

载脂蛋白 A 多态性和他汀类药物治疗颈动脉粥样硬化疗效的相关性[△]

卢剑华, 谭健锋, 胡允兆, 郭文飞, 李 军
(南方医科大学附属顺德第一人民医院高级诊疗区, 广东佛山 528300)

摘要:目的 观察载脂蛋白 A [apolipoprotein, Apo(a)] 基因 rs3798220 多态性对他汀类药物治疗颈动脉粥样硬化患者疗效的影响。方法 对 2012 年 4 月至 2013 年 4 月在广东省佛山市顺德第一人民医院心内科及高级诊疗区住院部已经确诊的 103 例患者进行基因分型, 并对患者采用阿托伐他汀 20 mg/d 进行治疗, 临床随访 2 年。检测治疗前、后患者的血浆脂蛋白 a [lipoprotein a, LP(a)] 浓度及血清三酰甘油 (triacylglycerol, TG), 总胆固醇 (total cholesterol, TC), 低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C), 高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 浓度。结果 他汀类药物治疗能够显著降低颈动脉内膜中层厚度 (IMT)、降低血清 TC、TG、LDL-C 浓度、升高血清 HDL-C 浓度, 但是对血浆 Lp(a) 浓度没有显著影响。通过对他汀类药物治疗颈动脉粥样硬化患者的疗效进行分析发现, 采用他汀类药物治疗时 Apo(a) 基因 rs3798220 的分型对颈动脉内膜中层厚度、TG、Lp(a) 以及 HDL-C 的改善没有影响, 对 LDL-C 有一定的影响, 而对 TC 有显著影响。结论 他汀类药物治疗颈动脉粥样硬化患者能够取得良好的效果。Apo(a) 基因 rs3798220 多态性对他汀类药物治疗疗效有一定的影响, 其能够成为他汀类药物治疗颈动脉粥样硬化患者效果的辅助判断, 为颈动脉粥样硬化以及冠状动脉粥样硬化性心脏病 (冠心病) 患者的个体化医疗提供依据。

关键词: 颈动脉粥样硬化; 他汀类药物; 载脂蛋白 A; 基因多态性; 个体化医疗

中图分类号: R543.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-9688(2016)04-0402-04

Correlation between apolipoprotein A polymorphisms and efficacy of statin therapy for carotid atherosclerosis

LU Jian-hua, TAN Jian-feng, HU Yun-zhao, GUO Wen-fei, LI Jun
(Advanced Diagnosis and Treatment Area, The First People's Hospital of Shunde Affiliated to Nanfang Medical University, Foshan, Guangdong 528300, China)

Abstract: Objectives To study the correlation between apolipoprotein A [Apo(a)] polymorphisms and curative effect of statin therapy for carotid atherosclerosis (CAS). **Methods** Totally 103 patients with CAS were recruited and genotyped from April 2012 to April 2013 in The First People's Hospital of Shunde in Foshan. All of these patients were administered 20 mg atorvastatin one time daily and followed up for two years. Plasma concentration of lipoprotein a [Lp(a)], serum concentrations of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were detected by automatic biochemical analyzer before and after treatment. **Results** Statin treatment significantly reduced carotid intima-media thickness (IMT), serum concentrations of TC, TG, LDL-C and increased serum concentration of HDL-C, but showed no significant effect on plasma concentration of Lp(a). According to the curative effect of statin therapy in patients with CAS, Apo(a) polymorphisms had no effect on the improvement of IMT, TG, HDL-C and Lp(a), but had a certain influence on LDL-C and a significant effect on the improvement of TC. **Conclusions** Statin therapy in patients with CAS can obtain a good effect. Apo(a) polymorphisms have a certain influence on the curative effect and they can help in judgement for the curative effect of statin treatment, which provides evidence for individualized medication in CAS patients.

Key words: carotid atherosclerosis; statin; apolipoprotein A; gene polymorphism; individualized medication

[△]基金项目: 佛山市科技局医药攻关项目及顺德区科技资助计划项目 (项目编号: 201108190)。

作者简介: 卢剑华 (1968-), 女, 主任医师, 研究方向为冠心病的诊治。

脂质代谢异常是动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)形成的重要因素^[1]。低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)异常被作为治疗 AS 的靶标,可显著减少主要心血管事件,但研究发现,患者仍存在较高的心血管事件的残留风险不能用 LDL 水平来解释^[2]。其中,脂蛋白 a[lipoprotein a, LP(a)]被认为是导致血脂残留风险的核心成分^[3]。Lp(a)是一种特殊的脂蛋白,由类似于 LDL 的脂质核心、载脂蛋白(apolipoprotein, Apo)(b)和 Apo(a)组成,其致 AS 作用可能和氧化-Lp(a)、氧化磷脂(ox-PL)和脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)有关。Apo(a)基因多态性决定了 Lp(a)的大小和产生速度^[4,5]。我们前期的研究发现, Apo(a)基因单核苷酸多态性 rs3798220 和颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)、Lp(a)以及血脂变化存在明显的相关性^[6]。但是 Apo(a)基因单核苷酸多态性 rs3798220 是否会影响他汀类药物对 CAS 患者的疗效目前尚不清楚。本研究通过研究患者 Apo(a)基因单核苷酸多态性 rs3798220 对他汀类药物对 CAS 疗效的影响,明确 Apo(a)基因单核苷酸多态性 rs3798220 在他汀类药物对 CAS 中的作用,为患者实现个体化治疗提供重要的理论依据,为优化 CAS 患者治疗方案提供新的方向。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 4 月至 2013 年 4 月在广东省佛山市顺德第一人民医院心内科及高级诊疗区住院的经过彩色超声多普勒检查诊断为 CAS,且符合纳入标准和排除标准的 103 例患者为研究对象,其中男 61 例,女 42 例,年龄(51.8±5.7)岁。所有患者 Apo(a)基因 rs3798220 已经过单核苷酸多态性(SNP)分型,检测发现其存在 3 种基因型,即纯合子 TT 型、杂合子 TC 型以及纯合子 CC 型,其中 rs3798220 为 TT 型的 70 例(占 67.9%),TC 型的 31 例(占 30.2%),CC 型的 2 例(占 1.9%)。两组患者年龄、性别以及动脉内膜-中层厚度(intima-media thickness, IMT)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。CAS 诊断标准:(1)至少一个动脉段的单个最大 IMT ≥ 1.0 mm 或者局部有斑块形成;(2)由 IMT 增厚、局部斑块引起颈动脉管狭窄。纳入标准:所有患者均符合 CAS 诊断标准。排除标准:肝、肾、内分泌、肿瘤以及精神疾病,对他汀类药物

药物过敏或不能耐受的患者,且近 3 个月未服用调脂药物。所有患者对本研究均知情,并签署知情同意书。

1.2 治疗方法

所有患者出院后选择阿托伐他汀类药物 20 mg/d 治疗,临床随访 2 年。随访中没有任何患者丢失,也没有患者因严重药物副作用停止阿托伐他汀类药物治疗。随访中统计死亡、心肌梗死、心力衰竭、再发不稳定型心绞痛等主要心血管事件的发生。

1.3 检测指标和方法

1.3.1 血脂浓度检测方法 所有患者在治疗前、后各抽取空腹晨血 5 mL 放入乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管,0.5 h 内 3 000 g 离心 15 min。吸取上层血浆置于干净的 EP 管中,保存在-80℃冰箱中。血浆 Lp(a)、血清三酰甘油(triacylglycerol, TG),总胆固醇(total cholesterol, TC),低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C),高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)浓度的检测采用日立 7600-210ISE 型自动生化仪(日本)测定。为了防止误差,待所有标本收集完毕后一次性检测。

1.3.2 引物设计合成 据 Apo(a)-rs3798220 所在基因的序列,设计用于扩增的上、下游引物,如下:上游 5'-CCATGGCCCATAAAACCCA-3',下游 5'-CCAAGTTCATGGCACAGAGGA-3'。

1.3.3 全血 DNA 抽提 所有研究对象均空腹抽血 2 mL,置于乙二胺四乙酸抗凝管-20℃冻存,4 周内完成抽提。使用酚-氯仿抽提法提取血细胞基因组 DNA,使用 TE 缓冲溶液溶解 DNA,-20℃冻存,供聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)试验备用。

1.3.4 定性聚合酶链反应 PCR 总反应体系 50 μ L,其中 ddH₂O 27.2 μ L,10 \times PCR Buffer 12.5 μ L,dNTP Mixture 4 μ L,TaKaRa Taq 0.3 μ L,Forward Primer (10 pmol/ μ L) 1.0 μ L,Reverse Primer (10 pmol/ μ L) 1.0 μ L,模板 DNA 4.0 μ L。PCR 反应条件:93℃ 2 min,然后 93℃ 15 s,55℃ 25 s,72℃ 25 s,共 40 循环。

1.3.5 琼脂糖凝胶电泳 取 PCR 产物 10 μ L 加入 6 \times loading Buffer 2 μ L 混匀,注入电泳孔于 2%琼脂糖凝胶中电泳,有一孔点样为(50 bp)Maker 8 μ L。电泳条件:120 V、50 min。

1.3.6 目的基因测序 委托广州吉坤生物技术有

限公司对 PCR 产物进行单向测序。测序结果与结果判断见图 1。

1.4 颈动脉彩色多普勒超声检查

由 1 名专职医生(职称副主任医师或以上)进行颈动脉超声检查,采用美国 GE VIVID E9 彩色超声多普勒诊断仪,血管超声探头频率为 2.4~10.0 MHz。患者取平卧头仰位,从颈总动脉起始部开始,对颈总动脉全段及颈内、颈外动脉起始段进行纵向及横切面扫查,其中采用后位、侧位、前位 3 种角度,每次取其后壁,测 3 个心动周期,两侧共 6 个颈总动脉 IMT,取其平均值作为颈总动脉 IMT 值。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件对实验数据进行统计。所有数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组样本比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 他汀类药物治疗前、后患者血脂和脂蛋白(a)浓度比较

和治疗前相比,治疗后患者的 IMT、TC、TG、LDL-C 以及 HDL-C 都显著下降,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);但是和治疗前相比,治疗后患者血浆 Lp(a)浓度下降不明显,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),详见表 1。

2.2 载脂蛋白(a)基因 rs3798220 多态性对他汀类药物药物治疗血脂变化的影响

本研究前期对 Apo(a)基因 rs3798220 进行检测,发现了其存在 3 种基因型,即纯合子 TT 型、杂合子 TC 型以及纯合子 CC 型。不同分型患者治疗前、后的 IMT 以及血脂变化如表 2 所示。和治疗前相比,治疗后 IMT、TG 以及 HDL-C 在不同分型患者中都有显著变化,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。Apo(a)基因 rs3798220 的分型对他汀类药物

表 1 患者他汀类药物药物治疗前、后 IMT 及血脂浓度比较 [n=103, $\bar{x} \pm s$]

检测指标	治疗前	治疗后	t 值	P 值
IMT/mm	1.15±0.13	0.91±0.09	2.279	0.042
TC/mmol·L ⁻¹	5.43±0.72	4.03±1.35	2.970	0.012
TG/mmol·L ⁻¹	1.52±0.27	1.36±0.32	2.500	0.028
LDL-C/mmol·L ⁻¹	3.47±0.61	2.65±0.56	2.801	0.016
HDL-C/mmol·L ⁻¹	1.13±0.39	1.22±0.53	2.298	0.041
Lp(a)/mg·L ⁻¹	42.3±6.2	40.7±7.59	0.866	0.404

表 2 Apo(a)基因 rs3798220 多态性对他汀类药物药物治疗血脂变化的影响

检测指标	分型	治疗前	治疗后	t 值	P 值
IMT/mm	TT 型	1.18±0.1	0.90±0.08	2.312	0.039
	TC/CC 型	1.14±0.12	0.92±0.08	2.240	0.045
TC/mmol·L ⁻¹	TT 型	5.17±0.36	3.56±0.88	3.351	0.005
	TC/CC 型	5.75±0.4	4.1±1.28	2.048	0.063
TG/mmol·L ⁻¹	TT 型	1.45±0.2	1.30±0.28	2.534	0.026
	TC/CC 型	1.49±0.3	1.32±0.36	2.456	0.030
LDL-C/mmol·L ⁻¹	TT 型	3.12±0.26	2.15±0.46	3.241	0.007
	TC/CC 型	3.82±0.26	3.02±0.59	2.298	0.041
HDL-C/mmol·L ⁻¹	TT 型	1.23±0.29	1.32±0.43	2.228	0.046
	TC/CC 型	1.16±0.42	1.26±0.57	2.258	0.043
Lp(a) /mg·L ⁻¹	TT 型	39.5±3.4	38.5±4.39	0.939	0.366
	TC/CC 型	45.6±2.9	44.4±2.89	0.612	0.552

物治疗 CAS 时患者的 IMT 及血清 TG 以及 HDL-C 浓度的变化没有影响;和治疗前相比,治疗后血清 LDL-C 浓度在不同分型中下降显著,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),其中血清 LDL-C 浓度在 TT 型中下降更加显著,说明 Apo (a) 基因 rs3798220 的分型对他汀类药物药物治疗 CAS 时血清 LDL-C 浓度的变化有一定的影响;和治疗前相比,治疗后血清 TC 浓度在 TT 型中下降显著,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);而在 TC/CC 型中下降差异不显著,差异没有统计学意义 ($P > 0.05$),说明 Apo(a)基因 rs3798220 的分型对他汀类药物治

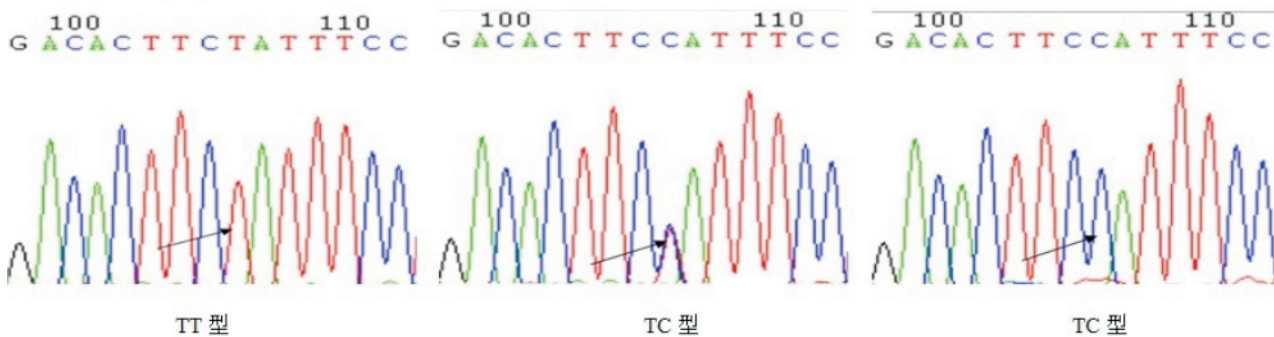


图 1 测序结果与结果判断

疗 CAS 时血清 TC 浓度的变化有显著影响。而和治疗前相比,治疗后血浆 Lp(a)浓度在不同分型中下降都不明显,差异没有统计学意义($P>0.05$), Apo(a)基因 rs3798220 的分型对他汀类药物 CAS 时患者血浆 Lp(a)浓度的变化同样没有影响。

3 讨论

流行病学调查显示,全球每年有 730 万人死于 CAS,其发病率、致残率及病死率逐年上升,医疗费用也随着大幅上涨,已成为严重的社会问题^[7]。他汀类药物长期用于冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的一级或二级预防,可以有效调节 LDL 的代谢,延缓及逆转 AS 的发生,从而可显著减少主要心血管事件的发生,减轻 CAS 临床症状,安全有效^[8-10]。本研究采用阿托伐他汀类药物 20 mg/d 治疗 CAS 患者,临床随访 1 年发现,和治疗前相比,治疗后患者的 IMT 及血清 TC、TG、LDL-C 浓度都显著下降,血清 HDL-C 浓度上升,差异具有统计学意义($P<0.05$)。该结果和其他采用他汀类药物 CAS 的研究结果相似^[11,12]。但是他汀类药物 CAS 对血浆 Lp(a)浓度的改变没有显著影响。

LDL 和 Lp(a)都是致 AS 的独立危险因素。其中 Lp(a)浓度在正常个体中相当稳定,但是个体之间存在很大差异。血浆 Lp(a)浓度主要取决于其合成速率,研究表明,合成速率主要是由 Apo(a)基因位点所决定的。本研究前期对 Apo(a)基因 rs3798220 进行检测发现,其存在三种基因型,即纯合子 TT 型、杂合子 TC 型以及纯合子 CC 型。不同基因型的患者的血浆 Lp(a)浓度不一样,其中 TT 型患者 Lp(a)浓度相对于 TC/CC 型患者较低,不仅如此,Apo(a)基因 rs3798220 多态性还和患者血清 TC、TG、LDL-C 以及 HDL-C 浓度密切相关。因此,Apo(a)基因 rs3798220 单核苷酸多态性和 AS 之间存在明显的关联,而其对他汀类药物 CAS 的影响还不清楚。本研究采用他汀类药物 CAS 时,Apo(a)基因 rs3798220 的分型对患者 IMT、TG、Lp(a)以及 HDL-C 的改善没有影响,对血清 LDL-C 浓度有一定的影响,而对血清 TC 浓度有显著影响。该结果说明,Apo(a)基因 rs3798220 为 TT 型的患者中,他汀类药物 CAS

时,疗效更加显著。

综上所述,Apo(a)基因 rs3798220 基因分型和 CAS 之间存在相关性,这种相关性会影响他汀类药物 CAS 患者的效果,其能够为他汀类药物 CAS 患者的效果提供新的辅助判断,为 CAS 患者的个体化医疗提供依据。

参考文献:

- [1] FARRELL S W, FINLEY C E, GRUNDY S M. Cardiorespiratory fitness, LDL cholesterol, and CHD mortality in men[J]. Med Sci Sports Exerc, 2012, 44(11): 2132-2137.
- [2] BENGE C D, MARKLEY B, MCFARLAND M S. Role of aggressive LDL reduction in patients with coronary heart disease[J]. South Med J, 2012, 105(1): 48-55.
- [3] EZHOV M V, SAFAROVA M S, AFANASIEVA O I, et al. Specific Lipoprotein (a) apheresis attenuates progression of carotid intima-media thickness in coronary heart disease patients with high lipoprotein(a) levels[J]. Atheroscler Suppl, 2015, 18: 163-169.
- [4] HOPEWELL J C, SEEDORF U, FARRALL M, et al. Impact of lipoprotein(a) levels and apolipoprotein(a) isoform size on risk of coronary heart disease[J]. J Intern Med, 2014, 276(3): 260-268.
- [5] LAMON-FAVA S, MARCOVINA S M, ALBERS J J, et al. Lipoprotein(a) levels, apo(a) isoform size, and coronary heart disease risk in the Framingham Offspring Study[J]. J Lipid Res, 2011, 52(6): 1181-1187.
- [6] 卢剑华,谭健锋,胡允兆,等.载脂蛋白 A 基因单核苷酸多态性与颈动脉粥样硬化及血脂水平的相关性探讨[J].实用医学杂志,2015,31(1):4-6.
- [7] 伏君.高龄老年冠心病患者心血管病危险因素分析与干预现状[D].河北医科大学,2012.
- [8] MOCHARI-GREENBERGER H, LIAO M, MOSCA L. Racial and ethnic differences in statin prescription and clinical outcomes among hospitalized patients with coronary heart disease[J]. Am J Cardiol, 2014, 113(3): 413-417.
- [9] 饶平.辛伐他汀联合比索洛尔在急性心肌梗死中的治疗效果[J].实用医学杂志,2015,31(4):686-687.
- [10] YAN Y L, QIU B, HU L J, et al. Efficacy and safety evaluation of intensive statin therapy in older patients with coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2013, 69(12): 2001-2009.
- [11] 杨生平,李静.阿托伐他汀在老年冠心病合并高脂血症中的临床应用[J].当代医学,2012,18(31):10-11.
- [12] 张晓东.阿托伐他汀钙片对冠心病合并高脂血症调脂疗效观察[J].当代医学,2011,17(28):19-20.

(收稿日期:2015-10-19)