

内皮型一氧化氮合酶和 N5, N10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与苏皖地区汉族人群早发冠心病易感性的相关关系

蒋健刚, 刘俊, 陈金国

(安徽省滁州市第一人民医院, 安徽省滁州市 239000)

[关键词] 内皮型一氧化氮合酶; N5, N10-亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; 早发冠心病

[摘要] **目的** 探讨内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因第7外显子G894T突变和N5, N10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因C677T突变与苏皖地区汉族人群早发冠心病(PCAD)发病的关系。**方法** 采用病例对照研究的方法,应用聚合酶链反应-限制性片段多态性(PCR-RFLP)技术,分别检测131例PCAD患者(PCAD组)和131例年龄、性别相匹配的无冠心病者(对照组)的eNOS和MTHFR基因的单核苷酸多态性,判定其基因型并统计各基因型及等位基因的频率。**结果** eNOS基因G894T多态性在PCAD组和对照组中的基因型分布($\chi^2 = 2.072, P = 0.355$)和T等位基因频率($\chi^2 = 0.727, P = 0.394$)差异均无统计学意义。MTHFR基因C677T基因型在PCAD组CT和TT型分布均高于对照组($\chi^2 = 14.290, P = 0.001$),T等位基因频率亦高于对照组($\chi^2 = 16.339, P = 0.000$),差异有显著性($P < 0.05$)。Logistic回归分析显示,携带MTHFR基因C677T TT基因型是PCAD发病的独立危险因素。**结论** eNOS基因G894T多态性可能与苏皖地区汉族人群PCAD发病无关;MTHFR基因677C/T多态性的TT基因型可能增加苏皖地区汉族人群PCAD的患病风险,T等位基因可能是PCAD的遗传易感基因。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation Study on Polymorphisms of the Endodermis Nitricoxide Synthase Gene and N5, N10 Methylene Tetrahydrofolate Reductase Gene in Han Patients with Premature Coronary Artery Disease in the Suwan Region

JIANG Jian-Gang, LIU Jun, and CHEN Jin-Guo

(The First People's Hospital of Chuzhou, Chuzhou, Anhui 239000, China)

[KEY WORDS] Endodermis Nitricoxide Synthase; N5, N10 Methylene Tetrahydrofolate Reductase; Gene Polymorphism; Premature Coronary Artery Disease

[ABSTRACT] **Aim** To investigate a potential association of the gene polymorphisms of endodermis nitricoxide synthase(eNOS) and N5, N10 methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with premature coronary artery disease (PCAD). **Methods** The polymorphisms of gene eNOS and MTHFR were measured by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis(PCR-RFLP) in 131 patients with PCAD (PCAD group) and 131 non-coronary heart disease patients (control group), who were matched in age and sex. **Results** The frequencies of eNOS G894T gene polymorphism ($\chi^2 = 2.072, P = 0.355$) and its T allele ($\chi^2 = 0.727, P = 0.394$) in PCAD group were not significantly different from those in control group. The frequencies of MTHFR C677T gene polymorphism T allele were significantly higher in PCAD group than those in control group ($\chi^2 = 16.339, P = 0.000$). The frequencies of the three genotypes (CC, CT and TT) were significantly different between the two groups ($\chi^2 = 14.290, P = 0.001$). Logistic regression analysis indicated that MTHFR 677C/T TT genotype was an independent risk factor in PCAD ($P < 0.05$).

Conclusion The eNOS G894T polymorphism may have no association with the pathogenesis of PCAD in Han patients of Swnan region; the TT genotype of the MTHFR C677T gene may increase the risk of PCAD. The genetic polymorphism of MTHFR gene promoter is associated with the susceptibility to PCAD in Suwan Han nationality.

早发冠心病 (premature coronary artery disease, PCAD) 是指男性在 55 岁以前或者女性在 65 岁以前

发生冠心病 (coronary artery disease, CAD), 是 CAD 的一种特殊类型, 表现为发病年龄早, 一个鲜明的特征是与遗传因素有关。研究证实^[1,2], 内皮型一氧化氮合酶 (endothelium nitric oxide synthase, eNOS) 基因第 7 外显子的 G894T 突变和 N5, N10-亚甲基四氢叶酸还原酶 (N5, N10 methylene tetrahydrofolate reductase, MTHFR) 基因 C677T 突变与 CAD 的发病有关, 或许是 CAD 的候选致病基因, 但其结果在不同的文献中描述不尽一致^[3,4]。目前国内尚未见两基因与 PCAD 的研究报道。我们应用聚合酶链反应-限制性片段多态性 (PCR-RFLP) 分析方法, 对苏皖地区汉族 PCAD 患者 eNOS G894T 和 MTHFR C677T 多态性进行检测, 探讨以上两个基因多态性与苏皖地区汉族人群 PCAD 发病的关系, 为 PCAD 的早期预防和治疗提供相关的信息。

1 对象和方法

1.1 研究对象

入选 2010 年 3 月 ~ 2011 年 11 月期间确诊的 PCAD 患者共 131 例, 其中男 78 例, 女 53 例, 年龄 54.4 ± 5.3 岁。PCAD 组入选条件为符合以下任意一项者: ① 冠状动脉造影 (CAG) 显示左前降支、回旋支及右冠状动脉三支血管中至少有一支血管病变的狭窄程度 $\geq 50\%$ 或者左主干狭窄 $\geq 30\%$; ② 急性心肌梗死 (AMI); ③ 陈旧性心肌梗死 (OMI)。并选取同期住院的 CAG 结果阴性者 75 例, 64 排 CT 冠状动脉造影和心电图等检查均为阴性者 56 例。其中男 79 例, 女 52 例, 年龄 53.8 ± 5.7 岁。以 WHO 吸烟调查规定为标准, 每天至少吸烟 1 支, 持续 1 年以上, 长期吸烟但戒烟时间不到半年者则认定为吸烟者^[5]; 以 WHO 饮酒调查规定为标准, 每天饮用的量换算为酒精的净含量 ≥ 25 g, 或每周饮用的量换算为酒精的净含量 ≥ 100 g, 连续饮酒 1 年以上确认为饮酒者^[5]; 根据身高和体重的结果计算出体质指数 (BMI)^[5]; 高血压的诊断采用 2005 年《中国防治高血压指南》制定的高血压诊断标准, 收缩压 (SBP) ≥ 140 mmHg (18.7 kPa) 和 (或) 舒张压 (DBP) ≥ 90 mmHg (12.0 kPa)^[5]; 糖尿病诊断标准参照 WHO 糖尿病委员会 1999 年的诊断标准: 空腹血糖 (FPG) ≥ 7.0 mmol/L 或任意时间血糖 ≥ 11.1 mmol/L^[5]; 高脂血症的诊断根据《中国成人血脂异常防治指南 (2007 版)》标准: 甘油三酯 (TG) > 1.7 mmol/L, 总胆固醇 (TC) > 5.18 mmol/L, 低密度脂蛋白 (LDLC) > 3.37 mmol/L, 高密度脂蛋白

(HDLC) < 1.04 mmol/L^[5]。

1.2 采血

所有入选者均在清晨空腹禁食 12 h 以上抽取外周静脉血 5 mL 置于 EDTA 抗凝管中, 置于 4℃ 冷藏保存, 3 天内提取白细胞基因组 DNA。常规生化项目由医院检验科完成。

1.3 基因组 DNA 提取

采用上海生工生物工程公司提供的快速血细胞基因组纯化试剂盒 (编号为: SK8224) 提取白细胞基因组 DNA。提取的 DNA 用 TE 液溶解, 置于 -20℃ 保存备用。

1.4 PCR 扩增

eNOS 引物设计参考 [6], 引物序列为: 上游 5'-CAT GAG GCT CAG CCC CAG AAC-3', 下游 5'-AGT CAA TCC CTT TGG TGC TCA C-3'。MTHFR 引物设计参考文献 [7], 引物序列为: 上游 5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3', 下游 5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'。所有引物由上海生工生物工程公司合成。PCR 扩增反应总体积为 50 μ L, 其中上下游引物各 2.5 μ L (20 μ mol/L), 模板 DNA 为 2.5 μ L (50 μ g/L), TaqDNA 聚合酶 2 μ L (5000 kU/L), 10 \times PCR Buffer 和 dNTP (2 mmol/L) 各 5 μ L, MgCl₂ 为 7 μ L (25 mmol/L), 最后加 ddH₂O 23.5 μ L。使用 Applied Biosystem 型扩增仪进行扩增, eNOS 循环参数为 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 30 s, 64℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 40 s, 共进行 35 个循环, 72℃ 延伸 7 min。MTHFR 循环参数为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 62℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 50 s, 共进行 35 个循环, 72℃ 延伸 7 min。反应结束后, 取 PCR 产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像分析仪检测 PCR 扩增结果。

1.5 酶切分析和多态性的检测

eNOS 和 MTHFR 的 PCR 扩增产物分别用 Ban II 和 Hinf I (均由宝生物大连公司提供) 限制性内切酶进行酶切反应。反应体系总体积为 20 μ L, 其中内切酶为 1 μ L (10 kU/L), 10 \times H buffer 溶液 2 μ L, PCR 产物 6 μ L, 加 ddH₂O 11 μ L。置于 37℃ 水浴箱水浴 1 h, 65℃ 水浴 20 min 终止反应。最后用溴乙锭染色的 3% 琼脂糖进行电泳, 于凝胶成像仪下观察结果, 并记录酶切结果。

1.6 统计学处理

所有资料采用 SPSS17.0 软件包进行统计学分析。各组基因型及等位基因频率用 χ^2 检验, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数比较采用 *t* 检验; 采用 Logistic 回归分析基因型与 PCAD 的相关性, 其关联

性用比值比 (OR) 和 95% 可信度 (95% CI) 表示, 显著性水准为 0.05。

2 结果

2.1 一般资料

两组人群性别、年龄等构成具有均衡性和可比性 ($P > 0.05$)。PCAD 组人群中吸烟者比率、BMI、高血压患病率、糖尿病患病率及高脂血症比率均明显高于对照组 ($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 两组人群的基线资料比较

基线资料	PCAD 组	对照组
男/女 (例)	78/53	79/52
年龄 (岁)	54.4 ± 5.3	53.8 ± 5.7
BMI (kg/m ²)	26.6 ± 5.7 ^a	24.5 ± 4.1
吸烟 (例)	69 (52.7%) ^a	46 (35.1%)
饮酒 (例)	57 (43.5%)	52 (39.7%)
高血压 (例)	90 (68.7%) ^a	53 (40.5%)
糖尿病 (例)	36 (27.5%) ^a	15 (11.5%)
TC (mmol/L)	4.6 ± 1.0	4.1 ± 0.9
TG (mmol/L)	1.8 ± 0.9	1.7 ± 0.9
HDLc (mmol/L)	1.2 ± 0.4	1.5 ± 0.4
LDLc (mmol/L)	3.1 ± 0.9	2.5 ± 0.8

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 Hardy-Weinberg 平衡检验

eNOS 基因 G894T 基因型分布 PCAD 组 ($\chi^2 = 5.3041, P = 0.07051$) 和对照组 ($\chi^2 = 0.03523, P = 0.98254$) 均符合 Hardy-Weinberg 平衡检验, 具有群体代表性; MTHFR 基因 C677T 基因型分布 PCAD 组 ($\chi^2 = 1.59389, P = 0.4507$) 和对照组 ($\chi^2 = 2.46897, P = 0.29098$) 也符合 Hardy-Weinberg 平衡检验, 具有群体代表性。

2.3 G894T 基因和 C677T 基因酶切结果

eNOS G894T 位点目的基因片长 207 bp, 根据酶切后片段长度的不同分为三种基因型: 突变型 TT 纯合子, 包含 125 bp 和 82 bp 两个片段; 突变型 GT 杂合子, 包含 207 bp、125 bp 和 82 bp 三个片段; 野生型 GG 纯合子, 只含 207 bp 一个片段 (图 1)。

MTHFR C677T 位点目的基因片长 198 bp, 根据酶切后片段长度的不同分为三种基因型: 突变型 TT 纯合子, 包含 175 bp 和 23 bp 两个片段; 突变型 CT 杂合子, 包含 198 bp、175 bp 和 23 bp 三个片段; 野生型 CC 纯合子, 只含 198 bp 一个片段。由于 23 bp 较小

未能在图片中显示但是不影响结果的判读 (图 2)。

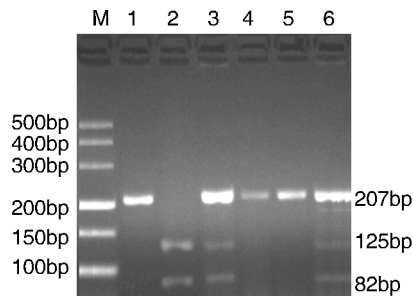


图 1. 内皮型一氧化氮合酶 G894T 基因酶切结果 1,4,5 为野生型 GG 纯合子, 2 为突变型 TT 纯合子, 3 和 6 为突变型 GT 杂合子。

Figure 1. G894T electrophoresis image

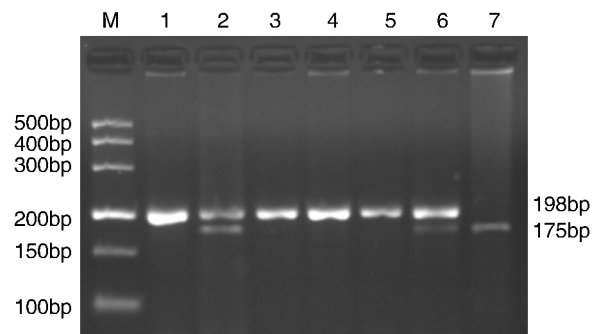


图 2. N5,N10-亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因酶切结果 1,3,4,5 为野生型 CC 纯合子, 2,6 为突变型 CT 杂合子, 7 为突变型 TT 纯合子。

Figure 2. C677T electrophoresis image

2.4 基因型分布和等位基因频率

eNOS 基因 G894T 基因型分布在 PCAD 组与对照组间差异没有统计学意义 ($\chi^2 = 2.072, P = 0.355$); T 等位基因频率两组差异也没有统计学意义 ($\chi^2 = 0.727, P = 0.394$; 表 2)。

MTHFR 基因 C677T 基因型分布在 PCAD 组与对照组间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 14.290, P = 0.001$); T 等位基因频率在 PCAD 组显著高于对照组 ($\chi^2 = 16.339, P = 0.000$; 表 3)。

2.5 eNOS 基因 G894T 和 MTHFR 基因 C677T 在 PCAD 组和对照组的分布及联合分析

由于 eNOS 基因 G894T TT 型过少, 因此把 GT 和 TT 合为一个基因型进行分析。预先设定同时携带 eNOS 基因 G894T 的 GG 基因型和 MTHFR 基因 C677T 的 CC 基因型的风险比 OR 值为对照, GT + TT 和 TT 组合、GT + TT 和 CT + TT 组合分别与对照组相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$; 表 4)。

表 2. 内皮型一氧化氮合酶 G894T 基因型分布及等位基因频率(例)

Table 2. Distribution of genotypic frequencies and alleles of eNOS

分 组	n	基因型			等位基因频率	
		GG	GT	TT	G	T
PCAD 组	131	117(89.3%)	12(9.2%)	2(1.5%)	256(93.9%)	16(6.1%)
对照组	131	111(84.73%)	19(14.50%)	1(0.77%)	241(92.0%)	21(8.0%)

表 3. N5, N10-亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因型分布及等位基因频率(例)

Table 3. Distribution of genotypic frequencies and alleles of MTHFR

分 组	n	基因型			等位基因频率	
		CC	CT	TT	C	T
PCAD 组	131	32(24.4%)	58(44.3%)	41(31.3%)	122(46.6%)	140(53.4%) ^a
对照组	131	58(44.27%)	52(39.70%)	21(16.03%)	168(64.1%)	94(35.9%)

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

表 4. eNOS 基因 G894T 和 MTHFR 基因 C677T 联合基因型分布对 PCAD 发病风险的联合影响

Table 4. Distribution of jointed genotypic frequencies of eNOS and MTHFR and jointed effect for incidence of hypertension

eNOS-G894T	MTHFR-C677T	PCAD 组(例)	对照组(例)	OR	95% CI	P
GG	CC	27(20.61%)	53(40.46%)	1		
GT + TT	TT	5(3.82%)	7(5.34%)	1.402	0.407 ~ 4.843	0.591
GT + TT	CT + TT	10(7.63%)	9(6.87%)	2.181	0.792 ~ 6.005	0.126

2.6 MTHFR 基因型与各危险因素交互作用

非条件 Logistic 回归分析 PCAD 易患因素, 以 eNOS 基因 G894T 基因型、MTHFR 基因 C677T 基因型、性别、吸烟史、BMI、家族史、合并高血压、合并糖尿病、TC、LDLC、HDLc 为自变量, 并定义为 X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8、X9、X10、X11, 以是否发生 PCAD 为因变量(Y)。用 Forward: ward 法建立非条件 Logistic 回归模型进行多因素分析, 结果 eNOS 基

因 G894T 基因型、性别、吸烟史、BMI、家族史、TC、HDLc 等因素均被剔除。进一步以合并高血压、合并糖尿病、LDLC、MTHFR 基因型为自变量, 并重新定义为 X1、X2、X3、X4, 以是否发生 PCAD 为因变量(Y), 用 Enter 法进行 Logistic 回归分析, 结果显示 MTHFR 基因 C677T 多态性的 TT 基因型是 PCAD 发病的独立危险因素($P = 0.026$; 表 5)。

表 5. MTHFR 基因 C677T 基因型与各危险因素的交互作用

Table 5. The interaction between MTHFR and risk factors

危险因素	β	S. E	df	Wald	Sig.	OR	95% CI
高血压	0.469	0.124	1	3.625	0.057	1.596	1.128 ~ 2.259
糖尿病	1.393	0.407	1	5.681	0.017	1.227	1.009 ~ 1.493
LDLC	1.268	0.443	1	11.237	0.001	1.050	1.033 ~ 1.068
TT 基因型	1.769	0.351	1	6.957	0.008	2.991	1.928 ~ 4.640

3 讨 论

PCAD 患者动脉粥样斑块的主要成分为富含脂

质泡沫细胞的软斑块, 这与晚发冠心病(LCAD)粥样斑块中主要为纤维组织的硬斑块是不同的。PCAD 软斑块的特点是进展快、易发生破裂、易于导

致冠状动脉血栓形成等。因此,PCAD 具有多无先兆症状、发病急、心肌梗死比例大、死亡率高等特点。CAG 结果显示^[8]:PCAD 患者的斑块多为单支、局限、偏心的斑块,最常见于左前降支,其次为右冠状动脉和回旋支,而弥漫性及钙化病变较少见。冠状动脉狭窄程度以重度狭窄最为多见,其实是完全闭塞,而轻中度病变相对少见,更重要的是很少会有有效的侧支循环建立的病例。因此对 PCAD 早期预防和治疗有积极的意义。

eNOS 是内皮细胞中重要的功能蛋白,活化的 eNOS 催化 L-精氨酸产生一氧化氮(NO)。NO 是内皮细胞产生的一种重要的调节分子,eNOS 是生成 NO 唯一的关键限速酶,eNOS 表达下调,内皮细胞 NO 分泌也会发生改变,进而导致炎性细胞聚集,促使平滑肌细胞和巨噬细胞转变为泡沫细胞,同时触发一系列细胞内信号通路参与粥样硬化的形成。研究表明^[9],缺乏 eNOS 可导致动脉粥样硬化的发生。eNOS 基因 G894→T 多态性是人类 eNOS 基因最常见的几种多态性之一,它是指 eNOS 基因第 7 外显子第 894 位碱基 G 突变为 T,使第 298 位密码子序列由 GAG 变为 GAT,导致其编码的相应蛋白产物谷氨酸(Glu,等位基因 G)被替换成天冬氨酸(Glu298Asp,等位基因 T),Glu298→Asp 的错义突变引起 eNOS 发生构象改变,由 α -螺旋变为紧密折叠,而明显影响 eNOS 的活性,进而导致 NO 生成减少^[10]。研究显示,eNOS 基因 G894→T 多态性与 CAD 的发病有关,且这种相关性与地域、种族等因素有关。其在不同区域、不同种族、不同民族之间的相关性有差异,总的来说与我国汉族人群 CAD 的相关性不显著,与西北地区特别是西北地区的少数民族人群相关性明显。国内外有关该基因与 PCAD 的相关性研究较少,Isordia 等^[11]研究显示 G894→T 多态性与墨西哥人群 PCAD 有关,但也有相反的研究结果^[12]。我们的研究显示,在苏皖地区汉族 PCAD 人群 G894→T 突变的概率与正常人群差异没有统计学意义($P > 0.05$),T 等位基因的频率差异也无显著性($P > 0.05$),这与 Nassar 等^[12]的研究结果相似。出现上述差异,可能与不同种族以及同一种族的各不同民族之间遗传结构、生存环境、饮食习惯的差异有关。

同型半胱氨酸(Hcy)是一种含巯基的非必需氨基酸,是甲硫氨酸分解代谢过程中的中间产物,它主要通过甲基化途径与转硫途径进行代谢。经过甲基化途径重新生成甲硫氨酸;经转硫途径生成半

胱氨酸和 α -酮氨酸。研究表明^[13]:高同型半胱氨酸血症(HHcy)是 CAD 发病的独立危险因素。引起 Hcy 水平升高的主要原因为遗传因素、环境因素和营养影响。遗传因素中关键代谢酶的基因发生突变,而引起酶功能缺陷或活性下降,是导致 Hcy 升高的一个很重要的原因。MTHFR 是 Hcy 代谢过程中的关键酶之一,可显著影响 Hcy 的浓度。MTHFR C677→T 基因突变是 HHcy 最常见的遗传因素,当发生 MTHFR C677→T 突变时,即 MTHFR 基因第 677 位点的密码子胞嘧啶(C)被胸腺嘧啶(T)置换,导致其编码的相应蛋白产物丙氨酸(Ala)被替换成缬氨酸(Val),使一个高度保守的多肽链的序列发生改变,进而 MTHFR 的活性会显著下降,热不稳定性会增加,而影响 Hcy 正常的代谢通路,进而导致血浆 Hcy 水平明显升高^[14]。目前对 MTHFR 与 PCAD 的相关研究较少,而且结果也不尽一致,Xu 等^[15]对中国北方汉族人群采用病例-对照分析,结果发现 CT 和 TT 基因型频率、T 等位基因频率在病例组与对照组间差异有显著性($\chi^2 = 6.82, 5.1, P < 0.05$)。韩国 Koo 等^[16]在韩国 PCAD 人群中也得出了类似的结果。而 Ranjith 等^[17]在南非 PCAD 人群中却发现 T 等位基因频率在病例组与对照组间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 3.06, P = 0.08$)。我们分析了苏皖地区汉族人群 131 例 PCAD 患者 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率分布,结果发现与对照相比,PCAD 组 TT 基因型和 T 等位基因频率均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 MTHFR 基因 C677→T 多态性与苏皖地区汉族人群 PCAD 相关。在 MTHFR C677T 不同基因型与 PCAD 的非条件 Logistic 回归分析提示,MTHFR C677T 多态性中 TT 基因型增加 PCAD 的发病风险。

总之,PCAD 是一种多因素、多基因遗传性疾病,某个单一致病基因和(或)单一多态性位点的影响可能对疾病发生的影响很小。因此后续的研究需联合应用流行病学、临床医学、遗传学和现代分子生物学等进行多学科多领域的综合性研究,才能更明确地认识 PCAD 发生的遗传学机制,为 PCAD 发生的预测及个体化防治提供新的依据。

[参考文献]

- [1] Men C, Tang K, Lin G, et al. eNOS-G894T polymorphism is a risk factor for essential hypertension in China[J]. Indian J Biochem Biophys, 2011, 48(3): 154-157.
- [2] Chen Q, Sun Y, Zhang L, et al. Detection of C677T mutation of MTHFR in subject with coronary heart disease by

- hairpin probe with enzymatic color on microarray[J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 28(1): 84-90.
- [3] Ji XW, Zhang AY, Guan LX. Association between angiotensin-converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and risk of coronary artery disease [J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2007, 35(11): 1 024-028.
- [4] Biselli PM, Guerzoni AR, Goloni-Bertollo EM, et al. MTHFR genetic variability on coronary artery disease development [J]. *Rev Assoc Med Bras*, 2009, 55(3): 274-278.
- [5] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008; 811-813.
- [6] Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK [J]. *Circulation*, 1999, 100(14): 1 515-520.
- [7] 陈梅玲, 林小慧, 李清华, 等. 脑梗死患者颈动脉斑块与血浆同型半胱氨酸水平及亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(9): 761-764.
- [8] Tewari S, Kumar S, Kapoor A, et al. Premature coronary artery disease in North India: an angiography study of 1971 patients[J]. *Indian Heart J*, 2005, 57(4): 311-318.
- [9] 胡新贵, 王国凤, 薛丽霞, 等. 苯扎贝特对脐静脉内皮细胞内皮型一氧化氮合酶表达的影响及机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(1): 14-18.
- [10] Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review[J]. *Am J Epidemiol*, 2006, 164(10): 921-35.
- [11] Isordia-Salas I, Leaños-Miranda A, Borrayo-Sánchez G. The Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature ST elevation myocardial infarction in Mexican population[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(7-8): 553-557.
- [12] Nassar BA, Bevin LD, Johnstone DE, et al. Relationship of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and early-onset coronary artery disease[J]. *Am Heart J*, 2001, 142(4): 586-589.
- [13] Petramala L, Acca M, Francucci CM, et al. Hyperhomocysteinemia: a biochemical link between bone and cardiovascular system diseases[J]. *J Endocrinol Invest*, 2009, 32(4 Suppl): 10-14.
- [14] Almawi WY, Ameen G, Tamim H, et al. Factor V G1691A, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase [MTHFR] C677T gene polymorphism in angiographically documented coronary artery disease [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2004, 17(3): 199-205.
- [15] Xu H, Chen Z, Tang J, et al. C677T genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase in premature coronary heart disease [J]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 1999, 21(2): 118-121.
- [16] Koo HS, Lee HS, Hong YM. Methylenetetrahydrofolate reductase TT genotype as a predictor of cardiovascular risk in hypertensive adolescents [J]. *Pediatr Cardiol*, 2008, 29(1): 136-141.
- [17] Ranjith N, Pegoraro RJ, Rom L. Risk factors and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in a young South African Indian-based population with acute myocardial infarction [J]. *Cardiovasc J S Afr*, 2003, 14(3): 127-132.

(此文编辑 许雪梅)