

• 论 著 •

妊娠高血压综合征患者 MTHFR 基因 C677T 多态性与 Hcy 及肾功能指标的相关性研究*

何丽梅¹, 李海川¹, 仲伟国², 傅启华³, 龚 波^{1△}

上海市长宁区妇幼保健院:1. 检验科;2. 妇产科, 上海 200050;3. 上海交通大学医学院
附属上海儿童医学中心检验科, 上海 200127

摘 要:**目的** 探讨妊娠高血压综合征(简称妊高征)患者 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 C677T 多态性与同型半胱氨酸(Hcy)、肾功能指标的相关性。**方法** 纳入妊高征患者 86 例(疾病组,根据疾病严重程度,进一步分为妊娠高血压组、轻度子痫前期组、重度子痫前期组 3 个亚组),同时纳入健康妊娠女性 200 例(正常妊娠组)和健康非妊娠女性 150 例(健康对照组),采集研究对象的血液标本进行 Hcy、尿酸(UA)、肌酐(Cr)及尿素氮(BUN)水平检测,并进行分析。此外,对 86 例妊高征患者的 MTHFR 基因进行测序,利用 Chromas 软件对测序结果跟健康人群进行比对,找出多态性位点进行分析。**结果** 与健康对照组、正常妊娠组相比,疾病组 Hcy、UA、Cr 及 BUN 水平均明显升高($P<0.05$),且以上指标在重度子痫前期组明显升高($P<0.05$)。MTHFR C677T 基因型与 Hcy 具有相关性($P<0.05$),Hcy 在 TT 基因型患者中的水平高于 CC 基因型和 CT 基因型患者($P<0.05$)。**结论** Hcy 及肾功能指标可作为妊高征辅助诊断及病情监测的重要指标, MTHFR 基因 C677T 多态性的检测可为妊高征患者病情严重程度及预后判断提供一定依据,为发现妊高征高危人群提供新思路。

关键词: 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; 同型半胱氨酸; 肾功能; 妊娠高血压综合征

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.02.012 **中图法分类号:**R714.25

文章编号:1673-4130(2021)02-0181-05 **文献标志码:**A

Correlation between MTHFR gene C677T polymorphism with homocysteine and renal function indicators in patients with hypertensive disorder complicating pregnancy*

HE Limei¹, LI Haichuan¹, ZHONG Weiguo², FU Qihua³, GONG Bo^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Changning District Maternity and Infant Health Care Hospital, Shanghai 200050, China; 3. Affiliated Shanghai Children's Medical Center, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China

Abstract:**Objective** To investigate the correlation between MTHFR gene C677T polymorphism with homocysteine and renal function indicators in the patients with hypertensive disorder complicating pregnancy (HDCP). **Methods** Eighty-six cases of HDCP were enrolled (disease group, which was further divided into three subgroups: the HDCP group, mild eclampsia prophase group and severe eclampsia prophase group). At the same time, 200 females of healthy pregnancy (normal pregnancy group) and 150 healthy females of non-pregnancy (healthy control group) were included. The blood samples were collected for detecting the levels of homocysteine (Hcy), uric acid (UA), creatinine (Cr) and urea nitrogen (BUN), and conducting the analysis. In addition, the MTHFR gene in the samples of 86 HDCP cases conducted the sequencing, then the sequencing results were compared with the healthy population by using the Chromas sequence comparison software. The polymorphic sites were found out for conducting the analysis. **Results** Compared with the healthy control group and normal pregnancy group, the levels of serum Hcy, UA, Cr and BUN of the disease group were significantly increased ($P<0.05$), moreover the above indicators in the severe eclampsia prophase group were

* 基金项目:上海市长宁区卫生和计划生育委员会课题(20164Y012)。

作者简介:何丽梅,女,主管技师,主要从事肿瘤表观遗传学机制方面的研究。△ 通信作者, E-mail:13661908202@126.com。

本文引用格式:何丽梅,李海川,仲伟国,等.妊娠高血压综合征患者 MTHFR 基因 C677T 多态性与 Hcy 及肾功能指标的相关性研究[J].

much significantly increased ($P < 0.05$). The MTHFR C677T genotype had the correlation with Hcy ($P < 0.05$) and the Hcy level in the TT genotype patients was higher than that in the CC genotype and CT genotype patients ($P < 0.05$). **Conclusion** Hcy and renal function indicators can serve as the important indicators of auxiliary diagnosis and disease condition monitoring of HDGP, the MTHFR gene C677T polymorphism detection provides a certain basis for judging the severity of the patients with HDGP and prognosis, which provides a new idea for finding the population of HDGP.

Key words: MTHFR; gene polymorphism; homocysteine; renal function; hypertensive disorder complicating pregnancy

妊娠高血压综合征(简称妊高征)是妊娠期女性常见的产科疾病之一。妊高征在我国的发病率为 9.4%~10.4%^[1],其导致的孕产妇死亡约占妊娠相关性死亡的 10%。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是叶酸代谢途径的催化剂,对 DNA 甲基化和基因调控具有重要作用^[2]。研究表明,MTHFR 基因 C677T 突变位于 1 号染色体(1p36.6)第 4 外显子,使第 222 密码子处缬氨酸转化为丙氨酸,可导致血浆叶酸水平下降和同型半胱氨酸(Hcy)水平升高^[3]。本研究通过分析 MTHFR 基因 C677T 多态性、Hcy 以及肾功能指标在妊高征患者中的表达,探讨以上指标对妊高征的诊断价值,以期为临床诊疗提供更为可靠的依据,改善不良妊娠结局。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 2 月至 2019 年 10 月在长宁区妇幼保健院产科住院的妊高征患者 86 例(疾病组),按中华医学会妇产科学分会妊娠高血压疾病学组发布的《妊娠期高血压疾病诊治指南(2012 版)》的相关诊断标准^[4],即妊娠 20 周以后出现的高血压,收缩压 ≥ 140 mm Hg 和(或)舒张压 ≥ 90 mm Hg(2 次间隔至少 4 h,1 mm Hg=0.133 kPa),同时排除其他妊娠合并疾病,根据病情轻重程度分为妊娠高血压组(30 例)、轻度子痫前期组(26 例)、重度子痫前期组(30 例)3 个亚组。妊高征患者年龄 21~41 岁,平均(31.19 $\pm$ 3.93)岁;孕周 22~41 周,平均(35.91 $\pm$ 3.93)周。随机选择同期到该院产检的健康妊娠女性(正常妊娠组)200 例,年龄 20~42 岁,平均(29.72 $\pm$ 3.34)岁;孕周 22~42 周,平均(37.18 $\pm$ 3.17)周。选择到该院体检的健康非妊娠女性(健康对照组)150 例,年龄 22~39 岁,平均(30.32 $\pm$ 3.58)岁。所有入选对象均无肝、肾疾病及血栓性疾病,半年内未服用影响凝血功能的相关药物,均签署知情同意书。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法 嘱受试者空腹 10 h,采集未抗凝静脉血 4 mL,分离血清后在西门子 ADVIA Chemistry XPT 仪器上采用酶法进行 Hcy、尿酸(UA)、肌酐(Cr)及尿素氮(BUN)水平检测,具体操作参照仪器配套试剂盒

说明书。采集 EDTA-K₂ 抗凝血 2 mL 收集白细胞层提取 DNA,利用 Primer Premier 6.0 软件设计 MTHFR C677T 基因引物序列:正向引物 5'-GT-GCTGTGCTGTTGGAAGGT-3',反向引物 5'-TCAGC GAACTCAGCACTCC-3',从 NCBI 网站获取健康人群的基因序列,预期位置:rs1801133;预期序列:TTGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGAG[C/T]CGATTTCATCATCACGCAGCTTTTC。将 DNA 标本送上海允晟医学检验所进行基因测序[采用 ABI 测序仪(3730 $\times$ 1 DNA Analyzer)],利用 Chromas 软件分析测序结果,并与健康人群序列进行比对,找出多态性位点。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件对数据进行统计分析。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,对基因型进行 Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡定律检验;采用 Spearman 相关对 MTHFR C677T 基因型与 Hcy、UA、Cr 及 BUN 的相关性进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群以及不同严重程度妊高征患者 Hcy、肾功能指标水平比较 与健康对照组、正常妊娠组相比,疾病组 Hcy、UA、Cr 和 BUN 水平明显增高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与健康对照组相比,正常妊娠组 UA 水平增高,Hcy、Cr 和 BUN 水平降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。与妊娠高血压组、轻度子痫前期组相比,重度子痫前期组 Hcy、UA、Cr 和 BUN 水平明显增高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与妊娠高血压组相比,轻度子痫前期组 Hcy 和 UA 水平增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 Cr 和 BUN 水平虽有增高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.2 MTHFR 基因 C677T 多态性 利用 Chromas 软件分析测序结果,MTHFR 基因 C677T 有 3 种基因型:CC 基因型、CT 基因型、TT 基因型。对研究人群的基因型分布进行 H-W 遗传平衡定律检验,送检的 86 例妊高征患者的基因型分布符合 H-W 遗传平衡定律($\chi^2 = 0.109, P = 0.947$),标本具有本区域群体

代表性,见图 1。

2.3 3 组不同严重程度妊高征患者 MTHFR C677T 基因型及等位基因频率分布 妊娠高血压组、轻度子

痫前期组、重度子痫前期组基因型及等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 1 3 组人群 Hcy、肾功能指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	UA($\mu\text{mol/L}$)	Cr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)
健康对照组	150	6.29 $\pm$ 1.81	283.60 $\pm$ 56.08	55.98 $\pm$ 7.44	4.47 $\pm$ 0.98
正常妊娠组	200	6.02 $\pm$ 1.89	305.71 $\pm$ 69.32	53.81 $\pm$ 6.89	4.33 $\pm$ 0.92
疾病组	86	10.40 $\pm$ 2.87 ^{ab}	422.96 $\pm$ 87.65 ^{ab}	84.78 $\pm$ 8.94 ^{ab}	7.99 $\pm$ 1.48 ^{ab}

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与正常妊娠组比较,^b $P<0.05$ 。

表 2 3 组不同严重程度妊高征患者 Hcy、肾功能指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	UA($\mu\text{mol/L}$)	Cr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)
妊娠高血压组	30	7.89 $\pm$ 2.16	368.03 $\pm$ 77.16	82.03 $\pm$ 7.78	7.63 $\pm$ 0.94
轻度子痫前期组	26	9.74 $\pm$ 2.64 ^a	427.50 $\pm$ 82.26 ^a	83.27 $\pm$ 9.11	7.69 $\pm$ 1.23
重度子痫前期组	30	13.48 $\pm$ 3.61 ^{ab}	473.96 $\pm$ 84.05 ^{ab}	88.83 $\pm$ 8.67 ^{ab}	8.62 $\pm$ 1.61 ^{ab}

注:与妊娠高血压组比较,^a $P<0.05$;与轻度子痫前期组比较,^b $P<0.05$ 。

2.4 MTHFR C677T 基因型与 Hcy 和肾功能指标水平的关系 TT 基因型患者的 Hcy 水平明显高于 CC、CT 基因型患者,差异有统计学意义($P<0.05$),而 CC 基因型与 CT 基因型患者的 Hcy 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。此外,3 种基因型患者

的 UA、Cr 和 BUN 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。通过 Spearman 相关分析发现,MTHFR C677T 基因型与 Hcy 呈正相关($r=0.418, P<0.05$),与 UA、Cr 和 BUN 无相关性($r=-0.111, 0.043, -0.042, P>0.05$),见表 4。

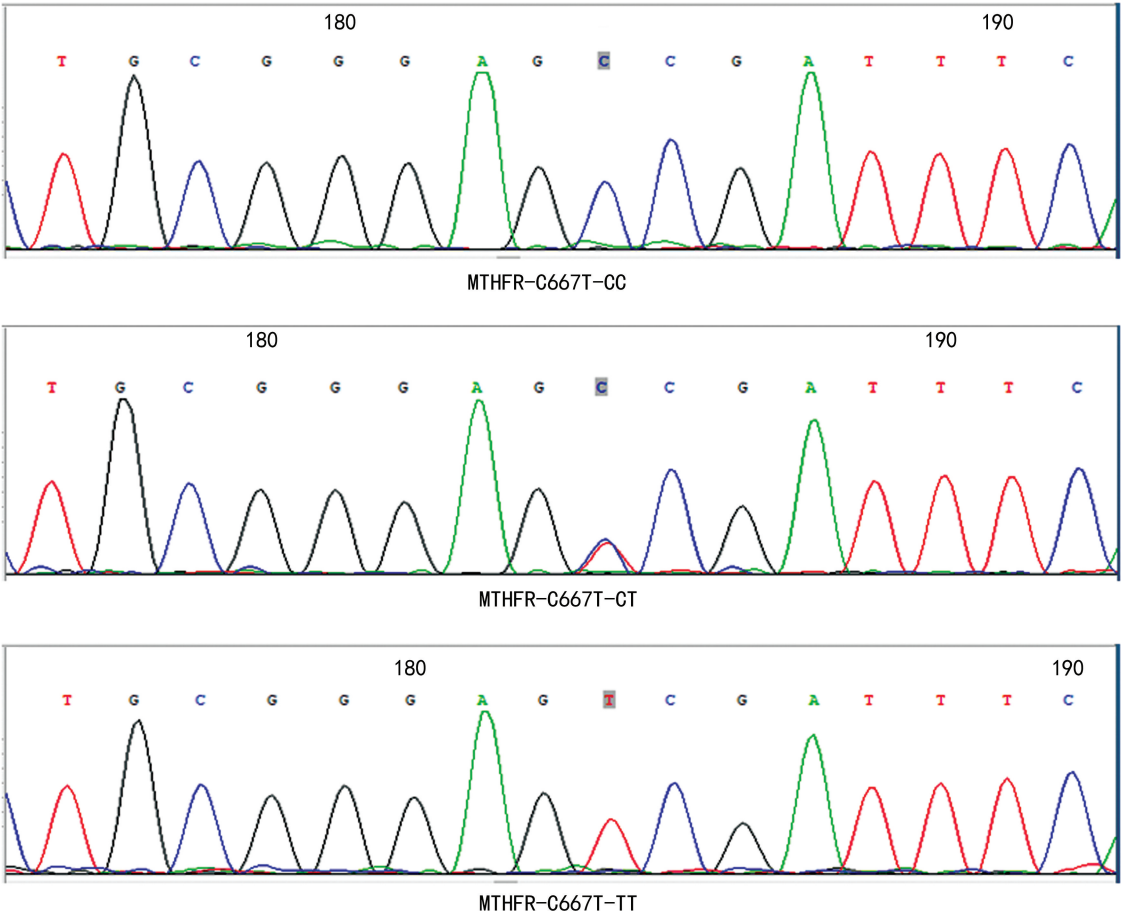


图 1 MTHFR 基因 C677T 多态性

表 3 3 组不同严重程度妊高征患者 MTHFR C677T 基因型及等位基因分布频率[n(%)]

组别	n	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
妊娠高血压组	30	12(40. 0)	14(46. 7)	4(13. 3)	38(63. 3)	22(36. 7)
轻度子痫前期组	26	10(38. 4)	13(50. 0)	3(11. 5)	33(63. 5)	19(36. 5)
重度子痫前期组	30	14(46. 7)	11(36. 7)	5(16. 6)	39(65. 0)	21(35. 0)
合计	86	36(41. 9)	38(44. 2)	12(13. 9)	110(64. 0)	62(36. 0)
χ^2			1. 171			0. 044
P			0. 883			0. 978

表 4 MTHFR C677T 3 种不同基因型患者的 Hcy、肾功能指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

基因型	n	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	UA($\mu\text{mol/L}$)	Cr($\mu\text{mol/L}$)	BUN(mmol/L)
CC	36	9. 24 $\pm$ 2. 39	420. 60 $\pm$ 82. 64	86. 03 $\pm$ 8. 24	8. 07 $\pm$ 1. 53
CT	38	9. 94 $\pm$ 2. 61	426. 71 $\pm$ 85. 86	83. 67 $\pm$ 8. 09	7. 94 $\pm$ 1. 42
TT	12	15. 34 $\pm$ 4. 50 ^{ab}	418. 17 $\pm$ 86. 32	84. 54 $\pm$ 8. 41	7. 91 $\pm$ 1. 45

注：与 CC 基因型比较，^a $P<0. 05$ ；与 CT 基因型比较，^b $P<0. 05$ 。

3 讨 论

正常情况下,孕 6~8 周时母体血容量开始增加,至孕 32~34 周时达到高峰,总循环血量增加 40%~50%,血液相对稀释。循环血量的增加致使各重要脏器的灌注量增加,孕晚期子宫动脉的横断面积较非孕期增加 2~3 倍^[5],肾小球滤过率(GFR)和肾血浆流量(ERPF)代偿性升高,使孕期血液中的 Cr 和 BUN 等水平有一定程度的下降。妊高征是妊娠与血压升高并存的一组疾病,是孕晚期产科的常见疾病,在孕 20 周后出现高血压、水肿和蛋白尿,并且随着病情的加重,其可导致全身多处脏器受累。全身小动脉痉挛和血液高凝是本病主要的病理改变,可导致机体全身脏器有效血流量减少,肾脏供血下降,GFR 与 ERPF 降低,肾脏代谢 UA、Cr 和 BUN 明显减少。本研究发现,与健康对照组、正常妊娠组相比,疾病组 UA、Cr 及 BUN 水平均明显增高;与妊娠高血压组、轻度子痫前期组相比,重度子痫前期组 UA、Cr 和 BUN 水平均明显增高($P<0. 05$)。由此可见,随着病情进展,肾脏失去代偿功能,血液中的肾功能指标水平明显增加,这表明血清 UA、Cr 及 BUN 能够作为妊高征的临床辅助诊断指标,以及成为判断疾病严重程度的一类重要参数。

MTHFR 是叶酸转运和代谢的关键酶。MTHFR 基因 C677T 位点和 A1298C 位点的多态性会造成 MTHFR 活性降低,造成叶酸代谢异常,并且叶酸水平下降会使 Hcy 水平升高。研究发现,Hcy 可以促进氧自由基的生成,不仅激活血小板的黏附和聚集,损伤血管内皮细胞,还能刺激血管平滑肌细胞增殖^[6],使血管内胶原成分增加,血管壁增厚,破坏血管顺应

性。此外,Hcy 还可抑制胱硫醚 γ 裂解酶活性,减少内源性血管舒张剂硫化氢的生成^[7],这些因素可促进妊高征的形成。有研究报道,MTHFR 基因 A1298C 位点^[8]多态性与 Hcy 无相关性。本研究从 MTHFR 基因 C677T 位点入手,发现 MTHFR 基因 C677T 多态性与 UA、Cr 及 BUN 无相关性($P>0. 05$),与 Hcy 有一定的相关性($P<0. 05$),且 TT 基因型患者的 Hcy 水平明显高于 CC、CT 基因型患者($P<0. 05$)。妊高征患者 Hcy 水平明显增高($P<0. 05$),并与病情严重程度呈正相关,与高同型半胱氨酸血症的存在加重妊高征疾病的发展相一致^[9]。

综上所述,妊高征患者血清 Hcy 及肾功能指标水平明显增高,且在重症患者中升高更为明显,能够作为妊高征辅助诊断、病情监测及预后判断的重要指标。MTHFR 基因 C677T 多态性和妊高征患者血清 Hcy 水平有一定的相关性,且纯合型(TT 基因型)患者血清 Hcy 水平显著增高,检测 MTHFR 基因 C677T 多态性可为妊高征患者病情严重程度评估及预后判断提供一定依据。

参考文献

[1] LU C Q, LIN J, YUAN L, et al. Pregnancy induced hypertension and outcomes in early and moderate preterm infants[J]. Pregnancy Hypertens, 2018, 14: 68-71.

[2] LEVIN B L, VARGA E. MTHFR: addressing genetic counseling dilemmas using evidence-based literature[J]. J Genet Couns, 2016, 25(5): 901-911.

[3] LIEW S C, GUPTA E D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases(下转第 188 页)

ZnT-8A 阳性患者总计 54 例,占 80.60%,进一步证明了 ZnT-8A 在 LADA 诊断中的重要作用。3 组各类胰岛细胞自身抗体阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),说明 25(OH)D3 水平高低不能影响胰岛细胞自身抗体类别。LADA 患者可产生不止一种胰岛细胞自身抗体,部分患者可产生两种甚至两种以上抗体。将 3 组的胰岛细胞自身抗体数量分为两个级别,经统计分析发现,充足组中 1 种胰岛细胞自身抗体阳性的比例高于缺乏组, ≥ 2 种胰岛细胞自身抗体阳性的比例低于缺乏组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。这说明 25(OH)D3 水平较低的 LADA 患者体内,胰岛细胞自身抗体种类越复杂,胰岛细胞损伤越严重。目前 25(OH)D3 对糖尿病患者胰岛功能的具体作用机制未明,推测可能与抑制炎症或者免疫调节有关。

综上所述,充足组中性粒细胞计数、CRP 水平均低于缺乏组,1 种胰岛细胞自身抗体阳性的比例高于缺乏组, ≥ 2 种胰岛细胞自身抗体阳性的比例低于缺乏组,且 25(OH)D3 水平与 WBC、中性粒细胞计数、CRP 呈负相关。如果通过饮食、药物提高患者 25(OH)D3 水平,可能会影响 LADA 患者炎症因子水平和胰岛细胞自身抗体数量,控制胰岛细胞炎症反应和减少胰岛细胞自身抗体的进一步产生,至于具体的治疗效果和治疗方案需要大样本、双盲、多中心的参与,才能得出科学的结论。

参考文献

[1] 徐有伟. 胰岛素强化治疗对成人隐匿性自身免疫性糖尿病老年患者合并糖尿病痛性神经病变的疗效[J]. 中国老年学杂志,2019,39(12):2870-2873.

[2] BAEKE F, GYSEMANS C, KORF H, et al. Vitamin D insufficiency: implications for the immune system[J]. *Pediatr Nephrol*, 2010, 25(9):1597-1606.

[3] 中华医学会糖尿病学分会. 关于成人隐匿性自身免疫性糖尿病(LADA)诊疗的共识[J]. 中华糖尿病杂志, 2012, 4

(11):641-647.

[4] 卢建强, 王伟佳, 黄秋洪. 胰岛自身抗体及生化指标在成人隐匿性自身免疫性糖尿病诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2):238-240.

[5] 张鹏. 西格列汀联合胰岛素治疗成人隐匿性自身免疫性糖尿病患者的疗效[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(5):765-766.

[6] MADDALONI E, CAVALLARI I, NAPOLI N, et al. Vitamin D and diabetes mellitus[J]. *Front Horm Res*, 2018, 50(2):161-176.

[7] 罗新. 血清淀粉样蛋白 A 和尿清蛋白/肌酐比值联合应用在早期糖尿病肾病诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(23):2893-2896.

[8] GONOODI K, TAYEFI M, SABERI-KARIMIAN M, et al. An assessment of the risk factors for vitamin deficiency using a decision tree model[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(3):1773-1777.

[9] LIU Y, WEN H. Impact of Vitamin D deficiency on clinical parameters in treatment-naïve rheumatoid arthritis[J]. *Z Rheumatol*, 2018, 77(9):833-840.

[10] 杜戮. 维生素 D 免疫调节作用及其受体基因多态性与自身免疫性糖尿病的关系[D]. 长沙:中南大学湘雅医学院, 2008:76.

[11] 赵鸿斌, 李彦青, 孙晓慧. ZnT-8A 对成人隐匿性免疫性糖尿病诊断价值的初步研究[J]. 河北医药, 2017, 39(19):2959-2961.

[12] 蔡新杰, 邢光辉. 胰岛自身抗体和生化指标在糖尿病分型诊断中的应用价值[J]. 临床研究, 2019, 27(1):133-134.

[13] 赵鸿斌, 祁洁, 孙晓慧, 等. 锌转运蛋白 8 在 1 型糖尿病诊断中的敏感性和特异性研究[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(4):463-466.

[14] 余淑芳, 孙曙光, 李祖芳. ZnT-8A 对成人隐匿性免疫性糖尿病诊断价值的初步研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(17):1192-1194.

(收稿日期:2020-05-02 修回日期:2020-08-20)

(上接第 184 页)

[J]. *Eur J Med Genet*, 2015, 58(1):1-10.

[4] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2012 版)[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(6):476-480.

[5] REDLINE R W. Thrombophilia and placental pathology[J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2006, 49(4):885-894

[6] MORETTI R, CARUSO P. The controversial role of homocysteine in neurology: from labs to clinical practice[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1):231-242.

[7] SEN U, MISHRA P K, TYAGI N, et al. Homocysteine to

hydrogen sulfide or hypertension[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2010, 57(2/3):49-58.

[8] MARISSA N F, MRAD M, KLAI S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (C677T and A1298C) polymorphisms, hyperhomocysteinemia, and ischemic stroke in Tunisian patients[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2013, 22(4):465-469.

[9] 隋霜, 黄莺, 焦永慧, 等. 高同型半胱氨酸与妊娠高血压疾病的研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(6):890-893.

(收稿日期:2020-05-02 修回日期:2020-08-10)