

# 中青年急性心肌梗死与 MTHFR 基因多态性及血浆 Hcy 水平的相关性

郑丽梅, 李大鹏, 张桂霞, 张明亮

佳木斯市中心医院心内二科, 黑龙江 佳木斯 154002

**摘要:** **目的** 探讨中青年急性心肌梗死(AMI)与亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性及血浆同型半胱氨酸(Hcy)水平的相关性。**方法** 选择2017年3月至2018年6月接受治疗的中青年AMI患者95例及同期体检的健康者88例为研究对象。采集研究对象空腹静脉血进行检测,收集血清检测叶酸、维生素B<sub>12</sub>(VitB<sub>12</sub>)、尿酸(UA)水平,收集血浆测定Hcy水平,提取白细胞中基因组DNA,检测MTHFR基因C677T位点的多态性;采用Spearman法对MTHFR基因多态性及Hcy水平进行相关性分析,对影响AMI的因素进行Logistic回归分析。**结果**

心肌梗死组高血压比例、高血糖比例及Hcy水平高于对照组,UA、VitB<sub>12</sub>及叶酸水平低于对照组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。两组基因型分布有显著统计学差异( $P < 0.01$ ),心肌梗死组T/T基因型比例最高,对照组C/T基因型比例最高;心肌梗死组的C等位基因频率低于对照组,T等位基因频率高于对照组( $P < 0.05$ );在对照组中T/T基因型的Hcy水平显著高于C/C基因型( $P < 0.05$ );心肌梗死组中Hcy水平呈T/T基因型 > C/T基因型 > C/C基因型( $P < 0.05$ )。Spearman相关性分析结果显示,MTHFR基因C677T位点多态性与Hcy水平显著相关( $r = 0.689$ ,  $P = 0.000$ ),调整年龄、性别、BMI、吸烟史、饮酒、血压等影响因素后,MTHFR基因C677T多态性与Hcy水平有相关性( $r = 0.645$ ,  $P = 0.000$ );Logistic回归分析结果显示,高血压、高血糖、高Hcy水平均是影响AMI的独立危险因素,而UA、VitB<sub>12</sub>、叶酸均是AMI的保护因素,血浆高Hcy水平患者的AMI发病风险是血浆Hcy正常者的2.336倍。**结论**

中青年AMI与MTHFR基因C677T的多态性、血清Hcy水平升高均密切相关,其均是导致AMI的危险因素。

**关键词:** 急性心肌梗死; 同型半胱氨酸; 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性; 相关性

**中图分类号:** R 542.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)05-0604-04

## Associations of young and middle-aged acute myocardial infarction with MTHFR gene polymorphism and plasma homocysteine level

ZHENG Li-mei, LI Da-peng, ZHANG Gui-xia, ZHANG Ming-liang

Second Division of Cardiology Department, Jiamusi Central Hospital, Jiamusi, Heilongjiang 154002, China

Corresponding author: ZHANG Gui-xia, E-mail: chenzhi1706@163.com

**Abstract: Objective** To investigate the associations of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and plasma homocysteine (Hcy) level with young and middle-aged acute myocardial infarction (AMI). **Methods** Ninety-five young and middle-aged AMI patients (AMI group) treated from March 2017 to June 2018 and 88 healthy people (control group) at the same time were selected as the subjects. Fasting venous blood was collected for serum detection of folic acid, vitamin B<sub>12</sub> (VitB<sub>12</sub>) and uric acid (UA) and plasma detection of Hcy. Genomic DNA was extracted from white blood cells, and MTHFR gene C677T locus polymorphism was detected. Spearman method was used to analyze the correlation between MTHFR gene polymorphism and Hcy level. Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of AMI. **Results** The proportion of patients with hypertension and hyperglycemia in AMI group was significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with control group, the levels of UA, VitB<sub>12</sub> and folic acid decreased, and the level of Hcy increased significantly in AMI group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). There were significant differences in genotypes between the two groups ( $P < 0.01$ ). The proportion of T/T genotype was highest in MI group and the C/T genotype was highest in the control group. C allele frequency in AMI group was significantly lower and T allele frequency was significantly higher than that in control group ( $P < 0.05$ ). In control group, Hcy level of T/T genotype

was significantly higher than that of C/C genotype ( $P < 0.05$ ). Hcy levels in AMI group were T/T genotype  $>$  C/T genotype  $>$  C/C genotype ( $P < 0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that MTHFR gene polymorphism was correlated with Hcy level ( $r = 0.689, P = 0.000$ ). After adjusting for age, sex, BMI, smoking history, alcohol consumption and blood pressure, the correlation between them remained ( $r = 0.645, P = 0.000$ ). Logistic regression analysis showed that hypertension, hyperglycemia and high Hcy level were the independent risk factors of AMI, while UA, VitB<sub>12</sub> and folic acid were the protective factors for AMI patients, and the risk of AMI in patients with high plasma Hcy level was 2.336 times higher than that in persons with normal plasma Hcy level. **Conclusion** Young and middle-aged AMI is closely related to MTHFR gene C677T polymorphism and elevated serum Hcy level, and both of them are the risk factors for AMI.

**Key words:** Acute myocardial infarction; Homocysteine; Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism; Correlation

**Fund program:** Heilongjiang Health and Family Planning Commission's scientific research programs (2017-424); Jiamusi City's Key Scientific Research Programs in 2017 (170160)

中青年急性心肌梗死(AMI)发病率近年来持续升高,纵然年龄、吸烟、高血压、高血糖、高血脂也是造成AMI的危险因素,但远不能解释AMI的病因<sup>[1]</sup>。Hcy是人体的必须氨基酸蛋氨酸的中间代谢产物,多项研究表明Hcy与血栓形成、动脉斑块稳定性相关<sup>[2]</sup>。有研究指出,Hcy水平升高,脑卒中发病风险升高,而血浆中Hcy降低后,心脑血管疾病的发生显著降低<sup>[3]</sup>。亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)在叶酸代谢中具有重要作用。Frosst研究发现MTHFR基因中C677T位点突变会导致缬氨酸(Valine, Val)转变为丙氨酸(Alanine, Ala),且MTHFR活性降低<sup>[4]</sup>。MTHFR是Hcy分解代谢的关键酶,MTHFR基因缺陷导致酶活性异常,从而影响血浆Hcy水平<sup>[5]</sup>。基于此,本研究探讨AMI与MTHFR基因多态性及Hcy的关系,以初步明确MTHFR基因多态性和AMI的相关性,并为AMI的预防和治疗提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择2017年3月至2018年6月在本院接受治疗的中青年AMI患者95例为研究组,同期来院体检的健康者88例为对照组。研究组男50例,女45例;年龄25~55(40.24±9.85)岁;对照组男48例,女40例;年龄22~56(37.56±10.31)岁。两组年龄、性别比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经我院伦理委员会批准。纳入标准:(1)所有AMI患者均符合AMI的诊断标准<sup>[6]</sup>;(2)对照组人群无脑卒中病史;(3)所有受试者均知情同意。排除标准:(1)患有恶性肿瘤、血液系统疾病;(2)近期服用维生素B<sub>12</sub>、叶酸等影响血清Hcy水平者;(3)患有肾功能不全、甲状腺疾病等。

### 1.2 方法

**1.2.1 样本采集** 研究组患者入院第二日清晨采集

空腹静脉血6ml分为两份,一份室温静置20min,2500r/min离心15min,收集上层血清置于-70℃冰箱待检;一份置于乙二胺四乙酸二钠(Na<sub>2</sub>EDTA)抗凝管中充分摇匀,2500r/min离心5min,分离血浆置于-80℃冰箱密封保存,分离中层白细胞于-80℃保存,检测MTHFR基因多态性。对照组体检时采集静脉血6ml,相同方法收集血浆、血清、白细胞。

**1.2.2 生化指标检测** 对上述所收集血清进行叶酸、维生素B<sub>12</sub>(VitB<sub>12</sub>)、尿酸(uric acid, UA)等生化指标的测定。UA使用日立7080全自动生化分析仪检测;叶酸、VitB<sub>12</sub>使用德国罗氏公司的ELECSYC-2010全自动电化学发光免疫分析仪检测,均由专业检验科人员进行检测操作。

**1.2.3 血浆Hcy水平检测** 上述分离血浆进行血浆Hcy水平检测,使用Roche P800全自动生化分析仪测定,试剂盒购自北京九强生物技术有限公司。Hcy参考值0~10μmol/L, >10μmol/L即为高Hcy。

**1.2.4 MTHFR基因多态性检测** 提取各组研究对象白细胞中基因组DNA,采用多聚酶链聚合反应2-限制性内切酶片段长度多态性技术(PCR2-RFLP)扩增MTHFR C677T基因片段。PCR反应条件:94℃ 30s, 65℃ 45s, 72℃ 45s,循环后,72℃下延伸7min。美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库查询MTHFR C677T的序列号进行引物设计,上游:5'-TGA AGA GAA GGT GTC TGC GGA-3',下游:5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3',引物由上海生工合成。扩增产物经HinfI酶切,2%琼脂糖凝胶电泳分离酶切产物,随后进行溴化乙锭染色,并使用紫外线凝胶成像仪对DNA显色条带进行观察和分析,判断基因型。

**1.3 统计学方法** 应用SPSS 20.0软件进行数据处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 $t$ 检验,

两组三水平比较采用方差分析及两两比较的 LSD-*t* 检验;计数资料用频数(%)表示,采用 $\chi^2$  检验;相关性分析采用 Spearman 法,对影响 AMI 的因素行 Logistic 回归分析。 $\alpha = 0.05$  为检验水准。

## 2 结果

2.1 两组一般资料和生化指标的比较 两组 BMI、吸烟史、饮酒史比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),心肌梗死组高血压患者比例、高血糖患者比例、Hcy 水平高于对照组( $P < 0.05, P < 0.01$ ),UA、VitB<sub>12</sub>、叶酸水平低于对照组( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。

2.2 两组 MTHFR 基因 C677T 位点基因型及等位基因频率比较 两组研究对象的基因型分布结果显示,两组基因型分布有显著统计学差异( $P < 0.01$ )。心肌梗死组 T/T 基因型比例最高,对照组 C/T 基因型比例最高。等位基因结果显示,心肌梗死组的 C 等位基因频率低于对照组, T 等位基因频率高于对照组,两组等位基因频率分布有统计学差异( $P < 0.01$ )。见表 2。

2.3 MTHFR 基因 C677T 位点多态性与血浆 Hcy 水平 两组中不同 MTHFR C677T 基因型的 Hcy 水平均不相同,对照组中 T/T 基因型的 Hcy 水平显著高于 C/C 基因型( $P < 0.05$ );心肌梗死组中 Hcy 水平呈 T/T 基因型 > C/T 基因型 > C/C 基因型( $P < 0.05$ ),两组中均以 T/T 基因型 Hcy 水平最高。见表 3。

2.4 MTHFR 基因多态性、Hcy 水平的相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示, MTHFR 基因 C677T 位点多态性与 Hcy 水平呈显著相关( $r = 0.689, P = 0.000$ );调整年龄、性别、BMI、吸烟史、饮酒、血压等

表 1 两组一般资料和生化指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	对照组( $n=88$ )	心肌梗死组( $n=95$ )	$\chi^2/t$ 值	$P$ 值
吸烟史[例(%)]	33(37.50)	40(42.11)	0.404	0.525
饮酒史[例(%)]	35(39.77)	42(44.21)	0.369	0.543
高血压[例(%)]	30(34.09)	59(62.11)	14.352	0.000
高血糖[例(%)]	28(31.82)	46(48.42)	5.228	0.022
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x} \pm s$ )	23.06 $\pm$ 2.31	23.59 $\pm$ 2.16	1.604	0.110
UA( $\mu\text{mol}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$ )	300.05 $\pm$ 70.51	267.56 $\pm$ 65.32	3.236	0.001
VitB <sub>12</sub> ( $\text{pg}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$ )	385.63 $\pm$ 150.21	345.06 $\pm$ 124.81	1.993	0.048
叶酸( $\mu\text{mol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	8.89 $\pm$ 3.06	5.42 $\pm$ 2.84	7.956	0.000
Hcy( $\mu\text{mol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	8.94 $\pm$ 2.16	18.25 $\pm$ 2.68	20.383	0.000

表 2 两组 MTHFR 基因型及等位基因频率比较 例(% )

组别	例数	基因型			等位基因	
		C/C	C/T	T/T	C	T
对照组	88	29(32.95)	47(53.41)	12(13.64)	105(59.66)	71(40.34)
心肌梗死组	95	23(24.21)	28(29.47)	44(46.32)	74(38.95)	116(61.05)
$\chi^2$ 值		23.558			15.685	
$P$ 值		0.000			0.000	

影响因素后, MTHFR 基因 C677T 位点多态性与 Hcy 水平仍有相关性( $r = 0.645, P = 0.000$ )。

2.5 影响 AMI 因素的 Logistic 回归分析 以是否发生 AMI 为因变量,以吸烟、饮酒、BMI、高血压、高血糖、UA、VitB<sub>12</sub>、叶酸、Hcy 水平为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示,高血压、高血糖、高 Hcy 水平均是影响 AMI 的独立危险因素,而 UA、VitB<sub>12</sub>、叶酸均是 AMI 的保护因素;血浆高 Hcy 水平的 AMI 发病率是血浆 Hcy 正常者的 2.336 倍。见表 4。

## 3 讨论

AMI 是世界范围内严重危害人类健康的心血管疾病,特别是近年来中青年 AMI 发病率、死亡率显著增高。多项研究表明, Hcy 水平以及影响 Hcy 水平的 MTHFR 基因 C677T 位点多态性是影响 AMI 的危险因素之一<sup>[7]</sup>。高 Hcy 可与高血压、高血糖等协同作用导致血栓形成,诱发急性脑梗死、心肌梗死、脑血栓等疾病<sup>[8]</sup>。研究发现对心血管疾病的影响可能有以下机制,高 Hcy 水平可下调血管内皮细胞纤溶酶原激活剂 mRNA 表达,上调纤溶酶原激活物抑制剂 I mRNA 表达,降低纤溶系统活性,造成凝血和纤溶功能紊乱,促进动脉粥样硬化斑块不稳定及血栓的发生和发展<sup>[9]</sup>; Hcy 可增加血液中血小板的黏附性; Hcy 可能与血栓调节素的表达相关,促进血栓的形成<sup>[10-11]</sup>。调节 Hcy 水平可有效改善 AMI 的发生、发展。

Hcy 在体内含量较少,目前研究认为影响 Hcy 水平的因素主要有代谢的关键酶 MTHFR C677T 基因多态性及叶酸、VitB<sub>12</sub> 等辅酶<sup>[12]</sup>。MTHFR、胱硫醚 $\beta$  合成酶(cystathionine betasynthetase, CBS) 是 Hcy 代

表 3 两组中不同 MTHFR C677T 基因型的 Hcy 水平比较 ( $\mu\text{mol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )

组别	例数	C/C	C/T	T/T
对照组	88	7.69 $\pm$ 0.39	8.61 $\pm$ 0.98	9.34 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>
心肌梗死组	95	13.94 $\pm$ 1.67	16.50 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	21.31 $\pm$ 1.23 <sup>ab</sup>

注:与 C/C 基因型比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 C/T 基因型比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 4 影响 AMI 的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	$\beta$ 值	SE	Wald $\chi^2$	$P$ 值	OR 值	95% CI
高血压	0.541	0.251	4.644	0.016	1.718	1.206 ~ 2.446
高血糖	0.578	0.329	3.083	0.033	1.782	1.264 ~ 2.512
UA	-0.530	0.265	3.995	0.021	0.589	0.405 ~ 0.856
VitB <sub>12</sub>	-0.398	0.201	3.920	0.028	0.672	0.492 ~ 0.917
叶酸	-0.611	0.415	2.164	0.045	0.589	0.331 ~ 0.891
Hcy 水平	0.848	0.317	7.163	0.001	2.336	1.856 ~ 2.942
吸烟	0.380	0.203	3.500	0.056	1.462	1.056 ~ 2.024
饮酒	0.497	0.312	2.534	0.064	1.643	1.168 ~ 2.312
BMI	-0.199	0.563	0.125	0.108	0.820	0.325 ~ 2.067

谢中的关键酶,基因突变使酶活性下降,导致 Hcy 水平升高;另外 MTHFR 以维生素 B<sub>12</sub>、叶酸等为辅酶在蛋氨酸合成酶的作用下,将 Hcy 甲基化形成蛋氨酸,辅酶减少导致 Hcy 代谢途径受阻,水平升高<sup>[13-14]</sup>。Yilmaz 等<sup>[15]</sup>认为,Hcy 水平升高与 UA 具有相关关系。本研究结果显示,心肌梗死组 VitB<sub>12</sub>、叶酸、UA 水平均显著低于对照组,Hcy 水平显著高于对照组,表明 Hcy 代谢途径需要的辅助因子减少,导致 Hcy 代谢受阻,水平升高。Logistic 回归分析显示,叶酸、VitB<sub>12</sub>、UA 均是 AMI 发生发展的独立保护因素。

MTHFR 基因位于染色体 1p36.3,包含 11 个外显子和 10 个内含子,其表达为一种黄素蛋白。Kluijtmans 等<sup>[16]</sup>研究发现,MTHFR C677T 基因突变者的心血管疾病发生率较对照组升高 3 倍。国外有研究指出 MTHFR C677T 促进平滑肌细胞向内膜迁移,引发动脉粥样硬化<sup>[17]</sup>。与正常组相比,心血管病患者 MTHFR 基因纯合子和杂合子突变的发生率均显著升高,其表明 MTHFR C677T 基因突变可能是心血管病的易感因素<sup>[18]</sup>。MTHFR 基因 677 位 C 突变为 T 可使 MTHFR 酶活性降低,引起 Hcy 再甲基化受到影响,导致血 Hcy 水平升高。研究发现,T/T 型酶活性在 37 ℃ 时较 C/C 型下降 50% ~ 60%,46 ℃ 时下降约 65%;C/T 型突变酶活性也有所降低,但较 T/T 型酶活性高<sup>[19]</sup>。本研究结果显示,心肌梗死组 T/T 基因型显著高于对照组,且等位基因 T 频率显著高于等位基因 C 的频率,表明 MTHFR C677T 基因在心肌梗死组发生突变,其代谢活性降低,阻碍 Hcy 的降解,导致血浆水平 Hcy 升高。Spearman 相关性分析显示,MTHFR C677T 基因型与 Hcy 水平显著相关( $r=0.645, P=0.000$ ),提示 Hcy 水平升高与 MTHFR C677T 基因突变密切相关。Logistic 回归分析显示,Hcy 是 AMI 发生发展的独立危险因素,纯合子突变者发生 AMI 的风险更高。

综上所述,MTHFR C677T 的多态性、高 Hcy 水平均与 AMI 具有密切关系,均是 AMI 的危险因素,且纯合子突变发生 AMI 的风险更高。但本研究样本量较小,仍需进一步扩大样本量进行深入研究。

## 参考文献

[1] 王翠,韦福起.中青年急性心肌梗死危险因素分析[J].西南军医,2008,10(4):74-75.  
[2] 全淑花,胡俊青,唐彪,等.急性心肌梗死患者 NT-proBNP 与 HCY 检测临床意义[J].浙江中西医结合杂志,2014,24(2):97.

[3] 霍勇,徐希平.依靠我国循证医学证据,更加安全有效预防卒中——H 型高血压防治的现状和展望[J].中国医学前沿杂志(电子版),2011,3(3):4-9.  
[4] Frosst P,Blom HJ,Milos R,et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase[J]. Nat Genet,1995,10(1):111-113.  
[5] 李蕊,杨柳,苏明权,等. MTHFR 基因多态性及血浆同型半胱氨酸水平与心脑血管疾病的相关性分析[J]. 检验医学,2016,31(10):922-924.  
[6] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会,《中国循环杂志》编辑委员会. 急性心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志,2001,29(12):710-725.  
[7] 苏懿,王磊,张敏州. 急性心肌梗死的流行病学研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2012,10(4):467-469.  
[8] 周浩,魏守超,赵兴军,等. 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与脑梗死患者颈动脉粥样硬化的相关性研究[J]. 中国卒中杂志,2017,27(1):23-28.  
[9] 徐鹏,何飞,王军. 短暂性脑缺血发作与血清胱抑素 C 和同型半胱氨酸水平的相关性探讨[J]. 内科急危重症杂志,2014,20(4):271-272.  
[10] 王利军,牛小媛,琚小红,等. MTHFR 基因多态性及血浆同型半胱氨酸水平与中青年脑梗死的关系[J]. 中风与神经疾病杂志,2006,23(4):478-481.  
[11] 章志玲,张明,张淑华. 同型半胱氨酸浓度及 MTHFR 基因多态性与急性心肌梗死的相关性分析[J]. 当代医学,2016,22(22):36-38.  
[12] 蒋萍,臧大维. 急性脑梗死患者 MTHFR 基因多态性与血浆同型半胱氨酸水平的关系[J]. 山东医药,2014,54(8):1-4,8.  
[13] Hou XH, Huang YM, Mi YY. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and lung cancer: an updated meta-analysis[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2012,13(5):2025-2029.  
[14] 章志玲,张明,葛郁芝. MTHFR 基因多态性与急性心肌梗死的相关性分析[J]. 中国心血管病研究,2017,15(9):801-803.  
[15] Yilmaz MI, Stenvinkel P, Sonmez A, et al. Vascular health, systemic inflammation and progressive reduction in kidney function; clinical determinants and impact on cardiovascular outcomes[J]. Nephrol Dial Transplant,2011,26(11):3537-3543.  
[16] Kluijtmans LA, Kastelein JJ, Lindemans J, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease[J]. Circulation,1997,96(8):2573-2577.  
[17] Ventura P, Venturelli G, Marcacci M, et al. Hyperhomocysteinemia and MTHFR C677T polymorphism in patients with portal vein thrombosis complicating liver cirrhosis[J]. Thromb Res,2016,141:189.  
[18] 邵大荣,孟治木,武华,等. MTHFR C677T 与缺血(出血)性卒中风险相关性评估[J]. 安徽医学,2016,37(4):393-397.  
[19] 秦韶阳,黄山,张春阳. MTHFR 基因 C677T 多态性与心血管疾病相关性的 Meta 分析[J]. 分子诊断与治疗杂志,2017,9(1):6.