

·临床研究·

[文章编号] 1007-3949(2002)10-05-0434-03

早发冠心病患者颈总动脉内膜—中层厚度 与载脂蛋白 E 基因型的关系

陈忠, 黄峻, 朱铁兵, 杨志健, 马根山, 王连生, 曹克将

(南京医科大学第一附属医院心脏科, 江苏省南京市 210029)

[关键词] 冠心病, 早发; 颈动脉; 内膜—中层厚度; 载脂蛋白; 基因

[摘要] 探讨早发冠心病患者颈总动脉内膜—中层厚度与载脂蛋白 E 基因型关系。用超声检测 85 例早发冠心病患者颈总动脉内膜—中层厚度, 同时运用聚合酶链反应及限制性片段长度多态性方法分析其载脂蛋白 E 基因型及等位基因频率分布。结果发现, 病例组载脂蛋白 E 基因型共有 5 种, 主要基因型按频率高低为载脂蛋白 E3/3> E3/4> E2/3, 载脂蛋白 E2/4 和 E4/4 为少见基因型; 载脂蛋白 E 等位基因频率为 $\epsilon_3 > \epsilon_4 > \epsilon_2$ 。载脂蛋白 E3/4 基因型组总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇高于载脂蛋白 E2/3 组, 高密度脂蛋白胆固醇低于载脂蛋白 E2/3 组 (P 均 < 0.05); 载脂蛋白 E3/4 基因型组内膜—中层厚度高于载脂蛋白 E2/3 组 ($P < 0.05$)。内膜—中层厚度与总胆固醇 ($r = 0.401, P < 0.01$) 和低密度脂蛋白胆固醇 ($r = 0.376, P < 0.01$) 呈正相关。以上提示, 早发冠心病患者颈总动脉内膜—中层厚度与载脂蛋白 E 基因型密切相关, 载脂蛋白 E 基因型通过调节脂质代谢影响内膜—中层厚度。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

Relationship between Carotid Artery Intima Media Thickness and Apolipoprotein E Genotypes among Patients with Premature Coronary Heart Disease

CHEN Zhong, HUANG Jun, ZHU Tie-Bing, YANG Zhi-Jian, MA Gen-Shan, WANG Lian-Sheng, and CAO Ke-Jiang

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

[MeSH] Coronary Heart Disease, Premature; Carotid Artery; Intima Media Thickness; Apolipoproteins; Genes

[ABSTRACT] **Aim** To explore the relationship between carotid artery intima media thickness (IMT) and apolipoprotein E (apoE) genotypes among patients with premature coronary heart disease (CHD). **Methods** Eighty-five patients with documented premature CHD were recruited to participate in this study. The carotid artery IMT was checked by ultrasound imaging and apoE genotype was classified with the method of polymerase chain reaction-restriction length peptide. The relationship between carotid artery IMT and lipid parameters and apoE genotype were discussed. **Results** There were five kinds of apoE genotypes. Three main genotype according to the frequency were apoE3/3> apoE3/4> apoE2/3 and apoE2/4, and apoE4/4 were rare genotype. The allele of apoE also had different frequencies, $\epsilon_3 > \epsilon_4 > \epsilon_2$. Levels of serum TC and LDLC were higher in patients with apoE3/4 genotype than those with apoE2/3 genotype, in verse to HDLC ($P < 0.05$). There were higher values of IMT in apoE3/4 group than that in apoE2/3. There was positive correlation between IMT and TC ($r = 0.401, P < 0.01$) and LDLC ($r = 0.376, P < 0.01$). **Conclusions** ApoE genotype influence carotid artery IMT at least partly through its lipid effect.

冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是常见的心血管疾病, 如果冠心病发生时的年龄较轻 (男 < 55 岁, 女 < 65 岁), 称为早发冠心病^[1]。冠心病患者动脉粥样硬化常累及颈动脉, 颈动脉内膜—中层厚度 (intima media thickness, IMT) 的增加是动脉粥样硬化的早期特征。载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 基因型影响动脉粥样硬化进程, 但有关早发冠心病患者颈动脉 IMT 与载脂蛋白 E 基因型关系的研究甚

少。本文对经冠状动脉造影确诊的 85 例早发冠心病患者 (男 < 55 岁, 女 < 60 岁) 进行研究, 旨在探讨早发冠心病患者颈总动脉 IMT 与载脂蛋白 E 基因型的关系, 为早发冠心病一、二级预防提供指导。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择 2000 年 9 月至 2002 年 2 月在南京医科大学第一附属医院心脏科经冠状动脉造影确诊的早发冠心病患者 85 例, 其中男 67 例, 女 18 例, 年龄 29~59 岁, 男 < 55 岁, 女 < 60 岁, 平均年龄 48.1 岁。包括稳定型心绞痛 26 例、不稳定型心绞痛 42 例和心

[收稿日期] 2002-02-04 [修回日期] 2002-08-07

[作者简介] 陈忠, 男, 1971 年出生, 江苏宿迁人, 医学博士, 主要研究方向为冠心病临床和介入治疗。黄峻, 男, 1945 年出生, 江苏泰州人, 医学硕士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为冠心病介入治疗、心律失常、心力衰竭的诊治和冠心病支架术后再狭窄机制研究。朱铁兵, 男, 1966 年出生, 江苏淮安人, 医学博士, 副主任医师, 主要研究方向为冠心病临床和介入治疗。

肌梗死 17 例。

1.2 造影和超声检查

采用 Judkins 法进行冠状动脉造影,左冠状动脉主干、前降支、回旋支和右冠状动脉中若有一支血管直径减少 $\geq 50\%$ 则定为有意义病变。研究对象在住院期间应用惠普 5500 多谱勒显像仪,探头频率 4.0 ~ 10.0 MHz(最小分辨率 0.1 mm),测定左右颈总动脉内膜一中层厚度及有无斑块情况。用录像带同步记录超声检测图像,统一分析检测结果。在颈总动脉近分叉处远端 10 mm 处,测定远离皮肤侧的管腔内膜界面与中层外膜界面之间的距离,即动脉后壁纵向超声显像表现为由相对较低回声分隔的两条平行亮线之间的距离为 IMT。

1.3 血脂测定和载脂蛋白 E 基因型判定

收集患者空腹 12 h 静脉血,血清进行血脂分析,总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)用酶法测定,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)按照 Friedewald 公式计算。血脂测定质量控制符合“血脂异常防治建议”中“血脂测定技术及其标准化的建议”规定的技术要求^[1]。同时提取白细胞, -70 °C 保存,集中采用酚-氯仿提取 DNA,聚合酶链反应-限制性片段长度多肽性分析,聚丙烯酰胺电泳,载脂蛋白 E 基因型判定参照文献[2],载脂蛋白 E2/3 电泳片段为 91 bp、83 bp 和 48 bp;载脂蛋白 E3/3 电泳片段为 91 bp 和 48 bp;载脂蛋白 E3/4 电泳片段为 91 bp、72 bp 和 48 bp;载脂蛋白 E2/4 电泳片段为 91 bp、83 bp、72 bp 和 48 bp;载脂蛋白 E4/4 电泳片段为 72 bp 和 48 bp。

1.4 统计学处理

资料分析采用 SPSS 软件。计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 t 检验计算 P 值, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 早发冠心病患者载脂蛋白 E 基因型及其等位基因的频率分布

早发冠心病患者中,载脂蛋白 E3/3 基因型最常见,为 57.6%;载脂蛋白 E3/4 和载脂蛋白 E2/3 基因型次之,分别为 24.7% 和 14.1%;载脂蛋白 E2/4 和载脂蛋白 E4/4 均属少见基因型,总计出现 3 例,在以下血脂分析中未予统计;未见载脂蛋白 E2/2 基因型。载脂蛋白 E 等位基因频率表现为 $\epsilon_3 > \epsilon_4 > \epsilon_2$,

见表 1(Table 1)。

表 1. 早发冠心病患者载脂蛋白 E 基因型及其等位基因的频率分布。

Table 1. The frequency of Apolipoprotein E genotypes and its alleles among patients with premature CHD.

	Case	Percentage(%)
Genotypes		
Apolipoprotein E2/3	12	14.1
Apolipoprotein E3/3	49	57.6
Apolipoprotein E2/4	1	1.2
Apolipoprotein E3/4	21	24.7
Apolipoprotein E4/4	2	2.4
Apolipoprotein E2/2	0	0
Alleles		
ϵ_2	-	7.6
ϵ_3	-	77.1
ϵ_4	-	15.3

2.2 不同基因型早发冠心病患者之间血脂的变化

载脂蛋白 E3/4 基因型组 TC 和 LDLC 高于对应载脂蛋白 E2/3 组, HDLC 低于对应载脂蛋白 E2/3 基因型组 ($P < 0.05$)。不同载脂蛋白 E 基因型组之间 TG 没有明显差异,见表 2(Table 2)。

表 2. 不同基因型早发冠心病患者之间血脂的变化。

Table 2. The lipids parameters among patients with premature CHD of different apolipoprotein E genotypes($\bar{x} \pm s$).

Index	Apo E2/3	Apo E3/3	Apo E3/4
TC (mmol/L)	4.57 \pm 1.09	4.71 \pm 1.19	5.25 \pm 1.26 ^a
LDLC (mmol/L)	2.54 \pm 1.02	2.70 \pm 1.06	3.23 \pm 1.11 ^a
TG (mmol/L)	2.11 \pm 0.94	2.14 \pm 1.09	2.33 \pm 1.10
HDLC (mmol/L)	1.25 \pm 0.26	1.21 \pm 0.26	1.12 \pm 0.22 ^a

a: $P < 0.05$, compared with Apo E2/3 group.

2.3 不同基因型早发冠心病患者之间内膜一中层厚度的比较

在载脂蛋白 E2/3、载脂蛋白 E3/3 和载脂蛋白 E3/4 3 种主要基因型患者中,平均 IMT 分别为 0.71 \pm 0.08 mm、0.82 \pm 0.11 mm 和 0.87 \pm 0.13 mm,载脂蛋白 E3/4 基因型组平均 IMT 高于载脂蛋白 E2/3 基因型组平均 IMT ($P < 0.05$)。

2.4 早发冠心病患者内膜一中层厚度与不同血脂参数的相关性分析

早发冠心病患者 IMT 与主要血脂参数 TC、TG、LDLC 及 HDLC 的两因素相关分析表明, IMT 与 TC($r = 0.401, P < 0.01$) 和 LDLC($r = 0.376, P < 0.01$) 呈正相关, 与其他血脂参数无明显相关性。

3 讨论

超声定量检测颈动脉内膜—中层厚度(IMT)简便、准确, 具有可重复性, 并且这种方法适合所有人群, 近年来被广泛应用于心血管疾病的临床研究。研究表明颈动脉 IMT 与心脑血管事件、预计的心血管危险以及治疗过程中危险度的变化相关联。颈动脉粥样硬化及斑块的进行性发展或斑块的性质能预测心脑血管疾病患者是否处于高危状态^[3]。超声检测颈动脉粥样硬化可以作为预测年轻的胸痛患者有无严重冠状动脉病变的指标^[4]。脂质代谢紊乱尤其是胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇异常升高与动脉粥样硬化及冠心病的关系已经明确。载脂蛋白 E 在脂质代谢中的重要作用已得到确认。

编码载脂蛋白 E 的基因型有 6 种: 载脂蛋白 E2/2、载脂蛋白 E2/3、载脂蛋白 E2/4、载脂蛋白 E3/3、载脂蛋白 E3/4 和载脂蛋白 E4/4; 3 种主要等位基因为载脂蛋白 $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 和 $\epsilon 4$ 。血浆胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇浓度部分由载脂蛋白 E 基因多态性决定: 与 $\epsilon 3$ 相比, $\epsilon 2$ 降低胆固醇、升高 HDLC; $\epsilon 4$ 则升高 TC 和 LDLC。载脂蛋白 E 基因型频率在人群中的分布具有共同的特征: 载脂蛋白 E3/3 最高, 超过 50%; 载脂蛋白 E2/2、载脂蛋白 E4/4 和载脂蛋白 E2/4 基因型频率最低, 三者总和不超过 8%。 $\epsilon 3$ 等位基因频率通常大于 70%。本研究中, 早发冠心病患者载脂蛋白 E 基因型及其等位基因频率符合这一特征。

本研究中, 载脂蛋白 E3/4 基因型组患者 TC 和 LDLC 浓度高于载脂蛋白 E2/3 组, HDLC 低于载脂蛋白 E2/3 组。这种载脂蛋白 E 基因型与血脂水平之间的关系与 Diego 等^[5] 和 Srinivasan 等^[6] 的报道一致。Hixson^[7] 对死于创伤和非医疗情况的 720 例 15~34 岁年轻人进行尸体解剖, 结果表明胸主动脉粥样硬化在载脂蛋白 E3/4 基因型组最严重, 载脂蛋白 E3/3 型组程度居中, 而载脂蛋白 E2/3 型组程度最轻。这提示载脂蛋白 E 基因在早期即对动脉粥样

硬化的进程产生影响。Ruth 等^[8] 研究表明, 与载脂蛋白 E3/3 基因型携带者比较, 载脂蛋白 E2/3 型女性患缺血性心脏病的危险性降低, 而载脂蛋白 E3/4 和载脂蛋白 E4/4 基因型男性特别易患缺血性心脏病。本研究中, 观察到早发冠心病患者载脂蛋白 E2/3 基因型组 HDLC 水平高于载脂蛋白 E3/4 基因型组, 进一步支持 Hixson^[7] 和 Ruth 等^[8] 的研究结论。

本研究中, 早发冠心病患者载脂蛋白 E3/4 基因型组平均 IMT 高于载脂蛋白 E3/3 和载脂蛋白 E2/3 基因型组。这可能与载脂蛋白 E3/4 基因型组 TC 和 LDLC 浓度明显升高, 而 HDLC 水平降低对颈总动脉 IMT 的影响有关。双变量分析 IMT 与 TC 及 LDLC 呈正相关, 这进一步支持载脂蛋白 E 基因型对 IMT 的影响作用。

本研究表明, 早发冠心病患者载脂蛋白 E 基因型对 IMT 有一定的影响, 这种作用与载脂蛋白 E 基因的血脂调节作用有关。本研究的不足之处是样本太小, 在扩大样本的基础上, 开展载脂蛋白 E 基因型与颈总动脉 IMT 及心脑血管疾病预后关系的前瞻性研究, 对冠心病高危人群进行早期筛选和积极治疗意义极大。

[参考文献]

- [1] 中华心血管病杂志编辑委员会血脂异常防治对策专题组. 血脂异常防治建议. 中华心血管病杂志, 1997, 25(3): 169-175
- [2] Richard P, David F, Visvikis S, et al. Common and rare genotypes of human apolipoprotein E determined by specific restriction profiles of polymerase chain reaction amplified DNA. *Clin Chem*, 1994, 40: 24-29
- [3] Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke, the atherosclerosis risk in community (ARIC) study. *Am J Epidemiol*, 2000, 151(5): 478-487
- [4] Kallikazaros I, Isioufis C. Carotid artery disease as a marker for the presence of severe coronary artery disease in patients evaluated for chest pain. *Stroke*, 1999, 30(5): 1002-1007
- [5] Diego GC, Juan JA, Entrala A, et al. Apolipoprotein E polymorphism in men and women from a Spanish population: allele frequencies and influence on plasma lipids and apolipoproteins. *Atherosclerosis*, 1999, 147: 167-176
- [6] Srinivasan SR, Christian, Ehnholm, et al. Influence of apolipoprotein E polymorphism on serum lipids and lipoprotein changes from childhood to adulthood. The bogalusa heart study. *Atherosclerosis*, 1999, 143: 435-443
- [7] Hixson JE. Apolipoprotein E polymorphism affect atherosclerosis in young males; pathobiological determinants of atherosclerosis in youth (PDAY) research group. *Arterioscler Thromb*, 1991, 11: 1237-244
- [8] Ruth FS, Anne TH, Steffensen R, et al. Apolipoprotein E genotype: epsilon32 women are protected while epsilon43 and epsilon44 men are susceptible to ischaemic heart disease. The copenhagen city study. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 35: 1192-199

(此文编辑 朱雯霞)