是由多种原因导致的局部脑组织区域发生血液供应障碍,引起脑组织缺血、缺氧性病变,从而产生的一系列临床症状,是一种具有极高病死率和致残率的疾病^[1]。动脉硬化被认为是导致脑梗死的重要因素之一,而甘油三酯(Triglycerides, TG)的升高已经证实是导致动脉粥样硬化发生的独立危险因素^[2]。随着研究进一步深入,载脂蛋白 A5 (ApoA5)与动脉硬化被认为具有一定的关系,本研究观察陕西省人民医院脑梗死患者的动脉粥样硬化程度和 ApoA5-1131T/C、553G/T 2 个位点的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般研究

随机选取 2015 年 1 月—2017 年 1 月陕西省人民医院脑梗死患者 120 例进行临床研究。所有患者符合全国第 4 届脑血管病学术会议制定的诊断标准,并经头 CT 和颈部超声确定诊断。其中,男性 77 例,女性 43 例;年龄 58 ~ 79 岁,平均 (72.33 ± 5.14) 岁。研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准^[3]: ①病程为 72 h 内; ②病变部位仅限于颈内动脉供血区域; ③既往无中风病史; ④患者或者患者家属对本研究知情同意。排除标准^[4]: ①合并其他系统、器官、部位炎症病变的患者; ②既往有脑出血或者脑梗死病史的患者; ③合并冠状动脉粥样硬化性心脏病、心房颤动、心肌梗死、肝肾衰竭的患者; ④合并大动脉炎等动脉系统疾病的患者; ⑤来诊前 1 个月内有炎症抑制药物或者免疫抑制剂应用史患者; ⑥有自身免疫系统疾病病史的患者。

1.3 研究方法

1.3.1 颈动脉超声检查 所有患者给予颈动脉血管超

声检查。患者取仰卧位、颈部充分暴露,常规检查患者的双侧颈总动脉、颈动脉分叉部、颈内动脉、颈外动脉。扫查血管壁、血管斑块形成的数量、大小、性质、血管狭窄程度。测量颈总动脉内膜-中层厚度(common carotid artery intima-media thickness, CCA-IMT)和颈内动脉内膜-中膜厚度(internal carotid artery intima-media thickness, ICA-IMT)。

1.3.2 基因 DNA 提取 使用 EDTA-K2 抗凝试管取患者静脉血 1 ml,提取基因组 DNA,置入 -20℃冰箱冷冻保存备用。

1.3.3 聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP) Trizol 购自美国 Gibco BRL 公司, Taq 酶购自大连宝生物公司,模板 RNA 2 μg、M-MLV 逆转录酶购自美国 Promega 公司,引物由上海生工生物工程股份有限公司合成,UVIpro 凝胶图像分析系统购自美国 KODAK 公司。将标本通过 Trizol 方法提取组织总 RNA。PCR 反应条件: ①-1131T/C 位点, 96℃预变性 2 min, 95℃变性 30 s, 56℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 共循环 30 次, 72℃继续延伸 5 min。②553G/T 位点, 95℃预变性 5 min, 95℃变性 30 s, 65℃退火 40 s, 72℃延伸 50 s, 共循环 35 个, 72℃继续延伸 7 min。PCR 扩增产物 10LL 在 -1131T/C 位点加入限制性内切酶 MseI 5 u, 553G/T 位点加入 MspI 5 u, 37℃消化 4 h。PCR 反应产物经过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 60 min, 使用 UVIpro 凝胶图像分析系统进行摄像、扫描、分析。

1.3.4 血脂相关指标检查 取患者清晨空腹静脉血 3 ml,检测其 TG、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、血清总胆固醇(total cholesterol, TC)水平。上述所有指标由本院生化实验室进行检测,仪器为 7060 全自动血生化仪(日本日立公司),严格按照仪器说明书要求进行操作。

1.4 分析指标

观察 -1131T/C 位点和 553G/T 位点间的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 间的差异, 观察 -1131T/C 位点和 553G/T 位点不同基因型的 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平。比较常见单倍型配对间的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 水平。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用 *t* 检验或方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 -1131T/C 基因型脑梗死患者的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 比较

-1131T/C 位点基因型为 CC 的患者与基因型为 TT+TC 的患者 CCA-IMT 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); -1131T/C 位点基因型为 CC 的患者与基因型为 TT+TC 的患者 ICA-IMT 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CC 基因型的 ICA-IMT 高于 TT+TC 基因型。见表 1。

2.2 553G/T 基因型脑梗死患者的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 比较

553G/T 位点基因型为 GG 与 TT+GT 基因型的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 -1131T/C 基因型脑梗死患者的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 比较 (mm, $\bar{x} \pm s$)

基因型	<i>n</i>	CCA-IMT	ICA-IMT
CC	13	1.10 ± 0.27	1.06 ± 0.13
TT+TC	107	1.06 ± 0.33	0.91 ± 0.14
<i>t</i> 值		0.420	3.678
<i>P</i> 值		0.675	0.000

表 2 553G/T 基因型脑梗死患者的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 比较 (mm, $\bar{x} \pm s$)

基因型	<i>n</i>	CCA-IMT	ICA-IMT
GG	102	1.09 ± 0.22	0.95 ± 0.14
TT+GT	18	1.12 ± 0.27	1.01 ± 0.18
<i>t</i> 值		0.515	1.603
<i>P</i> 值		0.608	0.112

2.3 -1131T/C 位点不同基因型患者的血脂水平比较

-1131T/C 位点基因型 CC 与 TT+TC 位点患者 TC、HDL-C、LDL-C 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), -1131T/C 位点基因型 CC 与 TT+TC 位点 TG 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CC 位点 TG 水平高于 TT+TC 水平。见表 3。

2.4 553G/T 位点不同基因型患者的血脂水平比较

553G/T 位点基因型 GG 与 TT+GT 位点患者 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

2.5 常见单倍型配对间的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 水平比较

TG-TG、TG-CG、TG-CT、CG-CG 的 CCA-IMT 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 ICA-IMT 水平比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中 CG-CG 型最高, TG-CG 型最低。见表 5。

表 3 -1131T/C 位点不同基因型患者的血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

基因型	<i>n</i>	TC	TG	HDL-C	LDL-C
CC	13	4.15 ± 0.22	2.20 ± 0.19	1.07 ± 0.18	2.25 ± 0.15
TT+TC	107	4.20 ± 0.18	1.77 ± 0.23	1.04 ± 0.13	2.27 ± 0.12
<i>t</i> 值		0.923	6.471	0.751	0.552
<i>P</i> 值		0.358	0.000	0.454	0.582

表 4 553G/T 位点不同基因型患者的血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

基因型	<i>n</i>	TC	TG	HDL-C	LDL-C
GG	102	4.13 ± 0.15	1.71 ± 0.25	1.15 ± 0.06	2.47 ± 0.18
TT+GT	18	4.20 ± 0.20	1.59 ± 0.62	1.12 ± 0.12	2.42 ± 0.16
<i>t</i> 值		1.731	1.432	1.634	1.103
<i>P</i> 值		0.086	0.158	0.105	0.272

表 5 常见单倍型配对间的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 水平比较 (mm, $\bar{x} \pm s$)

单倍型配对	<i>n</i>	CCA-IMT	ICA-IMT
TG-TG	52	1.03 ± 0.18	0.99 ± 0.13
TG-CG	41	1.02 ± 0.04	0.96 ± 0.18
TG-CT	10	1.04 ± 0.10	1.07 ± 0.10
CG-CG	17	1.08 ± 0.08	1.14 ± 0.06
<i>F</i> 值		1.106	3.447
<i>P</i> 值		0.092	0.018

3 讨论

载脂蛋白是血浆脂蛋白中的蛋白质部分,其作用是遇血脂结合并运输到机体各个组织中进行代谢,以及进行蛋白质利用^[5]。大量研究发现载脂蛋白基因发生突变,形成不同等位基因多态性,而不同表型的载脂蛋白对血脂的代谢和利用会发生不同影响,进而对机体产生影响,对患者高脂血症、动脉粥样硬化、心脑血管等疾病的发生和发展起到一定作用。目前研究认为,载脂蛋白具有促进脂类运输、调节酶活性、同细胞表面结合等作用,是一组在功能上非常活跃的血浆蛋白^[6-7]。

载脂蛋白主要分为 A、B、C、D、E 5 个种类,在肝脏和小肠中合成。其中载脂蛋白在分子量、免疫性和代谢上均呈现出多态性,在 HDL 中含量最多,是构成血浆 HDL 的重要组成部分,具有清除组织脂质和抗动脉粥样硬化的作用^[8-9]。

ApoA5 是载脂蛋白超家族的新成员,是在 2001 年由 2 个不同的研究小组先后于载脂蛋白 A1、载脂蛋白 C3、载脂蛋白 A4 的基因簇中所鉴定出来,而且研究发现人类的载脂蛋白 A5 的基因与小鼠的载脂蛋白 A5 基因的同源性能够达到 71%,但是与人类载脂蛋白 A4 的基因同源性仅为 27%^[10]。在后续的研究中发现,尽管其浓度较低,但是对降低血浆 TG 具有重要意义,同时研究发现与肥胖和代谢综合征的发生、发展具有密切关系^[11]。人类的 ApoA5 是由 343 个氨基酸残基所组成,结构中具有多个双性的 A-螺旋结构,同时也包含有 B 折叠和 B 转角结构^[12]。A-螺旋结构是 ApoA5 的活性中心,在疏水性和长度上出现非常大的差异性,使用双抗夹心酶联免疫吸附试验检测后发现 ApoA5 在极 LDL、HDL、乳糜微粒中均有存在,因此被认为在调节富含 TG 脂蛋白代谢过程中具有重要作用,并认为可能存在一个机制,使其循环再利用,从而弥补 ApoA5 在外周循环中出现的含量不足的问题^[13]。

-1131T/C 位点和 553G/T 位点被认识是影响 ICA-IMT 厚度变化的基因型,这一机制可能与 -1131CC 基因型具有诱导颈内动脉内膜变厚的作用,553GG 基因对 CCA-IMT 具有一定影响,这一机制可能与患者基因表达蛋白质不同有所关联。-1131CC 基因型所表达的蛋白质具有血脂在颈内动脉的内膜中沉积的作用,而 553TT+GT 基因型所表达出的蛋白具有促进血脂在颈总动脉沉积的作用^[14-15]。如果能确定不同基因在人

体血脂沉积过程中起到的作用,也就为动脉粥样硬化的基因治疗提供了新的思路。

从本研究来看,-1131T/C 位点基因型中 CC 与 TT+TC 基因型的 CCA-IMT 无差异,-1131T/C 位点基因型中 CC 与 TT+TC 基因型的 ICA-IMT 有差异,CC 的 ICA-IMT 高于 TT+TC,说明 -1131CC 具有促使 ICA-IMT 增厚的作用,该作用可能通过诱导血脂在颈内动脉内膜中沉积的作用。而 553G/T 位点基因型中 GG 与 TT+GT 基因型的 CCA-IMT 与 ICA-IMT 无差异,说明 553G/T 位点基因型对 CCA-IMT、ICA-IMT 的厚度增加并无明显作用。-1131T/C 位点基因型 CC 与 TT+TC 位点 TC、HDL-C、LDL-C 水平无差异,但 CC 位点 TG 水平高于 TT+TC 水平有差异,说明 -1131T/C 位点基因型 CC 对 TC、HDL-C、LDL-C 水平无影响,但能够影响 TG 水平的升高,这也与 -1131CC 具有促使 ICA-IMT 增厚的作用相符合。而 553G/T 位点基因型 GG 与 TT+GT 位点患者 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平无差异,说明 553G/T 位点基因型未改变 CCA-IMT、ICA-IMT 的厚度的作用。在常见单倍型配对间的 CCA-IMT 和 ICA-IMT 水平影响中,TG-TG、TG-CG、TG-CT、CG-CG 的 CCA-IMT 无差异,而 ICA-IMT 水平有差异,其中 CG-CG 型最高,TG-CG 型最低。说明不同的单倍型配对会影响 ICA-IMT 厚度,这也成为促使动脉粥样硬化发展的重要因素。

综上所述,载脂蛋白 A5 基因 -1131T/C 和 553G/T 两个位点与脑梗死患者的动脉硬化程度联系紧密,能够促使血脂在颈动脉和颈内动脉中发生沉积,从而诱导动脉硬化发生、发展,因此对基因的研究有可能为动脉硬化的预防与治疗提供新的思路,值得进一步深入研究,而 ApoA5 作为新发现的载脂蛋白超家族的成员,仍然有大量的研究需要进行,以便观察其在脑梗死患者动脉粥样硬化发生、发展过程中的作用。

参考文献:

- [1] SONG T J, CHANG Y, CHUN M Y, et al. High dietary glycemic load is associated with poor functional outcome in patients with acute cerebral infarction[J]. *J Clin Neurol*, 2018, 14(2): 165-173.
- [2] ADACHI K, SADATO A, HAYAKAWA M, et al. Acute carotid artery stenting in symptomatic high-grade cervical carotid artery stenosis[J]. *Neurosurg Rev*, 2017, 40(1): 45-51.
- [3] HUANG Y, DIDONATO J A, LEVISON B S, et al. An abundant dysfunctional apolipoprotein A1 in human atheroma[J]. *Nat Med*, 2014, 20(2): 193-203.
- [4] 张薇,刘丹,张广炜,等.血清抗 Apo A-1 Ig G、MMP-9 与急性

- 脑梗死患者颈动脉粥样硬化的相关分析 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(2): 141-144.
- [5] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(4): 246-257.
- [6] 姚汉云, 文芳, 董新宇. 急性脑梗死患者血清基质金属蛋白酶-9 与颈动脉斑块及血管内皮功能的相关性 [J]. 神经损伤与功能重建, 2016, 11(1): 18-21.
- [7] XU R, YIN X, XU W, et al. Assessment of carotid plaque neovascularization by contrast-enhanced ultrasound and high sensitivity C-reactive protein test in patients with acute cerebral infarction: a comparative study[J]. *Neurol Sci*, 2016, 37(7): 1107-1112.
- [8] VUILLEUMIER N, MONTECUCCO F, SPINELLA G, et al. Serum levels of anti-apolipoprotein A-1 auto-antibodies and myeloperoxidase as predictors of major adverse cardiovascular events after carotid end-arterectomy[J]. *Thromb Haemost*, 2013, 109(4): 706-715.
- [9] 高华, 李沛珊, 裴静, 等. 基质金属蛋白酶 9 和胱抑素 C 水平与急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块稳定性的关系研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2018, 26(1): 34-37.
- [10] USMANOVA Z A, ROSYKHODZHAEVA G A. Interrelationship of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor-1 and blood lipid profile of patients with carotid atherosclerosis[J]. *Kardiologiya*, 2015, 55(9): 57-58.
- [11] TAN C, LIU Y, LI W, et al. Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentrations with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 232(1): 199-203.
- [12] 胡晓辉, 孟皓波, 张世维. 阿托伐他汀对急性冠脉综合征患者血清 MMP-9 及 IL-18 的影响 [J]. 武警医学, 2014, 25(9): 905-907.
- [13] 王娟. 40 例青年脑梗死危险因素及临床特点分析 [J]. 医学信息, 2015, 28(8): 336.
- [14] 张江. 脂蛋白 a 与脑梗死的相关性研究 [J]. 中西医结合心血管病杂志, 2016, 4(3): 181-185.
- [15] 张振业. 脂联素和 hs-CRP 在冠心病患者病情评估中的临床值 [J]. 中国现代医生, 2013, 51(31): 23-24.

(张西倩 编辑)