

· 临床研究 ·

MTHFR C677T 基因突变对脑梗死患者叶酸降低同型半胱氨酸治疗的影响

徐炳欣^{1,2}, 赵艳^{1,2}, 项广宇¹, 于洋^{1,2}

1. 许昌市中心医院药学部, 河南 许昌 461000; 2. 许昌市分子医学重点实验室, 河南 许昌 461000

摘要: **目的** 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T 基因突变对脑梗死患者叶酸降低同型半胱氨酸(Hcy)治疗的影响。**方法** 将 2016 年 9 月至 2017 年 4 月在许昌市中心医院神经内科就诊的脑梗死患者 182 例纳入本研究,所有患者均合并高同型半胱氨酸血症(HHcy)。依据 MTHFR C677T 基因检测结果,将患者分为观察组和对照组,观察组患者 MTHFR C677T 未发生基因突变,基因类型为 CC 型;对照组患者 MTHFR C677T 发生基因突变,基因类型为 CT 和 TT 型。两组患者均在脑梗死常规治疗基础上给予叶酸片降低 Hcy 治疗。记录患者应用叶酸治疗前、治疗后 3 个月、6 个月血浆 Hcy 的变化,计算两组患者治疗 6 个月时,血浆 Hcy 的下降幅度和降低血浆 Hcy 治疗有效率,并分析 MTHFR C677T 基因突变对叶酸降低 Hcy 治疗的影响。**结果** 观察组和对照组分别有 56 例(30.77%)和 126 例(69.23%)患者,观察组患者服药后 3 个月、6 个月血浆 Hcy 明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);两组服用叶酸治疗后 3 个月,血浆 Hcy 较治疗前均有所降低,观察组血浆 Hcy 与治疗前相比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);两组服用叶酸治疗后 6 个月,血浆 Hcy 较治疗前均有明显下降,观察组患者血浆 Hcy 的下降幅度和降低 Hcy 治疗有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论** MTHFR C677T 基因突变会降低脑梗死患者应用叶酸降低血浆 Hcy 的治疗效果。

关键词: 亚甲基四氢叶酸还原酶; C677T; 基因突变; 脑梗死; 叶酸; 同型半胱氨酸

中图分类号: R 743.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2019)09-1215-04

Effect of MTHFR C677T gene mutation on homocysteine-lowering therapy with folic acid in patients with cerebral infarction

XU Bing-xin*, ZHAO Yan, XIANG Guang-yu, YU Yang

* Department of Pharmacy, Xuchang Central Hospital, Xuchang, Henan 461000, China

Abstract: Objective To investigate the influences of methylene hydrofolate reductase C677T (MTHFR C677T) gene mutation on homocysteine-lowering therapy with folic acid in patients with cerebral infarction. **Methods** A total of 182 patients with cerebral infarction were enrolled, who were complicated with hyperhomocysteinemia (HHcy) admitting to neurology department of Xuchang Central Hospital from September 2016 to April 2017. According to the results of MTHFR C677T gene detection, the patients were divided into observation group in which no MTHFR C677T gene mutation occurred, and the genotype was CC and control group in which MTHFR C677T gene mutation occurred, and the genotypes were CT and TT. On the basis of conventional treatment of cerebral infarction, homocysteine-lowering therapy with folic acid was given in two groups. The changes of plasma Hcy concentration were recorded before and after folic acid treatment for 3 months and 6 months. The decrease of plasma Hcy level and the effective rate were calculated after 6 months of treatment. The impact of MTHFR C677T gene mutation on homocysteine-lowering therapy with folic acid was analyzed. **Results** There were 56 cases (30.77%) in observation group and 126 cases (69.23%) in control group, respectively. The plasma Hcy levels in observation group were significantly lower than those in control group at 3- and 6- month after taking folic acid supplements (all $P < 0.01$). At 3 months after treatment, the plasma Hcy levels decreased compared with pre-treatment in both groups, and there was statistical difference in plasma Hcy level between pre-treatment and post-treatment in observation group ($P < 0.01$). At 6 months after treatment, the plasma Hcy levels decreased significantly compared with pre-treatment in two groups, and the decline of plasma Hcy level and the effective rate of lowering Hcy therapy in observation group were statistically better than those in control group ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion** MTHFR C677T gene mutation can

reduce the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid in patients with cerebral infarction.

Key words: Methylene hydrofolate reductase; C677T; Gene mutation; Cerebral infarction; Folic acid; Homocysteine

Fund program: Henan Medical Science and Technology Research Project (201602372)

同型半胱氨酸(Hcy)是脑梗死的重要危险因素之一^[1],高于正常值的血浆 Hcy 会增加脑梗死发病及再发的风险^[2]。因此,针对合并高同型半胱氨酸血症(HHcy)的脑梗死患者,采用有效的手段降低血浆 Hcy 治疗,对提升该病的预后具有十分积极的意义。既往有研究显示,遗传因素、饮食结构不合理、生活习惯不健康在 HHcy 的发生中占重要作用^[3-4]。有文献报道指出,MTHFR C677T 基因突变会影响 Hcy 的体内代谢过程,进而引起 HHcy 的发生^[5]。然而,MTHFR C677T 基因突变是否会影响合并 HHcy 的脑梗死患者应用叶酸降低血浆 Hcy 的治疗效果,目前尚缺少临床研究证据。基于此,本研究对合并 HHcy 的脑梗死患者进行 MTHFR C677T 的基因多态性检测,探讨 MTHFR C677T 基因突变对叶酸降低 Hcy 治疗的影响,以期对脑梗死的防治工作提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2016 年 9 月至 2017 年 4 月在许昌市中心医院神经内科住院的 200 例脑梗死患者作为研究对象,因患者中途退出、失访等脱落 18 例,最终共纳入 182 例患者。患者男 110 例,女 72 例;年龄 26~69(48.6±12.4)岁。纳入研究患者均合并 HHcy。脑梗死的临床诊断符合中华医学会神经病学分会脑血管病学组制定的标准^[6],血浆 Hcy 大于 15 μmol/L 诊断为 HHcy^[7]。所有患者入组前均未系统服用叶酸及其他维生素类药物,记录患者年龄、性别、血浆 Hcy、合并疾病等临床资料,本研究通过医院伦理委员会的批准并与患者签署知情同意书。

1.2 分组和给药 依据 MTHFR C677T 基因检测结果,将患者分为观察组和对照组。观察组 MTHFR C677T 基因类型为 CC 型;对照组 MTHFR C677T 基因类型为 CT 和 TT 型。两组患者基础治疗均常规应用脑梗死二级预防药物(阿司匹林、他汀类药物等),降低血浆 Hcy 治疗方案为一天一次口服给予叶酸片(商品名:常喜,规格:每片 5 mg,批准文号:国药准字 H32023302,生产商家:常州制药厂)5 mg。

1.3 检测方法 MTHFR C677T 基因多态性测定采用荧光染色原位杂交技术,操作方法如下:于清晨用 EDTA 抗凝管采集患者空腹肘静脉血 2 ml,用 1×NH₄Cl 预处理液对血样进行前处理,3 000 r/min 离

心 5 min,得到白细胞悬液;取白细胞悬液 2 μl 置于 MTHFR C677T 基因(rs1801133)耀金分试剂(北京华夏时代基因科技),将含白细胞悬液的耀金分试剂放入 TL998A 荧光检测仪(西安天隆科技)检测,其结果由天隆 700 软件分析和自动判读,给出 MTHFR C677T 基因 SNP 信息。以上步骤严格按试剂盒和检验仪器标准操作规程操作。血浆 Hcy 测定采用化学发光法,应用美康生物科技生产的 Hcy 检测试剂盒(产品编号:H422T2),具体操作依据试剂盒的使用说明进行。

1.4 观察指标 分别记录两组叶酸治疗前、叶酸治疗后 3 个月、6 个月时的血浆 Hcy 检测结果,计算两组治疗 6 个月后血浆 Hcy 的下降幅度及治疗有效率。本研究以血浆 Hcy 下降到 15 μmol/L 以下为治疗有效,观察两组治疗期间所发生的与叶酸相关的药物不良反应。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件对研究数据进行统计分析。其中计量资料均进行 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验,符合正态分布的资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用重复测量的方差分析及两两比较的 LSD-*t* 检验;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较 完成本研究的 182 例研究病例,均进行 MTHFR C677T 基因检测,其中观察组 56 例,占总例数的 69.23%,对照组 126 例(其中 CT 型 54 例、TT 型 72 例),占总例数的 30.77%,两组性别比例、肝肾功能、合并疾病等基线资料相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 两组患者血浆 Hcy 降低情况及治疗有效率比较 治疗前,两组血浆 Hcy 差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后 6 个月,两组血浆 Hcy 均显著低于治疗前($P < 0.01$);其中观察组患者治疗后 3 个月血浆 Hcy 显著低于治疗前($P < 0.01$),而对照组血浆 Hcy 与治疗前相比较差异无统计学意义($P > 0.05$);组间比较显示,观察组治疗 3 个月、6 个月时的血浆 Hcy 均明显低于对照组($P < 0.01$);治疗 6 个月时,观察组血浆 Hcy 下降幅度明显高于对照组($P < 0.01$)。

经过 6 个月的治疗, 观察组患者有 40 例患者血浆 Hcy 下降到 $15 \mu\text{mol/L}$ 以内, 对照组患者有 67 例患者血浆 Hcy 下降到 $15 \mu\text{mol/L}$ 以内, 两组有效率相比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组不良反应发生情况 降低 Hcy 治疗期间, 两组患者所发生的与叶酸相关的药品不良反应主要包括恶心、腹胀、尿液变黄。上述药品不良反应均无需临床干预。两组药品不良反应发生率相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 1 两组基线资料比较

项目	观察组 ($n=56$)	对照组 ($n=126$)	$t/\chi^2/U$ 值	P 值
年龄 [岁, $M(P_{25}, P_{75})$]	54(28, 61)	53(27, 65)	0.862	0.341
男性 [例 (%)]	33(58.92)	82(65.08)	0.631	0.506
ALT (U/L, $\bar{x} \pm s$)	26.58 \pm 6.62	27.65 \pm 5.97	1.037	0.218
AST (U/L, $\bar{x} \pm s$)	28.15 \pm 5.74	27.54 \pm 6.29	0.642	0.463
高血压 [例 (%)]	21(37.50)	55(43.65)	0.603	0.515
糖尿病 [例 (%)]	6(10.71)	17(13.49)	0.271	0.809
高血脂症 [例 (%)]	19(33.93)	45(35.71)	0.054	0.868
血清肌酐 ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)	71.82 \pm 8.74	72.48 \pm 9.65	0.455	0.684
血浆 Hcy ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)	29.82 \pm 4.57	30.18 \pm 5.02	0.476	0.653

表 2 两组患者血浆 Hcy 降低情况及治疗有效率比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	观察组 ($n=56$)	对照组 ($n=126$)	t/χ^2 值	P 值
治疗前	29.82 \pm 4.57	30.18 \pm 5.02	0.476	0.653
治疗后 3 个月	22.28 \pm 4.12 ^a	26.82 \pm 3.93	6.406	0.000
治疗后 6 个月	15.25 \pm 3.93 ^b	18.46 \pm 5.58 ^c	4.443	0.000
下降幅度 (%) [#]	55.62 \pm 12.45	42.26 \pm 14.51	6.343	0.000
有效率 [例 (%)]	40(71.43)	67(53.17)	5.332	0.023

注: #下降幅度 = $100\% \times (\text{服药前 Hcy} - \text{服药 6 个月 Hcy}) / \text{服药前 Hcy}$; 与观察组服用叶酸前 Hcy 相比较, ^a $P=0.000, t=9.275$; ^b $P=0.000, t=18.852$; 与对照组服用叶酸前 Hcy 相比较, ^c $P=0.000, t=11.155$ 。

表 3 两组不良反应发生情况 例 (%)

组别	例数	恶心	腹胀	尿液变黄
观察组	56	4(7.14)	3(5.36)	6(10.71)
对照组	126	12(9.52)	9(7.14)	17(13.49)
χ^2 值		0.274	0.201	0.271
P 值		0.779	0.758	0.809

3 讨论

Hcy 是一种人体内的含硫氨基酸, 其血浆水平升高与脑梗死关系密切。有研究指出, 高 Hcy 会导致血栓调节蛋白基因的高甲基化, 进而诱导血栓调节蛋白基因沉默, 最终影响血栓调节蛋白的调节凝血作用^[8]。既往研究表明, 血浆 Hcy 是中国人脑卒中发病的重要因素, 同时也与脑卒中复发密切相关^[9]。因此, 采用有效的治疗方式降低脑卒中患者血浆 Hcy 水平, 有助于患者的临床预后。

临床上常用叶酸降低 Hcy 治疗, 其作用机制在于叶酸体内代谢产生的一碳单位参与甲硫氨酸循环,

而甲硫氨酸循环是 Hcy 体内代谢的重要途径^[10]。MTHFR 是叶酸转化为一碳单位的关键酶, 该酶活性受 MTHFR 基因多态性的影响。研究表明, 编码 MTHFR 的基因存在多种突变, 其中位于 677 位点的 C > T 突变最为关键^[11]。MTHFR C677T 基因突变会导致该酶的活性降低, 从而使一碳单位的生成量降低, 导致 HHcy 的发生。在机体摄入叶酸不足时, MTHFR C677T 基因突变患者血浆 Hcy 水平升高的风险显著增加, 甚至出现 HHcy。本研究结果显示, 观察组患者应用叶酸降低 Hcy 治疗起效更快且疗效更好, 原因考虑可能与两组患者叶酸摄入量与 MTHFR 酶活性有关系。观察组 MTHFR 酶活性正常, 其体内血浆 Hcy 的升高的主要原因在于患者日常叶酸摄入不足; 而对照组血浆 Hcy 的升高原因除了日常叶酸摄入不足, 还有 MTHFR 酶活性降低。规律服用叶酸只能解决日常叶酸摄入不足的问题, 因此观察组患者无论是 Hcy 的降低幅度, 还是降低 Hcy 治疗的有效率均高于对照组。这提示临床, MTHFR C677T 基因突变显著影响叶酸降低 Hcy 的治疗效果, 其中 MTHFR C677T 基因未突变患者更能获益。

叶酸用于降低 Hcy 治疗属于超说明书用药, 其最佳用药剂量目前尚有争议。赵俊^[12]的研究比较了每天给予 0.8 mg、5 mg、15 mg 叶酸治疗脑卒中患者 Hcy 的效果, 结果表明, 每天给予 15 mg 叶酸可尽快降低 Hcy 水平, 长期用药每天给予 5 mg 可起到降低 Hcy 的目的; 韩钰等^[13]考察了每天给予 0.4 mg、0.8 mg、5 mg 叶酸对合并 HHcy 的高血压患者 Hcy 的影响, 结果显示每天给予 5 mg 叶酸可降低血浆 Hcy, 疗效最佳, 且能改善患者动脉硬化。同时又有研究显示, 每日服用 0.8 mg 叶酸已基本达到最好的降低 Hcy 的作用, 继续增加叶酸剂量与 Hcy 水平继续降低无明显相关性^[14]。本研究两组患者均每天给予叶酸 5 mg 降低 Hcy 治疗。治疗期间, 与叶酸相关药物不良反应发生率低, 均无需临床干预, 这表明叶酸降低 Hcy 治疗有很好的安全性; 两组药品不良反应发生率差异无统计学意义, 表明 MTHFR C677T 基因突变对叶酸药品不良反应发生率无影响。

本研究结束时, 观察组和对照组分别有 16 例 (28.57%) 和 59 例 (46.83%) 患者血浆 Hcy 水平仍然在 $15 \mu\text{mol/L}$ 以上, 这提示, 在降低血浆 Hcy 治疗时, 单用叶酸片可能存在一定的局限性。有研究指出, 患者体内的叶酸、维生素 B₁₂ 水平与血浆 Hcy 水平呈负相关^[15]; 又有文献报道, 饮酒、熬夜等不健康生活习惯是健康体检人员 Hcy 升高的重要影响因素^[16]。因此联合其他 B 族维生素、每日增加富含叶

酸的食品摄入量,定期锻炼、戒烟限酒可能是预防 HHcy 的潜在策略之一。降低血浆 Hcy 更完善的治疗方案,有待我们进一步研究。目前针对亚洲人群的有关 MTHFR C677T 基因多态性对心脑血管疾病患者的临床研究相对较少^[17-18],因此本研究结果对于指导河南中部人群脑梗死患者降低 Hcy 治疗有一定的临床应用价值。

本研究也有局限性,首先是没有考察降低 Hcy 治疗对脑梗死患者预后的影响,这有待进一步研究;其次本研究时间较短,样本量有限,因此本研究结论尚需多中心更大样本量的临床研究予以证实。

参考文献

- [1] Wang CY, Chen ZW, Zhang T, et al. Elevated plasma homocysteine level is associated with ischemic stroke in Chinese hypertensive patients[J]. *Eur J Intern Med*, 2014, 25(6): 538 - 544.
- [2] Zhang FQ, Li X, Dong Q, et al. Risk of acute cerebral infarction and plasma asymmetrical dimethylarginine and homocysteine levels: A clinical correlation analysis of Chinese population[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(9): 2225 - 2232.
- [3] Liu CG, Sun XH, Lin HL, et al. Association between hyperhomocysteinemia and metabolic syndrome with early carotid artery atherosclerosis: A cross-sectional study in middle-aged Chinese population[J]. *Nutrition*, 2018, 53: 115 - 119.
- [4] Mahalle N, Kulkarni MV, Garg MK, et al. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease[J]. *J Cardiol*, 2013, 61(4): 289 - 294.
- [5] Fekih-Mrissa N, 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.
- [6] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4): 258 - 273.
- [7] 赵莉, 唐崑, 郭冬杰, 等. 叶酸在高同型半胱氨酸血症中应用时机回顾性分析[J]. *中国药理学杂志*, 2015, 50(10): 905 - 908.
- [8] Yang Z, Wang L, Zhang h, et al. Plasma homocysteine involved in methylation and expression of thrombomodulin in cerebral infarction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(4): 1218 - 1222.
- [9] 刘颖, 李永杰, 高旭光. 急性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸水平及其相关因素分析[J]. *中国全科医学*, 2006, 9(19): 1611 - 1613.
- [10] 余国辉, 石立鹏, 杜旭勤, 等. 叶酸联合维生素 B12 治疗慢性心力衰竭伴高同型半胱氨酸血症患者有效性和安全性的 Meta 分析[J]. *中医学临床杂志*, 2018, 10(30): 39 - 44.
- [11] 陈芳, 吕海东, 秦东香, 等. 中青年缺血性脑血管病与 MTHFR 基因多态性及血浆同型半胱氨酸的相关性[J]. *中华神经医学杂志*, 2014, 13(5): 489 - 493.
- [12] 赵俊. 不同剂量叶酸对血浆同型半胱氨酸浓度的干预效果[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2015, 18(3): 108.
- [13] 韩钰, 吴航. 不同剂量叶酸对老年高同型半胱氨酸血症患者的疗效比较[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2016, 8(7): 872 - 874.
- [14] 李建平, 霍勇, 刘平, 等. 马来酸依那普利叶酸片降压、降同型半胱氨酸的疗效和安全性[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2007, 39(6): 614 - 618.
- [15] 李宗锋, 李洪臣. 中老年高脂血症患者同型半胱氨酸与维生素 B12 及叶酸水平调查[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2014, 28(5): 516 - 517.
- [16] 华文娟, 李雪峰, 朱福海, 等. 体检人群血清同型半胱氨酸水平升高的影响因素分析[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2017, 25(11): 824 - 827.
- [17] 张俊, 王洪巨. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性及同型半胱氨酸与心血管疾病相关性研究进展[J]. *中国心血管病研究*, 2018, 16(12): 1065 - 1068, 1094.
- [18] 吴子瑜, 杨津, 郭太林, 等. 高血压与非高血压脑梗死患者 MTHFR 基因 C667T 多态性与同型半胱氨酸水平的相关性[J]. *中国临床研究*, 2018, 31(4): 45 - 48.

收稿日期: 2018-08-10 修回日期: 2019-01-29 编辑: 周永彬