

血载脂蛋白 E 与血浆同型半胱氨酸水平和痴呆患者病情严重程度及分类的关系

裴文意^a, 蒋浩明^a, 谢骊^b

(上海市第一人民医院宝山分院, a 老年科, b 检验科, 上海 200940)

[摘要] **目的** 分析血载脂蛋白 E(ApoE) 基因型和血浆同型半胱氨酸(Hcy) 水平与痴呆患者病情严重程度及分类的关系。**方法** 选择被确诊的 88 例痴呆患者为研究组, 选取同期进行体检的 88 例健康老年人为对照组。采用 PCR-RELP 检测 ApoE 基因分型; 采用荧光化学发光法检测 Hcy 水平; 采用 Pearson 相关性分析 ApoE 基因分型和 Hcy 水平与痴呆患者病情严重程度之间的相关性。**结果** 不同严重程度痴呆患者的 Hcy 水平均显著高于对照组($P < 0.05$); 中度和重度痴呆患者的 Hcy 水平显著高于轻度痴呆患者($P < 0.05$), ApoE ϵ 4 等位基因频率显著高于对照组($P < 0.05$); 不同类型痴呆患者的血清 Hcy 水平均显著高于对照组($P < 0.05$), 且血管性痴呆(VD) 患者的血清 Hcy 水平显著高于帕金森病痴呆(PDD) 和阿尔茨海默病(AD) 患者($P < 0.05$); AD 患者的 ApoE ϵ 3 等位基因频率显著高于对照组($P < 0.05$), AD 和 VD 患者的 ApoE ϵ 4 等位基因频率显著高于对照组和 PDD 患者($P < 0.05$); 痴呆患者 ApoE ϵ 4 等位基因频率升高和 Hcy 水平升高与痴呆患者病情严重程度呈显著正相关关系($r = 0.223, P < 0.001; r = 0.748, P < 0.001$)。**结论** 痴呆患者 ApoE ϵ 4 等位基因频率升高和 Hcy 水平升高与痴呆患者病情严重程度呈显著正相关关系。

[关键词] 痴呆; 半胱氨酸; 载脂蛋白 E 类; 基因频率; 危险因素

DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2020.01.015

Relationship between serum apolipoprotein E, Hcy levels and the disease severity, types of dementia patients

Pei Wenyi*, Jiang Haoming, Xie Li (* Department of Geriatrics, Baoshan Branch of Shanghai First People's Hospital, Shanghai 200940, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the relationship between serum apolipoprotein E (ApoE) genotype, plasma-homocysteine (Hcy) levels and the disease severity and types of dementia patients. **Methods** A total of 88 dementia patients confirmed in the hospital were enrolled. Another 88 healthy elderly patients who underwent physical examination in the same period were enrolled as control group. ApoE genetic typing was detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RELP). Hcy level was detected by fluorescence chemiluminescence method. Pearson correlation analysis was performed to analyze correlation between ApoE genetic typing, Hcy level and disease severity of dementia patients. **Results** The serum Hcy levels of dementia patients with different severity were significantly higher than those of control group ($P < 0.05$). The Hcy levels of patients with moderate and severe dementia were significantly higher than those of patients with mild dementia ($P < 0.05$). The ApoE ϵ 4 allele frequency was significant higher than that in control group ($P < 0.05$). The serum Hcy levels of patients with different types of dementia were significantly higher than those of control group ($P < 0.05$). The level of serum Hcy in VD patients was significantly higher than that in PDD and AD patients ($P < 0.05$). The ApoE ϵ 3 allele frequency in AD patients was significantly higher than that in control group ($P < 0.05$). The ApoE ϵ 4 allele frequency in AD and VD patients was significantly higher than that in control group and PDD patients ($P < 0.05$). The increase of ApoE ϵ 4 allele frequency and increase of Hcy level in dementia patients were significantly positively correlated with disease severity of dementia patients ($r = 0.223, P < 0.001, r = 0.748, P < 0.001$). **Conclusion** The increase of ApoE ϵ 4 allele frequency and increase of serum Hcy level are correlated with disease severity of dementia patients.

[Keywords] Dementia; Cysteine; Apolipoproteins E; Gene frequency; Risk factors

痴呆是一组以认知功能障碍为主的慢性进行性智能障碍综合征,根据其病因可分为神经系统变性痴呆(阿尔茨海默病、帕金森病等)和非变性痴呆(血管性痴呆等)^[1]。目前,临床尚无治疗痴呆的特效药物,主要以改善认知和对症治疗为主^[2]。分析痴呆发生发展的机制,寻找与痴呆相关的分子标志物,对于痴呆的诊断、治疗和预后具有重要意义。载脂蛋白 E(ApoE)可以参与脂蛋白合成、分泌和代谢等,参与调节机体的多种生物学功能^[3]。研究^[4]显示,ApoE 基因型与患者认知功能有关,参与神经系统的正常生长和损伤后修复过程。血浆同型半胱氨酸(Hcy)是蛋氨酸代谢的中间产物,可用于预测老年痴呆的危险^[5]。临床研究^[6]表明,血浆 Hcy 水平与心脑血管疾病、糖尿病等疾病密切相关,其水平升高是痴呆的独立危险因素。本研究分析了 ApoE 基因型和血清 Hcy 水平与痴呆患者病情严重程度和分类之间的相关性,旨在明确其在痴呆发生发展中的作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2017年9月到2018年12月在我院被确诊的痴呆患者88例,男54例,女34例;年龄范围70~94岁,年龄(84.72±5.82)岁。根据《精神疾病诊断和统计手册》进行痴呆分类,阿尔茨海默病(AD)患者35例、血管性痴呆(VD)患者28例、帕金森病痴呆(PDD)患者25例。采用简易智力状态检查量表(MMSE)^[7]将患者分为轻度38例,MMSE≥21分;中度31例,中度MMSE 10~20分;重度19例,MMSE≤9分。选取同期进行体检的88例健康老年人为对照组,男52例,女36例,年龄70~94岁,年龄(83.46±5.43)岁。痴呆患者与非痴呆患者的性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:符合美国《精神疾病诊断和统计手册》第4版(DSM-IV-TR)中痴呆诊断标准^[8],均获得患者或家属的知情同意,本研究通过医院医学伦理委员会审核。排除标准:患者

存在其他精神障碍疾病(抑郁症、精神发育迟缓等);合并急性严重感染、明显肝肾功能不全;合并血液系统或免疫系统疾病者。

1.3 观测指标 分析入院病例,收集患者性别、年龄、体质指数(BMI)、糖尿病病程、心血管病史等资料。所有患者于清晨空腹采血3 mL,离心(3 500 r/min,10 min),取血浆,采用荧光化学发光法检测Hcy 浓度,严格按照试剂盒操作说明进行操作。清晨空腹采血2~3 mL 抗凝,采用基因组提取试剂盒(上海钰博生物科技有限公司)提取血液样本的DNA,采用博日 FQD-96A 荧光定量 PCR 仪检测 ApoE 基因分型,按照人类 SLC01B1&ApoE 基因检测试剂盒(武汉友芝友医疗科技有限公司)进行操作,进行荧光定量 PCR 扩增^[9],根据荧光扩增曲线确定 ApoE 基因分型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件对所得数据进行分析。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对计量资料首先进行正态性检验,如果各组均满足正态性且两组间方差齐,采用方差分析比较组间差异性,否则行非参数检验。计数资料以例数及率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。此外,采用 Pearson 相关性分析 ApoE 基因型和 Hcy 水平与痴呆患者病情严重程度之间的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同程度痴呆患者的血 Hcy 水平 不同严重程度痴呆患者的 Hcy 水平均显著高于对照组($P<0.05$);中度和重度痴呆患者的 Hcy 水平均显著高于轻度痴呆患者($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同程度痴呆患者的 ApoE 基因型及等位基因频率 中度和重度痴呆患者的 ApoEε4 等位基因频率显著高于对照组。见表2。

2.3 不同类型痴呆患者的血清 Hcy 水平 不同类型痴呆患者的血清 Hcy 水平均显著高于对照组($P<0.05$);VD 患者的血清 Hcy 水平显著高于 PDD 和 AD 患者($P<0.05$)。见表3。

表1 不同程度痴呆患者的血 Hcy 水平、年龄、既往病史的比较

组别	例数	年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	糖尿病史[例(%)]	高血压史[例(%)]	Hcy($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)
对照组	88	83.46±5.43	38(43.18)	53(60.23)	9.18±2.71
轻度痴呆组	38	84.22±5.82	17(43.18)	24(63.16)	14.64±4.13 ^a
中度痴呆组	31	85.63±5.94	15(44.74)	20(64.52)	18.95±4.72 ^{ab}
重度痴呆组	19	86.74±5.26	9(47.37)	13(68.42)	21.84±4.86 ^{ab}
$F(\chi^2)$ 值		1.317	(0.305)	(0.539)	95.212
P 值		0.103	0.959	0.910	<0.001

注:Hcy 为同型半胱氨酸,下表同;与对照组比较,^a $P<0.05$;与轻度痴呆组比较,^b $P<0.05$

表 2 不同程度痴呆患者的 ApoE 基因型及等位基因频率

组别	例数	基因型(例)					等位基因[例(%)]		
		ε2/3	ε2/4	ε3/3	ε3/4	ε4/4	ε2	ε3	ε4
对照组	88	9	4	61	12	2	13(7.39)	143(81.25)	20(11.36)
轻度痴呆组	38	4	2	22	8	2	6(7.89)	56(73.68)	14(18.42)
中度痴呆组	31	3	1	16	8	3	4(6.45)	43(69.35)	15(24.19) ^a
重度痴呆组	19	2	0	9	5	3	2(5.26)	25(65.79)	11(28.95) ^a

注:与对照组比较,^a*P*<0.05

表 3 不同类型痴呆患者的血清 Hcy 水平、年龄、既往病史的比较

组别	例数	年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	糖尿病史[例(%)]	高血压史[例(%)]	Hcy($\bar{x} \pm s$,μmol/L)
对照组	88	83.46±5.43	38(43.18)	53(60.23)	9.18±2.71
帕金森病痴呆组	25	86.57±5.26	13(52.00)	17(68.00)	15.84±4.65 ^a
阿尔茨海默病组	35	83.92±5.82	15(42.86)	22(62.86)	16.95±4.37 ^a
血管性痴呆组	28	85.63±5.94	13(46.43)	18(64.29)	20.34±4.42 ^{abc}
<i>F</i> (χ^2)值		1.132	(0.700)	(0.557)	98.242
<i>P</i> 值		0.435	0.873	0.906	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与帕金森病痴呆组比较,^b*P*<0.05;与阿尔茨海默病组比较,^c*P*<0.05

表 4 不同类型痴呆患者的 ApoE 基因型及等位基因频率

组别	例数	基因型(例)					等位基因[例(%)]		
		ε2/3	ε2/4	ε3/3	ε3/4	ε4/4	ε2	ε3	ε4
对照组	88	9	4	61	12	2	13(7.39)	143(81.25)	20(11.36)
帕金森病痴呆组	25	3	1	17	2	1	4(8.00)	40(80.00)	6(12.00)
阿尔茨海默病组	35	4	1	16	9	5	5(7.14)	45(64.29) ^a	20(28.57) ^{ab}
血管性痴呆组	28	2	1	14	9	2	3(5.36)	39(69.64)	14(25.00) ^{ab}

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与帕金森病痴呆组比较,^b*P*<0.05

2.4 不同类型痴呆患者的 ApoE 基因型及等位基因频率 AD 患者的 ApoEε3 等位基因频率高于对照组,AD 和 VD 患者的 ApoEε4 等位基因频率高于对照组和 PDD 患者。见表 4。

2.5 血 ApoE 和 Hcy 与痴呆程度类型之间的相关性分析 采用 Pearson 相关性分析 ApoE 基因型和 Hcy 水平与痴呆患者病情严重程度之间的相关性。变量赋值:轻度痴呆=1,中度痴呆=2;重度痴呆=3;不携带 ε3 等位基因=0,携带 ε3 等位基因=1;不携带 ε4 等位基因=0,携带 ε4 等位基因=1。痴呆患者 ApoE ε4 等位基因频率升高和 Hcy 水平升高与痴呆程度呈显著正相关关系(*r*=0.223,*P*<0.001;*r*=0.748,*P*<0.001)。见表 5。

表 5 血 ApoE 和 Hcy 与痴呆程度类型之间的相关性分析

类别	痴呆程度	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
ApoEε3	-0.101	0.058
ApoEε4	0.223	<0.001
Hcy	0.748	<0.001

3 讨论

痴呆是一种获得性认知障碍综合征,其发病机制目前尚不清楚,分析影响痴呆发生发展的分子标志物具有重要临床意义。目前痴呆常见的类型包括 AD、VD 及 PDD 等。VD 是指由于缺血性卒中、脑缺血缺氧等引起的认知功能障碍^[10]。AD 是一种中枢

神经系统退行性疾病,临床多表现为记忆、认知、执行等功能障碍以及人格和行为改变等^[11]。PDD 是一种慢性中枢神经系统变性疾病,临床主要表现为记忆、认知等功能障碍^[12]。本研究发现,不同类型痴呆患者的血清 Hcy 水平明显高于非痴呆患者,且在 VD 中的水平明显高于 AD 和 PDD 患者。Hcy 是蛋氨酸代谢的中间产物,在生理状况下,其血浆浓度维持在较低水平,其水平升高可增加糖尿病、冠心病、脑血管病等发病的风险^[13]。Hainsworth 等^[14]的研究显示,老年痴呆患者的血浆 Hcy 水平明显高于健康对照组,是痴呆发病的重要危险因素,与本研究的结论基本一致,证实血浆 Hcy 与痴呆的发生发展有关。王婵娟等^[15]的研究发现,在不同类型痴呆患者中,VD 患者的血浆 Hcy 水平明显高于其他类型痴呆患者,与本研究结果基本一致,可能是由于血浆高 Hcy 水平是导致脑血管疾病的危险因素,多种因素共同作用直接和间接的加重了 VD 的形成和发展,提示监测 VD 患者的 Hcy 水平来评估病情发展更具有临床意义。本研究中,血浆 Hcy 水平与痴呆患者的疾病程度呈显著正相关。秦敬翠等^[16]的研究显示,Hcy 水平与痴呆患者的认知功能有关,其水平升高可加重中患者的认知功能障碍,与本研究结果基本一致,提示临床可监测痴呆患者的 Hcy 水平,正确评估病情发生发展,早发现早干预。

本研究中,AD 和 VD 患者的 ApoE ϵ 4 等位基因频率明显高于非痴呆患者和 PDD 患者,且 AD 患者中 ApoE ϵ 4 等位基因频率与 VD 患者差异无统计学意义。ApoE 基因有 3 种常见的等位基因,分别为 ϵ 2、 ϵ 3 和 ϵ 4,分别编码载脂蛋白亚型 ϵ 2、 ϵ 3 和 ϵ 4, ApoE 基因多态性与痴呆的发生发展密切相关^[17]。Kim 等^[18]的研究显示,ApoE ϵ 4 等位基因是 AD 最常见的危险因素,与本研究结果基本一致,证实 ApoE ϵ 4 等位基因与 AD 的发生发展密切相关。Kjeldsen 等^[19]的研究显示,ApoE ϵ 4 等位基因在 VD 患者中出现的频率高于健康对照组,与 VD 的发生发展相关,与本研究结果基本一致,证实 ApoE ϵ 4 等位基因与 VD 的发生发展有关。王京伟等^[20]的研究显示,ApoE 基因型分布和基因频率在 PDD 患者和健康对照组中无显著差异,与本研究结果基本一致,提示临床可通过监测 AD 和 VD 患者的血 ApoE 基因型来判断病情发生发展。本研究中,AD 和 VD 患者血 ApoE ϵ 4 等位基因频率与病程严重程度呈显著正相关。曹萌等^[21]的研究显示,神经元胞体及轴

突中的 ApoE ϵ 4 可引起微管解聚,抑制轴突生长,加重认知功能障碍,ApoE ϵ 4 等位基因频率与认知功能障碍显著相关,与本研究结果基本一致,提示临床可监测痴呆患者的 ApoE 基因型分布和基因频率,评估痴呆的发生发展,及早进行干预治疗。

综上所述,T2DM 并发血管病变患者的糖脂代谢紊乱,炎症因子的水平升高,Lp-PLA₂ 与血管并发症发生的相关指标 HbA_{1c}、IL-6、CRP 呈显著正相关关系,对 T2DM 患者血管并发症的发生具有较高的诊断价值。

参考文献

- [1] SAMPSON E L, BLANCHARD M R, JONES L, et al. Dementia in the acute hospital: prospective cohort study of prevalence and mortality [J]. Br J Psychiatry, 2018, 195 (1): 61-66.
- [2] KRATZ T. The diagnosis and treatment of behavioral disorders in dementia [J]. Dtsch Arztebl Int, 2017, 114 (26): 447-454.
- [3] MERHI-SOUSSI F, KWAK B R, MAGNE D, et al. Interleukin-1 plays a major role in vascular inflammation and atherosclerosis in male apolipoprotein E-knockout mice [J]. Cardio Res, 2017, 66 (3): 583-593.
- [4] FENESI B, FANG H, KOVACEVIC A, et al. Physical exercise moderates the Relationship of Apolipoprotein E (APOE) Genotype and Dementia Risk: A population-based study [J]. JAD, 2017, 56 (1): 297-303.
- [5] LONGONI A, BELLAVER B, BOBERMIN L D, et al. Homocysteine induces glial reactivity in adult rat astrocyte cultures [J]. Mol Neurobiol, 2017, 55 (8): 1-11.
- [6] ZOU J, CHEN Z, LIANG C, et al. Trefol Factor 3, cholinesterase and homocysteine: potential predictors for parkinson's disease dementia and vascular parkinsonism dementia in advanced stage [J]. Aging Dis, 2018, 9 (1): 51-65.
- [7] 陆卉, 刘帅, 刘淑玲, 等. 国产与进口盐酸多奈哌齐片治疗阿尔茨海默病的疗效比较 [J]. 中华老年医学杂志, 2015, 34 (1): 47-50.
- [8] 沐楠, 饶冬萍, 张若曦, 等. 痴呆伴发精神行为症状的临床研究 [J]. 实用医学杂志, 2017, 33 (10): 83-86.
- [9] 王京伟, 李艳, 乔斌, 等. 华中地区汉族人群 SLC01B1 与 APOE 基因多态性分析及临床意义 [J]. 实用医学杂志, 2018, 34 (18): 65-70.
- [10] KERENSHAUL H, SPINRAD A, WEINER A, et al. A Unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease [J]. Cell, 2017, 169 (7): 1276-1290.
- [11] APPLETON J P, SCUTT P, SPRIGG N, et al. Hyperchol-