

• 论 著 •

MTHFR 基因多态性、血清 HCY 及叶酸水平与冠心病患者冠状动脉病变的相关性研究*

李 萍¹, 徐 贝¹, 朱海娟², 张青松^{1△}

1. 安徽省宣城市中心医院检验科, 安徽宣城 242000; 2. 安徽省妇幼保健院麻醉科, 安徽合肥 230001

摘 要:目的 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性、叶酸及同型半胱氨酸(HCY)水平与冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD)患者发病风险及其冠状动脉病变程度的关系。方法 选取 2020 年 9 月至 2022 年 8 月于宣城市中心医院就诊的 90 例经冠状动脉造影证实为 CHD 的患者为 CHD 组,另选取同期该院冠状动脉造影结果无斑块、无管腔狭窄的 90 例患者作为对照组。采用实时荧光定量 PCR 分析两组 MTHFR 基因 C667T 位点的多态性,采用酶循环法与化学发光法分别检测两组血清 HCY 及叶酸水平,分析 MTHFR 基因多态性、血清 HCY、叶酸水平与 CHD 患者冠状动脉病变程度的关系。结果 与对照组比较,CHD 组糖尿病史、高血压史比例、年龄及总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇水平升高($P<0.05$),高密度脂蛋白胆固醇水平降低($P<0.05$);CHD 组 TT 基因型分布频率升高(TT vs. CC:OR=3.00,95%CI 1.36~2.52, $P=0.006$),T 等位基因分布频率升高(T vs. C:OR=1.92,95%CI 1.26~2.92, $P=0.002$);中度组、重度组 MTHFR 基因 C667T 位点的 TT 基因型分布频率升高($P<0.05$)。TT 基因型患者的血清 HCY 水平较 CC 基因型及 CT 基因型高($P<0.05$),血清叶酸水平较 CC 基因型及 CT 基因型低($P<0.05$)。结论 MTHFR 基因 C667T 位点 TT 基因型更容易发生 CHD,其与中度及重度的 CHD 发病风险相关。TT 基因型患者血清 HCY 水平更高、叶酸水平更低,是冠状动脉病变程度加重的危险因素。

关键词:亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 同型半胱氨酸; 叶酸
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.11.002 **中图法分类号:**R541.4
文章编号:1673-4130(2023)11-1284-04 **文献标志码:**A

Association of MTHFR gene polymorphism, serum HCY and folate levels with coronary artery lesions in patients with coronary heart disease*

LI Ping¹, XU Bei¹, ZHU Haijuan², ZHANG Qingsong^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Xuancheng Central Hospital, Xuancheng, Anhui 242000, China; 2. Department of Anesthesia, Anhui Maternal and Child Health Hospital, Hefei, Anhui 230001, China

Abstract: Objective To investigate the association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism, folate and homocysteine (HCY) levels with the risk of coronary atherosclerotic heart disease (CHD) and the severity of coronary artery disease. **Methods** A total of 90 patients with CHD confirmed by coronary angiography in Xuancheng Central Hospital from September 2020 to August 2022 were selected as the CHD group, and 90 patients without plaque or lumen stenosis by coronary angiography in the same hospital during the same period were selected as the control group. Quantitative real-time PCR was used to analyze the polymorphism of MTHFR gene C667T site. Enzyme cycling method and chemiluminescence method were used to detect the levels of serum HCY and folate in the two groups. The relationship between MTHFR gene polymorphism, serum HCY, folate levels and the degree of coronary artery disease in patients with CHD was analyzed. **Results** Compared with the control group, the proportion of diabetes mellitus, hypertension, age and the levels of total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein cholesterol were significantly increased ($P<0.05$), and the level of high density lipoprotein cholesterol was decreased in the CHD group ($P<0.05$). The frequency of TT genotype was significantly higher in CHD group (TT vs. CC:OR=3.00,95%CI 1.36~2.52, $P=0.006$), the frequency of T allele was increased (T vs. C:OR=1.92,95%CI 1.26~2.92, $P=0.002$). The distribution frequency of MTHFR C667T site TT genotype was higher in the moderate and se-

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82100315)。
作者简介:李萍,女,主管技师,主要从事免疫学相关研究。△ 通信作者,E-mail:qs Zhang07@163.com。
网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1176.R.20230525.1534.004.html\(2023-05-29\)](https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1176.R.20230525.1534.004.html(2023-05-29))

vere groups ($P<0.05$). The serum HCY level of patients with TT genotype was higher than that of patients with CC genotype and CT genotype ($P<0.05$), and the serum folate level was lower than that of patients with CC genotype and CT genotype ($P<0.05$). **Conclusion** MTHFR C667T site TT genotype is more likely to have CHD, which is associated with the risk of moderate and severe CHD. The TT genotype has a higher serum HCY level and a lower serum folate level, which is a risk factor for the aggravation of coronary artery disease.

Key words: methylenetetrahydrofolate reductase; gene polymorphism; coronary atherosclerotic heart disease; homocysteine; folate

冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD)简称冠心病,是目前临床上最常见的心血管疾病,严重威胁人们健康。研究已证实,CHD 的发生主要是由于冠状动脉发生动脉粥样硬化,进而引起冠状动脉血管狭窄或闭塞,造成心脏供血不足,严重情况下会造成心肌损伤^[1]。同型半胱氨酸(HCY)是甲硫氨酸代谢过程中合成的氨基酸,其通过参与内皮细胞损伤及氧自由基的生成等多个机制参与了血管动脉粥样硬化的发生、发展^[2]。亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是 HCY 代谢中的关键酶, MTHFR 存在遗传变异,其中 C667T 位点变异被证实与 HCY 水平升高有关^[3]。此外,叶酸提供甲基供体参与 HCY 代谢过程,因此叶酸亦对 HCY 水平有潜在影响。为此本研究拟采用病例对照方式分析探讨 MTHFR 基因多态性与 CHD 患者冠状动脉病变的关系,并在此基础上进一步分析其与 HCY、叶酸水平的相关性,为其临床研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 9 月至 2022 年 8 月于安徽省宣城市中心医院就诊的 90 例 CHD 患者作为 CHD 组,其中男 57 例、女 33 例,年龄 35~74 岁、平均(67.38±8.99)岁;另选取同期造影结果无异常的患者 90 例作为对照组,其中男 51 例、女 39 例,年龄 33~72 岁、平均(60.59±10.77)岁。CHD 组纳入标准:按照美国心脏病学会冠状动脉造影指南,患者经右侧桡动脉穿刺采用 Judkins 技术多体位造影进行冠状动脉造影检查,诊断结果符合相关指南标准。排除标准:严重肝肾功能不全、动脉瘤、免疫系统疾病、动脉炎、恶性肿瘤、凝血功能异常、精神类疾病或认知功能障碍者;服用影响叶酸或 HCY 水平药物者。对照组纳入标准:均为有临床疑似胸痛患者并行冠状动脉

造影,结果无斑块、无管腔狭窄。所有受试者均不存在任何血缘关系,自愿参与并签署知情同意书。本研究经宣城市中心医院伦理委员会讨论通过。

1.2 方法 (1)所有受试者均于次日清晨抽取空腹肘正中静脉血,EDTA 抗凝,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血细胞,-80 ℃冰箱保存并统一进行 DNA 分析,采用磁珠法提取待测基因 DNA,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)对 MTHFR 基因 C667T 位点进行多态性分型(TL988 qPCR 仪)。采用酶循环法对两组血清 HCY 水平(TBA-FX8 生化分析仪)进行测定,采用化学发光法测定叶酸(罗氏 E601 化学发光仪)水平。(2)冠状动脉病变程度,根据心血管医师在造影中发现狭窄血管的直径或面积进行分级。正常:无斑块、无管腔狭窄;轻微:斑块对管腔的影响较小,狭窄率<25%;轻度:斑块无流量限制性狭窄,狭窄率在 25%~<50%;中度:斑块可能伴有血流限制性狭窄,狭窄率在 50%~<70%;重度:斑块伴有血流限制性狭窄,狭窄率在 70%~<100%;闭塞:狭窄率为 100%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理和分析,呈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;计数资料以例数和百分率表示,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 两组一般资料比较 两组性别、吸烟史、饮酒史、体重指数(BMI)、空腹血糖比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与对照组比较,CHD 组糖尿病史比例、高血压史比例、年龄及甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平升高($P<0.05$),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平降低($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组一般资料比较[n(%)或 $\bar{x}\pm s$]

组别	<i>n</i>	男	糖尿病史	高血压史	吸烟史	饮酒史	年龄(岁)
CHD 组	90	57(63.3)	32(35.6)	47(52.2)	30(33.3)	23(25.6)	67.38±8.99
对照组	90	51(56.7)	19(21.1)	31(34.4)	21(23.3)	18(20.0)	60.59±10.77
χ^2/t		0.833	6.624	5.792	2.216	0.790	4.593
<i>P</i>		0.361	0.032	0.016	0.137	0.374	<0.001

组别	<i>n</i>	BMI(kg/m ²)	空腹血糖(mmol/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
CHD 组	90	24.88±1.12	5.98±1.22	2.15±0.54	5.79±0.27	1.15±0.30	3.68±0.29
对照组	90	24.73±1.31	5.82±1.05	1.51±0.30	5.03±0.29	1.28±0.31	2.68±0.27
χ^2/t		0.802	0.906	9.956	18.310	2.844	23.785
<i>P</i>		0.423	0.366	<0.001	<0.001	0.005	<0.001

2.2 两组 MTHFR 基因 C667T 位点等位基因及基因型分析 对照组符合 Hardy-Weinberg 平衡检验。两组 MTHFR 的 C667T 位点基因型分布差异有统计学意义($P=0.013$);与对照组比较,CHD 组 TT 基因型分布频率升高(TT *vs.* CC; $OR=3.00,95\%CI 1.36\sim2.52,P=0.006$),CHD 组 T 等位基因分布频率升高(T *vs.* C; $OR=1.92,95\%CI 1.26\sim2.92,P=0.002$),提示 TT 基因型及 T 等位基因是 CHD 的易感基因。见表 2。

2.3 不同冠状动脉病变程度患者 MTHFR 基因 C667T 位点基因型分布频率分析 依血管狭窄程度进行分组,结果显示,30 例为轻度病变(轻度组),30

例为中度病变(中度组),30 例为重度病变(重度组)。与对照组比较,中度组、重度组 MTHFR 基因 C667T 位点的 TT 基因型分布频率升高,提示 MTHFR 基因 C667T 位点的 TT 基因型与中度及重度的 CHD 发病风险相关,是 CHD 心血管事件的风险因素。见表 3。

表 2 两组 MTHFR 基因 C667T 位点等位基因及基因型分析[n(%)]

组别	n	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
对照组	90	30(33.33)	40(44.44)	20(22.22)	100(55.56)	80(44.44)
CHD 组	90	19(21.11)	33(36.67)	38(42.22)	71(39.44)	109(60.56)

表 3 不同冠状动脉病变程度患者 MTHFR 基因 C667T 位点基因型分布频率分析

组别	n	CC	CT			TT		
			分布频率[n(%)]	OR(95%CI)	^a P	分布频率[n(%)]	OR(95%CI)	^a P
对照组	90	30(33.33)	40(44.44)	—	—	20(22.22)	—	—
轻度组	30	8(26.67)	12(40.00)	1.13(0.41~3.10)	0.820	10(33.33)	1.88(0.63~5.57)	0.254
中度组	30	6(20.00)	11(36.67)	1.38(0.46~4.14)	0.570	13(43.33)	3.25(1.06~9.97)	0.035
重度组	30	5(16.67)	10(33.33)	1.50(0.46~4.85)	0.496	15(50.00)	4.50(1.23~14.35)	0.008

注:^a 为与对照组 CC 基因型比较;—为此项无数据。

2.4 不同基因型患者血清 HCY、叶酸水平比较 TT 基因型患者的血清 HCY 水平较 CC 基因型及 CT 基因型高($P<0.05$),TT 基因型患者的血清叶酸水平较 CC 基因型及 CT 基因型低($P<0.05$),提示 TT 基因型对 HCY 及叶酸水平有明显影响。见表 4。

表 4 不同基因型患者血清 HCY、叶酸水平比较($\bar{x}\pm s$)

基因型	n	HCY(μmol/L)	叶酸(nmol/L)
CC	19	10.49±3.22	20.86±3.10
CT	33	12.85±5.31	20.90±2.85
TT	38	21.40±9.55 ^{ab}	17.34±5.82 ^{ab}

注:与 CT 基因型比较,^a $P<0.05$;与 CC 基因型比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

心血管疾病患病率与病死率呈逐年升高的趋势,给国民健康带来了威胁。目前心血管疾病预防及临床工作取得了许多积极进展,但 CHD 患者的发病原因尚不明确,有待进一步研究。随着人类基因组计划的完成,从分子遗传学方面研究 CHD 的发病机制成为热点。

研究证实,动脉粥样硬化是引起 CHD 发生的主要机制之一,而动脉粥样硬化的发生是由于多种因素引起血管内膜损伤,进而导致脂质、复合糖类积聚及血栓等形成,并使钙质等逐渐沉积,随着病变加重,病变逐渐累及并阻塞血管,最终导致 CHD 的发生^[4-6]。HCY 是一种氨基酸,是半胱氨酸与甲硫氨酸代谢的中间产物,本身并不参加蛋白质的合成,但其可以通过氧化和亚硝化反应损伤血管内膜,参与启动动脉粥样硬化的发生,同时刺激血管及心肌平滑肌细胞增

生,促进动脉粥样硬化的发展,此外,HCY 可以促使心肌细胞钙超载,并参与心肌缺血的病理变化过程。当机体 HCY 的代谢异常时,血清 HCY 水平升高,促进动脉粥样硬化的发生。MTHFR 是 HCY 代谢过程中的关键酶之一,MTHFR 基因缺陷可以明显升高血清 HCY 水平^[7-9]。

本研究发现,CHD 组 T 等位基因分布频率高于对照组。同时,根据冠状动脉狭窄程度将 CHD 组患者分为轻度组、中度组及重度组,分析不同冠状动脉病变程度患者 MTHFR 基因 C667T 位点突变的遗传学差异,结果发现重度组及中度组 TT 基因型分布频率均高于轻度组及对照组,重度组患者 TT 基因型分布频率高于中度组。可见 MTHFR C667T 位点的 T 等位基因携带者的 CHD 发病率较高。

本研究进一步分析发现,TT 基因型血清 HCY 水平高于 CC 及 CT 基因型,结果提示 MTHFR 基因 C667T 位点 C 突变为 T 后更容易引起血清 HCY 水平升高。房大广^[10]研究表明,冠心病组 MTHFR C667T 位点 TT 基因型比例高于对照组,冠心病组血清 HCY 水平高于健康对照组($P<0.05$);不同 MTHFR 基因型患者的血清 HCY 水平有明显差异($P<0.05$),其中 TT 基因型患者血清 HCY 水平高于 CT、CC 基因型患者($P<0.05$),与本研究结果较一致。

研究发现,正常生理状况下,体内约 1/2 的 HCY 通过叶酸的循环重新合成甲硫氨酸,因此叶酸是机体代谢 HCY 的主要途径^[11]。当叶酸缺乏时,同样可以导致血清 HCY 水平升高。高淑华等^[12]研究发现,补

充叶酸可以明显降低血清 HCY 水平,揭示叶酸缺乏可能会导致血清 HCY 水平升高,进而是冠状动脉病变的潜在风险因素^[13-14]。本研究中 TT 基因型患者的血清叶酸水平较 CC 基因型及 CT 基因型低($P < 0.05$),提示 TT 基因对 HCY 及叶酸水平有明显影响。

综上所述,MTHFR 基因 C677T 位点 TT 基因型是 CHD 的风险基因,与中度及重度的 CHD 发病风险相关。TT 基因型 CHD 患者中血清 HCY 水平更高、叶酸水平更低,是冠状动脉病变程度加重的危险因素。

参考文献

[1] 王学惠,赵文鸽,李慧丹,等. 同型半胱氨酸和脂蛋白 a 对冠心病影响的性别差异性分析[J]. 重庆医学,2019,48(19):3270-3274.

[2] GRABOWSKI M, BANECKI B, KADZIŃSKI L, et al. The model homologue of the partially defective human 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase, considered as a risk factor for stroke due to increased homocysteine level, can be protected and reactivated by heat shock proteins[J]. Metab Brain Dis, 2016, 31(5):1041-1045.

[3] 易帆,曾召琼,李萍,等. 同型半胱氨酸在冠心病发病机制中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11): 1365-1368.

[4] 张贞,宁兴旺,匡敏,等. 湖南地区冠心病患者 MTHFR C677T 基因多态性与血浆同型半胱氨酸及血脂水平关系的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(20):2492-2495.

[5] 刘义波. 血清同型半胱氨酸与冠心病相关性分析[J/CD]. 心血管外科杂志(电子版), 2019, 8(2):28.

[6] 梁灵,王名南,周萍. 血清同型半胱氨酸在不同类型冠状动脉粥样硬化性心脏病中的表达及与冠状动脉病变程度

的关系[J]. 实用医技杂志, 2019, 26(5):566-567.

[7] 张诗吟,陆建忠. 湖州地区冠心病患者 MTHFR C677T 基因多态性及 Hcy 水平及其与冠心病发病的关联研究[J]. 实用预防医学, 2019, 26(9):1146-1149.

[8] MECH A W, FARAH A. Correlation of clinical response with homocysteine reduction during therapy with reduced B vitamins in patients with MDD who are positive for MTHFR C677T or A1298C polymorphism: a randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. J Clin Psychiatry, 2016, 77(5):668-671.

[9] 阴淑莹,牛亚芊芊,李爱英. H 型高血压合并冠心病 MTHFR 基因 C677T 多态性与冠状动脉病变的分析[J]. 内蒙古医科大学学报, 2019, 41(4):408-410.

[10] 房大广. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性对老年冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血浆同型半胱氨酸水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(12):2827-2829.

[11] DIMITROULAS T, SANDOO A, HODSON J, et al. Associations between asymmetric dimethylarginine, homocysteine, and the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism (rs1801133) in rheumatoid arthritis[J]. Scand J Rheumatol, 2016; 45(4):267-273.

[12] 高淑华,罗晋武. H 型高血压与冠心病及冠状动脉病变程度的关系探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(6):913-914.

[13] 韩慧慧,赵伟丽,芦军. 血清 Hcy、NSE、miR-146a 在脑梗死继发癫痫患者中的表达及其临床意义[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(08):482-483.

[14] 陈斌,康品方,李妙男,等. MTHFR C677T 基因多态性、同型半胱氨酸与早发冠心病的相关性[J]. 山西医科大学学报, 2022, 53(8):992-997.

(收稿日期:2022-11-03 修回日期:2023-01-31)

(上接第 1283 页)

19: a multicenter study[J]. Radiology, 2021, 301(3): E426-E433.

[4] KHAN F A, STEWART I, SAINI G, et al. A systematic review of blood biomarkers with individual participant data meta-analysis of matrix metalloproteinase-7 in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Eur Respir J, 2021, 59(4): 2101612.

[5] DAVIS H E, ASSAF G S, MCCORKELL L, et al. Characterizing long COVID in an international cohort: 7 months of symptoms and their impact[J]. EClinicalMedicine, 2021, 38:101019.

[6] TANDON M, KATARIA S, PATEL J, et al. A comprehensive systematic review of CSF analysis that defines neurological manifestations of COVID-19[J]. Int J Infect Dis, 2021, 104:390-397.

[7] NAMKOONG H, EDAHIRO R, TAKANO T, et al. DOCK2 is involved in the host genetics and biology of severe COVID-19[J]. Nature, 2022, 609(7928):754-760.

[8] COVID-19 Multi-omics Blood Atlas (COMBAT) Consortium. A blood atlas of COVID-19 defines hallmarks of disease severity and specificity[J]. Cell, 2022, 185(5): 916-938.

[9] FOWLER V L, ARMSON B, GONZALES J L, et al. A highly effective reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the rapid detection of SARS-CoV-2 infection[J]. J Infect, 2021, 82(1):117-125.

[10] WELCH N L, ZHU M L, HUA C, et al. Multiplexed CRI SPR-based microfluidic platform for clinical testing of respiratory viruses and identification of SARS-CoV-2 variants[J]. Nat Med, 2022, 28(5):1083-1094.

[11] MAHER M C, BARTHA I, WEAVER S, et al. Predicting the mutational drivers of future SARS-CoV-2 variants of concern[J]. Sci Transl Med, 2022, 14(633): eabk3445.

(收稿日期:2023-02-13 修回日期:2023-03-15)