

皮质下缺血性血管病与对氧磷酶 1 基因多态性的相关性研究

高文平¹, 宋莉莉², 王瑶², 倪明珠³, 王兆平⁴, 王文静¹

摘要 目的 探讨皮质下缺血性血管病(SIVD)与对氧磷酶 1(PON1)基因多态性的相关性。方法 纳入 65 例 SIVD 患者和同期 35 例体检者分别为 SIVD 组和对照组,依据头颅 MRI 表现评定 Fazekas 分级及腔梗(LI)数量,将 SIVD 组分为 WML 组和 LI 组,并根据脑损伤程度分别分为轻度病变组、中度病变组和重度病变组,采用 Sanger 测序法测定受试者 PON1 基因分别在第 192 和 55 位点的表达。结果 ① SIVD 组的平均年龄高于对照组($P < 0.05$),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平低于对照组($P < 0.05$),SIVD 组和对照组的吸烟状况差异有统计学意义($P < 0.05$);② SIVD 组与对照组 Q192R、L55M 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律;③ SIVD 组与对照组 PON1 基因 Q192R 和 L55M 基因型分布差异均有统计学意义($\chi^2 = 8.780, P < 0.05$; $\chi^2 = 4.239, P < 0.05$),SIVD 组 R 等位基因频率和 M 等位基因频率均高于对照组($\chi^2 = 8.765, P < 0.01$; $\chi^2 = 4.926, P < 0.05$);④ 在 WML 组和 LI 组中,重度病变组 R 等位基因频率均高于中度病变组和轻度病变组($P < 0.0167$),中度病变组和重度病变组的 M 等位基因频率均高于轻度病变组($P < 0.0167$);⑤ 多因素 Logistic 回归分析显示:年龄、吸烟以及携带 PON1 基因 R、M 等位基因均为 SIVD 发病风险的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 SIVD 的发病可能与 PON1 基因在第 192 和 55 位点上表达的差异有关,携带该位点 R、M 等位基因可能对 SIVD 的发病有一定的促进作用,为寻找 SIVD 防治新的靶点提供一定的理论依据。

关键词 皮质下缺血性血管病;对氧磷酶 1 基因;基因多态性

中图分类号 R 743.9; R 394.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)07-1137-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.07.025

皮质下缺血性血管病(subcortical ischemic vascular disease, SIVD)是一种以弥漫性脑白质病变

(white matter lesions, WML)和多发腔隙性梗死(lacunar infarction, LI)为特征的脑小血管病^[1],是血管性痴呆(vascular dementia, VaD)的主要亚型之一^[2],虽然其发病率较高,但均质性较好^[3],成为近年来学者们研究的热点。SIVD 的确切发病机制尚不清楚,近年来的研究^[3-4]表明其与遗传因素、动脉粥样硬化、A β 蛋白沉积、血脑屏障损害等有关。对氧磷酶 1(paroxysphase 1, PON1)是一种芳香酯酶,具有抗氧化及抗动脉粥样硬化的作用,其活性及表达主要受 PON1 基因 Q192R 和 L55M 位点基因多态性的影响^[5]。有研究^[5]表明, PON1 活性降低可能与缺血性脑卒中、冠心病等动脉粥样硬化相关的疾病发生有关。因此, PON1 基因多态性可能也与 SIVD 的发病相关,目前两者间的关系尚无定论。该研究拟通过临床资料的收集对比、影像上的差异以及基因检测的方法探索 PON1 基因多态性与 SIVD 疾病的相关性,为寻找防治 SIVD 的新靶点提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 随机选取 2019 年 11 月—2020 年 6 月在安徽医科大学附属省立医院神经内科就诊的 SIVD 患者 65 例。SIVD 组纳入标准参照 Erkinjuntti^[6]提出的诊断标准并加以修订:① 年龄 50~85(66.28 $\pm$ 8.80)岁;② 头颅磁共振(MRI)检查 T2、Flair 成像提示皮质下多发 LI(LI $\geq$ 5 个)和(或)脑室旁及深部广泛 WML(Fazekas 分级 $\leq$ 2 级)^[7];③ 近 6 个月内无急性 LI 发生。SIVD 组排除标准^[3,8]:① 有皮质梗死、脑肿瘤、脑外伤、颅脑手术、脑出血史;② 非血管性因素引起的脑白质病变:如代谢、多发性硬化、免疫、中毒等;③ 有风湿性疾病、感染性疾病、血液系统疾病、严重肝肾功能不全等;④ 近 1 月有手术史。对照组纳入标准:选取同时期年龄 50~85(61.26 $\pm$ 7.99)岁、一般临床资料相仿、头颅 MRI 正常的体检者 35 例作为对照组。所有研究对象及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 临床资料的收集 一般资料包括年龄、性

2021-03-11 接收

基金项目:安徽省卫生厅医学科研课题(编号:13zc032)

作者单位:¹ 安徽医科大学附属省立医院神经内科,合肥 230001

² 安徽省第二人民医院神经内科,合肥 230041

³ 安徽医科大学附属巢湖医院神经内科,巢湖 238000

⁴ 蚌埠市第一人民医院神经内科,蚌埠 233000

作者简介:高文平,女,住院医师,硕士研究生;

王文静,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: 393943907@qq.com

别、高血压、糖尿病、冠心病、心房颤动、肝肾疾病、吸烟饮酒史等。实验室检测包括血糖、血脂、同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)、肾功能等指标。

1.2.2 影像学检查 采用 3.0 T MRI 机(德国西门子公司)扫描 根据头颅 MRI T1、T2 和 Flair 像,评估所有受试者的脑损伤程度。LI 的数量: 计皮质下直径 3 ~ 15 mm、边界清晰的缺血灶数量^[9]。参照 Fazekas 分级方法^[7,9]将 WML 进行分级: 0 级(无白质病变)、1 级(轻度病变为斑点状)、2 级(中度病变开始融合)、3 级(重度病变融合为弥漫性病变)。SIVD 组 WML 和 LI 常合并存在,无法绝对区分,可依据 Fazekas 分级及 LI 数量将所有 SIVD 组受试者分为 WML 组和 LI 组,并分别按照脑损伤程度不同等级进行以下分组: ① WML 组(以 WML 为主且 LI 数量 ≤ 5 个): 轻度 WML 组(Fazekas 分级为 1 级)、中度 WML 组(Fazekas 分级为 2 级)、重度 WML 组(Fazekas 分级为 3 级); ② LI 组(以 LI 为主,可伴有脑白质损害): 轻度 LI 组(LI 数量 ≤ 5 个)、中度 LI 组(5 个 < LI 数量 ≤ 10 个)、重度 LI 组(LI 数量 > 10 个)。

1.2.3 标本的采集和 PON1 基因型的检测 使用 EDTA 抗凝管采集受试者清晨空腹肘静脉血 2 ml,于 -80 °C 冰箱冻存。采用 sanger 测序法检测所有受试者的 PON1 基因 Q192R 及 L55M 两个位点的基因型。① 按照 Ezup 柱式血液基因组 DNA 抽提试剂盒(上海生工生物公司)说明书提取白细胞 DNA; ② 引物设计: 使用 Primer Premier 5 软件设计引物, Q192R 基因上游引物序列为 5'-ATTTTCAGAGAGT-TCACATACTTGCC-3',下游引物序列为 5'-GAAT-AGACAGTGAGGAATGCCAG-3',扩增片段 308 bp; L55M 基因上游引物序列为 5'-TTATTTGAAAGT-GGGCATGGG-3',下游引物序列为 5'-TCAAGTGAG-GTGTGATAAAGAAATG-3',扩增片段 244 bp; ③ PCR 反应: PCR 反应体系总体积为 25 μl,模板 DNA 2 μl,上下游引物各 1 μl, dNTP(Mix) 1 μl, 10 × Taq buffer(含 MgCl₂) 2.5 μl, Taq 酶 0.2 μl, 加双蒸水至 25 μl; PCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 38 次, 72 °C 修复延伸 10 min; ④ DNA 测序及 SNP 分型: 取 5 μl PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定后,采用 sanger 测序法进行测序及 SNP 分型,由美国 ABI 3037 XL 全自动测序仪得出 DNA 测序峰图。

1.2.4 吸烟和饮酒的定义 ① 吸烟定义: 平均吸烟 ≥ 1 支/d, 持续时间 > 12 个月, 吸烟状况分为不吸

烟、目前吸烟和已戒烟, 已戒烟是指曾经吸烟但已停止吸烟至少 12 个月^[10]; ② 饮酒定义: 过去 1 个月饮酒次数 ≥ 1 次/周, 饮酒状况分为不饮酒、目前饮酒和已戒酒, 已戒酒是指曾经饮酒但已停止饮酒至少 6 个月^[10]。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。当满足正态分布且方差齐的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用独立样本 *t* 检验。不满足正态分布或方差不齐的计量资料用 *M* (*IQR*) 表示, 采用非参数检验。计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率检验。采用 χ^2 检验判断 2 组基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。采用多因素二元 Logistic 回归分析 SIVD 的主要危险因素。采用条件 Logistic 回归分析 Q192R 及 L55M 位点间的交互作用, 交互模型采用相乘模型。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。3 组间计数资料两两比较时检验水准为 $\alpha' = 0.05/3 = 0.0167$, *P* < 0.0167 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SIVD 组和对照组一般资料和脑损伤程度的比较 SIVD 组和对照组性别、高血压、糖尿病、饮酒状况、血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)、同型半胱氨酸(Hcy)水平差异均无统计学意义。与对照组比较 SIVD 组的平均年龄增高(*P* < 0.05), SIVD 组的高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平降低(*P* < 0.05), 2 组吸烟状况有统计学差异(*P* < 0.05)。SIVD 组的 Fazekas 分级及 LI 数量高于对照组(*P* < 0.001)。见表 1。

2.2 SIVD 组和对照组 PON1 基因 Q192R、L55M 位点测序结果、基因型分布和等位基因频率比较 SIVD 组和对照组 PON1 基因 Q192R、L55M 位点的测序图分别如图 1、2 所示。SIVD 组和对照组 PON1 基因 Q192R、L55M 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。SIVD 组与对照组 PON1 基因 Q192R 和 L55M 基因型分布差异均有统计学意义(*P* < 0.05), SIVD 组 R 等位基因频率和 M 等位基因频率高于对照组(*P* < 0.05)。见表 2。

2.3 WML 组和 LI 组 PON1 基因 Q192R、L55M 基因型分布和等位基因频率比较 WML 组和 LI 组 PON1 基因 Q192R 和 L55M 基因型分布和等位基因频率差异均无统计学意义。见表 3。

2.4 WML 组和 LI 组内不同等级脑损伤程度的 PON1 基因 Q192R、L55M 基因型分布和等位基因

表1 SIVD组与对照组一般临床资料和脑损伤程度比较 [$M(IQR)$, $n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

项目	对照组 ($n=35$)	SIVD组 ($n=65$)	统计量值	P 值
男性/女性 (n)	16/19	40/25	2.312 ^a	0.128
年龄(岁)	62(13.0)	67(13.5)	-2.763 ^b	0.006
高血压	17(48.6)	37(56.9)	0.639 ^a	0.424
糖尿病	8(22.9)	16(24.6)	0.039 ^a	0.844
吸烟			6.420 ^a	0.040
不吸烟	30(85.7)	42(64.6)		
已戒烟	3(8.6)	6(9.2)		
目前吸烟	2(5.7)	17(26.2)		
饮酒			3.769 ^d	0.155
不饮酒	31(88.6)	48(73.8)		
已戒酒	2(5.7)	4(6.2)		
目前饮酒	2(5.7)	13(20.0)		
TG(mmol/L)	1.35(0.74)	1.29(0.97)	-0.101 ^b	0.919
TC(mmol/L)	4.55(1.68)	4.09(1.40)	-1.789 ^b	0.074
HDL-C(mmol/L)	1.24(0.34)	1.04(0.29)	-2.009 ^b	0.045
LDL-C(mmol/L)	2.46 $\pm$ 0.74	2.26 $\pm$ 0.89	1.173 ^c	0.244
VLDL-C(mmol/L)	0.93(0.42)	0.80(0.19)	-1.934 ^b	0.053
Hcy(mol/L)	10.01(3.10)	10.80(3.80)	-1.612 ^b	0.107
Fazekas 分级(级)	0.00(1.00)	2.00(1.00)	-6.297 ^b	<0.001
LI 数量(个)	0.00(0.00)	5.00(5.50)	-6.407 ^b	<0.001

^a 采用 χ^2 检验; ^b 采用 Z 检验; ^c 采用独立样本 t 检验; ^d 采用 Fisher 确切概率检验

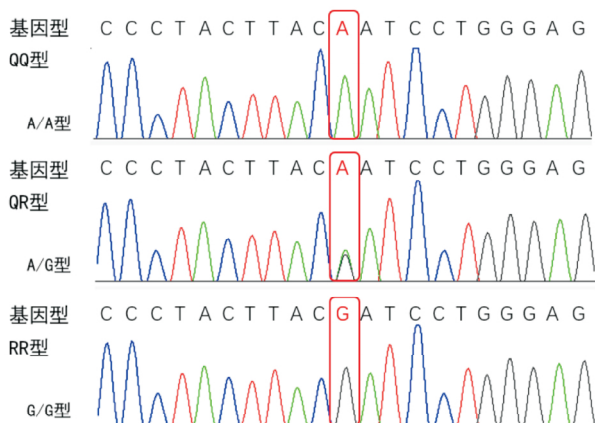


图1 PON1 基因 Q192R 位点测序图

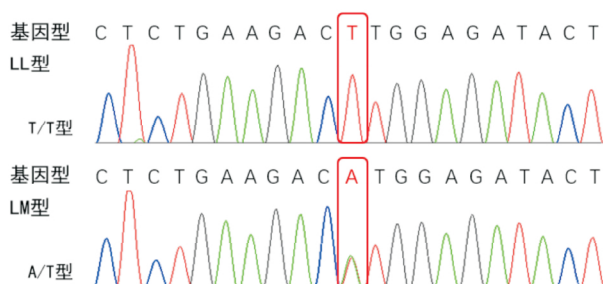


图2 PON1 基因 L55M 位点测序图

表2 SIVD组与对照组 PON1 基因 Q192R、L55M 位点基因型分布和等位基因频率比较 [% $n(\%)$]

项目	对照组 (<i>n</i> = 35)	SIVD 组 (<i>n</i> = 65)	χ^2 值	<i>P</i> 值
Q192R 位点				
QQ	8(22.9)	5(7.7)	8.780	0.012 ^a
QR	20(57.1)	30(46.2)		
RR	7(20.0)	30(46.2)		
Q	51.4	30.8	8.765	0.003 ^a
R	48.6	69.2		
L55M 位点				
LL	33(94.3)	51(78.5)	4.239	0.040 ^a
LM	2(5.7)	14(21.5)		
MM	0(0.0)	0(0.0)		
L	97.14	89.23	4.926	0.026 ^a
M	2.86	10.77		

^a 采用 χ^2 检验

表3 WML组与 LI 组 PON1 基因 Q192R、L55M 位点基因型分布和等位基因频率比较 [% $n(\%)$]

项目	WML 组 (n = 33)	LI 组 (n = 32)	χ^2 值	P 值
Q192R 位点				
QQ	3(9. 1)	2(6. 3)	0. 534	0. 808 ^b
QR	16(48. 5)	14(43. 8)		
RR	14(42. 4)	16(50. 0)		
Q	33. 3	28. 1	0. 635	0. 425 ^a
R	66. 7	71. 9		
L55M 位点				
LL	27(81. 8)	24(75. 0)	0. 447	0. 504 ^a
LM	6(18. 2)	8(25. 0)		
MM	0(0. 0)	0(0. 0)		
L	90. 9	87. 5	0. 600	0. 439 ^a
M	9. 1	12. 5		

^a 采用 χ^2 检验, ^b 采用 Fisher 确切概率检验

频率比较 ① WML 组分为轻度 WML 组、中度 WML 组和重度 WML 组 3 组间 PON1 基因 Q192R、L55M 位点基因型分布差异均无统计学意义, Q192R、L55M 位点等位基因频率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。重度 WML 组 R 等位基因频率分别高于中度 WML 组和轻度 WML 组 ($P < 0.0167$), 中度 WML 组和重度 WML 组的 M 等位基因频率均高于轻度 WML 组 ($P < 0.0167$)。② LI 组分为轻度 LI 组、中度 LI 组和重度 LI 组 3 组间 PON1 基因 Q192R、L55M 位点基因型分布差异均无统计学意义, Q192R、L55M 位点等位基因频率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。重度 LI 组 R 等位基因频率分别高于中度 LI 组和轻度 LI 组 ($P < 0.0167$), 中度 LI 组和重度 LI 组的 M 等位基因频率均高于轻度 LI 组 ($P < 0.0167$)。其余组间两两比较差异均无统

计学意义。见表4、5。

表4 WML组内 PON1 基因 Q192R、L55M 位点基因型分布和等位基因频率比较 [% n (%)]

项目	轻度 WML 组 (<i>n</i> = 2)	中度 WML 组 (<i>n</i> = 28)	重度 WML 组 (<i>n</i> = 3)	χ^2 值	<i>P</i> 值
Q192R 位点					
QQ	0(0.0)	3(10.7)	0(0.0)	5.342 ^b	0.179
QR	2(100.0)	14(50.0)	0(0.0)		
RR	0(0.0)	11(39.3)	3(100.0)		
Q	50.0	35.7	0.0 [#]	64.997 ^a	<0.001
R	50.0	64.3	100.0 [#]		
L55M 位点					
LL	2(100.0)	23(82.1)	2(66.7)	1.155 ^b	0.660
LM	0(0.0)	5(17.9)	1(33.3)		
MM	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)		
L	100.0 [*]	91.1 [#]	83.3 [#]	17.892 ^a	<0.001
M	0.0 [*]	8.9 [#]	16.7 [#]		

^a 采用 χ^2 检验; ^b 采用 Fisher 确切概率检验; 与轻度 WML 组比较: [#] $P < 0.0167$; 与中度 WML 组比较: ^{*} $P < 0.0167$

表5 LI 组内 PON1 基因 Q192R、L55M 位点基因型分布和等位基因频率比较 [% n (%)]

项目	轻度 LI 组 (<i>n</i> = 5)	中度 LI 组 (<i>n</i> = 23)	重度 LI 组 (<i>n</i> = 4)	χ^2 值	<i>P</i> 值
Q192R 位点					
QQ	1(20.0)	1(4.3)	0(0.0)	3. 127 ^b	0. 621
QR	2(40.0)	11(47. 8)	1(25.0)		
RR	2(40.0)	11(47. 8)	3(75.0)		
Q	40.0	28.3	12.5 [#]	19. 357 ^a	<0. 001
R	60.0	71.7	87.5 [#]		
L55M 位点					
LL	5(100.0)	16(69.6)	3(75.0)	1. 752 ^b	0. 372
LM	0(0.0)	7(30.4)	1(25.0)		
MM	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)		
L	100.0 [*]	84.8 [#]	87.5 [#]	15. 694 ^a	<0. 001
M	0.0 [*]	15.2 [#]	12.5 [#]		

^a 采用 χ^2 检验; ^b 采用 Fisher 确切概率检验; 与轻度 LI 组比较: [#] $P < 0.0167$; 与中度 LI 组比较: ^{*} $P < 0.0167$

2.5 SIVD 危险因素的多因素 Logistic 回归分析
将有无 SIVD 作为因变量, 将年龄、吸烟、HDL 水平、携带 R 等位基因、携带 M 等位基因作为自变量, 进

行 Logistic 回归分析。在回归方程中, 将有 SIVD 赋值为 1, 无 SIVD 赋值为 0; 吸烟: 不吸烟赋值为 0, 已戒烟赋值为 1, 目前吸烟赋值为 2; 携带 R 等位基因: QQ 基因型赋值为 0, QR 基因型赋值为 1, RR 基因型赋值为 2; 携带 M 等位基因: LL 基因型赋值为 0, LM 基因型赋值为 1。年龄及 HDL-C 水平均以连续型变量直接纳入模型。结果显示: 在控制各项因素后, 年龄、吸烟、携带 R 等位基因、携带 M 等位基因均为 SIVD 患病的独立危险因素。见表 6。

2.6 PON1 基因 Q192R 和 L55M 位点多态性的交互作用分析 通过条件 Logistic 回归, 在调整年龄、吸烟及 HDL-C 水平等因素后, Q192R 位点和 L55M 位点多态性对 SIVD 患病无统计学交互作用 ($P = 0.908$, $OR = 1.438$, $95\% CI = 0.003 \sim 692.434$)。

3 讨论

以 WML 和 LI 为特征的 SIVD 是老年人中较常见的脑小血管病^[11], 其起病较隐匿, 早期认知功能可能正常, 随着病情进展逐渐出现认知能力下降^[1]。其临床表现除认知障碍外, 还包括步态异常、假性球麻痹、尿便障碍和锥体外系症状^[8]。因此, 早期发现对于及时治疗和改善预后至关重要。

对氧磷酶 (paraoxonase, PON) 基因家族都与抗动脉粥样硬化相关, 其中 PON1 的抗动脉粥样硬化活性最强^[5], 被学者们广泛研究。PON1 是一种 Ca^{2+} 依赖的酯酶, 在血液中与高密度脂蛋白 (HDL) 紧密结合^[12], 可防止低密度脂蛋白 (LDL) 氧化, 促进 HDL 的抗动脉粥样硬化, 在调节胆固醇反向转运 (reverse cholesterol transport, RCT)、抗氧化、抗凋亡、抗炎、血管舒张和抗血栓形成以及几种内皮细胞功能中也发挥作用, 与冠心病、缺血性脑卒中等疾病密切相关^[13]。PON1 基因位于人类第 7 号染色体长臂 (7q21.3 ~ q22.1) 上^[5]。有研究^[12-13]表明, 人血清中的 PON1 活性有 40 倍的差异, 这可能是由 PON1 基因编码区的多态性共同决定的, 其中 Q192R 和 L55M 位点的多态性表现发挥主要作用。

表6 SIVD 影响因素多因素 Logistic 回归分析

变量	B	SE	$Wald$	P 值	OR	$95\% CI$
年龄 (岁)	0.082	0.030	7.385	0.007	1.085	1.023 ~ 1.152
吸烟	0.903	0.391	5.336	0.021	2.468	1.147 ~ 5.311
HDL-C (mmol/L)	-1.107	1.023	1.171	0.279	0.330	0.044 ~ 2.455
携带 R 等位基因	1.140	0.386	8.738	0.003	3.127	1.468 ~ 6.658
携带 M 等位基因	1.772	0.866	4.190	0.041	5.885	1.078 ~ 32.120

目前, PON1 的基因多态性与 SIVD 的关系尚无定论。该研究结果显示, SIVD 组 PON1 基因 192 位的 R 等位基因频率和 55 位的 M 等位基因频率均高于对照组。根据脑损伤程度不同等级进一步分组发现, WML 组内和 LI 组内病变程度较高的组别其 R 和 M 等位基因频率更高, 提示其 R 和 M 等位基因可能在 SIVD 的发病和脑损伤的过程中均有一定的促进作用。条件 Logistic 回归和多因素 Logistic 回归分析结果提示, 携带其 R 和 M 等位基因均为 SIVD 患病的独立危险因素, 且携带 M 等位基因对 SIVD 发病的影响可能更大。

因此, SIVD 的发病可能与 PON1 基因 Q192R 和 L55M 位点的多态性表现相关。具体而言, 其 R 和 M 等位基因影响 SIVD 的发生发展的机制可能如下: ① PON1 基因 Q192R 和 L55M 基因多态性可影响 PON1 的活性, 携带 R 等位基因虽比携带 Q 等位基因的 PON1 活性更高, 但携带 R 等位基因会抑制 PON1 对 LDL 免受氧化的保护, 而携带 M 等位基因相比携带 L 等位基因的 PON1 活性较低^[12-13], 因此, 携带 R 等位基因与携带 M 等位基因均可使 PON1 的抗动脉粥样硬化功能受限。② PON1 水解脂质过氧化物, 保护 LDL 免受氧化, 降低循环和血管壁中氧化的 LDL, 减少泡沫细胞的形成和巨噬细胞的氧化应激以及刺激 HDL 介导的 RCT, 促进内皮功能正常化, 从而抗动脉粥样硬化^[5, 12]。③ PON1 与 HDL 之间的联系不仅是简单的配体-载体关系, PON1 也可以保护 HDL 免受氧化。血脂异常、氧化应激和炎症均可引起 HDL 的结构剧烈变化, 从而减弱 HDL 抗动脉粥样硬化潜力。HDL 结构的改变可影响 PON1 的活性, 氧化的 HDL 增强 PON1 活性的能力也明显降低^[13]。④ PON1 也是一种乳酸酶, 能降解同型半胱氨酸硫代内酯(HcyTL)。HcyTL 是一种 Hcy 代谢物, 可通过 N 型半胱氨酸化机制修饰蛋白的赖氨酸残基, 进而影响蛋白的结构和功能, 导致氧化应激、内皮功能障碍、血栓形成、自身免疫反应、细胞死亡和动脉粥样硬化。PON1 通过代谢 HcyTL, 限制蛋白的 N 同型半胱氨酸化, 从而延缓动脉粥样硬化的发展^[12, 14]。

该研究对 SIVD 的影响因素进行了多因素 Logistic 回归分析, 结果显示, 吸烟与年龄增长也会增加 SIVD 的发病风险, 这可能也与 PON1 的活性和表达降低有关。PON1 的活性和表达也受年龄、炎症、饮食、药物、糖尿病、吸烟和生活方式的影响^[5, 15]。有研究^[15]表明, 吸烟者血清中 PON1 的活性和浓度

低于非吸烟者, 不过这种影响在戒烟后可消除, 故而戒烟对于预防 SIVD 具有重要意义。同时, PON1 活性也随着年龄的增长而降低, 这也与老年群体中 HDL 对氧化的敏感性增加有关^[12, 15]。另外, 该研究中未检测到 PON1 基因 55 位 MM 基因型, 可能与 MM 是一种较为罕见的基因型有关, 这与国内外的研究结果一致^[16-17]。

综上所述, 尽管该研究的样本量有限, 未能对年龄、吸烟等因素进一步分层分析, 但该研究的结果表明, SIVD 的发病可能与 PON1 基因多态性有关, 携带第 192 位 R 等位基因与第 55 位 M 等位基因可能对 SIVD 的发病有一定的促进作用, 这些发现为寻找 SIVD 防治新的靶点具有重要意义。

参考文献

- [1] Vilar-Bergua A, Riba-Llena I, Nafria C, et al. Blood and CSF biomarkers in brain subcortical ischemic vascular disease: involved pathways and clinical applicability [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36(1): 55-71.
- [2] Fu Z, Caprihan A, Chen J, et al. Altered static and dynamic functional network connectivity in Alzheimer's disease and subcortical ischemic vascular disease: shared and specific brain connectivity abnormalities [J]. Hum Brain Mapp, 2019, 40(11): 3203-21.
- [3] 王瑶, 倪明珠, 刘文灿, 等. 皮质下缺血性血管病患者 ApoE 基因多态性及血清亲环素 A 浓度对认知障碍的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(4): 630-4.
- [4] Shindo A, Liang A C, Maki T, et al. Subcortical ischemic vascular disease: roles of oligodendrocyte function in experimental models of subcortical white-matter injury [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36(1): 187-98.
- [5] Tajbakhsh A, Rezaee M, Rivandi M, et al. Paraoxonase 1 (PON1) and stroke: the dilemma of genetic variation [J]. Clin Biochem, 2017, 50(18): 1298-305.
- [6] Erkinjuntti T. Subcortical ischemic vascular disease and dementia [J]. Int Psychogeriatr, 2003, 15: 23-6.
- [7] Fazekas F, Schmidt R, Scheltens P. Pathophysiologic mechanisms in the development of age-related white matter changes of the brain [J]. Dement Geriatr Cogn Disord, 1998, 9(1): 2-5.
- [8] 赵秀秀, 沈春子, 谢新欣, 等. 皮质下缺血性血管病患者血小板聚集功能的变化及其意义 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(9): 662-7.
- [9] Xu X, Gao Y, Liu R, et al. Progression of white matter hyperintensities contributes to lacunar infarction [J]. Aging Dis, 2018, 9(3): 444-52.
- [10] 王雪莹, 李楠, 郭佳桐, 等. 基于分类树模型对高尿酸血症的影响因素分析 [J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 23(11): 1364-9.
- [11] 黄一宁. 中国脑小血管病诊治共识 [J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(10): 838-44.

- [12] Khalil A , Fulop T , Berrougui H. Role of Paraoxonase1 in the regulation of high-density lipoprotein functionality and in cardiovascular protection [J]. *Antioxid Redox Signal* , 2021 , 34(3) : 191 – 200.
- [13] Kotur-Stevuljević J , Vekić J , Stefanović A , et al. Paraoxonase 1 and atherosclerosis - related diseases [J]. *Biofactors* , 2020 , 46(2) : 193 – 205.
- [14] Perla-Kaján J , Borowczyk K , Głowacki R , et al. Paraoxonase 1 Q192R genotype and activity affect homocysteine thiolactone levels in humans [J]. *FASEB J* , 2018 , 32(11) : 6019 – 24.
- [15] Deakin S P , James R W. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1 [J]. *Clin Sci (Lond)* , 2004 , 107(5) : 435 – 47.
- [16] Dadachanji R , Shaikh N , Khavale S , et al. PON1 polymorphisms are associated with polycystic ovary syndrome susceptibility , related traits , and PON1 activity in Indian women with the syndrome [J]. *Fertil Steril* , 2015 , 104(1) : 207 – 16.
- [17] 刘晓燕 , 王曼知 , 陈芳 , 等. 对氧磷酶1 基因 Q192R 和 L55M 位点多态性与川崎病冠状动脉损伤的相关性 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志* 2020 , 34(5) : 470 – 3.

Study on the correlation between subcortical ischemic vascular disease and paraoxonase 1 gene polymorphisms

Gao Wenping¹ , Song Lili² , Wang Yao² , et al

(¹Dept of Neurology , The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230001;

²Dept of Neurology , Anhui NO. 2 People's Hospital , Hefei 230041)

Abstract Objective To investigate the correlation between subcortical ischemic vascular disease (SIVD) and paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphism. **Methods** Sixty-five SIVD patients and 35 medical examiners in the same period were included as SIVD group and control group , respectively. The Fazekas classification and the number of luminal infarcts (LI) were evaluated according to the MRI findings of the head , and the SIVD group was divided into the WML group and the LI group. According to the degree of brain damage , they were divided into mild disease group , moderate disease group and severe disease group. Sanger sequencing method was used to determine the expression of the subject's PON1 gene at locus 192 and 55 respectively. **Results** ① The average age was higher than that of the control group ($P < 0.05$) , and the high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level was lower than that of the control group ($P < 0.05$). There was a statistically significant difference in smoking status between the SIVD group and the control group ($P < 0.05$); ② The distribution of Q192R and L55M genotypes in the SIVD group and the control group conformed to the Hardy-Weinberg equilibrium law; ③ The difference of PON1 gene Q192R and L55M genotype distribution between the SIVD group and the control group was statistically significant ($\chi^2 = 8.780$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 4.239$, $P < 0.05$). Both the R allele frequency and M allele frequency in the SIVD group were higher than those in the control group ($\chi^2 = 8.765$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 4.926$, $P < 0.05$); ④ In the WML group and the LI group , the R allele frequency of the severe disease group was higher than that of the moderate disease group and the mild disease group ($P < 0.0167$) , and the M allele frequency of the moderate disease group and the severe disease group were both higher than that of mild disease group ($P < 0.0167$); ⑤ Multivariate Logistic regression analysis showed that age , smoking , and carrying PON1 gene R and M alleles were all independent risk factors for the risk of SIVD ($P < 0.05$). **Conclusion** The pathogenesis of SIVD may be related to the difference in the expression of the PON1 gene at locus 192 and 55. Carrying R and M alleles at this locus may promote the pathogenesis of SIVD. These findings provide a certain theoretical basis for finding new targets for the prevention and treatment of SIVD.

Key words subcortical ischemic vascular disease; paraoxonase 1 gene; gene polymorphism