

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.22.016

乙醛脱氢酶 2 基因多态性与急性脑梗死的相关性研究

司英丽,张冬青[△]

中国人民解放军总医院第四医学中心检验科,北京 100048

摘要:**目的** 探讨乙醛脱氢酶 2(ALDH2)基因多态性与急性脑梗死(ACI)的相关性,同时观察不同病灶大小 ACI 患者 4-羟基壬烯醛(4-HNE)水平。**方法** 选取该院 2019 年 8 月至 2021 年 8 月收治的 130 例 ACI 患者作为 ACI 组,根据头颅 CT 或 MRI 检查结果所示病灶大小将 ACI 组进一步分为腔隙性脑梗死组(33 例)、小梗死组(41 例)和大梗死组(56 例)。另选取同期 130 例体检健康者为对照组,采用聚合酶链反应-荧光探针法对 ACI 组与对照组人群 ALDH2 基因位点的多态性进行定性检测。比较 ACI 组与对照组,以及不同病灶大小 ACI 患者血清 4-HNE 水平。**结果** ACI 组 ALDH2 突变基因型 AA 比例高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.599, P<0.05$)。ACI 组 A 等位基因频率(29.6%,77/260)高于对照组的 21.5%(56/260),差异有统计学意义($\chi^2=4.455, P=0.035$)。大梗死组 ALDH2 突变基因型 AA 比例高于腔隙性脑梗死组,差异有统计学意义($P<0.05$)。大梗死组 A 等位基因频率(35.7%,40/112)高于腔隙性脑梗死组的 21.2%(14/66),差异有统计学意义($\chi^2=4.133, P<0.05$)。ACI 组 4-HNE 水平为(17.79±7.62)ng/mL,高于对照组的(11.83±7.52)ng/mL,差异有统计学意义($t=6.348, P<0.05$);腔隙性脑梗死组 4-HNE 水平为(16.29±8.71)ng/mL,低于小梗死组的(18.30±5.27)ng/mL 和大梗死组的(18.31±8.36)ng/mL,差异均有统计学意义($t=-1.225, -1.187, P<0.05$)。ACI 组中 ALDH2 基因纯合突变基因型 AA 患者血清 4-HNE 水平为(32.65±6.44)ng/mL,高于纯合野生型 GG 患者的(13.24±3.25)ng/mL 和杂合基因型 GA 患者的(19.89±2.39)ng/mL,差异有统计学意义($t=11.228, 6.670, P<0.05$)。**结论** ALDH2 基因多态性与 ACI 的发生密切相关,血清 4-HNE 水平升高会加大 ACI 的发病风险。

关键词:急性脑梗死; 乙醛脱氢酶 2; 基因多态性; 4-羟基壬烯醛

中图分类号:R743.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2023)22-3332-04

Association study between aldehyde dehydrogenase 2 gene polymorphism and acute cerebral infarction

SI Yingli, ZHANG Dongqing[△]

Department of Clinical Laboratory, the Fourth Medical Center of PLA

General Hospital, Beijing 100048, China

Abstract:**Objective** To investigate the correlation between aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) gene polymorphism and acute cerebral infarction (ACI), and to observe the concentration of 4-hydroxynonenal (4-HNE) in patients with different lesion size. **Methods** A total of 130 patients with ACI admitted to the Fourth Medical Center of PLA General Hospital from August 2019 to August 2021 were selected as the ACI group, according to the lesion size of head CT or MRI, the ACI group was further divided into lacunar infarction group (33 cases), small infarction group (41 cases) and large infarction group (56 cases), and 130 healthy people in the same period were selected as the control group. Polymerase chain reaction-fluorescence probe method was used to detect the polymorphism of ALDH2 gene locus in the ACI group and control group. The serum 4-HNE level between ACI group and control group, patients with different lesion size was compared. **Results** The proportion of ALDH2 mutant genotype AA in ACI group was higher than that in control group, the difference was statistically significant ($\chi^2=4.599, P<0.05$). The frequency of A allele in the ACI group (29.6%, 77/260) was higher than that in the control group (21.5%, 56/260), the difference was statistically significant ($\chi^2=4.455, P=0.035$). The proportion of ALDH2 mutant genotype AA in the large infarction group was higher than that in the lacunar infarction group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The frequency of A allele in the large infarction group (35.7%, 40/112) was higher than that in the lacunar infarction group (21.2%, 14/66), the difference was statistically significant ($\chi^2=4.133, P<0.05$). The

level of 4-HNE in ACI group $[(17.79 \pm 7.62) \text{ ng/mL}]$ was higher than that in control group $[(11.83 \pm 7.52) \text{ ng/mL}]$, the difference was statistically significant ($t = 6.348, P < 0.05$). The level of 4-HNE in lacunar infarction group $[(16.29 \pm 8.71) \text{ ng/mL}]$ was lower than that in small infarction group $[(18.30 \pm 5.27) \text{ ng/mL}]$ and large infarction group $[(18.31 \pm 8.36) \text{ ng/mL}]$, the differences were statistically significant ($t = -1.225, -1.187, P < 0.05$). In ACI group, the serum 4-HNE level of ALDH2 gene homozygous mutant genotype AA patients $[(32.65 \pm 6.44) \text{ ng/mL}]$ was higher than that of homozygous wild type GG patients $[(13.24 \pm 3.25) \text{ ng/mL}]$ and heterozygous genotype GA patients $[(19.89 \pm 2.39) \text{ ng/mL}]$, the differences were statistically significant ($t = 11.228, 6.670, P < 0.05$). **Conclusion** ALDH2 gene polymorphism relates closely to the occurrence of ACI, and the increase of serum 4-HNE may increase the risk of ACI.

Key words: acute cerebral infarction; aldehyde dehydrogenase 2; gene polymorphism; 4-hydroxynonenal

脑卒中是脑血管疾病中的常见病和高发病,全球疾病负担数据分析表明,脑卒中的发病率和病死率均呈上升趋势^[1]。随着我国老龄化加剧,脑卒中的发病率也快速上升,其中急性脑梗死(ACI)占比较大^[2],严重影响患者的生存质量。ACI是指由各种原因导致的脑血管狭窄,甚至闭塞,而引起脑组织缺血、缺氧性改变,进而造成局部区域脑组织功能缺损的症状和体征^[3]。ACI具有较高的致残率及致死率,且多发于中老年人,严重危害其生命健康^[4],给社会和家庭带来沉重的负担^[5-6]。乙醛脱氢酶 2(ALDH2)参与乙醇的代谢,能够促进毒性中间产物乙醛和 4-羟基壬烯醛(4-HNE)的转化,具有明确的解毒作用,ALDH2 可能通过清除毒性代谢醛类等发挥神经保护作用^[7]。有研究表明,ALDH2 编码基因多态性及氧化应激产物 4-HNE 水平升高是脑卒中的易感因素^[8],并认为 4-HNE 可能是缺血性脑卒中的潜在生物标志物之一^[9]。本研究对不同临床分组的 ACI 患者和健康人群的 ALDH2 基因多态性进行分析,观察 ALDH2 基因多态性在 ACI 患者中的分布情况,以期为临床提供参考依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 8 月至 2021 年 8 月在本院神经内科就诊的 130 例 ACI 患者作为 ACI 组,其中男 96 例,女 34 例;年龄 48~82 岁,平均 (66.3 ± 11.9) 岁。纳入标准:(1)均符合中华神经科学学会制定的 ACI 诊断标准^[10];(2)均为初次发病;(3)均经 CT 或 MRI 检查,有颈动脉系统和(或)椎-基底动脉系统的症状和体征。排除标准:(1)脑实质出血、出血性脑梗死、高血压脑病、短暂性脑缺血发作者;(2)近 3 个月内使用过抗癫痫药物、多巴胺类药物者;(3)存在血液系统疾病、恶性肿瘤、严重肝肾功能不全及心力衰竭、感染者。根据头颅 CT 或 MRI 检查结果所示病灶大小将 ACI 组进一步分为腔隙性脑梗死组(33 例,病灶最大径小于 1.5 cm)、小梗死组(41 例,病灶最大径 1.5~3.0 cm, ≥ 1 个脑解剖部位)和大梗死组(56 例,病灶最大径大于 3.0 cm, ≥ 2 个脑解剖部位)。另

选择同期体检中心 130 例体检健康者作为对照组,其中男 93 例,女 37 例,年龄 49~80 岁,平均 (64.3 ± 7.3) 岁。两组性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。所有研究对象及其家属均知情同意本研究并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会审核批准。

1.2 仪器与试剂 使用主要仪器包括 LightCycler[®] 480 II 型实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测仪(瑞士 Roche 公司)、全自动生化分析仪 Roche cobas c701(瑞士 Roche 公司),使用主要试剂盒包括血液基因组提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)、ALDH2 基因多态性检测试剂盒(苏州旷远生物分子技术有限公司)、4-HNE 检测试剂盒(上海邦奕生物科技有限公司)。所有步骤均严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采集所有研究对象空腹静脉血 7 mL,其中 2 mL 使用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝, -20℃ 保存用于提取 DNA;另外 5 mL 于 2 h 内以 3 500 r/min 离心 5 min,分离上层血清, -80℃ 冰箱保存用于检测血清 4-HNE 水平。

1.3.2 DNA 提取 按照血液基因组提取试剂盒说明书提取 DNA,使用美国 Nano Drop 2000 分光光度计进行核酸标本质量的评估和浓度的检测,选取吸光度($A_{260}/A_{280} \text{ nm}$)比值在 1.7~1.9 区间的标本用于 ALDH2 基因多态性的检测。

1.3.3 基因多态性分析 采用 PCR-荧光探针法进行基因多态性分析,按照 ALDH2 基因多态性检测试剂盒说明书操作,对研究对象的 ALDH2 基因位点进行检测,同时做空白对照和弱阳性对照。PCR 反应总体积为 25 μL ,反应条件:预变性 95℃、3 min,变性 95℃、20 s,退火 58℃、30 s,延伸 65℃、45 s;10 个循环:变性 95℃、20 s,退火 58℃、30 s;双通道采集荧光信号;65℃、45 s,30 个循环。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以

$\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PCR-荧光探针法检测基因型结果 ALDH2 基因位点突变产生 3 种基因型:纯合野生型 GG、纯合突变型 AA 和杂合突变型 GA。检测纯合野生型标本时,FAM 检测通道(野生型)结果为阳性,VIC 检测通道(突变型)结果为阴性;检测纯合突变型标本时,FAM 检测通道结果为阴性,VIC 检测通道结果为阳性;检测杂合突变型标本时,FAM 和 VIC 检测通道结果均为阳性。

2.2 ACI 组与对照组 ALDH2 基因的多态性比较 ACI 组 ALDH2 突变基因型 AA 比例高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.599,P<0.05$)。ACI 组 A 等位基因频率(29.6%,77/260)高于对照组的 21.5%(56/260),差异有统计学意义($\chi^2=4.455,P=0.035$)。见表 1。

表 1 ACI 组与对照组 ALDH2 基因的多态性比较[n(%)]				
组别	n	GG	GA	AA
对照组	130	79(60.8)	46(35.4)	5(3.8)
ACI 组	130	67(51.5)	49(37.7)	14(10.8)
χ^2		2.249	0.149	4.599
P		0.134	0.699	0.032

2.3 不同病灶大小组 ALDH2 基因的多态性比较 大梗死组 ALDH2 突变基因型 AA 比例高于腔隙性脑梗死组,差异有统计学意义($P<0.05$)。大梗死组 A 等位基因频率(35.7%,40/112)高于腔隙性脑梗死组的 21.2%(14/66),差异有统计学意义($\chi^2=4.133,P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同病灶大小组 ALDH2 基因的多态性比较[n(%)]				
组别	n	GG	GA	AA
腔隙性脑梗死组	33	20(60.6)	12(36.4)	1(3.0) ^a
小梗死组	41	21(51.2)	17(41.5)	3(7.3)
大梗死组	56	26(46.4)	20(35.7)	10(17.9)
χ^2		0.218	0.004	4.214
P		0.641	0.951	0.040

注:与大梗死组比较,^a $P<0.05$ 。

2.4 各组 4-HNE 水平比较 ACI 组 4-HNE 水平为(17.79±7.62)ng/mL,高于对照组的(11.83±7.52)ng/mL,差异有统计学意义($t=6.348,P<0.05$);腔隙性脑梗死组 4-HNE 水平为(16.29±8.71)ng/mL,低于小梗死组的(18.30±5.27)ng/mL 和大梗死组的(18.31±8.36)ng/mL,差异均有统计学意义($t=-1.225,-1.187,P<0.05$)。

2.5 不同基因型 ACI 患者的 4-HNE 水平比较

ACI 组中 ALDH2 基因纯合突变基因型 AA 患者血清 4-HNE 水平为(32.65±6.44)ng/mL,高于纯合野生型 GG 患者的(13.24±3.25)ng/mL 和杂合基因型 GA 患者的(19.89±2.39)ng/mL,差异有统计学意义($t=11.228,6.670,P<0.05$)。

3 讨 论

ACI 是指脑组织的血液供应突然中断而造成的脑组织坏死,主要特征是起病急、病情重,表现为头痛、耳鸣、呕吐等症状,对人们的健康与社会的发展均造成了严重威胁。脑梗死的发病不仅与年龄、性别、饮食习惯、生活环境等因素有关,而且与遗传因素、体内脂质过氧化产物的堆积也有关。

近年来,氧化应激学说已成为缺血性脑卒中研究的热点,脂质过氧化物反应中产生的主要物质是醛基类产物,可与细胞内许多大分子相互作用产生多种化合物,导致 DNA 损伤和蛋白质失活而对组织造成损伤^[11],4-HNE 多来源于不饱和脂肪酸,在氧化应激反应过程中由脂质过氧化产生,4-HNE 大量在体内蓄积,毒性很大,会引发各类疾病^[12-13]。参与 4-HNE 代谢的酶系统主要有乙醛脱氢酶、醛糖还原酶和谷胱甘肽-S-转移酶,其中乙醛脱氢酶的主要作用是将醛类物质催化为酸类物质,即把有害的物质转变为无害的物质。乙醛脱氢酶包括许多种同工酶,ALDH2 是代谢活性最强的同工酶,主要分布在人的大脑、肺、肝脏、心脏等组织,人 ALDH2 编码基因位于第 12 号染色体,第 1 510 位碱基鸟嘌呤(G)被碱基腺嘌呤(A)替换,致使编码的谷氨酸变为赖氨酸^[14],基因突变最终导致 ALDH2 结构发生改变,突变 ALDH2 与辅酶 NAD(P)⁺的结合受损,其中杂合突变型 ALDH2 的酶活性下降,仅为正常活性的 30%~40%,纯合突变型 ALDH2 的酶活性几乎丧失^[15],因此,会导致 4-HNE 等醛基类产物的积累。ALDH2 基因也被认为是缺血性脑卒中及高血压、糖尿病、大动脉粥样硬化的易感基因之一^[16-18]。

本研究结果表明,ACI 组 A 等位基因频率(29.6%,77/260)高于对照组的 21.5%(56/260),差异有统计学意义($\chi^2=4.455,P=0.035$)。本研究同时对各组血清 4-HNE 水平进行分析,大梗死组 ALDH2 突变基因型 AA 比例高于腔隙性脑梗死组,差异有统计学意义($P<0.05$)。大梗死组 A 等位基因频率(35.7%,40/112)高于腔隙性脑梗死组的 21.2%(14/66),差异有统计学意义($\chi^2=4.133,P<0.05$)。ACI 组 ALDH2 基因纯合突变基因型 AA 患者血清 4-HNE 水平为(32.65±6.44)ng/mL,高于纯合野生型 GG 患者的(13.24±3.25)ng/mL 和杂合基因型 GA 患者的(19.89±2.39)ng/mL,差异有统计学意义($t=11.228,6.670,P<0.05$)。说明携带 ALDH2 纯合突变基因与 4-HNE 水平升高显著相关,ALDH2 纯

合突变基因是缺血性脑卒中的易感基因之一^[19]。

综上所述,ALDH2 G>A 与 ACI 的发生密切相关,且纯合突变基因型 AA 与 ACI 的发生密切相关,因此,氧化应激产物 4-HNE 水平升高及其代谢酶乙醛脱氢酶编码基因 ALDH2 位点多态性(即携带纯合突变等位基因)是 ACI 的易感因素,然而本研究可能受环境因素和遗传因素影响,且样本量相对偏少,因此,仍需进一步扩大样本量进行深入研究。

参考文献

[1] 黄文胜,梁华忠. 急性脑梗死溶栓治疗研究进展[J]. 内科,2019,14(1):56-58.

[2] 黄伟,滕海英,毛媛媛,等. 肝素钠微量泵入治疗进展性脑梗死前后 TCD 改变和临床观察[J]. 卒中与神经疾病,2018,25(3):72-74.

[3] 王相报. 血浆 ADMA 水平对急性脑梗死患者早期神经功能恶化的预测价值[J]. 中风与神经疾病杂志,2021,38(1):23-27.

[4] 张东伟,孙如,张莎莎. 中西医结合治疗对脑梗死病人血液流变学、超氧化物歧化酶活性和神经功能的影响[J]. 中华中医药学刊,2017,35(2):507-509.

[5] 郑娟,张盛. 醒脑开窍法治疗急性脑梗死患者对其炎症反应递质、神经功能及超早期脑氧代谢的影响[J]. 世界中医药,2019,14(5):1294-1297.

[6] 宋珏娴,傅晓燕,李小吉,等. 基于脑卒中专病诊疗的中西医结合人工智能研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(12):1961-1963.

[7] 李小荣,鲜维,谭鑫,等. 线粒体 ALDH2 通过调控自噬对缺氧性肺动脉高压的保护机制研究[J]. 蚌埠医学院学报,2023,48(1):66-71.

[8] 邹璐,姚黎清. 心血管药物基因多态性与脑卒中相关性研究进展[J]. 医学信息,2022,35(7):15-18.

[9] 刘卫,张许,吴传亮,等. 缺血性卒中二级预防后复发的危险因素及药物干预对 4-HNE 浓度的影响[J]. 中国药房,

2021,32(8):991-995.

[10] 中华神经科学学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志,1997,13(1):3-5.

[11] AYALA A,MUNOZ M F,ARGUELS S. Lipid peroxidation: pro-duction, metabolism, and signaling mechanisms of malondialde-hyde and 4- hydroxy -2- nonenal[J]. Oxid Med Cell Longev,2014,2014:360438.

[12] 余永红,杨柳,杜艳华. 乙醛脱氢酶 2 抑制 4-HNE 对心肌梗死模型大鼠的影响及作用机制[J]. 中国老年学杂志,2021,41(13):2795-2799.

[13] 余世纪,苏晓清,王桂良,等. 血清 4-羟基壬烯醛、人软骨糖蛋白-39、肾损伤分子-1 诊断早期糖尿病肾病的临床意义研究[J]. 中国当代医药,2020,27(12):59-63.

[14] 张晓敏,刘静,高世超,等. ADH1B 和 ALDH2 基因多态性与相关疾病研究进展[J]. 检验医学,2019,34(3):271-275.

[15] HAN S Y,ZHAO X,ZHANG X Q,et al. Acetaldehyde dehydrogenase 2 rs671 polymorphism affects hypertension susceptibility and lipid profiles in a Chinese population[J]. DNA Cell Biol,2019,38(9):962-968.

[16] 钟伟清,邓伟胜,丘为. 乙醛脱氢酶 2 基因多态性与脑梗死的关系[J]. 深圳中西医结合杂志,2019,29(3):78-80.

[17] JIANG Y,HE J T,LIU H Y,et al. Association between ALDH2 rs671 polymorphism and risk of ischemic stroke:a protocol for systematic review and meta analysis [J]. Medicine (Baltimore),2020,99(21):e20206.

[18] GIBB A A,ELROD J W. Not just correlative:a new pathway defines how an ALDH2 SNP contributes to atherosclerosis[J]. J Clin Invest,2019,129(1):63-65.

[19] CHENG X,XU J,GU M,et al. Genetic variants in ALDH2 predict risk of ischemic stroke in a Chinese population[J]. Gene,2018,678(12):49-54.

(收稿日期:2023-02-10 修回日期:2023-09-05)

(上接第 3331 页)

[3] 闫晓春,陈显韬,宋小平. 仙方活命饮加减联合中药及复方多黏菌素 B 软膏外敷对儿童肛周脓肿术后创面愈合的影响[J]. 陕西中医,2022,43(11):1571-1575.

[4] 杜培欣,梅祖兵,杨巍. 红光治疗联合红油膏换药在低位单纯性肛瘘术后的疗效评价[J]. 东南国防医药,2019,21(1):26-29.

[5] 黄乃健. 中国肛肠病学[M]. 济南:山东科学技术出版社,1996:702-708.

[6] 徐跃军,郭志伟,陈艳,等. 复方多黏菌素 B 软膏联合中药坐浴对老年肛周脓肿术后病人伤口愈合效果及血清表皮生长因子表达的影响[J]. 实用老年医学,2021,35(1):41-44.

[7] 高益行. 高能窄谱红光联合喜辽妥治疗输液性静脉炎的临床疗效观察[J]. 医药前沿,2019,9(6):2.

[8] 杨建华,王晓鹏,文科,等. 中药熏洗联合窄谱红光照射促进肛周脓肿术后创面愈合的临床观察[J]. 吉林中医药,2021,41(2):213-216.

[9] 郑金坚,张燕. 三五散对复杂性肛周脓肿患者术后瘢痕形成及血清 IL-6,IL-33 水平的影响[J]. 陕西中医,2021,42(S1):42.

[10] 王传思,谢贻祥,姚磊,等. 高位肛周脓肿患者负压封闭引流前后血清 TGF-β、EGF 水平变化及意义[J]. 山东医药,2018,58(42):80-82.

(收稿日期:2023-03-20 修回日期:2023-09-02)