

内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 位点多态性与妊娠期高血压疾病患者脂代谢的相关性

李靖云 路运华 郑莉霞 赵岗 刘慧丽*

(邢台市第三医院产科,河北 邢台 054000)

[摘要] **目的** 探讨内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)基因 G894T 位点多态性与妊娠期高血压疾病(HDCP)患者脂代谢的相关性。**方法** 选择邢台市第三医院 2016 年 1 月~2020 年 1 月收治的 528 例 HDCP 患者为研究对象,并以同期 128 例正常妊娠者作为对照组。采集所有研究对象清晨空腹外周静脉血,并检测血脂指标、胱抑素(CysC)及尿酸等生化指标水平。根据血脂水平分为血脂正常组和异常组,血脂异常组包括 4 个亚组[高三酰甘油(TG)血症组(TG≥1.70 mmol/L)、低高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)血症组(HDL-C<1.04 mmol/L)、高总胆固醇(TC)血症组(TC≥5.18 mmol/L)、混合型高脂血症组(TG≥1.70 mmol/L、TC≥5.18 mmol/L)]。另采用聚合酶链反应-限制性内切酶长度片段多态性(PCR-RFLP)方法对 eNOS 基因 G894T 位点进行基因分型分析,分为 TT、GT、GG 基因型。比较不同血脂水平者的基因多态性分布情况,并采用 Logistic 回归分析方法探讨血脂异常影响因素以及 eNOS 基因 G894T 位点多态性与血脂异常之间的关系。**结果** 研究组和对照组中 GG、GT、TT eNOS 基因 G894T 位点基因型的期望值和观测值均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($\chi^2=0.651, P=0.722$; $\chi^2=1.845, P=0.398$),且研究组 GG 型基因频率和 G 等位基因频率高于对照组,TT 型基因频率和 T 等位基因频率低于对照组($P<0.05$);血脂异常组患者身体质量指数(BMI)、尿微量白蛋白与肌酐比值(UACR)、同型半胱氨酸(Hcy)、尿酸以及 C-反应蛋白(CRP)水平相较于血脂正常组显著升高,但其降压药服用率更低($P<0.05$)。血脂异常组 eNOS 基因(G894T)基因的 GG 基因频率和 G 等位基因高于血脂正常组,TT 基因频率和 T 等位基因低于血脂正常组($P<0.001$)。低 HDL-C 血症组、高 TG 血症组以及混合型高脂血症组患者的 BMI 均高于血脂正常组($P<0.05$);混合型高脂血症组患者 Hcy 水平高于血脂正常组($P<0.05$)。低 HDL-C 血症组和混合型高脂血症组的 TT 基因频率和 T 等位基因明显低于血脂正常组,GG 基因频率和 G 等位基因频率高于血脂正常组($P<0.05$)。Logistic 回归分析表明,基因型 TT 属于 HDCP 血脂水平异常的一种保护因素,基因型 GG、高 BMI、高 Hcy 水平属于血脂异常的独立危险因素。**结论** 妊娠期高血压疾病患者的 eNOS 基因 G894T 位点多态性与血脂异常之间相关性显著,其中基因型 TT 属于保护因素,基因型 GG/GT 属于独立危险因素;同时 BMI、Hcy 也会对血脂异常产生影响。

[关键词] 基因多态性;内皮型一氧化氮合成酶基因;妊娠期高血压疾病;脂代谢;相关性;聚合酶链反应-限制性内切酶长度片段多态性;孕妇

[中图分类号] R714.246 [文献标志码] A [DOI] 10.16098/j.issn.0529-1356.2022.06.007

Relationship between the G894T polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and lipid metabolism among hypertensive disorder complicating pregnancy patients

LI Jing-yun, LU Yun-hua, ZHENG Li-xia, ZHAO Gang, LIU Hui-li*

(Department of Obstetrics, Xingtai Third Hospital, Hebei Xingtai 054000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between the G894T polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene and the lipid metabolism in patients with hypertensive disorder complicating pregnancy (HDCP). **Methods** The 528 cases of HDCP patients admitted to the Xingtai Third Hospital from January 2016 to January 2020 were selected as the research objects, and 128 normal pregnant women during the same period were selected as the control group. The fasting peripheral venous blood of all study subjects in the early morning was collected, and blood lipid

[收稿日期] 2021-02-27 [修回日期] 2021-05-28
[基金项目] 邢台市科技计划项目(2019ZC216)
[作者简介] 李靖云(1976—),女(汉族),河北省邢台市人,主管护师,大学本科。
* 通讯作者(To whom correspondence should be addressed)
E-mail: 884440168@qq.com Tel: (0312) 7528459

indexes, cystatin C (CysC) and uric acid levels and other biochemical index levels were measured. According to the blood lipid level, it was divided into normal blood lipid group and dyslipidemia group. The dyslipidemia group included 4 subgroups [hyper triglyceride (TG) blood group ($TG \geq 1.70$ mmol/L), low high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)] hyper lipidemia group ($HDL-C < 1.04$ mmol/L), high total cholesterol (TC) group ($TC \geq 5.18$ mmol/L), mixed hyperlipidemia group ($TG \geq 1.70$ mmol/L, $TC \geq 5.18$ mmol/L)]. In addition, polymerase chain reaction-restriction endonuclease length fragment polymorphism (PCR-RFLP) was used to perform genotyping analysis on the G894T locus of the eNOS gene, which was divided into TT, GT and GG genotypes. The distribution of gene polymorphisms in people with different blood lipid levels was compared, and Logistic regression was used to analyze the influencing factors of dyslipidemia and the relationship between NOS gene G894T polymorphism and dyslipidemia. **Results** The expected and observed genotypes of GG, GT, TT, eNOS gene G894T locus in the study group and the control group conformed to the Hardy-Weinberg equilibrium law ($\chi^2 = 0.651$, $P = 0.722$; $\chi^2 = 1.845$, $P = 0.398$), and the GG type gene frequency and G allele frequency of the study group were higher than those of the control group, and the TT type gene frequency and T allele frequency of the study group were lower than those of the control group ($P < 0.05$); homocysteine (Hcy), uric acid, C-reactive protein (CRP). The urine microalbumin to creatinine ratio (UACR) level and body mass index (BMI) were higher than those in the normal blood lipid group, and the rate of taking antihypertensive drugs was lower ($P < 0.05$). Dyslipidemia group eNOS gene (G894T) gene GG gene frequency and G allele were higher than normal blood lipid group, TT gene frequency and T allele were lower than normal blood lipid group ($P < 0.001$). The BMI of patients in the low HDL-C group, hyper TG group and mixed hyperlipidemia group was higher than that of the normal blood lipid group ($P < 0.05$); The Hcy level of the mixed hyperlipidemia group was higher than that of the normal blood lipid group ($P < 0.05$). The TT gene frequency and T allele frequency of the low HDL-C group and the mixed hyperlipidemia group were significantly lower than those of the normal blood lipid group, and the GG gene frequency and G allele frequency were higher than the normal blood lipid group ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that genotype TT was a protective factor for dyslipidemia in patients with HDCP, and genotype GG, high BMI and high Hcy levels were independent risk factors for dyslipidemia. **Conclusion** There is a significant correlation between the G894T polymorphism of the eNOS gene and dyslipidemia among patients with hypertension in pregnancy. The genotype TT is a protective factor, and the genotype GG/GT is an independent risk factor; at the same time, BMI and Hcy will also affect dyslipidemia.

[Key words] Gene polymorphism; Endothelial nitric oxide synthase gene; Hypertension in pregnancy; Lipid metabolism; Correlation; Polymerase chain reaction-restriction endonuclease length fragment polymorphism; Pregnant woman

妊娠期高血压疾病 (hypertensive disorder complicating pregnancy, HDCP) 是妇女妊娠时期常见的一种妊娠并发症,主要分为妊娠期高血压、子痫前期以及子痫, HDCP 的发病率在妊娠期并发症中占比 2%~8%,是导致产妇围产期不良预后的重要因素^[1]。氧化应激、胰岛素抵抗以及免疫及遗传等多方面因素均可能参与 HDCP 的发病和发展,但均未形成统一意见。近年来发现 HDCP 具有家族多发性,提示遗传因素以及基因的多态性改变可能与 HDCP 易感性之间存在密切联系。基因多态性包括 DNA 重复序列、单核苷酸以及 DNA 片段长度的多态性^[2]。代谢综合征是一种多基因共同参与和作用的复杂疾病,不同人群的遗传易感性之间存在差异,单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNPs) 是其重要影响因素^[3]。有研究表明,内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 基因与多种代谢指标之间均存在重要联系,且在不同特征人群中关联性存在一定差异^[4]。eNOS 基因 G894T 位点的多态性位于第 7 外显子,主要表现为原来的谷氨酸被天门冬氨酸代替编码,

其基因多态性可分为 GG、GT 和 TT 型,其属于 HDCP 的易感基因已得到证实^[5],但目前关于 eNOS 基因 G894T 位点的多态性与 HDCP 脂代谢之间的关系尚鲜见详细报道。因此我们对 HDCP 患者的 eNOS 基因 G894T 位点多态性进行分型,探讨 eNOS 基因 G894T 位点多态性与血脂异常之间的关系以及影响 HDCP 患者血脂异常的因素。

对象和方法

1. 研究对象

选择邢台市第三医院 2016 年 1 月~2020 年 1 月收治的 528 例 HDCP 患者为研究对象,并以同期 128 例正常妊娠者作为对照组。所有患者均签署知情同意书,本研究在研究方案获得我院伦理委员会准许后开展。

纳入标准:(1) 所有患者均确诊为 HDCP^[6];(2) 对照组孕妇血压指标符合要求且无其他严重妊娠合并症;(3) 所有患者均未合并其他严重妊娠合并症;(4) 年龄 ≥ 18 周岁;(5) 知情同意并签字。

排除标准:(1) 合并恶性肿瘤或其他严重心、

肝、肺、肾等重要脏器功能不全者;(2)中途退出研究或妊娠终止者;(3)合并凝血功能异常或存在其他严重妊娠并发症者;(4)3个月内使用降血脂相关药物者。

2. 研究方法

2.1 DNA 提取及 eNOS 基因 G894T 位点基因分型检测:分别于患者接受治疗前抽取外周静脉血 3 ml 并置于 EDTA 抗凝管中保存,采用 DNA 提取试剂盒(型号:QIAGEN DNeasy Blood &Tissue)对基因组 DNA 进行提取,采用紫外分光光度计(型号:Nano Drop 2000)对 DNA 浓度和纯度进行检测,保证 DNA 样品的浓度为 30 μg/L 以上,纯度即吸光度(absorbance, A)₂₆₀/A₂₈₀处于 1.8~2.0 范围内。采用聚合酶链反应-限制性内切酶长度片段多态性(polymerase chain reaction-restriction endonuclease length fragment polymorphism, PCR-RFLP)技术对基因进行分型检测。

eNOS 基因的 G894T 位点引物序列为上游引物:CCCGATCTCGCCTCTTTCAC,下游引物:GGC TGCTTGACAGGCACCTAAAT。使用 PCR 试剂盒对 cDNA 进行 PCR。PCR 反应体系为:1.0 μl DNA 样本,1.5 μl GC-I 缓冲液,1.5 μl MgCl₂,1.0 μl dNTP,1.0 μl/条引物,加超纯水补至 10 μl。PCR 反应条件为 95 ℃ 1 min,94 ℃ 20 s,63 ℃ 45 s,72 ℃ 1.5 min;连续循环 32 次。使用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(上海信裕生物科技有限公司)对 PCR 产物进行切胶纯化。设置电泳电压为 80V,电泳时间为 50 min。最后采用测序仪(软件 GeneMapper 4.1)对基因进行测序分型,分型为 GG、GT 及 TT 型。

2.2 生化指标检测:在患者入组后,告知患者于采血前 1 d 禁食高蛋白以及高脂肪的食物,并尽量不进行剧烈运动,待禁食 8 h 以上后于第 2 天清晨接受外周静脉血标本采集。使用荧光检测仪(赛默飞世尔科技公司;型号:OP161)测定血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平,采用全自动生化分析仪(迈瑞医疗国际股份有限公司;型号:BS-330E)测定尿酸(uric acid)、胱抑素 C(cystatin C, CysC)以及血脂指标[三酰甘油(triacylglycerol, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高、低密度脂蛋白胆固醇

(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C; low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)]、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、尿微量白蛋白与肌酐比值(urine microalbumin to creatinine ratio, UACR)水平。根据患者血脂异常诊断标准^[7]分为血脂正常和异常组。并进一步将血脂异常组分为 4 个亚组[高 TG 血症组(TG≥1.70 mmol/L)、低 HDL-C 血症组(HDL-C<1.04 mmol/L)、高 TC 血症组(TC≥5.18 mmol/L)、混合型高脂血症组(TG≥1.70 mmol/L、TC≥5.18 mmol/L)]。

3. 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行分析,计量资料用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,计数资料采用百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;3 组数据比较采用单因素方差分析,*LSD-t* 检验方法对 3 组之间的两两数据进行比较。采用 Logistic 回归分析法分析基因多态性与血脂代谢异常之间的相关性;*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。采用 Hardy-Weinberg 平衡检验对 3 种基因型在研究对象中的分布进行检验。

结 果

1. 两组基因分型比较

eNOS 基因 G894T 位点存在 3 种基因型:研究组和对照组中 GG、GT、TT, eNOS 基因 G894T 位点基因型的期望值和观测值符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($\chi^2 = 0.651, P = 0.722; \chi^2 = 1.845, P = 0.398$),且研究组 GG 型基因频率和 G 等位基因频率高于对照组,TT 型基因频率和 T 等位基因频率低于对照组(*P*<0.05),见表 1。另检测 NOS 基因目的片段长度为 207 bp,见图 1。

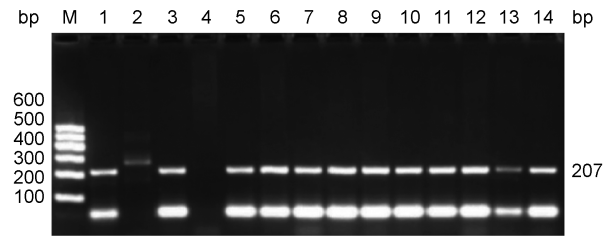


图 1 eNOS 基因 PCR 产物电泳图 M. 分子量标准

Fig.1 Electrophoresis of PCR products of eNOS gene M, Marker

表 1 eNOS 基因 G894T 位点基因型分布情况(*n*,%)

Table 1 Genotype distribution of eNOS gene G894T locus (*n*,%)

组别 groups	例数 cases	基因型频率(genotype frequency)			等位基因频率(allele frequency)	
		TT	GT	GG	T	G
研究组(experimental group)	528	200(37.88)	240(45.45)	88(16.67)	640(60.61)	416(39.39)
对照组(control group)	128	62(48.44)	59(46.09)	7(5.47)	183(71.48)	73(28.52)
χ^2	-		11.806			10.429
<i>P</i>	-		0.003			0.001

2. 各组一般资料及检测指标比较

528 例 HDCP 患者中,血脂异常和血脂正常者分别为 336 例、192 例。两组患者的年龄、收缩压、舒张压、CysC 水平差异不存在统计学意义 ($P>$

0.05)。血脂异常组患者的 Hcy、尿酸、CRP、UACR 水平以及身体质量指数 (body mass index, BMI) 相较于血脂正常组显著升高,但降压药服用率更低 ($P<0.05$)。见表 2 和表 3。

表 2 各组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of general information of each group($\bar{x}\pm s$)

组别 groups	例数 cases	年龄(岁) age (years)	BMI kg/m ²	收缩压(mmHg) systolic blood pressure(mmHg)	舒张压(mmHg) diastolic blood pressure(mmHg)	降压药服用率(%) antihypertensive drug use rate(%)
血脂异常组 dyslipidemia group	336	28.36±2.63	26.41±2.52	128.29±15.30	97.41±12.02	225(66.96)
血脂正常组 normal blood lipid group	192	28.10±2.48	24.12±2.18	127.92±13.69	96.63±11.02	153(79.69)
<i>t</i>	—	1.115	10.961	0.278	0.739	9.725
<i>P</i>	—	0.265	<0.001	0.781	0.460	0.002

表 3 各组相关检测指标比较($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Comparison of related test indicators in each group($\bar{x}\pm s$)

组别 groups	例数 cases	尿酸 uric acid μmol/L	CysC mg/L	CRP mg/L	UACR mg/g	Hcy μmol/L
血脂异常组 dyslipidemia group	336	345.58±32.55	1.17±0.36	2.61±0.68	5.64±1.20	13.65±2.42
血脂正常组 normal blood lipid group	192	312.63±31.63	1.12±0.32	2.45±0.62	4.58±0.89	13.10±2.36
<i>t</i>	—	11.304	1.597	2.684	11.558	2.535
<i>P</i>	—	<0.001	0.111	0.007	<0.001	0.012

表 4 血脂异常组与正常组 eNOS 基因(G894T)多态性比较($n, \%$)
Table 4 Comparison of dyslipidemia group and normal group eNOS gene (G894T) polymorphism($n, \%$)

组别 groups	例数 cases	基因型频率(genotype frequency)			等位基因频率(allele frequency)	
		TT	GT	GG	G	T
血脂异常组 dyslipidemia group	336	117(34.82)	145(43.15)	74(22.02)	293(43.60)	379(56.40)
血脂正常组 normal blood lipid group	192	83(43.23)	95(49.48)	14(7.29)	123(32.03)	261(67.97)
χ^2	—	19.266			13.701	
<i>P</i>	—	<0.001			<0.001	

3. 血脂异常组与正常组 eNOS 基因(G894T)多态性比较

血脂异常组 eNOS 基因(G894T)基因的 GG 基因频率和 G 等位基因高于血脂正常组,TT 基因频率和 T 等位基因低于血脂正常组 ($P<0.001$, 表 4)。

4. 血脂异常各亚组与血脂基因多态性及临床资料比较

低 HDL-C 血症组、高 TG 血症组以及混合型高脂血症组患者的 BMI 均高于血脂正常组 ($P<0.05$);混合型高脂血症组患者 Hcy 水平高于血脂正常组 ($P<0.05$)。低 HDL-C 血症组和混合型高脂血症组的 TT 基因频率和 T 等位基因明显低于血脂正常组,GG 基因频率和 G 等位基因频率高于血脂正常组 ($P<0.05$)。见表 5。

5. eNOS 基因(G894T)型与血脂异常关系的 Logistic 回归分析

以血脂水平(赋值:异常=1,正常=0)为因变量,以 eNOS 基因(G894T)基因型、BMI、Hcy 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示,基因型 TT 是 HDCP 患者的血脂异常保护因素,基因型 GG 以及高体质指数、高 Hcy 水平属于血脂异常的独立危险因素。见表 6。

讨 论

HDCP 作为妊娠期特有的一种疾病,是导致产妇围产期死亡的主要因素,且数据显示目前妊娠期妇女发生 HDCP 的比例已高达 10%左右。因此,深入研究该疾病恶发病机制并及早进行干预治疗具有重要临床意义^[1]。

一氧化氮合酶(NOS)是一组可以参与一氧化氮(nitric oxide, NO)合成的酶,共分为 3 个亚型:即内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、诱导型一氧化氮合酶

表 5 血脂异常各亚组与血脂基因多态性及临床资料比较(*n*,%)
Table 5 Comparison of dyslipidemia subgroups and blood lipid gene polymorphisms and clinical data(*n*, %)

组别 groups	例数 cases	BMI kg/m ²	Hcy μmol/L	基因型频率 genotype frequency			等位基因频率 allele frequency	
				TT	GT	GG	G	T
高 TG 组 high TG group	103	27. 20±2. 75 ^a	13. 15±2. 30	41(39. 81)	46(44. 66)	16(15. 53)	78(37. 86)	128(62. 14)
高 TC 组 high TC group	105	24. 53±2. 14	13. 41±2. 68	54(51. 43)	40(38. 10)	11(10. 48)	62(29. 52)	148(70. 48)
低 HDL-C 组 low HDL-C group	40	26. 54±2. 36 ^a	13. 35±2. 47	8(20. 00) ^a	20(50. 00)	12(30. 00) ^a	44(55. 00) ^a	36(45. 00) ^a
混合型血脂血症组 mixed hyperlipidemia group	88	26. 11±2. 38 ^a	14. 36±2. 74 ^a	14(19. 32) ^a	39(44. 32)	35(40. 91) ^a	109(61. 93) ^a	67(38. 07) ^a
血脂正常组 normal blood lipid group	192	24. 12±2. 18	13. 10±2. 36	83(43. 23)	95(49. 48)	14(7. 29)	123(32. 03)	261(67. 97)
<i>F</i> / <i>χ</i> ²	—	37. 441	4. 233		122. 140		63. 095	
<i>P</i>	—	<0. 001	0. 002		<0. 001		<0. 001	

与血脂正常组相比,a *P*<0. 05
Compared with the normal blood lipid group, a *P*<0. 05

表 6 eNOS 基因 (G894T) 型与血脂异常关系的 Logistic 回归分析
Table 6 Logistic regression analysis of the relationship between eNOS gene (G894T) type and dyslipidemia

影响因素 influencing factors	<i>β</i>	<i>SE</i>	<i>Wald</i> <i>χ</i> ²	<i>P</i>	<i>OR</i>	95%	<i>CI</i>
基因型 GG genotype GG	0. 896	0. 302	8. 802	0. 003	2. 450	1. 355	4. 428
基因型 TT genotype TT	−0. 698	0. 210	11. 048	0. 001	0. 498	0. 330	0. 751
身体质量指数 body mass index	0. 965	0. 298	10. 486	0. 001	2. 625	1. 464	4. 707
Hcy	0. 647	0. 185	12. 231	0. 000	1. 910	1. 329	2. 745

(inducible nitric oxide synthase, iNOS) 以及神经元型一氧化氮合酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS)。其中 eNOS 共由 26 个外显子组成,其位于 7q35-36 位置,长度约为 21 kb。NOS 基因存在若干个可以影响 NO 合成的遗传变异位点,而 NO 合成量降低会引发机体发生内皮功能紊乱,是 HDCP 发病和疾病进展的关键因素之一^[8]。而 eNOS 作为内皮型 NO 生成的一种限速酶,在人体心血管系统合成 NO 过程具有重要作用。研究证实,eNOS 具有舒张小动脉、降低舒张压和收缩压从而增加全身血流灌注量功能,是妊娠期间维持孕妇正常血压的关键物质,如果 eNOS 表达受到抑制将导致机体血压升高量高达 30 mmHg 左右^[9]。G894T 多态性是 eNOS 基因第 7 外显子上的基因多态性,编码的谷氨酸被天门冬氨酸替代。以往研究结果提出,高血压、胎盘早剥、糖尿病、动脉粥样硬化、心肌梗死等疾病的发生和发展均与 eNOS 基因 G894T 多态性有关,其基因多态性以及基因突变后会导致 eNOS 酶活性发生改变,TT、GT 型 eNOS 基因酶的活性更高,当 T 等位基因突变为 G 等位基因后,eNOS 基因酶活性降低,提示不同 eNOS 基因 G894T 多态性将对酶活性产生明显影响^[10]。马琳璐等^[11]通过体外研究证实,eNOS 基因 G894T 位点发生突变,将会严重降低

eNOS 稳定性,导致 NO 合成量急剧下降,从而造成机体血管收缩以及内皮功能紊乱。另外也有学者研究表明,eNOS 基因 G894T 位点的多态性与 HDCP 患病风险存在显著相关性,其中 G 等位基因可能是 HDCP 易感基因,携带 GG 型基因的孕妇患 HDCP 的风险将显著升高^[12]。冯颖等^[13]通过 Meta 分析显示,子痫前期发病孕妇的 eNOS 基因 G894T 位点 GG 基因型频率显著高于正常孕产妇,且 eNOS 基因 G894T 位点突变会造成体内 NO 水平急速降低,产生过量自由基并发生血管收缩,血压升高,从而参与 HDCP 发生发展过程。本研究结果显示,研究组和对照组中 GG、GT、TT,eNOS 基因 G894T 位点基因型的期望值和观测值符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,且研究组 GG 型基因频率和 G 等位基因频率高于对照组,TT 型基因频率和 T 等位基因频率低于对照组。与前人研究结果相似。主要原因为,NO 能够通过作用于可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylate cyclase, sGC)信号通路以维持正常血管张力,NO 合成量降低会直接影响血管张力和血压。另外,妊娠过程中 NO 会降低胎盘血管对缩血管因子的反应性以减小胎盘血管阻力,当 NO 合成量减少后,胎盘血管对缩血管因子敏感性会显著升高,从而造成胎盘血管收缩,参与妊娠高血压综合征形成^[14]。

由于脂代谢异常为妊娠期高血压疾病的重要危险因素,因此,我们进一步研究 eNOS 基因 G894T 位点多态性与 HDCP 患者脂代谢的相关性,发现血脂异常组 eNOS 基因(G894T)基因的 GG 基因频率和 G 等位基因高于血脂正常组,TT 基因频率和 T 等位基因低于血脂正常组。进一步将血脂异常 HDCP 患者分为 4 个亚组,显示低 HDL-C 血症组、高 TG 血症组以及混合型高脂血症组患者的 BMI 均高于血脂正常组;混合型高脂血症组患者 Hcy 水平高于血脂正常组。低 HDL-C 血症组和混合型高脂血症组的 TT 基因频率和 T 等位基因明显低于血脂正常组,GG 基因频率和 G 等位基因频率高于血脂正常组。说明基因型 TT 是 HDCP 患者的血脂异常保护因素,基因型 GG 是血脂异常的独立危险因素。主要是由于 eNOS 基因(G894T)位点 T 等位基因突变为 G 等位基因后,天门冬氨酸替代编码的谷氨酸,导致 NO 合成量减少,而 NO 具有调节脂肪细胞分化和分解作用,在脂肪能量代谢过程中发挥关键作用^[15]。故 eNOS 基因 G894T 位点多态性会影响机体能量代谢调节能力,从而造成脂代谢过程异常。胡梅等^[16]通过研究脑梗死患者 eNOS 基因(G894T)多态性发现,携带 G 等位基因患者的总胆固醇水平高于 T 等位基因($P<0.05$),认为 G 等位基因与总胆固醇水平存在显著相关性,可能与携带 G 等位基因患者的 mRNA 剪切变体对高胆固醇血症造成的机体血管内皮损伤防护作用更低保护作用较弱,更易发生脂代谢异常。另外,本研究中 HDCP 患者的高 BMI、Hcy 水平也属于脂代谢危险因素。其中 BMI 与脂代谢之间的显著相关性已被广泛证实和认可^[17]。而多种因素均会影响血浆 Hcy 水平,其 eNOS 基因可能参与 Hcy 代谢过程,eNOS 基因多态性可以通过下调相关酶活性,造成血液 Hcy 水平上升。另外其他 HDCP 临床研究也发现,HDCP 患者常伴随不同程度的 Hcy 水平升高,而 Hcy 水平升高后也会进一步促进细胞增殖和低密度脂蛋白(low density lipoprotein,LDL)氧化,从而激活血小板黏附和聚集过程,进而加剧血管内皮细胞损害,升高妊娠期高血压发生风险^[18]。

参 考 文 献

[1] Wang Y, Liu LL, TianY, et al. Upregulation of DAPK2 ameliorates oxidative damage and apoptosis of placental cells in hypertensive disorder complicating pregnancy by suppressing human placental microvascular endothelial cell autophagy through the mTOR signaling pathway[J]. Inter J Biol Macromol, 2019, 121 (12):488-497.

[2] Chen H, Li X, Wu Y, et al. Pregnancy-induced complications in IgA nephropathy: a case report[J]. Medicine, 2018, 97(15): e0470.

[3] Li YP, Yang Y, Lu ShY, et al. Association of single nucleotide polymorphisms of CDH13 gene with metabolic syndrome among ethnic Han Chinese [J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2018, 35(1):107-111.(in Chinese)

李奕平, 杨莹, 鲁帅尧, 等. CDH13 基因多态性与中国人群代谢综合征的相关性[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(1): 107-111.

[4] Garcia V, Sessa WC. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS): perspective and recent developments[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(2): 189-196.

[5] Wang XL, Zhao DX, Zhuang WT, et al. Correlation between genetic polymorphism and hypertensive disorder complicating pregnancy in Qinghai[J]. Acta Anatomica Sinica, 2018, 49(3): 379-386. (in Chinese)

王香林, 赵得雄, 庄文婷, 等. 基因多态性与青海妊娠高血压疾病的相关性[J]. 解剖学报, 2018, 49(3):379-386.

[6] Yang YK, Qi HB. Interpretation of the main points of the American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) “Guidelines for Hypertension and Preeclampsia in Pregnancy 2019” (part one) [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2019, 35(8):895-899. (in Chinese)

杨怡珂, 漆洪波. 美国妇产科医师学会(ACOG)“妊娠期高血压和子痫前期指南 2019 版”要点解读(第一部分)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35(8):895-899.

[7] Chinese Journal of Internal Medicine. Interpretation of "Guidelines for the Prevention and Treatment of Dyslipidemia in Adults in China" [M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2010:132-135. (in Chinese)

中华内科杂志.《中国成人血脂异常防治指南》解读[M]. 北京:人民军医出版社, 2010:132-135.

[8] Jiang JC, Ding J, Zhang Q, et al. The mechanism of Ang II/AT1R pathway down-regulating the phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2018, 34 (5):839-844. (in Chinese)

姜君财, 丁菁, 张倩, 等. Ang II/AT1R 通路下调内皮型一氧化氮合酶磷酸化的机制研究[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(5):839-844.

[9] Zheng LW, Wang WCh, Mao XZh, et al. The effect of eNOS gene G894T mutation on the ability of vascular endothelial cells to produce nitric oxide and its significance[J]. Chinese Physician, 2019, 21(5):677-681,687. (in Chinese)

郑力文, 王万春, 毛新展, 等. eNOS 基因 G894T 变异对血管内皮细胞产生一氧化氮能力的影响及其意义[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(5):677-681,687.

[10] Han L, Hu ShY, Li JH. A clinical study on the polymorphisms of eNOS gene G894T, EPO gene T3541G, and TNF-α gene G308A in Tibetan patients with hypertension during pregnancy in Qinghai [J]. China Maternal and Child Health Care, 2020, 35(2): 96-100. (in Chinese)

韩玲, 胡淑玉, 李建华. 青海地区藏族妊娠期高血压疾病患者 eNOS 基因 G894T, EPO 基因 T3541G, TNF-α 基因 G308A 多态性的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(2):96-100.

[11] Ma LL, Li BH, Guo J, et al. Meta-analysis of the association between the T786-C and 4b/a polymorphisms of eNOS gene and the risk of coronary heart disease in Chinese population[J]. Chinese Journal of Evidence-Based Cardiovascular Medicine, 2018, 10

- (11): 25-30. (in Chinese)
- 马琳璐, 李柄辉, 郭娇, 等. eNOS 基因 T786-C 和 4b/a 多态性与中国人群冠心病风险相关性的 Meta 分析[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(11): 25-30.
- [12] Mehdi WA, Mehde AA, Yusof F, et al. The endothelial nitric oxide synthase gene G894T, glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) polymorphisms as a risk factor in the patient with nephrolithiasis[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 140(15): 719-726.
- [13] Feng Y, Xue ShY, Ding GF. Study on VEGF single nucleotide polymorphism in preeclampsia patients of different ethnic groups in Urumqi area[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2019, 37(8): 26-28. (in Chinese)
- 冯颖, 薛淑媛, 丁桂凤. 乌鲁木齐地区不同民族子痫前期患者 VEGF 单核苷酸多态性研究[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(8): 26-28.
- [14] Li HR, Li ChX, Wang XL, et al. The relationship between the G894T polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and pregnancy-induced hypertension syndrome in Han nationality in Qinghai Province[J]. Chinese Journal of Anatomy, 2017, 48(3): 353-357. (in Chinese)
- 李红荣, 李长兴, 王香林, 等. 内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性与青海省汉族妊娠高血压综合征的相关性[J]. 解剖学报, 2017, 48(3): 353-357.
- [15] Wang YK, Zou YT. Study on the association between the polymorphism of eNOS gene G894T locus and acute altitude sickness[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2017, 35(11): 1364-1366. (in Chinese)
- 王延坤, 邹昀彤. eNOS 基因 G894T 位点多态性与急性高原病关联的研究[J]. 解放军预防医学杂志, 2017, 35(11): 1364-1366.
- [16] Hu M, Shang FR. The effect of Ureclin on serum eNOS after emergency stent thrombus removal in patients with acute cerebral infarction[J]. Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Cardio-Cerebrovascular Disease, 2018, 16(15): 2233-2235. (in Chinese)
- 胡梅, 尚芙蓉. 尤瑞克林对急性脑梗死病人急诊支架取栓术后血清 eNOS 的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(15): 2233-2235.
- [17] Tiliscan C, Arama V, Mihailescu R, et al. Association of adiponectin/leptin ratio with carbohydrate and lipid metabolism parameters in HIV-infected patients during antiretroviral therapy[J]. Endocr Res, 2018, 43(3): 149-154.
- [18] Wang B, Wu H, Li Y, et al. Effect of long-term low-dose folic acid supplementation on degree of total homocysteine-lowering: major effect modifiers[J]. Br J Nutr, 2018, 120(10): 1122-1130.

(编辑 张艳)