

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐA HÌNH GEN MTHFR C677T TỚI MỘT SỐ CHỈ SỐ CẬN LÂM SÀNG Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 2

Phạm Hồng Ngọc^{1*}, Nguyễn Thúy Hằng²,
Nguyễn Thị Hương Lan^{1,2}, Nguyễn Huy Bình¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: (1) Xác định tỷ lệ đa hình gen MTHFR C677T ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2. (2) Mô tả ảnh hưởng của đa hình kiểu gen MTHFR C677T lên một chỉ tiêu lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2. **Phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 120 bệnh nhân ĐTD typ 2 tại Bệnh viện đa khoa Saint Paul. Các bệnh nhân được khám lâm sàng, làm xét nghiệm hóa sinh và lấy máu tách DNA để xác định đa hình gen MTHFR C677T. **Kết quả:** có 33,3% mang gen 677CT, 0,83% mang gen 677TT; so với bệnh nhân mang gen 677CC, bệnh nhân mang gen 677CT và 677TT có tuổi trung bình là $63,17 \pm 12,17$ thấp hơn, nồng độ triglyceride ($2,11 \pm 1,46$ mmol/l) và HbA1c ($7,97 \pm 2,04\%$) cao hơn, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); không thấy sự ảnh hưởng giữa gen MTHFR C677T với nồng độ đường máu, nồng độ lipid máu, huyết áp và eGFR, $p > 0,05$. **Kết luận:** tỷ lệ đa hình gen MTHFR 677CT là 33,33%; không thấy sự ảnh hưởng của gen MTHFR C677T tới nồng độ đường máu, nồng độ lipid máu, huyết áp và eGFR, ảnh hưởng tới nồng độ triglyceride, HbA1C.

Từ khóa: đái tháo đường typ 2, MTHFR C677T, homocystein

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thông báo của Liên đoàn Đái tháo đường (ĐTD) quốc tế (IDF - International Diabetes Federation) hiện nay có khoảng 415 triệu người mắc ĐTD typ 2 và sẽ tăng lên 642 triệu người vào năm 2020 [1]. Tại Việt Nam, năm 2008 có tỷ lệ mắc ĐTD là 5% tổng dân số cả nước, tại các thành phố lớn là 7 - 10% so với tổng dân số thành phố [1]. Tỷ lệ mắc ĐTD đang gia tăng nhanh chóng kéo theo những hậu quả nghiêm trọng về sức khỏe và kinh tế.

Trong điều trị bệnh nhân đái tháo đường thì các bác sĩ lâm sàng rất quan tâm tới tình trạng kháng insulin được đặc trưng bởi giảm dung nạp glucose, tăng nồng độ insulin trong máu, béo bụng và cao huyết áp [1]. Do vậy, các yếu tố làm thay đổi tình trạng huyết động ở bệnh nhân đái tháo đường cũng có thể liên

quan tới khả năng gia tăng tình trạng kháng insulin. Trong các nghiên cứu đánh giá yếu tố nguy cơ gây kháng insulin, Ozmen và cs đã thấy hiện tượng tăng nồng độ homocysteine (Hcy) máu ở bệnh nhân ĐTD [3], gây tắc mạch do ức chế phát triển nội mạc, giảm đáp ứng vận mạch, giảm tác dụng heparin. Một nguyên nhân gây tăng nồng độ Hcy là đột biến gen MTHFR. MTHFR tham gia sự trao đổi của acid folic, xúc tác sự hình thành 5 methylentetrahydrofolat (5 - MTHF) - chất chuyển Hcy thành methionine. Có khoảng 50 kiểu đột biến gen MTHFR trong đó hay gặp MTHFR C677T, C (cytosine) biến đổi thành T (thymine) ở vị trí nucleotid số 677 làm biến đổi valine thành alanine. Người mang gen MTHFR C677T ở dạng đồng hợp tử có hoạt tính enzyme MTHFR ít hơn 70% so với bình thường còn ở dạng dị hợp tử là 30-40% [4]. Do vậy mục tiêu của nghiên cứu này gồm:

1. Xác định tỷ lệ đa hình gen MTHFR C677T ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2.

2. Mô tả ảnh hưởng của đa hình kiểu gen MTHFR C677T lên một chỉ tiêu lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

¹ Đại học Y Hà Nội

² Bệnh viện đa khoa Saint Paul

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Phạm Hồng Ngọc

Email: phamngocyc@gmail.com

Ngày nhận bài: 22/4/2018

Ngày phản biện: 24/4/2018

Ngày chấp nhận đăng: 10/6/2018

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 120 bệnh nhân từ 31- 89 tuổi, được chẩn đoán xác định ĐTD typ 2 [1], điều trị tại Bệnh viện đa khoa Saint Paul từ tháng 2/2017 – 8/2017. Các đối tượng chia làm hai nhóm: nhóm 1 mang kiểu gen MTHFR 677CC (CC); nhóm 2 mang kiểu gen MTHFR 677CT (CT) và MTHFR 677TT (TT)

Nghiên cứu xác định đột biến gen được thực hiện tại Labo Gen và Sinh lý tế bào (Bộ môn Sinh lý học, Trường Đại học Y Hà Nội) và Phòng phân tích gen (Viện nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam).

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

* **Thiết kế nghiên cứu:** mô tả cắt ngang

* **Quy trình nghiên cứu:** Các bệnh nhân được khám lâm sàng đồng thời thu thập một số thông tin chung sau:

- Thông tin chung: Họ và tên, tuổi, giới tính, thời gian mắc bệnh ĐTD, tiền sử rối loạn lipid máu, tăng huyết áp.
- Chỉ số BMI: Chiều cao đứng, cân nặng được đo bằng thiết bị TZ 120 (Trung Quốc)
- Huyết áp: Đo trong tư thế nằm, tĩnh tại trên giường 15 phút trước khi đo. Đo tại động mạch cánh tay, sử dụng máy đo huyết áp ALP K2 (Nhật Bản). Đơn vị đo là mmHg. Kiểm soát huyết áp được chia thành 2 mức độ: tốt và không tốt. Cách phân chia: kiểm soát huyết áp tốt khi HATT $\leq$ 130mmHg và HATTr $\leq$ 85mmHg; kiểm soát huyết áp không tốt khi HATT > 130mmHg hoặc HATTr > 85mmHg [1].

* **Quy trình lấy máu**

- Bệnh nhân được lấy máu lúc đói vào 8h sáng, sau đó cho vào 3 ống nghiệm
 - + Ống 1: Xét nghiệm sinh hóa, 2ml máu chống đông heparin
 - + Ống 2: Xét nghiệm huyết học, 2ml máu chống đông EDTA, thực hiện xét nghiệm HbA1C
 - + Ống 3: Xét nghiệm DNA, 2 ml máu chống đông EDTA
- Ống 1, 2 chuyển đến Khoa Hóa sinh, Huyết học (Bệnh viện đa khoa Saint Paul). Xét nghiệm glucose máu (mmol/lit), HbA1c

(%), triglyceride (mmol/l), cholesterol TP (mmol/l), HDL - C (mmol/l), LDL - C (mmol/l), đo eGFR (ml/phút/m² da).

Tình trạng kiểm soát rối loạn lipid máu được chia thành 2 mức độ: kiểm soát tốt và không tốt. Cách phân chia: kiểm soát rối loạn lipid máu không tốt khi bệnh nhân có một trong các chỉ tiêu sau: cholesterol TP $\geq$ 5,2 mmol/l; HDL - C < 1 mmol/l; LDL - C $\geq$ 3,4 mmol/l; triglycerid $\geq$ 1,7 mmol/l. Ngược lại, nếu tất cả các chỉ số trên không xuất hiện thì mức kiểm soát rối loạn lipid máu là tốt [10].

Tình trạng kiểm soát đường huyết tốt được đánh giá dựa vào chỉ số glucose máu. Kiểm soát đường huyết tốt khi nồng độ glucose máu $\leq$ 7,0mmol/l, không tốt khi nồng độ glucose máu >7,0 mmol/l [1].

Mức lọc cầu thận được phân chia 2 mức là mức an toàn (eGFR < 90 ml/phút/m² da) và không an toàn (eGFR $\geq$ 90 ml/phút/m² da) [1]

- Ông 3 chuyển đến Viện nghiên cứu hệ gen (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) bằng hộp xốp làm lạnh, duy trì nhiệt độ bảo quản ở nhiệt độ -20°C. Đa hình gen được chia thành 2 nhóm: nhóm CC (hoạt tính enzym MTHFR bình thường) và nhóm CT + TT (hoạt tính enzym MTHFR giảm)

* **Quy trình tách, chiết, phân tích DNA**

- Tách chiết DNA bằng kit Wizard Genomic DNA purification (USA).
- Xác định gen bằng kỹ thuật ARMS - PCR, kiểm chứng bằng giải trình tự gen, thực hiện tại Labo Gen và Sinh lý tế bào (Bộ môn Sinh lý học, Trường Đại học Y Hà Nội).

2.3. Đạo đức nghiên cứu: Các số liệu, thông tin nghiên cứu chính xác, trung thực, khách quan được xác nhận và chấp nhận bởi cơ sở nghiên cứu. Những thông tin về bệnh nhân được giữ bí mật, chỉ phục vụ cho công tác nghiên cứu.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu: Các số liệu được thu thập và xử lý trên phần mềm SPSS 16.0. Số liệu được trình bày dưới dạng n(%) và giá trị trung bình, so sánh sự khác biệt giữa 2 nhóm CC và (CC, TT) sử dụng Chi-square Test, có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Kết quả xác định đa hình kiểu gen MTHFR C677T

Tỷ lệ gen 677CT là 33,33%, 677TT là 0,83%. Tần số alen T là 0,175 (bảng 3.1). Người mang alen T có tuổi trung bình thấp hơn người không mang alen T $p < 0,05$ (bảng 3.2).

3.2. Ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân ĐTD typ 2

Có sự khác biệt HbA1c, triglyceride giữa người mang, không mang alen T (bảng 3.3). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về kiểm soát đường máu, HbA1C, kiểm soát lipid máu ở nhóm mang alen T và không mang alen T (bảng 3.4). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về kiểm soát HA và eGFR giữa người mang alen T với người không mang alen T ($p > 0,05$) (bảng 3.5).

Bảng 3.1. Phân bố kiểu gen MTHFR C677T, tần số alen bệnh nhân ĐTD typ 2

Nhóm		Nhóm đại tháo đường (n=120)
Kiểu gen	CC	79 (65,84%)
	CT	40 (33,33%)
	TT	1 (0,83%)
Alen	C	0,825
	T	0,175

Bảng 3.2. Phân bố kiểu gen MTHFR C677T theo tuổi và chỉ số BMI

Chỉ tiêu	CC (n=79)	CT + TT (n=41)	p
Tuổi (năm)	66,4 ± 8,8	63,2 ± 12,2	<0,05
BMI (Kg/m ²)	22,41 ± 2,23	21,5 ± 2,5	>0,05

Bảng 3.3. Ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T tới một số đặc điểm cận lâm sàng

Chỉ số	CC (n=79)	CT và TT (n=41)	p
Glucose máu (mmol/l)	8,57 ± 3,05	9,03 ± 4,72	>0,05
HbA1c (%)	7,57 ± 1,74	7,97 ± 2,04	<0,05
Triglyceride (mmol/l)	1,9 ± 0,85	2,11 ± 1,46	<0,05
Cholesterol TP (mmol/l)	5,11 ± 1,39	5,02 ± 1,17	>0,05
HDL - C (mmol/l)	1,29 ± 0,35	2,90 ± 0,82	>0,05
LDL - C (mmol/l)	2,75 ± 0,93	2,90 ± 0,82	>0,05
HATT (mmHg)	127,22 ± 1,51	124,39 ± 1,37	>0,05
HATTr (mmHg)	79,05 ± 9,84	77,83 ± 9,04	>0,05
eGFR (ml/phút/1,73 m ² da)	75,08 ± 26,42	78,46 ± 31,48	>0,05

Bảng 3.4. Ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T với kiểm soát glucose máu, HbA1c và kiểm soát lipid máu

Chỉ tiêu	Chỉ số	CC (n=79)	CT và TT (n=41)	p
Glucose máu	≤ 7,0 mmol/l	35,4 (28)	34,1 (14)	>0,05
	> 7,0 mmol/l	64,6 (51)	65,9 (27)	
HbA1c	≤ 7,5%	50,6 (40)	46,3 (20)	>0,05
	> 7,5%	49,4 (39)	53,7 (21)	
Kiểm soát lipid máu	Tốt	22,8 (18)	9,8 (4)	>0,05
	Không tốt	77,2 (61)	90,2 (37)	

Bảng 3.5. Ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T với kiểm soát huyết áp và eGFR

Chỉ số		CC (n=79)	CT và TT (n=41)	p
Kiểm soát huyết áp	Tốt	43,0 (34)	51,2 (21)	>0,05
	Không tốt	57,0 (45)	48,8 (20)	
eGFR (ml/phút/m ² da)	≥ 90	19,0 (15)	17,1 (7)	>0,05
	< 90	81,0 (64)	82,9 (34)	

4. BÀN LUẬN

4.1. Kết quả xác định đa hình gen MTHFR C677T

Kiểu gen chủ yếu trong nghiên cứu là CC (65,84%), tiếp đến là CT (33,33%) và thấp nhất là TT (0,83%). Tỷ lệ mang alen T là 0,175. Như vậy sự phân bố kiểu gen trong nghiên cứu tương tự nghiên cứu của Wilcken, Schneider, Sadewa khi tiến hành ở Anh, Pháp, Brazil; khác với nghiên cứu của Schneider ở Kenya, Gambia (chủ yếu là kiểu gen CC (50-70%), tiếp đến là CT (30-50%) và thấp nhất là TT (7-10%)) [5].

4.2. Ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T tới một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân ĐTD typ 2

Tuổi người mắc ĐTD mang alen T thấp hơn người không mang alen T ($p < 0,05$), tương đồng với nghiên cứu của Bahardi (2015) tuổi trung bình nhóm CC là $62,56 \pm 11,84$, CT và TT là $61,98 \pm 11,47$ [6]. Chúng tôi không tìm thấy sự khác biệt về BMI với các kiểu gen MTHFR C677T ($p > 0,05$). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Di Renzo khi đánh giá vai trò gen MTHFR với các hội chứng rối loạn chuyển hóa [6]. Không có sự khác biệt giữa đa hình gen MTHFR C677T với HATT, HATT_r, tương đương với nghiên cứu của Bahadir trên 107 bệnh nhân tại Thổ Nhĩ Kỳ năm 2015 [6], khác với nghiên cứu của Yang khi chỉ ra sự ảnh hưởng của đa hình gen MTHFR C677T tới tình trạng THA (OR = 1,86, 95%CI = 1,22 - 2,82) [8]. Điều này được giải thích là do bệnh nhân của chúng tôi đã được kiểm soát huyết áp tốt.

Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về đường máu của người mang alen T và không mang alen T nhưng lại có sự khác biệt về nồng độ HbA1c ($p < 0,05$). Kết quả trên tương tự nghiên cứu Sarah [9]. Đường máu khi đói

có thể bị ảnh hưởng bởi lo lắng, stress... trong khi HbA1c không phụ thuộc vào yếu tố trên. HbA1c là một loại huyết sắc tố gắn glucose, chiếm 80% nhóm HbA. HbA1C tồn tại trong suốt đời sống hồng cầu và thay đổi sớm nhất trong vòng 4 tuần nên sự khác biệt về HbA1c tin cậy hơn sự khác biệt về glucose máu. Các nghiên cứu cho thấy giảm 1% HbA1c có thể giảm được 35% biến chứng vi mạch, 25% tử vong và 16% nhồi máu cơ tim [10]. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng người mang alen T có chỉ số triglyceride cao hơn người không mang alen T ($p < 0,05$). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Bahadir [6], khác với Maeda năm 2003 [11]. Có thể do bệnh nhân của chúng tôi đang được kiểm soát tốt rối loạn lipid máu.

Không thấy sự ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T tới kiểm soát glucose máu, HbA1c và kiểm soát lipid máu ở bệnh nhân ĐTD typ 2 ($p > 0,05$). Kết quả này tương đương với nghiên cứu của tác giả Dicker – Brown [11]. Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự ảnh hưởng của đa hình gen MTHFR C677T tới eGFR. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu Guglielmo người mang gen MTHFR 677CT và MTHFR 677TT có chỉ số eGFR thấp hơn so với nhóm mang gen MTHFR 677CC nhưng không thấy sự ảnh hưởng với chỉ số eGFR (OR = 0,443; 95% CI 0,141-1,387) [12].

5. KẾT LUẬN

- Tỷ lệ gen MTHFR 677CT là 33,33%, 677TT là 0,83%. Tần số alen T là 0,175.

- Bệnh nhân mang gen MTHFR 677CT, 677TT có tuổi trung bình là $63,17 \pm 12,17$, có nồng độ triglyceride ($2,11 \pm 1,46$ mmol/l), HbA1c ($7,97 \pm 2,04\%$) cao hơn người mang gen 677CC ($66,35 \pm 8,83$, triglyceride $1,9 \pm$

0,85 mmol/l, HbA1c $7,57 \pm 1,74\%$), $p < 0,05$

- Không thấy sự ảnh hưởng đa hình gen MTHFR C677T tới nồng độ đường máu, nồng độ lipid máu, kiểm soát huyết áp và eGFR

KIẾN NGHỊ

Nên đưa xét nghiệm này trở thành thường quy để xác định kiểu gen liên quan đến biến chứng ĐTD typ 2 trước khi điều trị ở nhóm bệnh nhân này.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn các cơ quan và đồng nghiệp tại các đơn vị: Khoa khám bệnh (Bệnh viện đa Khoa Saint Paul), Bộ môn Sinh Lý Học (Trường Đại học Y Hà Nội), Phòng phân tích hệ gen (Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tạ Văn Bình (2008), Tăng glucose máu nguyên lý và nền tảng, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 10 -12.
2. Cho NH, Hirst M, Cavan D et al (2015), Diabetes around the world, IDF Diabetes Atlas Seventh Edition 2015, International Diabetes Federation, 14 - 19.
3. Ozmen B, Turgan N, Habif S et al (2002), Association between homocystein and renal function in patients with typ II diabetes mellitus, Ann Clin Lab Sci, 3(32):279 - 286.
4. Sharp L, Little J (2004), Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: a huge review, Am. J. Epidemiol, 159:423 - 443.
5. Schneider JA, Rees DC, Liu YT et al (1998), Worldwide distribution of a common MTHFR mutation, Am. J. Hum. Genet, 62, 1258 - 1260.
6. Bahadır A, Erozu A, Turker A et al (2015), Does the MTHFR C677T gene polymorphism indicate cardiovascular disease risk in typ 2 diabetes mellitus patients?, Anatol J Cardiol, 15, 524 - 530.
7. Di Renzo L, Marsella LT, Sarlo F et al (2014), C677T gene polymorphism of MTHFR and metabolic syndrome: response to dietary intervention, Journal of translational medicine, 12, 329 - 348.
8. Yang B, Fan S, Zhi X et al (2014), Associations of MTHFR C677T and MTRR A66G gene polymorphisms with metabolic syndrome: A case control study in Northern China, Int. J. Mol. Sci, 15, 21687 - 21702.
9. Sarah W, Herbert F, Wael A et al (2016), Relationship between MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and complications of typ 2 diabetes mellitus in an Emirati population, Meta Gene, 9, 70 - 75.
10. American Diabetes Association (1999), Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study, Diabetes Care, 22(1):27 - 31.
11. Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M et al (2003), MTHFR Gene Polymorphism as a Risk Factor for Diabetic Retinopathy in Typ 2 Diabetic Patients Without Serum Creatinine Elevation, Diabetes Care, 26(2), 547 - 548.
12. Dicker-Brown A (2001), The effect of glucose and insulin on the activity of methylene tetrahydrofolate reductase and cystathionine- β -synthase: studies in hepatocytes, Atherosclerosis, 158(2), 297 - 301.
13. Franco RF, Araújo AG, Guerreiro JF et al (1998), Analysis of the 677 C $\rightarrow$ T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups, Thrombosis and Haemostasis, 79(1):119 - 121.

SUMMURY

RELATION OF POLYMORPHISM OF MTHFR C677T AND SOME OF INVESTIGATOR INDEX IN PATIENTS DIABETES TYP 2

Pham Hong Ngoc¹, Nguyen Thuy Hang²,
Nguyen Thi Huong Lan^{1,2}, Nguyen Huy Binh¹

¹Hà Nội Medical University, ²Saint Paul Hospital

Objectives: (1) Determine the MTHFR C677T polymorphism rate in diabetes patients typ 2; (2) Affect of the MTHFR C677T genotyp to some symtoms and investigation in diabetic patients typ 2. **Methods:** cross-sectional study on 120 diabetic patients typ 2 at the Saint Paul General Hospital. All patients were examined clinical symtoms, investigated and collected blood to determine the MTHFR C677T polymorphism. **Results:** Research results showed that 33.3% had the 677CT gene, 0.83% had the 677TT gene; The average age of patients with 677TT and 677CT were 63.17 ± 12.17 . They had higher triglyceride concentration (2.11 ± 1.46 mmol/l) and higher HbA1c ratio ($7.97 \pm 2.04\%$). Those with the 677CC gene (age: 66.35 ± 8.83 , triglyceride: 1.9 ± 0.85 mmol/l, HbA1c: $7.57 \pm 1.74\%$) were statistically different ($p < 0,05$); No correlation was found between the MTHFR C677T gene with glycemic control, blood fat concentration, blood pressure and eGFR level. **Conclusion:** the rate of MTHFR 677CT polymorphism was 33.33%. No correlation was found between the MTHFR C677T gene with glycemic control, blood fat concentration, blood pressure and eGFR level, but the relation with triglycerid concentration and HbA1C ratio has determined

Keywords: Diabetes type 2, MTHFR C677T, homocystein.