

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.15.025

重庆某三甲医院冠心病患者叶酸基因多态性与利用率分析*

盛芳芳,何跃,雷健,黄景彬[△]

(中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院药剂科,重庆 400037)

摘要:目的 为冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)患者叶酸临床个体化给药方案的制订提供依据。方法 选取医院心血管内科2018年1月至2020年5月收治的冠心病且需口服叶酸治疗的患者797例,检测其叶酸MTHFR 677, MTHFR 1298, 27PAI-1 3个位点的基因,记录并分析患者多态位点基因型频率的分布及叶酸利用情况。结果 MTHFR 677基因突变率为60.73%(484/797),以突变纯合型为主[75.83%(367/484)]; MTHFR 1298基因突变率为37.92%(295/778),以突变杂合型为主[86.78%(256/295)]; 27PAI-1基因突变率高达94.32%(714/757),以突变杂合型为主[61.90%(442/714)]。100%叶酸利用率的冠心病患者占18.77%,80%以上利用率的占36.25%,60%以下利用率的占31.24%,不超过25%利用率的占15.94%。结论 该院就诊的冠心病患者对叶酸的利用率总体偏低。对冠心病患者进行叶酸相关基因检测,能最大限度地保障药物的有效性和安全性,既可为患者制订个体化给药方案,又可为叶酸的临床使用提供依据。

关键词:冠状动脉粥样硬化性心脏病;叶酸;基因多态性;叶酸利用率;MTHFR 677;MTHFR 1298;27PAI-1

中图分类号:R972

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)15-0089-03

Gene Polymorphism and Utilization Rate of Folic Acid in Patients with Coronary Heart Disease in a Tertiary Hospital in Chongqing

SHENG Fangfang, HE Yue, LEI Jian, HUANG Jingbin

(Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Army Medical University of the PLA, Chongqing, China 400037)

Abstract: Objective To provide a basis for the formulation of individualized administration of folic acid in patients with coronary heart disease (CHD). **Methods** From January 2018 to May 2020, 797 patients with CHD who need oral folic acid treatment in the Department of Cardiology of our hospital were selected. The three gene loci of MTHFR 677, MTHFR 1298 and 27PAI-1 were detected. The genotype frequency distribution of polymorphic loci and utilization of folic acid in patients was recorded and analyzed. **Results** The mutation rate of MTHFR 677 gene was 60.73% (484/797), which was mainly homozygous mutation type [75.83% (367/484)]. The mutation rate of MTHFR 1298 gene was 37.92% (295/778), which was mainly heterozygous mutation type [86.78% (256/295)]. The mutation rate of 27PAI-1 gene was 94.32% (714/757), which was mainly heterozygous mutation type [61.90% (442/714)]. CHD patients with a utilization rate of 100% only folic acid accounted for 18.77%, CHD patients with a utilization rate of more than 80% accounted for 36.25%, CHD patients with a utilization rate of less than 60% accounted for 31.24%, and CHD patients with a utilization rate of not more than 25% (including 25%) accounted for 15.94%. **Conclusion** The overall utilization rate of folic acid is low in patients with CHD in our hospital. The detection of folate-related genes in CHD patients can ensure the efficacy and safety of drugs to the greatest extent. It can not only make individualized drug administration plan for patients, but also provide a basis for the clinical use of folic acid.

Key words: coronary heart disease; folic acid; gene polymorphism; utilization rate of folic acid; MTHFR 677; MTHFR 1298; 27PAI-1

冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)是由于脂质代谢不正常,血液中的脂质沉着在原本光滑的动脉内膜上,形成类似粥样的白色斑块,造成动脉腔狭窄,血流受阻,导致心脏病。冠心病被称为发达国家居民健康的头号杀手,在发展中国家的发病率也日趋升高^[1]。目前尚不清楚冠心病的发病机制,可能是遗传与环境相互作用的结果。同型半胱氨酸(HCY)是导致冠心病的危险

因素之一^[2-4]。叶酸是人体必需的B族维生素,在人体中可转变为四氢叶酸(FH₄),进而降低血液中HCY水平,亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是叶酸影响HCY代谢的关键酶^[5-7]。不同MTHFR基因型冠心病患者对叶酸的利用率差异较大,MTHFR C677T突变致该酶活性下降,HCY再甲基化障碍,突变纯合子的酶活性大约只有正常野生型纯合子酶活性的60%,A1298C和

*基金项目:陆军军医大学重点扶持项目[2019R042]。

第一作者:盛芳芳,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为临床药理学与药剂学,(电子信箱)957572924@qq.com。

[△]通信作者:黄景彬,男,博士研究生,主管药师,研究方向为医院药事管理、药剂学与临床药理学,(电子信箱)hjb20091364@126.com。

C677T 双杂合子的酶活性为野生型的 50% ~ 60%^[8-12], 677T 单位点突变、1298C 单位点突变、1298C 和 677T 双位点突变酶的活性分别为野生型酶的 45%, 68%, 41%。纤溶酶原激活剂抑制因子 1(PAI-1)是体内纤溶酶原激活的主要抑制剂,稳定型心绞痛患者的血浆浓度明显升高,提示 PAI-1 可能是冠心病患者病情恶化及急性冠脉事件发生的病理生理基础。27PAI-1 位点突变后,体内纤溶活性降低,形成血栓的风险升高。目前,叶酸对人体健康影响最大的基因多态位点为 MTHFR C677T 和 A1298C 位点,以及 27PAI-1 位点。本研究中分析了需口服叶酸冠心病患者的 MTHFR677, MTHFR1298, 27PAI-1 3 个基因位点,探讨了叶酸治疗冠心病基因多态性的分布情况及利用率,以最大限度保障药物的有效性和安全性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入标准^[9]:疑似冠心病和有稳定型心绞痛症状,无论有无呼吸困难;新出现的心力衰竭或左心室功能障碍,怀疑为冠心病;急性冠状动脉综合征(ACS)发病后 1 年内无症状或症状稳定,或近期行血运重建;评估前概率(PTP)与冠心病的临床可能性→其他原因所致胸痛→适当治疗及检查;根据冠心病的临床可能性选择相关影像学或功能学检查;评估不良事件发生风险,以指导后续治疗。

排除标准:叶酸禁忌证。

病例选择:选取我院心血管内科 2018 年 1 月至 2020 年 5 月收治的符合冠心病诊断标准并需口服叶酸治疗的患者 797 例,对患者进行叶酸 MTHFR 677, MTHFR 1298, 27PAI-1 3 个位点的基因检测。

1.2 仪器与试剂

仪器:Fluotec 48E 型微量荧光检测仪(西安天隆科技有限公司);Sorvall™ Legend™ Micro17R 型离心机(美国 Thermo Scientific 公司);Vortex-5 型旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

试剂:叶酸片(天津力生制药股份有限公司,国药准字 H12020215,规格为每片 5 mg);测序反应通用试剂盒(北京华夏时代基因科技发展有限公司)。

1.3 方法

取 1 mL 核酸纯化试剂置 EP 管中,加入 150 μ L 血样,混匀,静置,待血样澄清后,常温离心(转速为 3 500 r/min) 5 min;弃上清液,再加入 1 mL 核酸纯化试剂,混匀细胞,常温离心(转速为 3 500 r/min) 5 min;弃去上清液,加入 35 μ L 核酸纯化试剂,混匀,稍加涡旋,离心机瞬时离心,放置 30 min;精密吸取 1.5 μ L 加入试剂盒中,采用荧光聚合酶链式反应法检测患者的 MTHFR 677,

MTHFR 1298, 27PAI-1 基因型。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,正态分布采用 t 检验,偏态资料采用秩和检验;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 叶酸基因检测结果

我院就诊的冠心病患者中, MTHFR 677 突变型的突变率为 60.73%, 高于野生型的 39.27%; MTHFR 1298 突变型的突变率为 37.92%, 低于野生型的 62.08%; 27PAI-1 突变型的突变率为 94.32%, 高于野生型的 5.68%。详见表 1。

表 1 我院就诊冠心病患者叶酸基因型分布情况[例(%)]

Tab. 1 Efficacy-related genotype distribution of folic acid in CHD patients in our hospital[case(%)]

基因型	MTHFR 677(C>T)	MTHFR 1298(A>C)	27PAI-1
野生型	313(39.27)	483(62.08)	43(5.68)
突变型	484(60.73)	295(37.92)	714(94.32)
合计	797(100.00)	778(100.00)	757(100.00)

2.2 叶酸突变基因型分布

叶酸突变基因型患者中, MTHFR 677 突变基因以突变纯合型为主, 占 75.83% (367/484); MTHFR 1298 和 27PAI-1 突变基因型均以突变杂合型为主, 分别占 86.78% (256/295) 和 61.90% (442/714)。详见表 2。

表 2 我院就诊冠心病患者叶酸突变基因型分布情况[例(%)]

Tab. 2 Genotype distribution of folate mutation in CHD patients in our hospital[case(%)]

基因型	MTHFR 677(C>T)	MTHFR 1298(A>C)	27PAI-1
突变纯合型	367(75.83)	39(13.22)	272(38.10)
突变杂合型	117(24.17)	256(86.78)	442(61.90)
合计	484(100.00)	295(100.00)	714(100.00)

2.3 叶酸 MTHFR 基因型和利用率分析

按 MTHFR 基因位点对检测数据进行分析,排除仅有 MTHFR 677 或 MTHFR 1298 基因型数据的患者,结果见表 3。对应 MTHFR 677 和 MTHFR 1298 基因型与叶酸利用率的关系见图 1,患者的叶酸利用率分布情况见表 4。由表 4 可知,我院就诊的冠心病患者中,叶酸利用率 100% 的仅占 18.77%, 80% 以上的占 36.25%, 60% 以下的占 31.24%, 不超过 25% 的占 15.94%。可见,患者对叶酸的利用率总体偏低,普遍存在叶酸代谢障碍。

3 讨论

本研究结果表明,我院就诊的冠心病患者中 MTHFR 677 基因突变率为 60.73% (484/797), 以纯合型突变为主 (367/484, 75.83%); MTHFR 1298 基因突

表3 我院就诊冠心病患者 MTHFR 677 和 MTHFR 1298 基因型分布情况[例(%), n=778]

Tab. 3 Distribution of MTHFR 677 and MTHFR 1298 genotypes in CHD patients in our hospital[case(%), n=778]

基因类型	野生纯合(677CC)	突变杂合(677CT)	突变纯合(677TT)
野生纯合(1298AA)	146(18.77)	227(29.18)	110(14.14)
突变杂合(1298AC)	136(17.48)	119(15.30)	1(0.13)
突变纯合(1298CC)	26(3.34)	11(1.41)	2(0.26)

Genotype	677CC 2 normal 677s	677CT heterozygous one 677 variant	677TT homozygous two 677 variants
1298AA two normal 1298s	100% enzyme activity	66% enzyme activity	25% enzyme activity
1298AC heterozygous one 1298 variant	83% enzyme activity	48% enzyme activity	not analyzed
1298CC homozygous two 1298 variants	61% enzyme activity	not analyzed	not analyzed

Adapted from data presented by van der Put et al.³

图1 MTHFR 677 和 MTHFR 1298 基因型与叶酸利用率的关系
Fig. 1 Relationship between MTHFR 677 and MTHFR 1298 genotypes and the utilization rate of folic acid

表4 我院就诊冠心病患者叶酸利用率分布情况(%)

Tab. 4 Distribution of the utilization rate of folic acid in CHD patients in our hospital(%)

叶酸利用率	占比	叶酸利用率	占比
100	18.77	48	15.30
83	17.48	25	14.14
66	29.18	<25	1.80
61	3.34		

变率为 37.92%(295/778),以突变杂合型为主(256/295, 86.78%);27PAI-1 基因突变率高达 94.32%(714/757),以突变杂合型为主(442/714, 61.90%)。WANG 等^[10]指出, MTHFR 677 在中国南方、中部、北方的突变率分别为 32%, 60%, 81%; MTHFR 1298 在南方、中部、北方的突变率分别为 35%, 22%, 20%。本研究结果显示, 我院就诊的冠心病患者 MTHFR 677 和 MTHFR 1298 多态位点基因突变率均高于南方、中部和北方, 说明中国人 MTHFR 677 和 MTHFR 1298 多态位点基因型频率存在显著的地域差异。

根据 MTHFR 677 和 MTHFR 1298 基因型与叶酸利用率的关系, 我院就诊的冠心病患者叶酸利用率为 100% 的仅占 18.77%, 80% 以上的占 36.25%, 60% 以下的占 31.24%, 不超过 25% 的占 15.94%。说明我院就诊的大部分冠心病患者的机体不能正常利用叶酸, 叶酸转化为甲基叶酸、甲基叶酸转化为四氢蝶呤的活性受限, 同时叶酸代谢障碍会引起 HCY 升高, 建议加强监测冠心病患者的血液 HCY 浓度, 必要时配合服用叶酸、维生素 B₁₂、维生素 B₆。

冠心病患者的血浆 PAI-1 水平明显增高, 前瞻性研究也证实血浆 PAI-1 与冠心病事件密切相关^[11-12], 提示 PAI-1 在冠心病发病过程中可发挥重要作用。本研究中, 我院就诊的冠心病患者的 27PAI-1 位点突变率高达 94.32%, 即患者体内纤溶活性降低, 形成血栓的风险升高, 建议密切监测患者的凝血功能。

综上所述, 冠心病患者在服用叶酸前进行叶酸基因检测, 可最大限度地保障药物的有效性和安全性, 既可为患者制订个体化治疗方案, 也可作为叶酸的合理使用提供依据。

参考文献

- [1] 段春燕. 动脉粥样硬化性心脑血管疾病的中药应用规律研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [2] AKHABUE E, THIBOUTOT J, CHENG JW, et al. New and emerging risk factors for coronary heart disease[J]. Am J Med Sci, 2014, 347(2): 151-158.
- [3] ASHJAZADEH N, FATHI M, SHARIAT A. Evaluation of homocysteine level as a risk factor among patients with ischemic stroke and its subtypes[J]. Iran J Med Sci, 2013, 38(3): 233-239.
- [4] CAI WJ, YIN L, YANG F, et al. Association between Hcy levels and the CBS844ins68 and MTHFR C677T polymorphisms with essential hypertension[J]. Biomed Rep, 2014, 2(6): 861-868.
- [5] KNUUTI J, WIJINS W, SARASTE A, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes[J]. Eur Heart J, 2020, 41(3): 407-477.
- [6] 周春燕, 药立波, 方定志, 等. 生物化学与分子生物学(第9版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 187-190.
- [7] OLTEANU H, MUNSON T, BANERJEE R. Differences in the efficiency of reductive activation of methionine synthase and exogenous electron acceptors between the common polymorphic variants of human methionine synthase reductase[J]. Biochemistry, 2002, 41(45): 13378-13385.
- [8] 李鹏, 贾玲. MTHFR 基因型对叶酸降同型半胱氨酸效果的影响[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(7): 1091-1093.
- [9] GOYETTE P, SUMNER JS, MILOS R, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA mapping and mutation identification[J]. Nat Genet, 1994, 7(2): 195-200.
- [10] WANG XM, FU JJ, LI QX, et al. Geographical and ethnic distributions of the MTHFR C677T, A1298C and MTHFR A66G gene polymorphisms in Chinese populations: a meta-analysis[J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0152414.
- [11] MEADE TW, RUDDOCK V, STIRLING Y, et al. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study[J]. Lancet, 1993, 342(8879): 1076-1079.
- [12] OKOPIEN B, HABERKA M, CWALINA L, et al. Plasma cytokines as predictors of coronary heart disease[J]. Res Commun Mol Pathol Pharmacol, 2002, 112(1/4): 5-15.

(收稿日期: 2020-11-04; 修回日期: 2021-02-22)