

## 慢性心力衰竭时载脂蛋白 E 基因多态性

刘颖望<sup>1</sup>, 赵水平<sup>1</sup>, 聂赛<sup>1</sup>, 周安<sup>2</sup>

(中南大学湘雅二医院 1 心内科, 2 肾内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 载脂蛋白 E; 基因多态性; 慢性心力衰竭

[摘要] 目的 探讨载脂蛋白 E 基因多态性对慢性心力衰竭的影响。方法 有高血压和冠心病的患者 247 例, 根据临床症状、左室舒张末期内径指数、左室射血分数及左室内径缩短率分为心功能正常组 140 例和慢性收缩性心力衰竭组 107 例, 用聚合酶链反应限制片段多态性方法测定所有患者的载脂蛋白 E 基因型。结果 慢性收缩性心力衰竭患者  $\epsilon 4$  等位基因频率及载脂蛋白 E  $\epsilon 4$  携带者显著高于心功能正常组 ( $P < 0.05$ )。载脂蛋白 E  $\epsilon 4$  携带者是高血压和冠心病患者发生慢性心力衰竭的独立危险因素 ( $P < 0.01$ )。结论 载脂蛋白 E  $\epsilon 4$  等位基因可能是高血压和冠心病患者发生慢性心力衰竭的一个重要遗传危险因素。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Apolipoprotein E Gene Polymorphism Study on Chronic Heart Failure

LIU Ying-Wang<sup>1</sup>, ZHAO Shu-Ping<sup>1</sup>, NIE Sai<sup>1</sup>, and ZHOU An<sup>2</sup>

(1 Department of Cardiology, 2 Department of Nephrology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] Apolipoprotein E; Gene Polymorphism; Chronic Heart Failure

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of apolipoprotein E (Apo E) polymorphism on chronic heart failure

**Methods** Based on clinical symptom, left ventricular end diastolic diameter index (LVEDDI), left ventricular ejection fraction (LVEF) and fraction shortening (FS), a total of 247 patients suffering from hypertension and coronary heart disease were divided to two groups: 140 patients with normal heart function and 107 patients with chronic systolic heart dysfunction. Polymerase chain reaction-restricted fragments length polymorphism was used to determine the Apo E genotypes for all patients.

**Results** The  $\epsilon 4$  allele frequency and the Apo E  $\epsilon 4$  carriers were significantly higher in the heart dysfunction patients group than those in the normal heart function group ( $P < 0.05$ ). The Apo E  $\epsilon 4$  was an independent risk factor for chronic heart dysfunction in the population of hypertension and coronary heart disease ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion** The Apo E  $\epsilon 4$  may represent an important genetic risk factor for the development of chronic heart failure in the population of hypertension and coronary heart disease.

慢性心力衰竭是各种心血管疾病终末阶段的共同表现, 发病率逐年显著增加, 成为 21 世纪最重要的公共卫生问题, 其中高血压和冠心病是导致慢性心力衰竭的最常见原因<sup>[1]</sup>。但是, 引起慢性心力衰竭从轻微症状发生发展至严重失代偿状态的多种危险因素, 危险因素之间的相互作用, 以及个体间的变异性仍未明确。目前有许多关于心脏疾病基因背景的研究, 提示慢性心力衰竭的进展可能受多种基因协同或独立影响<sup>[2]</sup>。载脂蛋白 E 有 3 种主要的异构体 E2、E3 和 E4, 分别由 19 号染色体上的一个基因位点的 3 个等位基因  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$  和  $\epsilon 4$  编码。流行

病学资料表明载脂蛋白 E 基因多态性与脂质代谢紊乱、动脉粥样硬化、冠心病和高血压病的发生密切相关<sup>[3-5]</sup>。基于载脂蛋白 E 基因多态性具有多种重要的临床相关性, 本研究旨在探讨载脂蛋白 E 基因多态性是否影响慢性心力衰竭的进展。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

选择 247 例中南大学湘雅二医院心血管内科住院患者, 其中冠心病 76 例、高血压病 67 例、冠心病合并高血压 104 例。根据 2007 年中国慢性心力衰竭诊断治疗指南<sup>[6]</sup>, 将患者分为两组: 慢性收缩性心力衰竭组 107 例, 有慢性心力衰竭临床症状, 左室舒张末期内径指数 (LVEDDI)  $\geq 30 \text{ mm/m}^2$ , 左室射血分数 (LVEF)  $\leq 40\%$  和左室内径缩短率 (FS)  $\leq 28\%$ ; 心功能正常组 140 例, 无上述心功能指标损害表现。

[收稿日期] 2010-01-22 [修回日期] 2010-03-31

[作者简介] 刘颖望, 硕士, 主治医师, 研究方向为心血管疾病及血脂学, E-mail 为 ywliu88@hotmail.com。赵水平, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为心血管疾病及血脂学。聂赛, 主管技师, 研究方向为心血管疾病及血脂学。周安, 硕士, 主治医师, 研究方向为动脉硬化及肾脏疾病。

## 1.2 载脂蛋白 E 基因型测定

采用聚合酶链反应限制片段多态性测定载脂蛋白 E 基因型。首先从外周血白细胞中进行 DNA 抽提, 然后进行聚合酶链反应 (PCR) 扩增。引物序列: 上游引物 5'-TAA GCT TGG CAC GGC TGT CAA GGA-3', 下游引物 5'-AGA ATT CGC CCC GGC CTG GTA CAC-3'。扩增条件: 94℃预变性 3 min, 94℃变性 50 s, 58℃退火 50 s, 72℃延伸 60 s, 循环 32 次, 最后 72℃再延伸 10 min。PCR 产物经 *Cfo*Ⅳ限制性内切酶 37℃消化 6 h, 消化产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 最后用溴乙锭染色 30 s, 紫外透射灯下观察结果。

## 1.3 超声心动图检查

所有患者均在中南大学湘雅二医院超声科接受心脏超声检查, 测量左心室舒张末期内径 (LVEDD)、LVEF 和 FS。为了减小个体大小差异造成的误差, 采用体表面积进行校正, 体表面积 (BSA) ( $\text{m}^2$ ) =  $0.0061 \times \text{身高}(\text{cm}) + 0.0128 \times \text{体重}(\text{kg}) - 0.1529$ , LVEDDI = LVEDD / BSA。

## 1.4 统计学方法

计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 分类资料的组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用非条件 Logistic 回归模型筛选慢性心力衰竭危险因素并判断其作用的大小。

# 2 结果

## 2.1 一般情况比较

两组在年龄、性别构成、体质指数 (BMI) 上无显

著性差异。与心功能正常组相比, 慢性收缩性心力衰竭组 EF 和 FS 显著降低, LVEDDI 显著增高 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

表 1 一般情况及心脏超声指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指 标	心功能正常组 ( <i>n</i> = 140)	慢性收缩性心力 衰竭组 ( <i>n</i> = 107)
年龄 (岁)	62.56 ± 9.67	64.95 ± 9.74
男/女 (例)	82/58	70/37
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	22.77 ± 3.21	22.56 ± 3.29
LVEDDI ( $\text{mm}/\text{m}^2$ )	26.85 ± 3.12	33.99 ± 6.18 <sup>a</sup>
EF	65.72% ± 6.28%	38.03% ± 7.56% <sup>a</sup>
FS	35.77% ± 5.21%	21.10% ± 4.78% <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与心功能正常组比较。

## 2.2 载脂蛋白 E 基因型及等位基因频率比较

ε4 等位基因频率在慢性收缩性心力衰竭组中分布显著高于心功能正常组 ( $P < 0.05$ ; 表 2)。进一步将研究对象分为载脂蛋白 E ε2 携带者 ε2/ε2 (ε2/ε2+ ε2/ε3)、ε3/ε3 携带者和 ε4 携带者 ε4/ε4 (ε3/ε4+ ε4/ε4), 由于 ε2/ε4 作用为中性, 所以慢性收缩性心力衰竭组有 7 例、心功能正常组有 2 例排除在外。与心功能正常组比较, 慢性收缩性心力衰竭组载脂蛋白 E ε4/ε4 携带者显著增多 ( $P < 0.01$ ; 表 3)。行分层卡方检验显示, 消除高血压和冠心病的混杂影响后, 载脂蛋白 E ε4 携带仍与心力衰竭发生有关 (表 4)。

表 2 载脂蛋白 E 基因型及等位基因频率分布

分 组	<i>n</i>	基因型 (例)						等位基因频率		
		ε2/ε2	ε2/ε3	ε3/ε3	ε3/ε4	ε4/ε4	ε2/ε4	ε2	ε3	ε4
心功能正常组	140	0 (0%)	25 (17.9%)	97 (69.3%)	16 (11.4%)	0 (0%)	2 (1.4%)	9.6%	83.9%	6.4%
慢性收缩性心力衰竭组	107	0 (0%)	11 (10.3%)	62 (57.9%)	26 (24.3%)	1 (0.9%)	7 (6.5%)	8.4%	75.2%	16.4% <sup>a</sup>
总计	247	0 (0%)	36 (14.6%)	159 (64.4%)	42 (17.0%)	1 (0.4%)	9 (3.6%)	9.1%	80.2%	10.7%

a 为  $P < 0.05$  与心功能正常组比较。

表 3 载脂蛋白 E 基因型分布 (例)

分 组	<i>n</i>	ε2/X	ε3/ε3	ε4/X
心功能正常组	138	25 (18.1%)	97 (70.3%)	16 (11.6%)
慢性收缩性心力衰竭组	100	11 (11.0%)	62 (62.0%)	27 (27.0%) <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与心功能正常组比较。

## 2.3 慢性心力衰竭危险因素分析

将慢性心力衰竭的常见危险因素引入多因素

Logistic 逐步回归分析模型, 筛选出最后主要独立危险因素为高血压病、冠心病和载脂蛋白 E ε4 (表 5)。

表 4 按照高血压和冠心病分层后载脂蛋白 E 基因型分布 (例)

	高血压病		冠心病	
	心功能正常组	慢性收缩性心力衰竭组	心功能正常组	慢性收缩性心力衰竭组
ε4/X	9( 10. 0% )	18( 24. 3% ) <sup>b</sup>	9( 11. 0% )	26( 28. 6% ) <sup>a</sup>
non-ε4/X	81( 90. 0% )	56( 75. 7% )	73( 89. 0% )	65( 71. 4% )

a为  $P < 0. 05$  b为  $P < 0. 01$ , 与心功能正常组比较。

表 5 多因素 Logistic 回归分析

危险因素	回归系数 (B)	P	95% 可信区间
高血压病	1. 326	0. 000	1. 906~ 7. 446
冠心病	2. 471	0. 000	4. 952~ 28. 274
ε4/X	1. 122	0. 005	1. 416~ 6. 668

3 讨论

心力衰竭是指心脏不能泵出足够的血液或仅在提高充盈压后方能泵出组织代谢所需要的血液。各种器质性心血管疾病可引起原发心肌损害或心脏负荷过度,成为心力衰竭的基本病因。无论是西方国家,还是我国,冠心病和高血压都是心力衰竭的主要原因<sup>[7]</sup>。本研究也证实高血压病、冠心病是慢性心力衰竭发生发展的独立危险因素。

心力衰竭是一种复杂的病理生理状态,我们强调控制基础病因和诱因来防治心衰恶化。同时近年来也越来越重视从分子学机制去防治导致心肌功能和结构改变向心肌衰竭发展的危险因素,研究基因多态性在多因素疾病如缺血或非缺血性心脏病最终发展为慢性心力衰竭过程中的作用就是其中的一个热点<sup>[2]</sup>。载脂蛋白 E 是一个含有 299 个氨基酸的磷脂糖蛋白,其分子量为 34 kDa 载脂蛋白 E 三种主要的异构体 (E2、E3 和 E4) 之间的差别在于 112 位和 158 位上的单个氨基酸不同,即是半胱氨酸和精氨酸的相互取代。载脂蛋白 E 基因的多态性决定了这种单个氨基酸不同造成的异构体。载脂蛋白 E 基因多态性对脂质代谢有重要调节作用,载脂蛋白 E4 与血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇浓度升高相关<sup>[3]</sup>。有荟萃分析指出载脂蛋白 E ε4 等位基因是冠心病的一个显著危险因素<sup>[8]</sup>。Isbir 等<sup>[5]</sup>观察到高血压组携带 ε4 等位基因频率显著高于正常血压对照组,说明载脂蛋白 E 基因多态性与高血压间存在相关性。还有发现 ε4 等位基因在进展期扩张型心肌病患者中有高发生率<sup>[9]</sup>。载脂蛋白 E ε4 等位基因也是代谢综合征的危险因子<sup>[10]</sup>。鉴于载脂蛋白 E 基因多态性与众多基础心脏病的密切相

关性,我们比较了 107 例慢性收缩性心力衰竭患者与 140 例心功能正常患者的载脂蛋白 E 基因型及载脂蛋白 E ε4 等位基因频率分布情况。在 6 种载脂蛋白 E 基因型中,以 ε3/ε3 频率最高,占全体研究对象的 64. 4%;载脂蛋白 E 等位基因中也以 ε3 频率最高,占全体的 80. 2%,符合流行病学研究结果,人群中最常见的表型是载脂蛋白 E3/ε3 最常见的等位基因是 ε3<sup>[11]</sup>,说明本研究人群选择偏移性小。本研究中,慢性收缩性心力衰竭患者 ε4 等位基因频率及载脂蛋白 E ε4 携带者显著高于心功能正常组,表明载脂蛋白 E ε4 等位基因与慢性心力衰竭的发生发展间存在相关性。载脂蛋白 E 基因多态性可能通过影响基础心脏病而在慢性心力衰竭的进展过程中发挥作用。

本研究进一步将慢性心力衰竭的常见危险因素引入多因素 Logistic 回归模型,分析表明高血压病、冠心病和载脂蛋白 E ε4 是慢性心力衰竭发展的独立危险因素,提示载脂蛋白 E ε4 对慢性心力衰竭的影响在控制基础心脏病等因素后仍存在独立作用,载脂蛋白 E 基因多态性还可能通过其他途径对慢性心力衰竭的发生发展产生影响。有研究显示心衰患者氧自由基的产生明显增多<sup>[12]</sup>,而抗氧化活性明显降低<sup>[13]</sup>。在心脏,氧自由基和抗氧化机制间的失衡可引起线粒体内膜呼吸链功能不全,从而导致能量代谢异常,临床上表现为致命性的心肌病<sup>[14]</sup>。生理水平的载脂蛋白 E 具有异构体特异性的保护神经元细胞免于氧化性死亡的效应,且体外实验证明此效应与载脂蛋白 E 的抗氧化活性有关 (强度排序为 E2> E3> E4)<sup>[15]</sup>。载脂蛋白 E ε4 等位基因减弱抗氧化活性可能是纯合子地中海贫血患者左心功能衰竭在 ε4 等位基因携带者中多发的重要机制<sup>[14]</sup>。有报道载脂蛋白 E4 比载脂蛋白 E3 促进神经胶质细胞和外周巨噬细胞中的炎症因子产生<sup>[16]</sup>,还有研究发现含有载脂蛋白 E3 的脂蛋白抑制凋亡效应要强于含有载脂蛋白 E4 的脂蛋白<sup>[17]</sup>,而炎症介质和心肌细胞凋亡的激活在心衰进展中发挥了重要作用<sup>[18-19]</sup>。

本研究提示载脂蛋白 E ε4 等位基因是高血压

和冠心病人群发生慢性心力衰竭的一个重要遗传危险因素, 这为心力衰竭的病理学研究提供了新的途径, 也将有助于更好的识别慢性心力衰竭高危患者和为治疗措施的发展提供了新的思路。

#### [参考文献]

- [1] Adams KE. New epidemiologic perspectives concerning mild-to-moderate heart failure [J]. *Am J Med*, 2001, **110** (7A): 6S-13S
- [2] Alameddine EM, Zafari AM. Genetic polymorphisms and oxidative stress in heart failure [J]. *Congest Heart Fail*, 2002, **8** (3): 157-172
- [3] Srinivasan SR, Ehnholm C, Elkasabany A, et al. Influence of apolipoprotein E polymorphism on serum lipids and lipoprotein changes from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **143**: 435-443
- [4] Singh PP, Singh M, Bhatnagar DP, et al. Apolipoprotein E polymorphism and its relation to plasma lipids in coronary heart disease [J]. *Indian J Med Sci*, 2008, **62** (3): 105-112
- [5] Isbir T, Yilmaz H, Bihorac A, et al. Mild-to-moderate hypertension and apolipoprotein E gene polymorphism [J]. *Am J Hypertens*, 1997, **10**: 827-828
- [6] 中华医学会心血管病分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 慢性心力衰竭诊断治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007, **35** (12): 1 076-095
- [7] 顾东风, 黄广勇, 何江, 等. 中国心力衰竭流行病学调查及其患病率 [J]. *中华心血管病杂志*, 2003, **31** (1): 3-6
- [8] Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease [J]. *Ann Intern Med*, 2004, **141** (2): 137-147
- [9] Jurkovicova D, Goncalvesova E, Sedlakova R, et al. Is the ApoE polymorphism associated with dilated cardiomyopathy [J]? *Gen Physiol Biophys*, 2006, **25** (1): 3-10
- [10] 尹巧香, 侯晓平, 赵玉生, 等. 代谢综合征与冠心病的载脂蛋白 E 基因多态性 [J]. *实用医学杂志*, 2005, **21** (1): 32-34
- [11] Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology [J]. *Science*, 1988, **240**: 622-630
- [12] Prasad K, Gupta JR, Kalra J, et al. Oxygen free radicals in volume overload heart failure [J]. *Mol Cell Biochem*, 1992, **111**: 55-59
- [13] Dieterich S, Bielgk U, Beulich K, et al. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart [J]. *Circulation*, 2000, **101**: 33-40
- [14] Economou-Petersen E, Aessopos A, Kadi A, et al. Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 allele as a genetic risk factor for left ventricular failure in homozygous  $\beta$ -thalassaemia [J]. *Blood*, 1998, **92**: 3 455-459
- [15] Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and  $\beta$ -amyloid peptides [J]. *Nat Genet*, 1996, **14**: 55-61
- [16] Vitek MP, Brown CM, Colton CA. ApoE genotype-specific differences in the innate immune response [J]. *Neurobiol Aging*, 2009, **30** (9): 1 350-360
- [17] Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, et al. Protection of neurons from apoptosis by apolipoprotein E-containing lipoproteins does not require lipoprotein uptake and involves activation of phospholipase C $\gamma$  and inhibition of calcineurin [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284** (43): 29 605-613
- [18] Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview [J]. *Heart*, 2004, **90**: 464-470
- [19] Dom GW. 2nd. Having a change of heart: reversing the suicidal proclivities of cardiac myocytes [J]. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2009, **120**: 189-198

(此文编辑 文玉珊)