

锰超氧化物歧化酶 9 Ala/Val 基因多态性对冠心病的影响*

姚创利^a, 赵佳^a, 黎阳^a, 黎波^a, 陆华^a, 白妮^a, 刘琳^a, 辛渭川^b, 姜小建^a

(西安市中心医院 a. 检验科; b. 心内科, 西安 710003)

摘要:目的 研究锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)9 Ala/Val 基因多态性与 T-SOD 和 Mn-SOD 活性的关系以及对冠心病(CHD)的影响。方法 共 82 例冠心病患者和 57 例正常人参与研究,应用测序法检测两组的 Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性的基因型,应用比色法检测两组的血清 T-SOD 和 Mn-SOD 活性。结果 冠心病组的血清 T-SOD 和 Mn-SOD 活性低于对照组($t=4.83, 6.57, P$ 均 <0.05),冠心病组的 Mn-SOD 9 VV 基因型和 V 等位基因频率高于对照组($\chi^2=4.75, P<0.05$),Mn-SOD 9 VV 基因型的血清 T-SOD 和 Mn-SOD 活性低于 Mn-SOD 9 AA 基因型($t=2.96, 3.11, P$ 均 <0.05)。结论 冠心病患者的血清 T-SOD 和 Mn-SOD 活性降低, Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性通过影响 Mn-SOD 的活性进而参与冠心病的发病。

关键词:锰超氧化物歧化酶;冠心病;基因多态性

中图分类号:R541.4;Q781 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)02-001-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.001

Effects of Manganese Superoxide Dismutase 9 Ala/Val Genetic Polymorphisms on Coronary Heart Disease

YAO Chuang-li^a, ZHAO Jia^a, LI Yang^a, LI Bo^a, LU Hua^a, BAI Ni^a, LIU Lin^a, XIN Wei-chuan^b,

JIANG Xiao-jian^a (a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Cardiology, Xi'an Central Hospital, Xi'an 710003, China)

Abstract: Objective To study associations between manganese superoxide dismutase 9 Ala/Val (Mn-SOD 9 Ala/Val) genetic polymorphism and total superoxide dismutase (T-SOD) and Mn-SOD activity and the impact on coronary heart disease (CHD) were studied. **Methods** There were 82 CHD patients and 57 controls in this research. Sequencer was used to identify the genotype of Mn-SOD 9 Ala/Val genetic polymorphism and colorimeter was used to detect the serum T-SOD and Mn-SOD activity. **Results** Compared with the control group, the serum T-SOD and Mn-SOD activity of the CHD group was significantly reduced ($t=4.83, 6.57, P$ all <0.05), while the VV genotype and V allele of Mn-SOD 9 Ala/Val genetic polymorphism of the CHD group were higher ($\chi^2=4.75, P<0.05$). The serum T-SOD and Mn-SOD activity of the Mn-SOD 9 VV genotype was significantly lower than the Mn-SOD 9 AA genotype ($t=2.96, 3.11, P$ all <0.05). **Conclusion** The serum T-SOD and Mn-SOD activity in the CHD patients was reduced, Mn-SOD 9 Ala/Val genetic polymorphism was involved in the pathogenesis of CHD by influencing the Mn-SOD activity.

Keywords: manganese superoxide dismutase (Mn-SOD); coronary heart disease (CHD); genetic polymorphism

超氧化物歧化酶(SOD)是一种广泛存在于生物体中的金属蛋白酶,它可以有效清除由氧化反应产生的超氧阴离子自由基 O_2^- ,是机体重要的抗氧化剂,保护组织细胞免受过氧化损伤。按其所含的辅因子不同,可将 SOD 分为三种同工酶: Cu, Zn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) 和 EC-SOD (SOD3)。其中, Mn-SOD 是体内最重要的抗氧化酶之一。目前,人们对 Mn-SOD 两种基因多态性 9 Ala/Val 和 16 Val/Ala 研究较多。9 Ala/Val 是 Mn-SOD 的第 9 位氨基酸密码子突变导致丙氨酸(Ala, GCT)被缬氨酸(Val, GTT)所取代; 16 Val/Ala 是 Mn-SOD 的第 9 位氨基酸密码子突变导致

缬氨酸(Val, GTT)被丙氨酸(Ala, GCT)所取代。目前已有研究报道, Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性可能成为冠心病的危险因素^[1,2]。本研究拟探讨 Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性与总超氧化物歧化酶(T-SOD), Mn-SOD 活性的关系以及对冠心病(CHD)的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 随机选取 2014 年 3 月~10 月期间入住西安市中心医院的汉族无血缘关系的冠心病患者 82 例, 男性 48 例, 女性 34 例, 年龄 54~74 岁。全部病例均符合 2010 年卫生部冠状动脉粥样硬化性心脏病的诊断标准(WS 319-2010)。剔除

* 基金项目:陕西省科学技术研究发展计划项目(项目编号 2013K12-02-10)。

作者简介:姚创利(1962-),男,本科,副主任检验师,主要从事临床生物化学检验工作, E-mail: yaoel7270@163.com。

通讯作者:姜小建(1968-),男,本科,主任检验师,主要从事临床医学检验工作, E-mail: jiangxiaojian1005@126.com。

急性心肌梗死、不稳定性心绞痛、脑血管疾病、糖尿病和严重肝、肾疾病患者。对照组选取西安市中心医院体检中心的经询问病史、体检、心电图和实验室检查均无异常者,共 57 例,男性 25 例,女性 32 例,年龄 55~64 岁。

1.2 研究方法

1.2.1 血液标本采集:分别采集冠心病组和对照组的空腹外周静脉血 5 ml。其中 2 ml 全血加入枸橼酸盐抗凝剂(血液与抗凝剂比例为 1:9),用于 DNA 提取;另外 3 ml 全血加入促凝管中,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离上层血清,用 EP 管分装后与 -80℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 基因组 DNA 提取:应用北京天根生化科技有限公司生产的血液基因组 DNA 提取试剂盒(DP318),按照试剂说明书的方法进行操作。

1.2.3 Mn-SOD 基因测序:提取的基因组 DNA 送到深圳华大基因研究院进行测序,测定 Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性。

1.2.4 血清 T-SOD 和 Mn-SOD 活性测定:应用南京建成生物工程研究所生产的超氧化物歧化酶分型试剂盒(A001-2),按照试剂说明书的方法进行操作,分别在可见分光光度计 550 nm 和 532 nm 处测定 T-SOD 和 Mn-SOD 活性。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,所有数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组数据间的比较采用独立样本的 t 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

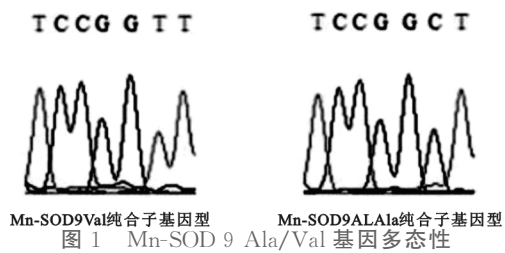
2 结果

2.1 冠心病组和对照组 T-SOD, Mn-SOD 活性的比较 冠心病组的 T-SOD(48.12 u/ml)和 Mn-SOD(22.98 u/ml)活性低于对照组(61.73 u/ml, 42.95 u/ml),差异具有统计学意义($t = 4.83, P < 0.05; t = 6.57, P < 0.05$)。

2.2 Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性的分布 测序结果显示, Mn-SOD 9 Val 纯合子基因型第 9 位为胸腺嘧啶(T), Mn-SOD 9 Ala 纯合子基因型第 9 位为胞嘧啶(C),见图 1。冠心病组的 Mn-SOD 9 VV 基因型和 V 等位基因频率高于对照组,经卡方检验,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.75, P < 0.05$),见表 1。

表 1 Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性基因型分布

组别	n	基因型分布		等位基因频率	
		VV(%)	AA(%)	V	A
对照组	57	41(71.9)	16(28.1)	0.72	0.28
冠心病组	82	71(86.6)	11(13.4)	0.87	0.13



2.3 Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性对 T-SOD, Mn-SOD 活性的影响 Mn-SOD 9 VV 基因型的 T-SOD(50.44 u/ml)和 Mn-SOD(26.01 u/ml)活性低于 Mn-SOD 9 AA 基因型(53.79 u/ml, 31.23 u/ml),差异具有统计学意义($t = 2.96, P < 0.05; t = 3.11, P < 0.05$)。

3 讨论 冠心病发病机制复杂,血管内皮细胞的损伤、血小板和凝血因子的活化、高血脂、高血黏度及血流动力学改变等因素均促进粥样斑块的形成。其中,氧自由基反应和脂质过氧化反应在冠心病的发生发展过程中发挥着重要作用,正常情况下两者应处于动态平衡状态。冠心病患者体内产生和清除活性氧自由基的动态平衡失调,从而存在氧自由基损伤和脂质过氧化损伤。冠心病患者处于局部的心肌灌注不足和慢性心肌缺血情况下,心肌缺血越重,氧自由基产生越多,对心肌损伤和功能抑制越明显^[3]。Mn-SOD 是特异性自由基清除剂,可以歧化 O_2^- 为 H_2O_2 ,后者再由过氧化氢酶作用变为 H_2O ,进而清除活性氧自由基^[4]。

本研究结果显示,冠心病组的 Mn-SOD 9 VV 基因型和 V 等位基因频率高于对照组,而 Mn-SOD 9 VV 基因型的血清 T-SOD 和 Mn-SOD 活性低于 Mn-SOD 9 AA 基因型。这提示 Mn-SOD 9 Val 等位基因携带者的血清 Mn-SOD 活性下降,清除活性氧自由基的能力减弱,这将导致氧自由基和脂质过氧化物增加,造成组织细胞损伤,从而参与冠心病的发病。Mn-SOD 9 Val 等位基因携带者比 Mn-SOD 9 Ala 等位基因携带者患冠心病的危险系数增大。

当神经缺血时,神经元中线粒体功能发生紊乱,会产生过量的活性氧簇(ROS)^[5]。ROS 通过氧化应激调节因子的相互作用改变细胞内的氧化还原状态,最终造成细胞损伤^[6]。内源性的抗氧化酶可以催化降解 ROS,保持过氧化反应的动态平衡。Mn-SOD 被认为是体内最重要的内源性抗氧化酶之一。研究发现,位于人类 Mn-SOD 信号肽第 9 位氨基酸的 Val/Ala 基因多态性在 Mn-SOD 有效转运进入线粒体的过程中起到关键作用。Val (GTT)/Ala(GCT)的替换可以使靶蛋白的二级结构发生改变,从 β -片层结构转变为 α - (下转 6 页)

- in Chinese adult population[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2002, 23(1): 5-10.
- [3] 母义明, 刘敏. 胰岛素抵抗和多囊卵巢综合征[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2013, 29(3): 185-188.
Mu YM, Liu M. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome[J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2013, 29(3): 185-188.
- [4] 李小英. 重视多囊卵巢综合征患者的代谢异常[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2010, 26(5): 349-350.
Li XY. More attention should be paid to metabolic disorders in polycystic ovary syndrome[J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2010, 26(5): 349-350.
- [5] 项守奎, 朱大龙. 胰岛素抵抗与多囊卵巢综合征[J]. 药品评价, 2010, 7(13): 10-13.
Xiang SK, Zhu DL. Insulin resistance with polycystic ovary syndrome[J]. Drug Evaluation, 2010, 7(13): 10-13.
- [6] Essah PA, Nestler JE, Carmina E. Difference in dyslipidemia between American and Italian women with polycystic ovary syndrome[J]. J Endocrinol Invest, 2008, 31(1): 35-41.
- [7] 林秀峰, 吴日然, 杜静, 等. 游离睾酮指数对诊断多囊卵巢综合征高雄激素血症不孕患者的价值[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2010, 31(3): 391-396.
Lin XF, Wu RR, Du J, et al. Value of free androgen index for diagnosis of hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome[J]. Journal of Sun Yatsen University (Medical Sciences), 2010, 31(3): 391-396.
- [8] Valkenburg O, Steegers-Theunissen RP, Smedts HP, et al. A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic Ovary syndrome a case control study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(2): 470-476.
- [9] 李昱川. 多囊卵巢综合征患者脂代谢紊乱与体重、胰岛素抵抗和雄激素水平的关系[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(3): 354-356.
Li YC. In patients with polycystic ovarian syndrome disorder of lipid metabolism and body weight insulin resistance and androgen levels[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2014, 29(3): 354-356.

收稿日期: 2014-12-16 修回日期: 2015-01-31

(上接 2 页)螺旋结构, α -螺旋结构可以使蛋白前体有效地转运至线粒体中, 信号肽第 9 位氨基酸为 Ala 时线粒体中 Mn-SOD 的含量明显高于第 9 位氨基酸为 Val 时的含量^[7,8]。因此, Mn-SOD 9 Val 的基因多态性抗氧化活性要低于 Mn-SOD 9 Ala 的基因多态性。

本研究中 Mn-SOD 9 Val 的基因多态性导致酶的结构发生改变, 使能够有效转运进入线粒体的 Mn-SOD 数量减少, Mn-SOD 活性降低, 抗氧化能力减弱, 氧自由基和脂质过氧化物增加, 进而参与冠心病的发病。

参考文献:

- [1] 杨茂平, 叶林秀, 邱红, 等. 锰超氧化物歧化酶 9 Ala/Val 基因多态性与冠心病的关系[J]. 武汉大学学报(医学版), 2008, 29(6): 775-779.
Yang MP, Ye LX, Qiu H, et al. Association between manganese superoxide dismutase 9 Ala/Val genetic polymorphisms and coronary heart disease[J]. Medical Journal of Wuhan University, 2008, 29(6): 775-779.
- [2] 迟东升, 凌文华, 马静, 等. Mn-SOD 9 Ala/Val 基因多态性与冠心病的关系[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(9): 1078-1080.
Chi DS, Ling WH, Ma J, et al. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) 9 Ala/Val genetic polymorphisms and coronary artery disease[J]. Chinese Journal of Public Health, 2006, 22(9): 1078-1080.
- [3] Kotur-Stevuljevic J, Memon L, Stefanovic A, et al. Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients[J]. Clin Biochem, 2007, 40(3/4): 181-187.
- [4] 肖骅, 雷寒, 覃数, 等. 增强型体外反搏对冠心病患者血清一氧化氮、丙二醛和超氧化物歧化酶的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(1): 60-62.
Xiao H, Lei H, Tan S, et al. Effect of enhanced external counterpulsation on serum nitric oxide, malondialdehyde and superoxide dismutase in patients with coronary heart disease[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2008, 33(1): 60-62.
- [5] Mladenka P, Simunek T, Hubl M, et al. The role of reactive oxygen and nitrogen species in cellular iron metabolism[J]. Free Radic Res, 2006, 40(3): 263-272.
- [6] Radi R, Cassina A, Hodara R, et al. Peroxynitrite reactions and formation in mitochondria[J]. Free Radic Biol Med, 2002, 33(11): 1451-1464.
- [7] Levine AJ, Elkhoully E, Diep AT, et al. The MnSOD A16V mitochondrial targeting sequence polymorphism is not associated with increased risk of distal colorectal adenomas: data from a sigmoidoscopy-based case control study[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002, 11(10 Pt 1): 1140-1141.
- [8] Yen JH, Chen CJ, Tsai WC, et al. Manganese superoxide dismutase and cytochrome P450 1A1 genes polymorphisms in rheumatoid arthritis in Taiwan[J]. Hum Immunol, 2003, 64(3): 366-373.

收稿日期: 2014-12-31

修回日期: 2015-01-05