

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 14. 007

MTHFR 基因在高血压患者中的多态性分布及风险评估价值*

程世亮¹,戴永刚¹,李 萌¹,刘新风¹,王 园²,孙厚科²

1. 山东省立第三医院检验科,山东济南 250031;2. 济南齐鲁医学检验所检验科,山东济南 250031

摘要:目的 分析 MTHFR 基因在高血压患者中的多态性分布及风险评估价值。方法 将 2016 年 9 月至 2017 年 9 月山东省立第三医院收治的 176 例 H 型高血压患者纳入观察组,同期收治的 160 例原发性高血压患者纳入为对照组。检测所有研究对象 MTHFR 基因的分布,并通过 Logistic 回归分析 C/T 基因在机体内的表达频率与预后情况之间的相关性。结果 两组患者 C/T 基因型频率及等位基因频率比较,差异均有统计学意义($\chi^2=7.40, P=0.02$; $\chi^2=13.77, P=0.00$);同时,Logistic 回归分析显示,C/T 基因型频率与患者预后密切相关(回归系数=0.429, $P=0.00$)。结论 MTHFR 基因在 H 型高血压患者中表达频率较高,并能有效预测高血压患者预后,具有较高的诊断价值,值得在临床推广应用。

关键词:MTHFR 基因; H 型高血压; 基因频率; 多态性分布; 风险评估**中图法分类号:**R446.9**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2019)14-1976-03

Polymorphic distribution and risk assessment value of MTHFR gene in hypertensive patients*

CHENG Shiliang¹, DAI Yonggang¹, LI Meng¹, LIU Xinfeng¹, WANG Yuan², SUN Houke²

1. Department of Clinical Laboratory, Shandong Provincial Third Hospital, Ji'nan, Shandong 250031, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Ji'nan Qilu Medical Laboratory, Ji'nan, Shandong 250031, China

Abstract: **Objective** To study the polymorphic distribution and risk assessment of MTHFR gene in patients with hypertension. **Methods** A total of 176 patients with H-type hypertension admitted to Shandong Provincial Third Hospital from September 2016 to September 2017 were enrolled as the observation group, and 160 patients with common hypertension admitted to the same period were selected as the control group. The polymorphic distribution of MTHFR gene in all subjects was examined, and the correlation between the expression rate of C/T gene and prognosis was investigated by Logistic regression analysis. **Results** The difference between the C/T genotype frequency and allele frequencies were significant ($\chi^2=7.40, P=0.02$; $\chi^2=13.77, P=0.00$). At the same time, Logistic regression analysis showed that C/T gene expression level closely related to patients' prognosis (regression coefficient=0.429, $P=0.00$). **Conclusion** The MTHFR gene has a higher frequency in H-type hypertension and can effectively predict the prognosis of hypertension, which has a high diagnostic value and is worthy of clinical promotion.

Key words: MTHFR gene; H-type hypertension; gene frequency; polymorphic distribution; risk assessment

H 型高血压是一种由于叶酸缺乏或同型半胱氨酸(Hcy)/叶酸代谢途径中关键酶的缺陷或基因突变,而导致血 Hcy 水平升高的高血压^[1]。我国高血压患者中 H 型高血压比例约为 80.3%,且高 Hcy 是脑卒中发生的重要独立危险因素^[2]。研究表明,Hcy 升高 5 $\mu\text{mol/L}$,发生脑卒中的危险性增加 60%^[3],故寻找预测 H 型高血压发生的可靠指标对预防脑卒中尤为关键。有研究指出,亚甲基四氢叶酸还原酶基因(MTHFR 基因)的分布与 Hcy 有着密切的联系,因而 H 型高血压的发生、发展和 MTHFR 基因的分布有

着千丝万缕的关系^[4]。故本研究就 MTHFR 基因在高血压患者中的多态性分布及风险评估展开研究,旨在寻找对 H 型高血压更有效的预测方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2016 年 9 月至 2017 年 9 月山东省立第三医院收治的 176 例 H 型高血压患者纳入观察组,同期收治的 160 例原发性高血压患者纳入对照组,研究对象符合《中国高血压防治指南(2011 年版)》中关于原发性高血压或 H 型高血压的相关诊断标准^[5]。排除标准:(1)合并全身恶性肿瘤;(2)伴有继

* 基金项目:山东省济南市科学技术发展计划(201704022)。

作者简介:程世亮,男,主管技师,主要从事检验医学研究。

发性高血压疾病；(3)合并严重的其他组织器官疾病。观察组中男 100 例，女 76 例，年龄 35~72 岁，平均(52.37±9.65)岁，收缩压为(169.29±20.59)mm Hg，舒张压为(101.93±13.52)mm Hg；对照组中男 98 例，女 62 例，年龄 36~73 岁，平均(51.83±9.47)岁，收缩压为(168.97±19.99)mm Hg，舒张压为(102.13±13.55)mm Hg。两组患者性别、年龄、收缩压和舒张压等一般资料比较，差异均无统计学意义($P>0.05$)，具有可比性。所有研究对象均自愿参与本研究，并签署知情同意书，本研究经过山东省立第三医院伦理委员会批准后进行。

1.2 方法 使用 PCR 技术对所有研究对象的唾液进行基因检测，观察基因的多态性分布。每例患者收集唾液 2 mL，使用唾液 DNA 试剂盒(由武汉昌美生物技术有限公司提供，型号为 Just-a-Tube™)提纯基因，采用 PCR-限制性片段长度多态性法扩增 MTHFR 677C/T 基因片段，满足 95℃预变性 5 min、94℃变性 30 s、60℃退火 30 s，以及 72℃延伸 30 s 的条件，扩增引物选取 5'-CGT GAT GAT GAA ATC-3'，经限制性内切酶进行酶切，且经琼胶电泳分离后使用紫外线凝胶成像仪判断基因型。各患者按照医嘱正常服用药物，观察其预后情况，病情好转或血压保持稳定，且未出现其他并发症则为预后良好，病情恶化或原发性高血压转化为 H 型高血压则为预后不良。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计数资料以例数或百分率表示，组间比较采用 χ^2 检验，Logistic 回归分析 C/T 基因表达频率对高血压患者预后的影响，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者 MTHFR 基因的多态性分布比较 经 Hardy-weinberg 平衡检验，两组患者的等位基因频率满足 $P_{(C)}^2+2P_{(C)}P_{(T)}+P_{(T)}^2=1$ ，故均具有群体代表性。两组患者 C/T 基因型频率及等位基因频率比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)，见表 1。

表 1 两组患者 MTHFR 基因的多态性分布比较[<i>n</i> (%)]						
组别	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率	
		CC	CT	TT	C	T
对照组	160	41(25.62)	72(45.00)	47(29.38)	124(77.50)	36(22.50)
观察组	176	68(38.64)	72(40.91)	36(20.45)	103(58.52)	73(41.48)
χ^2			7.40			13.77
<i>P</i>			0.02			0.00

2.2 Logistic 回归分析 C/T 基因表达水平对高血压患者预后的影响 Logistic 回归分析显示，C/T 基因型频率与患者预后密切相关($r=0.184$ ， $P=0.00$ ，回归系数=0.429， $SE_{wald}\chi^2=17.385$ ，自由度=1，相对危险度=1.813)。

3 讨 论

H 型高血压是常见的心血管疾病，是一种在原发性高血压的基础上发生高同型半胱氨酸血症的疾病，即体内伴有 Hcy 水平高于 10 $\mu\text{mol/L}$ 的高血压^[6]。它的主要特点为血 Hcy 水平升高，病情的发展常会引发脑卒中，是动脉硬化的独立危险因素^[7]。研究发现，Hcy 可破坏血管内皮细胞，引发血管结构发生改变，导致血管功能异常，促进血压进一步升高，对患者的生活造成较大不良影响^[8]。有研究表明，高 Hcy 与高血压合并极大地增加了患者发生心血管事件的概率，对患者的生命健康造成了严重威胁^[9]。目前，临床上常使用口服叶酸对患者的 Hcy 进行控制，但只能单纯地暂时性控制 Hcy，目前尚无能够从根本上治疗 H 型高血压的方案，故寻找预测 H 型高血压发生的因素是减少 H 型高血压患者的关键之处。

MTHFR 基因是一种控制叶酸通路中的亚甲基四氢叶酸活性的基因片段，且与细胞周期的调控、DNA 的复制、DNA 及蛋白质甲基化修饰等有关^[10]。据报道，MTHFR 基因上第 C677T 位点的突变会引起叶酸的缺乏，进而导致机体 Hcy 水平上升，诱导 H 型高血压发生。本研究结果显示，两组患者 MTHFR C/T 基因型频率及等位基因频率比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)，机体内 C/T 基因表达水平及预后情况也存在较大差异；Logistic 回归分析显示，C/T 基因型频率与患者预后密切相关，该现象表明 H 型高血压患者 MTHFR 基因多态性分布不同于原发性高血压患者，且证实了 C/T 基因的表达与患者的预后情况存在一定的相关性，这说明 H 型高血压患者 MTHFR 基因分布具有独特性，有助于临床诊断。同时，基因的高表达水平与 H 型高血压的发生、发展有正向相关性，基因高表达水平的普通原发性高血压患者发展为 H 型高血压的风险更高，临床上需注意其机体 Hcy 变化，进而预防病情发展。

综上所述，MTHFR 基因在 H 型高血压患者中表达频率较高，并能有效预测高血压患者的预后，具有较高的诊断价值，值得在临床推广应用。

参考文献

[1] 中华医学会心血管病学分会高血压学组. H 型高血压:同型半胱氨酸水平升高与高血压发生及控制的研究进展[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2017, 9(2): 42-46.

[2] 吴旭华. 补充叶酸对社区原发性高血压患者同型半胱氨酸的影响[D]. 合肥:安徽医科大学, 2016.

[3] 唐岚, 周礼清, 王人佩, 等. 叶酸联合维生素 B₆ 对老年 H 型高血压患者高同型半胱氨酸血症的疗效观察[J]. 山西医药杂志, 2016, 45(4): 445-447.

[4] 刘竞争, 晁丹, 陈燕, 等. Hcy、FA、维生素 B₁₂ 水平及 MTHFR 基因多态性与脑梗死的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(2): 156-157. (下转第 1981 页)

体有益的双歧杆菌属、乳酸杆菌属则减少,这提示肠道菌群失衡可能是促进冠心病发生及病情加重的原因之一。BRUGERE 等^[13]研究发现,患有炎症性肠病等肠道基础疾病的患者其患冠心病的风险也更高,这与肠黏膜屏障功能受损相关。肠屏障功能损伤使肠黏膜通透性增加,引起肠道细菌及其产物进入循环系统,导致动脉粥样硬化的发生与发展^[14]。但目前多数研究都集中于研究冠心病与肠道菌群的关系,较少研究涉及 AMI 与肠道菌群的关系。本研究旨在探究 AMI 患者的肠道菌群是否发生改变,以期为临床治疗 AMI 时是否需要恢复肠道菌群,以及如何恢复肠道菌群的平衡提供一定的理论依据。

本研究发现,与对照组患者比较,研究组患者的优势菌群明显改变,肠杆菌及肠球菌占优势,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属等细菌占比明显减少。前文已提到,大肠埃希菌、幽门螺杆菌、链球菌等细菌能产生内毒素等有害物质,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属对于维持正常的消化功能却大有裨益。本研究结果提示,在 AMI 患者肠道内,其多样性不仅发生改变,同时有害类细菌的数量增多,在对 AMI 患者进行治疗时应注意肠道菌群平衡的调控。

同时,本研究还对 AMI 患者肠道优势菌群水平与血清学指标进行了相关分析,发现 AMI 患者的肠球菌、肠杆菌水平与脑钠肽前体、肌钙蛋白水平呈正相关,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属等细菌水平与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平呈负相关。以上研究结果说明,肠道菌群与血清学指标之间可能存在一定的相互作用,但其具体作用如何,尚需进一步研究。

综上所述,AMI 患者肠道菌群的优势菌群发生改变,优势菌群分布与 AMI 患者的部分血清学指标存在相关性。

参考文献

[1] OTTO C M, RAHIMI K. The gut microbiota and heart failure[J]. Heart, 2016, 102(11): 811-812.

[2] LAM V, SU J, HSU A, et al. Intestinal microbial metabolites are linked to severity of myocardial infarction in rats [J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0160840.

(上接第 1977 页)

[5] 孙宁玲, 李建平, 卢新政, 等. H 型高血压诊断标准依据解读[J]. 中华高血压杂志, 2017, 25(6): 508-510.

[6] 李聪娜. 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因多态性及血清同型半胱氨酸浓度与原发性高血压病关系的临床研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.

[7] 李琬. H 型高血压与缺血性脑卒中的临床相关性研究[J]. 中国医药指南, 2016, 14(7): 85-86.

[8] 赵艳红, 刘涛. HSP27 对 Hcy 诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究[J]. 重庆医学, 2018, 47(7):

[3] ZHU W, GREGORY J C, ORG E, et al. Gut Microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk[J]. Cell, 2016, 165(1): 111-124.

[4] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2010, 38(8): 675-690.

[5] 王丽君, 谢莲娜, 周雪, 等. 急性心肌梗死患者肠道菌群多样性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2017, 29(10): 1164-1167.

[6] DINAKARAN V, RATHINAVEL A, PUSHPANATHAN M, et al. Elevated levels of circulating DNA in cardiovascular disease patients; metagenomic profiling of microbiome in the circulation [J]. PLoS One, 2014, 9(8): e105221.

[7] 黄莹, 谭超超. 急性心肌梗死患者肠道优势菌群分析[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(9): 1004-1008.

[8] WU Z W, LING Z X, LU H F, et al. Changes of gut bacteria and immune parameters in liver transplant recipients [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2016, 11(1): 40-50.

[9] 金华, 金钊, 张蕾蕾. 肠道菌群可能为高血压发病的环境因素[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(1): 121-125.

[10] 解傲, 袁杰利. 肠道菌群与代谢性疾病[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2013, 22(2): 102-104.

[11] EMOTO T, YAMASHITA T, KOBAYASHI T, et al. Characterization of gut microbiota profiles in coronary artery disease patients using data mining analysis of terminal restriction fragment length polymorphism: gut microbiota could be a diagnostic marker of coronary artery disease[J]. Heart Vessels, 2017, 32(1): 39-46.

[12] 王玲, 李群. 冠心病患者肠道菌群分布及其与尿酸代谢的关系分析[J]. 现代消化及介入诊疗, 2015, 17(6): 327-330.

[13] BRUGERE J F, BORREL G, GACI N, et al. Archaeobiotics; proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease [J]. Gut Microbes, 2014, 5(1): 5-10.

[14] 周丹, 黄雨晴, 余雪菊, 等. 肠道菌群与心血管病关系的研究进展[J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(5): 417-423.

(收稿日期: 2018-11-11 修回日期: 2019-03-08)

892-895.

[9] 涂富莲, 杜海林, 陈涛, 等. 冠心病、高血压及冠心病合并高血压与 Hcy 临床相关性分析[J]. 中国继续医学教育, 2016, 8(14): 24-26.

[10] 陈映慧, 梁惠碧, 周远青. MTHFR 基因多态性和同型半胱氨酸在冠心病脑梗死和糖尿病中的分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(A02): 114-117.

(收稿日期: 2018-10-29 修回日期: 2019-03-12)