

· 临床研究 ·

# 碱基切除修复系统基因多态性与维持性血液透析患者微炎症反应及脂代谢紊乱的相关性研究

陶 静<sup>1</sup>, 贺 倩<sup>2\*</sup>, 华建武<sup>1</sup>, 陈慧梅<sup>3</sup>, 孙 伟<sup>1</sup><sup>1</sup>江苏省中医院肾科, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>南京总医院肾脏科, 江苏 南京 210016; <sup>3</sup>南京大学医学院, 江苏 南京 210008

**[摘要]** 目的:探讨碱基切除修复系统基因多态性与维持性血液透析(maintenance hemodialysis, MHD)患者氧化应激、微炎症反应及脂代谢紊乱之间的相关性。方法:选取本中心MHD患者64例,均接受维持性血液透析每周2~3次,每次3.5~4.0 h。透析期间根据患者情况给予降压药物治疗、纠正贫血等。检测两组hMYH基因多态性,包括hOGG1 c.977C>G、hMTH1 c.247G>A、hMYH c.972GG以及hMYH基因的AluYb8插入(AluYb8MYH)。同时留取外周血,行血常规、血生化检查及肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、白介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-6和IL-10测定。结果:MHD患者存在hMYH基因多态性,AluYb8MYH A/P型较A/A型IL-6水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),P/P型较A/A型IL-6水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。同时,hOGG1 c.977GG型患者血红蛋白水平高于hOGG1 c.977CC型患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),hOGG1 c.977CG及hOGG1 c.977GG两型患者与hOGG1 c.977CC型患者相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),hMYH c.972CG型患者甘油三酯水平低于hMYH c.972CC型患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:MHD患者存在碱基切除修复系统的基因多态性,其发生与患者的DNA氧化损伤有关,不同基因型细胞因子水平存在明显差异,提示其与MHD患者微炎症反应存在相关性,同时hMYH基因多态性与患者脂质代谢紊乱以及贫血等并发症有关,可能导致远期并发症的高发生率。

**[关键词]** 维持性血液透析;碱基切除修复系统;基因多态性**[中图分类号]** R459.5**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2019)05-732-03**doi:** 10.7655/NYDXBNS20190521

维持性血液透析(maintenance hemodialysis, MHD)是终末期肾功能衰竭患者的主要治疗手段,尽管半个世纪以来,MHD技术快速发展,但就我国总体而言,接受MHD治疗的患者,其5年平均生存率仅为50%左右<sup>[1]</sup>。防治MHD患者的并发症,延长患者生命,提高他们的生活质量,一直是血液净化治疗领域亟待解决的重要课题。MHD患者并发症的发生机制较为复杂,但MHD患者自身存在微炎症状态,在诱发、加重器官损伤过程中的重要作用已成为共识<sup>[2-4]</sup>。MHD患者微炎症状态发生的原因也是多方面的,目前认为氧化应激是其中的关键环节之一。既往对碱基切除修复(base excision repair, BER)系统基因多态性的研究发现MHD患者存在hMYH基因的多态性,并且其发生与患者的DNA氧化损伤有关,可能导致远期并发症的高发生率。在此基础上,本文研究了碱基切除修复系统基因多态性与患者脂质代谢紊乱及微炎症反应之间的相关性。

**[基金项目]** 江苏省自然科学基金(BK2009236)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: 373445847@qq.com

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

观察维持性血液透析患者64例,确诊为慢性肾功能不全,并行维持性血液透析治疗(稳定透析时间 $\geq 3$ 个月)。其中,男44例,女20例,平均年龄( $55.2 \pm 14.0$ )岁,原发病:慢性肾小球肾炎46例,高血压肾病10例,糖尿病肾病6例,多囊肾2例。排除标准:①急性肾功能衰竭患者;②进入透析治疗时间 $< 3$ 个月;③伴严重合并症者,如严重的心脑血管疾病(心衰II度以上经治疗控制不理想、急性冠脉综合征、急性脑血管意外等)、严重的肝脏疾病及消化道出血、肺部感染未能得到控制、糖尿病血糖控制不良、肿瘤或活动性结核、狼疮活动等;④由于智力或行为障碍不能给予充分知情同意者。

### 1.2 方法

所有患者均行常规维持性血液透析每周2~3次,每次3.5~4.0 h,合成膜透析器SUREFLUX130 G150 G(NIPRO公司,日本),透析液流量500 mL/min,血

流量 200~300 mL/min,透析液温度 37.0 °C,碳酸氢盐透析液。透析期间根据患者情况给予降压药物治疗,血红蛋白未达到目标值(100 g/L)的患者常规予皮下注射促红细胞生成素,口服铁剂或静脉铁剂治疗。

收集 MHD 患者原发病史,继往其他疾病史,透析时间,透析期间心、脑血管事件、感染等并发症情况。记录透析膜、透析频率、血流量、透析液、抗凝剂、抗氧化剂、铁剂以及促红细胞生成素等透析期间用药情况;体格检查,记录血压、身高、体重等一般生命体征及常规实验室检查。

所有患者透析前采血,分析碱基切除修复系统基因多态性,包括 hOGG1 c.977C>G、hMTH1 c.247G>A、hMYH c.972GG 以及 hMYH 基因的 AluYb8 插入(AluYb8MYH)。采用酶化学法测定生化指标,包括血清肌酐、尿素氮、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇、血清总蛋白、白蛋白;血常规测血红蛋白;ELISA 方法测定细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间差异比较采用 *t* 检验, $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

64 例 MHD 患者存在碱基切除修复系统的基因多态性(表 1)。

MHD 患者中携带 hOGG1 c.977G 等位基因,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-10 的水平差异有统计学意义,如携带 hMYH c.972 G 等位基因 IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平差异有统计学意义;AluYb8MYH 的患者中,A/P 型较 A/A 型 IL

表 1 维持性血液透析患者碱基切除修复系统基因多态性

基因多态性	例数(%)
hOGG1 c.977 C>G	
CC	9(14.1)
CG	27(42.2)
GG	28(43.7)
hMTH1 c.247 G>A	
GG	62(96.9)
GA	2(3.1)
AA	0(0.0)
hMYH c.972 G>C	
CC	12(18.8)
CG	26(40.6)
GG	26(40.6)
AluYb8MYH	
A/A	26(40.6)
A/P	26(40.6)
P/P	12(18.8)

-6 水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),P/P 型较 A/A 型 IL-6 水平差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,表 2)。

观察碱基切除修复系统多态性与患者脂质代谢异常、营养状况及贫血并发症的相关性,MHD 患者中携带 hOGG1 c.977G 等位基因贫血发生率显著下降,且甘油三酯水平明显下降,hOGG1 c.977GG 型患者血红蛋白水平高于 hOGG1 c.977CC 型患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),hOGG1 c.977CG 及 hOGG1 c.977GG 两型患者与 hOGG1 c.977CC 型患者相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。hMYH c.972CG 型患者甘油三酯水平低于 hMYH c.972CC 型患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表 3)。

## 3 讨论

肾脏病是我国的常见病、高发病;据不完全统

表 2 碱基切除修复系统基因多态性与细胞因子的相关性 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$ )

基因多态性	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-10	
hOGG1 c.977 C>G	CC	7.90 $\pm$ 3.53	117.90 $\pm$ 52.91	2.50 $\pm$ 1.01	7.90 $\pm$ 3.53
	CG	10.40 $\pm$ 3.93	156.70 $\pm$ 58.88	2.60 $\pm$ 0.75	10.40 $\pm$ 3.93
	GG	9.89 $\pm$ 4.55	140.00 $\pm$ 68.19	2.50 $\pm$ 0.71	9.90 $\pm$ 4.55
hMYH c.972 G>C	CC	8.80 $\pm$ 3.52	110.80 $\pm$ 40.45	2.20 $\pm$ 0.82	8.80 $\pm$ 3.52
	CG	10.20 $\pm$ 4.70	152.30 $\pm$ 70.49	2.60 $\pm$ 0.73	10.20 $\pm$ 4.70
	GG	9.50 $\pm$ 4.07	142.90 $\pm$ 61.02	2.60 $\pm$ 0.82	9.50 $\pm$ 4.07
AluYb8MYH	A/A	8.50 $\pm$ 3.59	128.10 $\pm$ 53.87	2.20 $\pm$ 0.63	8.50 $\pm$ 3.59
	A/P	10.80 $\pm$ 4.75	153.90 $\pm$ 72.86	2.70 $\pm$ 0.88*	10.80 $\pm$ 4.75
	P/P	9.10 $\pm$ 3.36	136.40 $\pm$ 50.36	2.90 $\pm$ 0.53**	9.10 $\pm$ 3.36

与 A/A 相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

表3 碱基切除修复系统多态性与MHD患者血红蛋白、白蛋白及血脂的相关性 ( $\bar{x} \pm s$ )

基因多态性		血红蛋白(g/L)	白蛋白(g/L)	胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)
hOGG1 c.977 C>G	CC	75.7 ± 30.09	39.2 ± 13.93	4.6 ± 1.27	13.2 ± 15.68
	CG	96.0 ± 20.73 <sup>Δ</sup>	41.6 ± 5.54	4.5 ± 1.09	2.1 ± 1.69 <sup>Δ</sup>
	GG	108.7 ± 20.16 <sup>Δ</sup>	41.2 ± 4.74	4.0 ± 0.88	2.0 ± 2.11 <sup>Δ</sup>
hMYH c.972 G>C	CC	89.4 ± 26.88	42.1 ± 4.51	4.6 ± 0.97	3.3 ± 2.97
	CG	99.3 ± 22.67	42.4 ± 5.66	4.2 ± 1.15	1.2 ± 0.42 <sup>Δ</sup>
	GG	106.7 ± 20.25	39.7 ± 5.84	4.2 ± 0.89	4.5 ± 7.14
AluYb8MYH	A/A	93.5 ± 26.84	42.0 ± 5.75	3.9 ± 0.83	1.9 ± 2.09
	A/P	109.2 ± 14.36	40.9 ± 6.07	4.5 ± 0.91	4.0 ± 7.18
	P/P	98.0 ± 24.21	39.1 ± 2.41	4.7 ± 1.61	3.5 ± 2.72

与CC相比, <sup>Δ</sup> $P < 0.05$ 。

计,我国已有终末期肾衰患者100余万例。目前终末期肾衰患者的有效治疗措施仍是MHD。中华肾脏病学会的报告显示,我国现有MHD患者约20万,并以每年11%的速度递增。防治MHD患者的并发症,延长患者生命,提高他们的生活质量,一直是血液净化治疗领域亟待解决的重要课题。MHD患者并发症的发生机制较为复杂,但MHD患者自身存在的微炎症状态,在诱发、加重器官损伤过程中的重要作用已成为共识<sup>[5]</sup>。炎症介质如TNF- $\alpha$ 、IL-1等激活补体系统,增加单核-巨噬细胞的黏附作用,促进内皮细胞的损伤,导致脂质代谢紊乱,诱发营养不良、贫血、动脉粥样硬化等并发症<sup>[6-7]</sup>。

MHD患者微炎症状态发生的原因也是多方面的,目前认为氧化应激是其中的关键环节之一。MHD患者的肾脏功能衰竭,导致抗氧化物质高密度脂蛋白、维生素C等生成减少或丢失,并且在透析治疗中,血-膜接触激活体内的氧化代谢、产生大量活性氧(ROS),造成体内ROS产生与抗氧化系统之间的不平衡。过量的活性氧将直接损伤生命大分子,进一步放大炎症反应效应;而抗氧化治疗则能有效改善MHD患者的微炎症状态。

值得关注的是,由于缺乏抗氧化酶等低分子量抗氧化剂的保护,MHD患者的DNA氧化损伤更为突出<sup>[8]</sup>;其中,8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxydeoxyguanine, 8-OHdG)因在体内形成后相对稳定、易于检测,已经成为监测MHD患者氧化损伤的标志<sup>[9]</sup>。而为了减少这类损伤,hMYH、hOGG1和hMTH1 3种DNA糖基化酶,通过碱基切除修复机制,联合参与修复8-OHdG。其中,hMTH1负责清除核苷酸池中的8-OHdG,hMYH和hOGG1则特异性地识别并切除DNA上错配的腺嘌呤和8-OHdG<sup>[10]</sup>。研究证明,MHD患者外周血白细胞中的8-OHdG含量不仅高

于正常健康人群,也显著高于慢性肾脏疾病尚未接受维持性血液透析的患者;并且8-OHdG水平的增加直接增加了MHD患者并发症发生的风险。

本课题组前期研究发现hMYH c.972 GG和AluYb8MYH在MHD患者中均较健康人群升高,差异有统计学意义( $P=0.013$ ,  $P=0.034$ ),在原发病为慢性肾小球肾炎的患者,以及并发贫血或高血压的患者中尤为明显。在hMYH c.972GG基因型患者中,如同时携带hOGG1 c.977G和AluYb8MYH等位基因,贫血、高血压等并发症发生率明显升高。在携带hOGG1 c.977G等位基因、hMYH c.972G等位基因或AluYb8MYH的患者中,外周血白细胞8-OHdG水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),尤其是在hMYH c.972GG基因型患者中,如同时携带hOGG1 c.977G等位基因或AluYb8MYH,8-OHdG升高更明显( $P < 0.01$ )。这些结果提示,MHD患者存在hMYH基因多态性,其发生与患者的DNA氧化损伤有关,可能导致远期并发症的高发生率。还与DNA氧化损伤的修复能力有关,继而影响机体的微炎症状态。

碱基切除修复系统基因的多态性直接影响DNA氧化损伤的修复功能,又与机体微炎症状态存在紧密联系,而MHD患者体内的微炎症状态与心血管疾病等多种并发症密切相关。本研究发现MHD患者中携带hOGG1 c.977G等位基因时,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-10水平显著升高,如携带hMYH c.972 G等位基因IL-1 $\beta$ 和IL-6水平明显升高,而AluYb8MYH的患者中,A/P型较A/A型IL-6水平升高( $P < 0.05$ ),P/P型较A/A型IL-6水平升高( $P < 0.01$ )。同时,观察碱基切除修复系统多态性与患者脂质代谢异常、营养状况及贫血并发症的相关性,

(下转第738页)

- randomized trial[J]. *Ann Surg*, 2011, 254:586-590
- [4] SCARLESS Study Group, Ahmed I, Cook JA, Duncan A, et al. Single port/incision laparoscopic surgery compared with standard three-port laparoscopic surgery for appendectomy: a randomized controlled trial [J]. *Surg Endosc*, 2015, 29(1):77-85
- [5] Raakow J, Liesaus HG, Neuhaus P, et al. Single-incision versus multiport laparoscopic appendectomy: a case-matched comparative analysis[J]. *Surg Endosc*, 2015, 29:1530-1536
- [6] Di Saverio S, Mandrioli M, Birindelli A, et al. Single-incision laparoscopic appendectomy with a low-cost technique and surgical-glove port: "How to do it" with comparison of the outcomes and costs in a consecutive single-operator series of 45 cases[J]. *J Am Coll Surg*, 2016, 222(3), e15-30
- [7] Gomes CA, Nunes TA, Fonseca Chebli JM, et al. Laparoscopic grading system of acute appendicitis: new insight for future trials [J]. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2012, 22(5):463-466
- [8] Wakasugi M, Tsujimura N, Nakahara Y, et al. Single-incision laparoscopically assisted appendectomy performed by residents is safe and feasible: A single institution, retrospective case series[J]. *Ann Med Surg(Lond)*, 2017, 15(1):43-46
- [9] Kim JH, Kim HY, Park SK, et al. Single-incision laparoscopic appendectomy versus conventional laparoscopic appendectomy: experiences from 1208 cases of single-incision laparoscopic appendectomy [J]. *Ann Surg*, 2015, 262(6):1054-1058
- [10] Suh SG, Sohn HJ, Kim BG, et al. Single-incision laparoscopic appendectomy by surgical trainees [J]. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2016, 26(6):470-472
- [收稿日期] 2018-12-26

(上接第734页)

MHD患者中携带hOGG1 c.977G等位基因贫血发生率显著下降,且甘油三酯水平明显下降,hOGG1 c.977GG型患者血红蛋白水平高于hOGG1 c.977CC型患者( $P < 0.05$ ),hOGG1 c.977CG及hOGG1 c.977GG患者与hOGG1 c.977CC型患者相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。hMYH c.972CG型患者甘油三酯水平低于hMYH c.972CC型患者。

本研究结果能够帮助阐明血液透析患者并发症发生的机制,并在基因型分析的基础上,为临床MHD患者的个体化治疗提供有价值的参考信息,延长透析患者生命,提高他们的生活质量,从而产生良好的社会和经济效益。

MHD患者存在碱基切除修复系统的基因多态性,其发生与患者的DNA氧化损伤有关,不同基因型细胞因子水平存在明显差异,提示其与MHD患者微炎症反应存在相关性,同时hMYH基因多态性与患者脂质代谢紊乱以及贫血等并发症有关,可能导致远期并发症的高发生率。

#### [参考文献]

- [1] 陶静,谢红浪.影响维持性血液透析患者长期存活的因素[J].*肾脏病与透析肾移植杂志*, 2005, 14(5):477-479
- [2] 袁波,杨建军,田媚,等.血液灌流对尿毒症患者微炎症状态和动脉粥样硬化的影响[J].*重庆医学*, 2015,

- 44(14):1900-1901
- [3] 叶云洁,倪兆慧,钱家麒,等.终末期肾病微炎症状态和动脉粥样硬化的关系[J].*中华肾脏病杂志*, 2016, 20(3):173-174
- [4] Schomig M, Eisenhandt A, Ritz E. The microinflammatory state of uremia[J]. *Blood Purif*, 2000, 18:327-332
- [5] 杨桂鲜,吴艳波,王唏,等.维持性血液透析患者微炎症与心血管事件关系研究[J].*实用医学杂志*, 2012, 28(2):251-253
- [6] Gade K, Blaschke S, Rodenbeck A, et al. Uremic restless legs syndrome(RLS)and sleep quality in patients with end-stage renal disease on hemodialysis: potential role of homocysteine and parathyroid hormone [J]. *Kidney Blood Pres Res*, 2013, 37(4/5):458-463
- [7] 李占园,黄文,叶菡洋,等.维持性血液透析患者血清NGAL水平与微炎症的相关性[J].*中华医院感染学杂志*, 2012, 22(10):2067-2069
- [8] Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer[J]. *Free Radic Res Commun*, 1989, 7:121-128
- [9] Tamg DC, Huang TP, Wei YH, et al. 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients [J]. *Am J Kidney Dis*, 2000, 36:934-944
- [10] Cheadel JP, Sampson JR. Exposing the MYtH about base excision repair and human inherited disease [J]. *Hum Mol Genetic*, 2003, 12:159-165

[收稿日期] 2018-03-29