

· 论 著 ·

MTHFR 基因多态性及同型半胱氨酸
与老年冠心病的相关性苑小历¹, 游云鹏¹, 潘士勇¹, 杨 春²

[摘要] 目的 探讨 N₅、N₁₀ 亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性及血清同型半胱氨酸(Hcy)与老年冠心病(CHD)的相关性。**方法** 应用聚合酶链反应限制性内切酶(RT-PCR)技术检测并比较了 125 例老年冠心病患者(CHD 组)和 60 例健康老年人(对照组)的 MTHFR 基因型,以荧光偏振免疫分析法(FPLA)检测血清 Hcy 的水平并予比较。**结果** 两组 MTHFR 677 位点基因型分布和各等位基因频率比较差异均有统计学意义(P 均 <0.05);CHD 组 T 等位基因频率及血清 Hcy 水平高于对照组(P 均 <0.05)。**结论** MTHFR 基因突变可导致血清 Hcy 水平升高,高 Hcy 水平及高 MTHFR 基因 T 等位基因频率均为老年 CHD 的高危因素。

[关键词] 冠心病;老年人;亚甲基四氢叶酸还原酶;基因多态性;同型半胱氨酸

[中图分类号] R541.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2012)04-0320-03

The correlation between MTHFR gene polymorphisms and levels of plasma homocysteine (Hcy) in elderly patients with coronary heart disease

YUAN Xiao-li¹, YOU Yun-peng¹, PAN Shi-yong¹, YANG Chun². 1. Department of Cadre Health Caring, 2. Department of Cardiology, School of Medicine, Nanjing University/Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China

[Abstract] **Objective** To observe the correlation of plasma Hcy and polymorphism in 5,10 MTHFR genes in the elderly patients with coronary heart disease. **Methods** 125 elderly patients with coronary heart disease and 60 controls were studied. The Hcy levels were measured by high performance liquid chromatography fluorescence detection. The polymorphism in MTHFR was determined by a polymerase chain reaction (PCR) assay and subsequent restriction enzyme digestion. **Results** The genotype distribution of MTHFR R677 site and the frequency of alleles were significant difference in CHD group and control group (P all <0.05). The frequency of T alleles and the Hcy levels were higher in the CHD group compared with those in the control group (P all <0.05). **Conclusion** The MTHFR gene mutations can lead to hyperhomocysteinemia. The mutations in MTHFR and hyperhomocysteinemia are both risk factors for coronary heart disease in elderly.

[Key words] coronary heart disease; elderly patients; methylene tetrahydrofolate reductase; genetic polymorphism; homocysteine

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平升高是心血管疾病的一个独立危险因素^[1-2]。N₅、N₁₀ 亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因变异导致的该酶活性降低是高 Hcy 血症的主要机制。为探讨 MTHFR 基因多态性及老年人冠心病(CHD)与高 Hcy 血症的关系,本文对 125 例老年 CHD 患者及 60 例健

康老年人的血清中 Hcy 浓度及 MTHFR 基因型进行了分析比较如下。

1 对象与方法

1.1 对象 选择在我院进行冠状动脉造影(CAG)患者 185 例,冠状动脉 DSA 造影采用西门子 AXIOM-Artis DSA 设备,将其分为两组。对照组:CAG 未发现斑块狭窄或狭窄 $<50\%$ 的患者 60 例,年龄 (68 ± 11) 岁。冠心病组:CAG 显示左冠状动脉主干、左前降支(LAD,含主要对角支)、回旋支(LCX,含主要边缘支)或右冠状动脉(RCA,含后降支或左室后侧支)中至少 1 支血管狭窄程度 $\geq 50\%$ 的患者

作者简介: 苑小历(1980-),女,江苏南京人,硕士在读,主治医师,从事医疗保健及消化内科研究工作

作者单位: 210002 江苏南京,南京大学医学院临床学院(南京军区南京总医院),1. 干部保健科,2. 心内科

通讯作者: 杨 春, E-mail: Colin_2891@163.com

125 例,年龄(65 ± 11)岁。

1.2 血清 Hcy 浓度测定 入院次日清晨取静脉血,使用 IMX 型自动分析仪及配套 Hcy 试剂盒(Abbott 公司),采用荧光偏振免疫分析法(FPLA)测定 Hcy 浓度(正常值为 5 ~ 15 μmol/L)。

1.3 PCR 扩增 基因组 DNA 提取:用含细胞保存液的真空试管采血 3 ml,5000 r/min 离心 10 min,弃上清,用 DNA 提取试剂盒(Gibco 公司)提取 DNA,取 5 ml 做模板。PCR 扩增:按 PCR 扩增试剂盒(香港凯善公司)说明书操作,MTHFR 基因的扩增引物由上海生工生化公司合成,引物序列如下:Primer1:5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3',Primer2:5'-GGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'。采用 PE9600 型 PCR 扩增仪(美国 ABI 公司)。反应条件:94℃ 30 s,62℃ 45 s,72℃ 50 s,共 30 个循环后 72℃ 再延伸 10 min,最后配制 2% 琼脂糖凝胶(含 0.5 μg/ml 溴化乙锭)进行电泳并判读 MTHFR 基因分型。

1.4 统计学处理 运用 SPSS 10.0 软件对数据进行统计学分析,计量数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,研究对象的 Hardy Weinberg 平衡、各组 MTHFR 基因型分布及等位基因频率比较用 χ^2 检验,组间均数比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 MTHFR 基因型分布及等位基因频率比较 两组基因型频率符合 Hardy Weinberg 平衡($P > 0.05$)。两组 MTHFR677 位点基因型分布和各等位基因频率比较有显著差异($P < 0.05$),CHD 组 T 等位基因频率明显高于对照组($P < 0.05$,表 1)。

表 1 两组 MTHFR 基因型分布和等位基因频率比较(%)

组别	n	基因型			等位基因	
		TT	TC	CC	C	T
CHD 组	125	41.16*	43.14*	15.70*	37.27*	63.73*
对照组	60	32.92	34.04	33.04	50.06	49.94

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

2.2 两组不同 MTHFR 基因型血清 Hcy 比较 CHD 组与对照组血清 Hcy 比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组中 TT 基因型个体的 Hcy 水平高于 TC 和 CC 基因型个体($P < 0.05$,表 2)。

表 2 两组 MTHFR 不同基因型血清 HCY 水平比较(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	基因型		
		TT	TC	CC
CHD 组	125	16.90 ± 5.20	12.30 ± 5.12*	12.24 ± 4.88*
对照组	60	16.48 ± 5.01	10.10 ± 4.86*	9.02 ± 4.70*

注:与同组 TT 基因型比较,* $P < 0.05$

3 讨 论

文献报道内皮细胞在 L-精氨酸-N-甲基转移酶的作用下,以特异性 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体,使多肽中的 L-精氨酸残基甲基化,S-腺苷甲硫氨酸脱甲基后则形成 Hcy^[3]。Hcy 属于含硫氨基酸,是蛋氨酸代谢的重要中间产物,蛋氨酸代谢中的酶或辅助因子如叶酸、维生素 B₁₂、维生素 B₆ 等缺乏或药物、慢性疾病等均可引起血清 Hcy 水平升高。高 Hcy 血症诱发心、脑血管病的机制,可能为过多 Hcy 损伤内皮细胞,促进平滑肌细胞增殖,诱导内皮细胞激活促凝因子,影响凝血系统及对低密度脂蛋白的氧化修饰作用,从而促进血栓形成^[4-5]。在体内,蛋氨酸经脱甲基等一系列反应生成 Hcy,生成的 Hcy 约有 50% 在蛋氨酸合成酶的作用下,以维生素 B₁₂ 为辅因子,以 N₅-甲基四氢叶酸为甲基供体,发生再甲基化,重新合成蛋氨酸。而这一反应中的甲基供体是由 MTHFR 催化 N₅、N₁₀-亚甲基四氢叶酸而产生,所以 MTHFR 是蛋氨酸代谢中的一个关键酶^[6-7]。

MTHFR 基因存在十余种变异,其中 C677T 基因多态性较为常见,此种变异导致丙氨酸被缬氨酸取代,影响 MTHFR 的活性^[8]。已有研究^[9-10]表明,该酶活性降低使半胱氨酸合成甲硫半胱氨酸减少,最终使血 Hcy 浓度增加。本研究中两组 TT 基因型患者血清 Hcy 水平均高于 TC、CC 型患者,与以上结论相近,亦示 MTHFR 基因型与血清 Hcy 水平有关,基因突变患者血中 Hcy 水平升高。有研究认为^[11],MTHFR 的 C677T 基因突变与闭塞性血管病变疾病相关。本研究中 MTHFR 基因 C677T 中 T、C 等位基因频率及基因型分布在两组之间均存在显著差异,CHD 组 T 等位基因频率明显高于对照组,提示 MTHFR 基因 C677T 多态性与冠心病发病有一定的关系,携带 T 基因型的患者易发生 CHD。因此,在预防和治疗脑血管疾病中关注 MTHFR 基因的多态性和血清 Hcy 水平具有重要意义。

(下转第 365 页)

植片及视力情况。术后第 1 天术眼视力 0.15, 角膜植片透明, 缝线在位, 植片边缘与植床对合良好, 植片轻度水肿。术后第 3 天, 植片厚度为正常角膜厚度。术后患者出现轻度流泪、畏光、眼内异物感、眼部轻度刺痛等症状, 告知患者以上为术后正常反应, 嘱其保持术眼卫生, 勿用手、纸巾或毛巾直接接触眼球, 避免眼部感染, 同时应尽量闭目休息, 减少眼球活动。术后第 1 天术眼出现鼻侧小片块状结膜下出血, 告知患者这是由于飞秒激光制作角膜瓣过程中负压吸引引起的, 一般 2~3 周可自然吸收, 减少患者心理恐惧, 使其克服消极情绪, 树立康复的信心。

2.3.2 生活及饮食护理 嘱患者可在家属陪同下适当活动, 但应尽量避免低头、弯腰, 谨防碰撞术眼, 应注意术眼保护, 无菌纱布遮盖或戴保护眼镜, 滴抗生素眼药水, 防止细菌感染。多吃软食及易消化的食物, 多吃水果、蔬菜, 适当增加蛋白质和维生素的摄入, 以促进伤口修复。避免进刺激性食物, 戒烟酒, 避免接触刺激性的气体和尘埃, 以免加重眼部不适。保持大便通畅防止便秘, 以防过度用力使伤口裂开, 影响伤口愈合。术后给予抗生素眼药水(复方妥布霉素眼液 1 次/h); 人工泪液(牛碱性成纤维细胞生长因子 4 次/h)滴眼^[7]。

2.3.3 出院健康教育 术后 2 周内洗头洗脸时避免将水溅入眼内, 不宜揉眼; 术后 1 个月内宜佩戴挡风眼镜或太阳眼镜, 勿游泳, 不做眼部化妆及美容, 避免异物进入眼内, 注意用眼卫生, 避免长时间近距离用眼等, 以免引起视力疲劳, 影响手术效果; 避免

外力碰撞术眼, 以免对眼睛造成压力; 尽量避免夜间开车, 防眩光引起交通事故。

2.4 复查及随访 患者应按医嘱吃药、点眼药水, 按要求门诊复查, 如出现疼痛、畏光、流泪、视力减退或眼前有雾等症状应带病例立即到医院复查。术后 1、3、6 个月, 1、2 年持续追踪复查, 指导患者术后用药以及眼部护理。做好随访记录。

【参考文献】

- [1] Terrv MA, Ousley PJ. Rapid visual rehabilitation after endothelial transplants with deep lamellm endothelial keratoplasty (DLEK) [J]. Cornea, 2004, 23(2): 143-153.
- [2] 刘小伟, 赵家良. 深板层角膜内皮层移植[J]. 中华现代眼科学杂志, 2005, 2(9): 806-810.
- [3] Vryghem JC, Devogelaere T, Stodulka P. Efficacy, safety, and flap dimensions of a new femtosecond laser for laser in situ keratomileusis[J]. J Cataract Refract Surg, 2010, 36(3): 442-448.
- [4] Kermani O, Oberheide U. Comparative micromorphologic in vitro porcine study of IntraLase and Fem to LDV femtosecond lasers [J]. J Cataract Refract Surg, 2008, 34(8): 1393-1399.
- [5] Sutton G, Hodge C. Accuracy and precision of LASIK flap thickness using the IntraLase fem to second laser in 1000 consecutive cases [J]. J Refract Surg, 2008, 24(8): 802-806.
- [6] Sarayba MA, Maguen E, Salz J, et al. Femtosecond laser keratome creation of paaim thickness donor corneal buttons for lmnellar keratoplasty[J]. Refract Surg, 2007, 23(1): 58-65.
- [7] 雷英, 姜晶, 李霞. 深板层角膜移植术患者的围术期护理[J]. 解放军护理杂志, 2008, 25(9): 50-51.

(收稿日期: 2012-04-09; 修回日期: 2012-04-27)

(本文编辑: 黄攸生)

(上接第 321 页)

【参考文献】

- [1] Cattaneo M. Hyperhomocysteinaemia and atherothrombosis [J]. AnnMed, 2000, 32(suppl 1): 46-52.
- [2] Jarosz A, Nowicka G. C-reactive protein and homocysteine as risk factors of atherosclerosis [J]. Przegl Lek, 2008, 65(6): 268-272.
- [3] 陈景开, 吴勇刚, 陈满清, 等. 老年人血清不对称二甲基精氨酸与同型半胱氨酸及动脉硬化其他危险因素的相关性分析[J]. 东南国防医药, 2007, 9(4): 243-245.
- [4] 吴洪霞, 陈慧, 吴小盈, 等. 血浆同型半胱氨酸水平与脑梗死发病及复发的相关研究[J]. 医学研究生学报, 2011, 24(6): 607-610.
- [5] Markus HS, Ali N, Swaminathan R, et al. A common polymorphism in the methylene tetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease [J]. Stroke, 1997, 28(9): 1739-1743.
- [6] Jamali AH, Tang WH, Khot UN, et al. The role of angiotensin re-

ceptor blockers in the management of chronic heart failure [J]. Arch Intern Med, 2001, 161(5): 667-672.

- [7] Zubkov AY, Oigara K, Tumu P, et al. Bloody cerebrospinal fluid alters contractility of cultured arteries [J]. Neurol Res, 1999, 21(6): 553-558.
- [8] Markan S, Sachdeva M, Schrawat BS, et al. MTHFR 677 CT/MTHFR 1298 CC genotypes are associated with increased risk of hypertension in Indians [J]. Mol Cell Biochem, 2007, 302(1-2): 125-131.
- [9] Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies [J]. J Thromb Haemost, 2005, 3(2): 292-299.
- [10] 张金玉. MTHFR 基因多态性与腔隙性 CHD 的相关性研究 [J]. 山东医药, 2005, 45(19): 26-27.
- [11] Marcucci R, Sofi F, Fedi S, et al. Thrombophilic risk factors in patients with severe carotid atherosclerosis [J]. J Thromb Haemost, 2005, 3(3): 502-507.

(收稿日期: 2012-04-19; 修回日期: 2012-05-13)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)