

同型半胱氨酸浓度 及 MTHFR 基因多态性与妊娠期高血压疾病的关系

徐少勇¹,姚小凤²,刘冬霞³,张晓萍⁴,薛洁好⁴

1.清远市妇幼保健院内科,广东 清远 511500;

2.宝瑞国际医学中心产科,广东 广州 510220;

3.清远市妇幼保健院优生与遗传实验诊断中心,广东 清远 511500;

4.清远市妇幼保健院产科,广东 清远 511500

【摘要】 目的 探讨血清同型半胱氨酸(Hcy)浓度及亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性与与妊娠期高血压疾病的关系。方法 选择清远市妇幼保健院内科于2017年1月至2018年12月期间收治的70例妊娠期高血压疾病患者纳入观察组,另随机选择同期70例健康孕妇纳入对照组,检测并比较两组受检者的血清Hcy水平;同时采用荧光定量PCR技术测定其MTHFR C677T基因多态性,并进行组间比较。结果 观察组患者的血清Hcy为(14.14±3.45) μmol/L,明显高于对照组的(7.83±2.08) μmol/L,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组患者MTHFR C677T中的C/T基因型频率、突变T等位基因频率分别为42.86%、35.00%,明显高于对照组的21.43%、20.00%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 妊娠期高血压疾病患者普遍存在血清Hcy水平升高,MTHFR基因 C677T多态性与妊娠期高血压疾病发病关系密切。

【关键词】 妊娠期高血压疾病;亚甲基四氢叶酸还原酶;基因多态性;同型半胱氨酸;基因突变

【中图分类号】 R714.24⁺6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)13-1670-03

Relationship between homocysteine concentration, MTHFR gene polymorphism and hypertensive disorder complicating pregnancy. XU Shao-yong¹, YAO Xiao-feng², LIU Dong-xia³, ZHANG Xiao-ping⁴, XUE Jie-hao⁴. 1. Department of Internal Medicine, Qingyuan Maternal and Child Health Hospital, Guangdong Province, Qingyuan 511500, Guangdong, CHINA; 2. Department of Obstetrics, Baorui International Medical Center, Guangzhou 510220, Guangdong, CHINA; 3. Diagnostic Center for Eugenics and Heredity Experiments, Qingyuan Maternal and Child Health Hospital, Guangzhou 511500, Guangdong, CHINA; 4. Department of Obstetrics, Qingyuan Maternal and Child Health Hospital, Guangzhou 511500, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between serum homocysteine (Hcy) concentration, MTHFR gene polymorphism and hypertensive disorder complicating pregnancy. **Methods** Seventy patients with hypertensive disorder complicating pregnancy from Department of Internal Medicine, Qingyuan Maternal and Child Health Hospital, from January 2017 to December 2018 were selected and included into the observation group. Another 70 healthy pregnant women were randomly selected as the control group during the same period. Serum levels of Hcy were detected and compared between the two groups. Meanwhile, MTHFR C677T gene polymorphisms were detected by fluorescence quantitative PCR and compared between the two groups. **Results** The serum level of Hcy in observation group was (14.14±3.45) μmol/L, which was significantly higher than (7.83±2.08) μmol/L in control group ($P<0.05$). The frequency of C/T genotype and mutant T allele in MTHFR C677T in observation group were 42.86% and 35.00%, respectively, which were significantly higher than 21.43% and 20.00% in control group ($P<0.05$). **Conclusion** The increase of serum Hcy level is common in patients with hypertensive disorder complicating pregnancy. The C677T polymorphism of MTHFR gene is closely related to the pathogenesis of pregnancy-induced hypertension.

【Key words】 Hypertensive disorder complicating pregnancy; Methylene tetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism; Homocysteine; Gene mutation

妊娠期高血压疾病具有较大的危害性,作为妊娠期特有疾病,主要表现为妊娠合并高血压,并且可以出现蛋白尿、水肿、头痛、视物模糊等,其发病率高达7%~12%^[1]。妊娠期高血压的危害不仅仅表现对孕妇本身造成的影响,还可以引起羊水过少等并发症,影

响胎儿的正常生长发育,进而对母婴的健康及生命安全均造成了严重的威胁,因而必须引起足够的临床重视,也是各个国家在孕产妇管理中需要重点关注的问题^[2]。该病的发病机制复杂,目前尚未完全阐述明确,但是血管内皮损伤在本病发生与发展中的作用已经

得到公认。同型半胱氨酸(Hcy)是一种具有血管损伤作用的氨基酸,与血管内皮损伤的发生关系密切^[3]。亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)参与到同型半胱氨酸(Hcy)的甲基化过程中,因而外周循环中Hcy的浓度受到MTHFR的调节。近年来,随着分子生物学技术在临床上的不断应用,以及人类基因组研究的不断进展,寻找与本病因学相关的基因也成了研究的热点^[4]。本研究探讨了Hcy浓度及MTHFR基因多态性与与本病的关系,现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择清远市妇幼保健院内科于2017年1月至2018年12月期间收治的70例妊娠期高血压疾病患者纳入观察组。纳入标准:①符合疾病的相关诊断标准(《妇产科学》第7版)^[5];②妊娠均为单胎。排除标准:①妊娠前合并高血压、自身免疫性疾病(如甲状腺疾病、系统性红斑狼疮、干燥综合征、类风湿性关节炎等)、恶性肿瘤者,以及合并严重脏器功能障碍的患者;②合并妊娠期糖尿病等其他并发症;③人工授精、试管婴儿等辅助生殖技术受孕者。另随机选择同期70例健康孕妇纳入对照组,两组孕妇的基线资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。本研究经医院伦理委员会批准,所有孕均对本研究知情同意,签署知情同意书。

表1 两组孕妇的基线资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	孕周	孕次	产次
观察组	70	27.44±4.33	33.28±3.72	1.93±0.54	0.48±0.14
对照组	70	26.73±5.27	33.85±3.21	1.96±0.62	0.43±0.13
t 值		0.829	0.427	0.058	0.225
P 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

1.2 研究方法

1.2.1 血清Hcy测定 两组孕妇均在入组次日抽取空腹静脉血,先使用离心机离心并将血清分离、保存。血清Hcy检测仪器采用日立LABOSPECT008全自动生化分析仪,检测采用循环酶法,试剂购自宁波美康生物有限公司,Hcy参考范围:5~15 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.2.2 MTHFR基因多态性的测定 采用PCR-芯片杂交法,MTHFR(C677T)基因检测试剂盒(上海百傲科技有限公司)对MTHFR基因多态性进行测定。收集患者的全血样本,将DNA提取液体加入其中,进而促进裂解细胞并使DNA释放,将其作为模板,然后使用两条寡核苷酸引物、聚合酶予PCR扩增,扩增条件:50℃ 5 min;94℃ 5 min;94℃ 25 s,56℃ 25 s,72℃ 25 s,35个循环之后再72℃下5 min。使用BR-526-24型全自动杂交仪对扩增产物进行杂交反应,结束后将芯片取出放入识读仪(BE-2.0)中,用MTHFR基因型分析软件对图像进行扫描,对数据进行分析,判断结果,基因型包括以下三种:677TT,

677CT,677CC。

1.3 统计学方法 应用SPSS19.0统计学软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,采用百分数表示计数资料,计数资料比较采用 χ^2 检验,均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇的血清Hcy水平比较 观察组孕妇的血清Hcy为(14.14±3.45) $\mu\text{mol/L}$,明显高于对照组的(7.83±2.08) $\mu\text{mol/L}$,差异具有统计学意义($t=12.791$, $P<0.05$)。

2.2 两组孕妇的MTHFR基因C677T多态性比较 观察组孕妇的MTHFR C677T中C/T基因型频率、突变T等位基因频率均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表2 两组孕妇的MTHFR基因C677T多态性比较

组别	例数	MTHFR基因型频率[例(%)]			等位基因频率(%)	
		C/C	C/T	T/T	C	T
观察组	70	34 (48.57)	30 (42.86)	6 (8.57)	65.0	35.0
对照组	70	44 (62.86)	15 (21.43)	11 (15.71)	80.0	20.0
χ^2 值		2.895	7.368	1.674	7.890	7.890
P 值		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

妊娠期高血压疾病、产后出血、感染及妊娠合并心脏病是引起孕产妇死亡的四个最重要的病因,其中妊娠期高血压疾病居第二位^[6]。本病的病情程度具有较大的差异性,多数患者的典型症状为高血压在妊娠20周后出现,同时伴有水肿和蛋白尿等表现,且在分娩后多数即可消失^[7-8];但是部分病情严重的患者可出现心力衰竭、抽搐、昏迷、肾功能不全、肝细胞坏死、凝血机制异常,并且可以引起羊水过少,以及胎盘绒毛退行性变、出血、胎儿生长受限等严重并发症,对母婴的生命安全造成严重的威胁^[9]。目前有关本病的病因及发病机制尚未完全阐明,不过公认的是其发生发展过程中涉及多种因素的参与,如高血压家族史、心理应激、微量元素(如钙、硒)摄入不足等等^[10]。同时也建立起了妊娠期高血压疾病发病的多种学说,诸如遗传学说、免疫适应不良学说、神经内分泌学说、胎盘缺血及氧化应激学说等,但是单一学说也不能完全阐释本病的发病过程。

近年来,血管内皮损伤在多种妊娠期疾病及心脑血管疾病中的作用被认识,其与本病的关系也日益受到临床关注,Hcy则是一种与血管损伤关系最为密切的氨基酸之一^[11]。循环内高浓度的Hcy容易被氧化导致同型半胱氨酸化合物的生成,同时引起过氧化氢和超氧离子由基生成增多,损伤血管内皮细胞,并且对血管平滑肌细胞的增殖也有明显的促进作用;此外,

Hcy在体内可以自发形成巯基内脂化合物,可以通过与视黄酸共同作用,起到增强血小板聚集性的作用,进而合成血栓素增多,使凝血因子V的活性增加,容易引起血栓的形成;高浓度的Hcy损伤血管内皮细胞功能,导致细胞减少释放NO产物,内皮细胞介导的抑制血小板聚集的作用减弱,并且引起使血管收缩、舒张功能失衡^[12-13]。张玲等^[14]研究也指出妊娠期高血压疾病患者其血清Hcy较对照组明显增高,且血清Hcy浓度与病情的严重程度有相关性,经治疗好转后患者的血清Hcy浓度也会相应下降。本研究中,HDCP患者血清Hcy明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。这也进一步说明了Hcy参与了妊娠期高血压疾病的发生与发展。

高同型半胱氨酸血症(Hhcy)产生的因素较为复杂,目前尚未完全研究明确,但是随着研究的不断深入,已经认识到这一过程可能涉及到营养、遗传、疾病、药物及其它因素作用的影响。其中遗传因素是现在研究的热点,参与Hcy代谢的酶已经都被深入认识,且可以被克隆。MTHFR基因编码产物是体内Hcy再甲基化过程中的一个关键酶,遗传因素如引起编码该酶的基因发生碱基突变,也可能发生插入缺失,可以引起MTHFR活性的缺乏或者降低^[15],因此不少研究推测MTHFR基因多态性通过影响循环中Hcy的浓度参与本病的发病。MTHFR C677T点突变指胸腺嘧啶(T)取代677位胞嘧啶(C),这也是非常常见的一种错义突变,可引起缬氨酸取代丙氨酸。已经明确的是这个基因点突变可以直接影响MTHFR酶的活性,使该酶的活性明显下降,导致Hcy向蛋氨酸的转化过程出现障碍,进而引起循环中Hcy浓度的显著上升^[16]。本研究结果显示,妊娠期高血压疾病患者MTHFR C677T中C/T基因型频率、突变T等位基因频率明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),因而研究也就说明了MTHFR基因C677T多态性与该疾病的发生具有一定关系。因此,本研究结果说明本病的发生与MTHFR基因关系密切,后者是前者的易感基因;但是其发生也并非与每一个位点的突变均有关,不一样位置的位点突变存在特异性。本研究表明C677T基因多态性是本病发生的重要诱因。

综上所述,妊娠期高血压疾病患者普遍存在血清Hcy浓度的升高,MTHFR基因C677T多态性参与本病的发生、发展。MTHFR基因C677T多态性有望为预测该病的发生及判断疾病进展提供新的研究思路 and 方向。

参考文献

- [1] 邓莉,方碧梅. 妊娠期高血压疾病的临床流行病学分析[J]. 海南医学, 2015, 26(17): 2602-2603.
- [2] 徐叶红,刘星. 高龄产妇并发妊娠期高血压疾病与妊娠结局关系研究[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(28):4812-4813.
- [3] 林修,江金锋,林长江. 原发性高血压患者血清同型半胱氨酸与血管内皮功能关系的临床分析[J]. 福建医药杂志, 2016, 38(3): 69-71.
- [4] 张夏兰,陈乐林,王亚华,等. ACE基因插入/缺失多态性与妊娠期高血压疾病发病关系的Meta分析[J]. 实用妇产科杂志, 2017, 33(8): 616-618.
- [5] 乐杰. 妇产科学[M]. 7版,北京:人民卫生出版社, 2008: 94-100.
- [6] 赵悦淑,张龙梅,王蕊,等. 2005-2014年河南省孕产妇产科出血死亡原因及相关因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(7): 1357-1360.
- [7] LI W, CUI N, MAZZUCA MQ, et al. Increased vascular and uteroplacental matrix metalloproteinase-1 and -7 levels and collagen type I deposition in hypertension in pregnancy: role of TNF- α [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017, 313(3): 491-507.
- [8] 金伟,龚军. 妊娠期高血压疾病对新生儿肾功能的影响研究[J]. 中国全科医学, 2015, 18(20): 2402-2404, 2405.
- [9] 王新格,张建军. 不同类型妊娠期高血压疾病对高龄孕产妇妊娠结局的影响分析[J]. 中国性科学, 2017, 26(1): 106-108.
- [10] 张婷,毛平安,章玲宾. 妊娠期高血压疾病危险因素的logistic回归分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(4): 457-458, 452.
- [11] JAMWAL S, SHARMA S. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders [J]. Inflamm Res, 2018, 67(5): 391-405.
- [12] 张秀洲,刘福艳,李静,等. 血管内皮功能和同型半胱氨酸对老年冠心病患者发病的相关性探讨[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2015, 17(12): 1268-1270.
- [13] 侯跃龙,陆薇薇,张金胜,等. 同型半胱氨酸通过内质网应激反应促进大鼠血管平滑肌细胞钙化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(5): 437-442.
- [14] 张玲,王鹤,陈祥云,等. 血浆同型半胱氨酸水平与妊娠期高血压疾病的关系[J]. 山东医药, 2015, 55(25): 33-34.
- [15] 籍玉红. 卒中后抑郁患者认知功能、同型半胱氨酸以及MTHFR基因多态性的相关研究[J]. 中国临床医生杂志, 2015, 43(5): 47-51.
- [16] 田丹丹,张程达,王连珂,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因及甲硫氨酸合成酶基因多态性与口服叶酸治疗高同型半胱氨酸血症疗效的关系研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(12): 1396-1400, 1407.

(收稿日期:2019-03-20)