

原发性高血压患者实验室指标 与雌激素受体 α 基因甲基化的相关性研究

张一达, 刘璇, 刘东亮, 李恩静, 赵丹青, 贺雯雯, 谢杰, 齐雪威
(任丘康济新图医院心内科, 河北 沧州 062550)

摘要: **目的** 探讨原发性高血压患者实验室指标与雌激素受体 α 基因甲基化的相关性, 为临床诊治和改善患者预后提供指导。**方法** 回顾性分析2021年1月至12月任丘康济新图医院收治的66例原发性高血压患者的临床资料, 并作为观察组, 同时回顾性分析35例同期入院体检的健康者的体检资料, 作为对照组。观察组66例原发性高血压患者中1级22例, 2级23例, 3级21例。比较对照组研究对象与不同分级原发性高血压患者雌激素受体 α 基因甲基化状态、实验室指标; 比较不同甲基化状态原发性高血压患者实验室指标水平; 分析原发性高血压患者雌激素受体 α 基因甲基化程度与实验室指标的相关性。**结果** 与对照组比, 高血压2~3级患者的雌激素受体 α 基因甲基化占比及高血压1~3级患者的血浆同型半胱氨酸(Hcy)水平均呈升高趋势, 颈动脉内中膜厚度(IMT)呈增厚趋势, 斑块面积呈增大趋势; 与对照组比, 完全非甲基化、部分甲基化、完全甲基化患者血浆Hcy水平均呈升高趋势, IMT呈增厚趋势, 斑块面积呈增大趋势(均 $P<0.05$); 原发性高血压患者甲基化状态分别与血浆Hcy、IMT水平、斑块面积呈正相关($r=0.437$ 、 0.486 、 0.475 , 均 $P<0.05$)。**结论** 原发性高血压患者病情越严重, 则雌激素受体 α 基因甲基化程度越高, 同时随着高血压分级、雌激素受体 α 基因甲基化程度的升高, 血浆Hcy水平也可升高, IMT增厚, 斑块面积增大, 且甲基化状态分别与血浆Hcy、IMT水平、斑块面积存在正相关。

关键词: 原发性高血压; 同型半胱氨酸; 颈动脉内中膜厚度; 斑块面积; 甲基化

中图分类号: R544.1

文献标识码: A

文章编号: 2096-3718.2022.12.0118.03

原发性高血压属于一种临床较为常见的心血管综合征, 多发于中老年人群, 且在原发性高血压的发生与病情进展过程中机体血管长期处于高压状态, 能够引发颈动脉内中膜厚度(IMT)升高, 增大斑块面积, 也是引发大动脉发生粥样硬化的重要标志。因此, 早期识别高血压患者颈动脉粥样硬化, 有利于提前制定预防措施。雌激素的降压作用与雌激素受体 α 基因有关, 主要通过促进一氧化氮的合成、抑制炎症反应、抗氧化应激等机制参与血压调节, 且雌激素受体 α 基因表达受体受其启动子区甲基化的调控^[1]。基因甲基化是最常见的表观遗传形式, 基因甲基化通常会导致基因表达沉默, 参与多种疾病的发生。相关研究显示, 动脉粥样硬化患者雌激素受体 α 基因启动子区呈异常甲基化^[2]。同型半胱氨酸(Hcy)属于一种非蛋白组成氨基酸, 其在甲硫氨酸代谢途径中生成S-腺苷甲硫氨酸(SAM), SAM作为甲基基团供体, 参与DNA的甲基化调控^[3]。因此, 本研究旨在探讨原发性高血压患者Hcy、IMT、斑块面积及雌激素受体 α 基因甲基化水平变化, 并分析其相关性, 以便为临床改善原发性高血压患者预后提供一定的参考依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析2021年1月至12月任丘康

济新图医院收治的66例原发性高血压患者的临床资料, 作为观察组, 同时回顾性分析35例同期入院体检的健康者的体检资料, 作为对照组。观察组中男、女患者分别为43、23例; 年龄45~85岁, 平均 (58.39 ± 10.85) 岁。对照组研究对象中男、女性分别为23、12例; 年龄46~86岁, 平均 (58.81 ± 10.68) 岁。两组研究对象性别、年龄一般资料比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 组间具有可比性。纳入标准: 观察组患者均符合《中国高血压防治指南2018年修订版》^[4]中的诊断标准, 且经实验室检查确诊者; 伴有头晕、心悸等症状者; 临床资料齐全, 且病情可控制者等。排除标准: 合并内分泌疾病者; 合并其他心脑血管疾病者; 合并恶性肿瘤者等。本研究经任丘康济新图医院医学伦理委员会批准。

1.2 高血压分级 参照《中国高血压基层管理指南》^[5]中的诊断标准将原发性高血压患者进行高血压分级, 其中1级: 舒张压(DBP)在90~99 mmHg($1 \text{ mmHg}=0.133 \text{ kPa}$), 收缩压(SBP)在140~159 mmHg; 2级: DBP在100~109 mmHg和(或)SBP在160~179 mmHg; 3级: DBP $\geq 110 \text{ mmHg}$, SBP $\geq 180 \text{ mmHg}$ 。观察组66例原发性高血压患者中1级22例, 2级23例, 3级21例。

1.3 雌激素受体 α 基因甲基化状态的检测 于观察组患

基金项目: 2021年度医学科学研究课题计划项目(编号: 20211516)

作者简介: 张一达, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 心血管内科学。

者入院后及对照组研究对象体检时,采集静脉血 5 mL,置于抗凝管中,置于 -70 °C 备用,采用溶液沉淀法提取血液样本基因组 DNA,将 DNA 的亚硫酸氢钠修饰纯化,后置入 -20 °C 保存备用。使用巢式甲基化特异性聚合酶链式反应 (PCR) 法^[6]检测雌激素受体- α 基因甲基化状态。雌激素受体- α 基因启动子区域存在完全甲基化、完全非甲基化、部分甲基化 3 种状态,经亚硫酸氢钠修饰后,其产物 DNA 序列不同。根据雌激素受体 α 基因启动子区 CpG 岛甲基化情况将患者分为完全甲基化(雌激素受体 α 基因-pM 扩增存在目的条带,17 例)、完全非甲基化(雌激素受体 α 基因-pU 扩增存在目的条带,28 例)、部分甲基化(雌激素受体 α 基因-pM、雌激素受体 α 基因-pU 扩增都存在目的条带,21 例)^[7]。

1.4 实验室指标的检测 采集所有研究对象静脉血 5 mL,经抗凝处理后,进行离心(转速为 3 000 r/min,时间为 10 min),使用全自动免疫分析仪(山东莱博生物科技有限公司,型号:CLIA 500)检测血浆 Hcy 水平。采用彩色超声诊断系统(深圳驼人生物医疗电子股份有限公司,型号:TRU160)检测 IMT、颈动脉斑块面积。

1.5 观察指标 ①比较对照组研究对象与不同分级原发性高血压患者雌激素受体 α 基因甲基化状态。②比较对照组研究对象与不同分级原发性高血压患者实验室指标,包括血浆 Hcy 水平及 IMT、斑块面积。③比较对照组研究对象与不同甲基化状态原发性高血压患者实验室指标水平,包括血浆 Hcy 水平及 IMT、斑块面积。④分析原发性高血压患者甲基化状态与血浆 Hcy 水平、IMT、斑块面积的相关性。

1.6 统计学方法 应用 SPSS 26.0 统计软件分析数据,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较行 t 检验,多组间比较采用重复测量方差分析;计数资料以 [例 (%)] 表示,两组间比较行 χ^2 检验,多组间比较采用秩和检验;指标间相关性采用 Spearman 秩相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组研究对象与不同分级高血压患者雌激素受体 α 基因甲基化比较 与对照组比,高血压 2~3 级患者雌激素

表 1 对照组研究对象与不同分级高血压患者雌激素受体 α 基因甲基化比较 [例 (%)]

组别	例数	完全甲基化	部分甲基化	完全非甲基化	甲基化
对照组	35	2(5.71)	8(22.86)	25(71.43)	10(28.57)
高血压 1 级	22	2(9.09)	4(18.18)	16(72.73)	6(27.27)
高血压 2 级	23	7(30.43)	6(26.09)	10(43.48)	13(56.52)*
高血压 3 级	21	8(38.10)	11(52.38)	2(9.52)	19(90.48)*# Δ
Z 值					24.941
P 值					<0.05

注:与对照组比,* $P < 0.05$;与高血压 1 级比,# $P < 0.05$;与高血压 2 级比, $\Delta P < 0.05$ 。

受体 α 基因甲基化占比呈升高趋势,且高血压 2 级显著高于对照组;高血压 3 级显著高于对照组及高血压 1、2 级,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 1。

2.2 对照组研究对象与不同分级原发性高血压患者实验室指标比较 与对照组比,高血压 1~3 级患者血浆 Hcy 水平均呈升高趋势,IMT 呈增厚趋势,斑块面积呈增大趋势,且组间两两比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 2。

表 2 对照组研究对象与不同分级原发性高血压患者

实验室指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	IMT(mm)	斑块面积 (mm^2)
对照组	35	5.19 \pm 0.78	0.58 \pm 0.07	1.47 \pm 0.29
高血压 1 级	22	18.01 \pm 2.75*	0.92 \pm 0.16*	17.78 \pm 2.89*
高血压 2 级	23	26.17 \pm 3.66*#	1.36 \pm 0.27*#	21.85 \pm 3.26*#
高血压 3 级	21	31.27 \pm 4.52*# Δ	1.67 \pm 0.27*# Δ	25.63 \pm 3.57*# Δ
F 值		401.898	157.795	485.729
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与对照组比,* $P < 0.05$,与高血压 1 级比,# $P < 0.05$,与高血压 2 级比, $\Delta P < 0.05$ 。Hcy:同型半胱氨酸;IMT:颈动脉内中膜厚度。

2.3 不同甲基化状态原发性高血压患者实验室指标水平 与对照组比,完全非甲基化、部分甲基化、完全甲基化患者血浆 Hcy 水平均呈升高趋势,IMT 呈增厚趋势,斑块面积呈增大趋势,且组间两两比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 3。

表 3 不同甲基化状态原发性高血压患者

实验室指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	IMT(mm)	斑块面积 (mm^2)
对照组	35	5.19 \pm 0.78	0.58 \pm 0.07	1.47 \pm 0.29
完全非甲基化	28	19.36 \pm 1.25*	0.99 \pm 0.18*	15.12 \pm 2.85*
部分甲基化	21	25.74 \pm 2.86* Δ	1.33 \pm 0.22* Δ	18.47 \pm 3.12* Δ
完全甲基化	17	32.45 \pm 3.73* Δ \square	1.64 \pm 0.25* Δ \square	26.47 \pm 3.58* Δ \square
F 值		763.407	164.896	441.477
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与对照组比,* $P < 0.05$;与完全非甲基化比, $\Delta P < 0.05$;与部分甲基化比, $\square P < 0.05$ 。

2.4 相关性分析 经 Spearman 秩相关分析显示,原发

性高血压患者雌激素受体 α 基因甲基化状态分别与血浆Hcy、IMT、斑块面积水平呈正相关,差异均有统计学意义($r=0.437, 0.486, 0.475$, 均 $P<0.05$)。

3 讨论

原发性高血压主要是由遗传、环境等因素导致体循环动脉压升高的一种心血管综合征,其可导致心脏、血管发生功能与结构性改变,从而对患者的生命健康与安全造成严重的威胁。雌激素受体 α 作为核受体超家族成员之一,其基因表达可受启动子区甲基化调控,DNA甲基化是甲基基因甲基从供体SAM转移到DNA CpG 岛胞嘧啶第5位碳原子上,生成5-甲基胞嘧啶的过程。CpG 岛的甲基化通过改变染色质结构、基因构象、基因稳定性等的相互作用方式,对基因表达产生抑制作用,因此当雌激素受体 α 基因甲基化水平较高时,其表达受到抑制,易诱发原发性高血压发生,甚至加重患者病情,导致高血压级别升高^[8-9]。

Hcy作为一种非蛋白组成氨基酸,当其水平升高时,可显著抑制机体一氧化氮合成、分泌,使其生物活性降低,严重损伤血管内皮细胞,导致体内脂质生理代谢紊乱,升高血脂水平,进而诱发高血压,且Hcy水平越高,则患者的高血压病情越严重^[10]。本研究结果显示,与对照组比,高血压2~3级患者的雌激素受体 α 基因甲基化占比及高血压1~3级患者的血浆Hcy水平均呈升高趋势,IMT呈增厚趋势,斑块面积呈增大趋势,表明高血压患者病情越严重,则雌激素受体 α 基因甲基化程度越高,同时血浆Hcy水平参与了原发性高血压的发病过程。

此外,Hcy可影响雌激素受体 α 基因启动子的甲基化,致使mRNA表达缺失,减少雌激素合成,使其不能进入细胞核内发挥作用,从而导致血管平滑肌细胞的抑制因素消失,并促进斑块的形成过程,促使IMT增厚^[11]。本研究中,与对照组比,完全非甲基化、部分甲基化、完全甲基化患者血浆Hcy水平均呈升高趋势,IMT呈增厚趋势,斑块面积呈增大趋势,且组间两两比较,差异均有统计学意义,表明血浆Hcy水平升高能够通过引起雌激素受体 α 基因启动子区的超甲基化,参与原发性高血压的发生。

Hcy是甲硫氨酸循环的重要一环,可在甲硫氨酸代谢途径中生成SAM和S腺苷同型半胱氨酸(SAH),其中SAM是包括基因甲基化在内的体内大多数转甲基反应的供体,而SAH则是甲基转移酶强有力的抑制剂,两者可参与基因的甲基化调控,因此Hcy水平升高可加重基因甲基化程度;因雌激素受体 α 基因甲基化程度升高,可影响部分基因的表达,易导致血管重构,使得动脉硬化,从而促使IMT增厚,斑块面积增大,加速病情发展^[12]。本研究结果显示,甲基化状态分别与血浆Hcy、IMT水平、斑块面积呈正相关,表明Hcy可能通过引起雌激素受体 α 基因启

动子区的超甲基化、下调甲基化基因表达,减弱雌激素的降压作用,从而参与原发性高血压的发生和发展,与刘松等^[13]研究结果基本一致。

综上,原发性高血压患者病情越严重,则雌激素受体 α 基因甲基化程度越高,同时血浆Hcy水平可随着高血压分级、雌激素受体 α 基因甲基化程度的升高而升高,IMT增厚,斑块面积增大;此外,在原发性高血压中,甲基化状态分别与血浆Hcy、IMT水平、斑块面积存在正相关,但是目前相关报道尚不多见,值得临床进一步开展深入研究。

参考文献

- [1] 向良浩,吴兴.不同分级高血压患者IMT与Hcy水平的相关性分析[J].安徽医药,2014,18(2):306-308.
- [2] 吴晓宇.血浆HCY水平与高血压患者血压分级及早期肾功能损伤的关系分析[J].标记免疫分析与临床,2018,25(6):795-799,811.
- [3] 邱旭君,范瑞,张莉娜,等.AGTR1基因启动子区DNA甲基化与原发性高血压的相关性研究[J].预防医学,2017,29(3):260-263.
- [4] 《中国高血压防治指南》修订委员会.中国高血压防治指南2018年修订版[J].心脑血管病防治,2019,19(1):1-44.
- [5] 《中国高血压基层管理指南》修订委员会.中国高血压基层管理指南[M].北京:人民卫生出版社,2015:4-5.
- [6] 智艳芳,黄彦生,李著华,等.动脉粥样硬化病人雌激素受体基因的甲基化与高同型半胱氨酸血症关系的研究[J].卫生研究,2008,37(3):314-317.
- [7] 杨志甫,王丽珍,孟祥君,等.高同型半胱氨酸血症对雌激素受体 α 基因甲基化修饰的影响及其与脑梗死发病的关系[J].山东医药,2011,51(41):10-12.
- [8] 王璇,严光.老年高血压患者 γ -GGT与高血压分级及颈动脉IMT的关系[J].安徽医科大学学报,2016,51(8):1180-1183.
- [9] 徐慧敏,徐尚放.血清25羟基维生素D、同型半胱氨酸和载脂蛋白B/A1水平与原发性高血压患者相关性研究[J].中国卫生检验杂志,2017,27(10):1448-1450.
- [10] 黎思,郭琰,赵新元,等.老年原发性高血压患者血清SF、hs-CRP、Hcy、Cys C水平及血脂指标与颈动脉内膜中层厚度的相关性研究[J].现代生物医学进展,2018,18(20):3892-3895,3900.
- [11] 刘东芳,杨志甫,刘丹,等.同型半胱氨酸对雌激素受体 α 基因甲基化调控及其与原发性高血压相关性分析[J].中华老年心脑血管病杂志,2020,22(1):20-23.
- [12] 毛书奇,顾天伦,范瑞,等.原发性高血压主要危险因素与基因甲基化的关系研究[J].生命科学,2016,28(11):1353-1359.
- [13] 刘松,孙洪英,贺淑慧,等.颅内动脉狭窄斑块与雌激素受体 α 基因甲基化和tHcy变化的研究[J].临床放射学杂志,2019,38(5):778-782.