

• 论著摘要 •

 β 纤维蛋白原基因-455G/A 多态性与急性心肌梗死关系的研究

王爱玲 徐岩 余元勋

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是在冠状动脉粥样硬化病变的基础上继发血栓形成,使相应的心肌严重而持久的急性缺血,导致的心肌坏死。AMI 的发病是遗传与环境相互作用的结果。除了年龄、性别、高血压、糖尿病、脂代谢紊乱、吸烟习惯等危险因素外,遗传因素对发病有重要作用。AMI 冠状动脉血栓形成与凝血机制功能异常有关,纤维蛋白原(fibrinogen, Fg)在血小板聚集、血液黏稠度异常及动脉粥样硬化的发生和发展中起重要作用。很早就发现冠心病和脑卒中患者血浆 Fg 浓度增高。流行病学研究证实血浆 Fg 水平升高与缺血性心血管疾病的发病相关。遗传因素影响血浆 Fg 的水平。关于 β Fg 基因-455G/A 多态性和 Fg 水平与 AMI 发病关系的报道尚不多见^[1-5]。本研究探讨安徽地区汉族人群 β Fg 基因-455G/A 多态性与 AMI 发病的关系。

1 材料和方法

研究对象为 2002 年 5 月至 2004 年 5 月本院 AMI 患者,40 例,男 29 例,女 11 例。均符合 WHO 的 AMI 诊断标准。其中 20 例于住院期间做过冠状动脉造影术和经皮冠状动脉介入术。年龄 41~85 岁,平均年龄(66.4±8.8)岁。合并高血压病者 17 例,合并糖尿病者 10 例,有长期吸烟者 9 例。对照组 40 人,男 26 例,女 14 例。年龄 52~82 岁,平均年龄(66.6±7.3)岁。其中合并高血压病者 16 例,合并糖尿病者 3 例,长期吸烟者 8 例。为同期住院或门诊就诊人员。全部受试者均为汉族人。AMI 组与对照组在性别、年龄、高血压史、吸烟等方面的差异均无显著性($P > 0.05$)。用普通管及 EDTA-2Na 抗凝管分别采血。Fg、Tch、TG 及 BS 等由本院检验室检测。EDTA-2Na 抗凝血标本 4℃冰箱或冰壶存放,于当天提取基因组 DNA。碘化钾法提取基因组 DNA。PCR 与限制性片段长度多态性(RFLP)技术分析基因型。上游引物为 5'-GGAATGCAATCTCTGCTACCT-3',下游引物为 5'-TGTCGTTGACACCTTGGGAC-3'。PCR 循环扩增程序:94℃变性 5 min,冰浴加 Taq 酶 2.5 U,继之进入 35 轮循环:93℃变性 50 s,61℃退火 50 s,72℃延伸 90 s。最后 72℃延长 8 min 酶切

产物的检测。再吸取 PCR 产物的酶切产物 15 μ l,与 3 μ l 40%蔗糖载样液混匀,加入 3%琼脂糖凝胶的点样孔,同时在边孔加入与蔗糖载样液混匀的 Marker。在 1×TBE 缓冲液中电泳,恒压 30 V 的电压下电泳约 1 h。紫外灯下观察结果,通过 PCR 产物的酶切产物条带与 DNA Marker 对比,判断 PCR 产物的基因型。

2 结果

扩增的各基因型 PCR 产物在 3%琼脂糖凝胶电泳结果:(1)GG 型,指在-455 bp 处无 HaeⅢ酶切位点缺失的纯合基因型,目的基因片段被切成 3 条带:575 bp、383 bp 和 343 bp;(2)AG 型,一条链 nt-455 处无 HaeⅢ酶切位点缺失,另一条链 nt-455 处有 HaeⅢ酶切位点缺失的杂合基因型,目的基因片段被切成 4 条带:958 bp、575 bp、383 bp 和 343 bp;(3)AA 型,指在-455 bp 处有 HaeⅢ酶切位点缺失的纯合基因型,目的基因片段被切成 2 条带:958 bp 和 343 bp。(4) β Fg-455 PCR 产物,约 1.3 kb(图 1)。

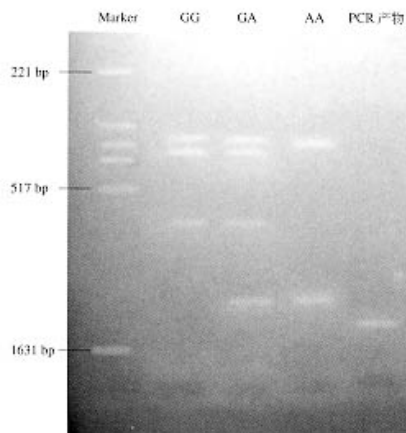


图 1 β Fg-455 扩增基因片段及其酶切后产物

40 例对照人群中, β Fg-455AA 基因型携带者有 1 例,GA 基因型携带者有 7 例,GG 基因型携带者有 32 例,由于受验人群中 β Fg-455 位点 AA 基因型例数较少,在分析中将 AA 与 AG 基因型合并为一组进行统计。A 等位基因频率为 9,G 等

(下转第 294 页)

收稿日期:2004-07-26

基金项目:安徽省重点科研项目(No.2003021007)

作者单位:230022 合肥市,安徽医科大学附属医院心内科(王爱玲、徐岩);230066 合肥市,安徽省优生优育遗传医学中心(余元勋)

作者简介:王爱玲,女,1957 年 7 月生,山东省荣城人,医学硕士,教授,主任医师。E-mail:wai@ah.edu.cn

30 ml/d,可拔除腹腔引流管。

参考文献

- 1 陈益君,宗学先.胆总管探查术后发生胆漏的原因及防治.肝胆胰外科杂志,2003,15:55-56.
- 2 姚昌宏,吕建蓉,井清源,等.常规拔 T 管所致胆汁性腹膜炎 26 例分析.实用外科杂志,1992,12:417-418.
- 3 蔡珍福,王坚.纤维胆道镜胆总管探查后不放置 T 管的体会.中华普通外科杂志,1999,14:393.

专家审稿评述

百余年前,胆管切开探查术开展之初,均为一期缝合,但

术后胆漏、胆管炎、胆汁性腹膜炎频发对病人危害甚重。胆管内置(T)管引流是一创新,增进术后病人的安全,沿用至今,已成常规。当前技术进步,所谓“T”管之种种弊端,实属术后的管理问题。“一期缝合”论者,有打破常规之意,但不能鼓吹,在老年病人,尤其应慎重。用“T”管是事出有因,乃历史形成,而“一期缝合”的应用,强调在具体病例的选择,一方面是全身及局部的情况和改变,另一方面是施术者的理论功底和实际经验与判断能力。“用”是常规,“不用”会不会出事?实际是放不放心,敢不敢?这是考验,也就“难”。一定要克服随意性,强调适应证,都要强调术后管理,观察。本文有所强调是必要的。

(解放军总医院 刘永雄)

(上接第 292 页)

位基因频数为 71。AMI 组与对照组 β Fg-455 位点 AA + AG 基因型与 GG 基因型分布存在显著性差异,AMI 组 AA + AG 基因型携带者多于对照组(表 1)。AMI 组与对照组 β Fg-455A 等位基因与 β Fg-455G 等位基因分布存在显著性差异,AMI 组 A 等位基因频率高于对照组(表 2)。

表 1 AMI 组与对照组 β Fg-455 位点基因型比较

组别	AA	AG	GG
AMI 组(人)	2	17	21
对照组(人)	1	7	32

注: $\chi^2 = 6.765, P = 0.009$

表 2 AMI 组与对照组 β Fg-455 位点等位基因比较
(等位基因数)

组别	A	G
AMI 组	21	59
对照组	9	71

注: $\chi^2 = 5.91, P = 0.02$

相关分析发现 Fg-455A 等位基因频率与血浆 Fg 水平正相关($r = 0.28$)。

3 讨论

Fg 及纤维蛋白是动脉粥样硬化病灶中主要成分之一。当动脉内皮细胞受损,Fg 可随低密度脂蛋白进入内膜,部分转化为纤维蛋白,在动脉粥样硬化病变发展的过程中又起着促进作用。同时 Fg 及纤维蛋白在导致血管平滑肌的增殖、内膜增厚等动脉粥样硬化病变过程,均有明显的作用。Fg 也是促进血小板聚集的重要蛋白质,每个血小板膜上含有约 5 万个 Fg 受体,Fg 通过分子表面的 6 个结合位点可与血小板膜表面的 Fg 受体结合,使血小板发生聚集。血浆 Fg 浓度升高可增强血小板聚集反应增强,致血栓形成。

本研究发现 AMI 组 β Fg 基因 nt-455 各等位基因型实际频率分布分别是 AA 型为 0.05,GA 型为 0.425,GG 型为 0.525。其中 A 等位基因频率为 0.263,G 等位基因频率为

0.737。对照组 β Fg 基因-455 位点各等位基因型实际频率分布为 AA 型为 0.025,GA 型为 0.175,GG 型为 0.800。其中 A 等位基因频率为 0.125,G 等位基因频率为 0.875。我省汉族人群的 β Fg 基因-455 位点各等位基因型的遗传特征与国内其它地区(如广东省、天津市等)有差异。卡方检验发现两组间基因型及等位基因分布均有显著性差异。AMI 组携带 AA 基因型及 GA 基因型者多于对照组。本文认为安徽地区汉族人群-455A 等位基因携带者可能是 AMI 发病的一个遗传性危险因素。 β Fg 基因-455AA 及 GA 基因型携带者相对于 β Fg 基因-455GG 基因型携带者,对 AMI 发病的优势比为 5.3984。但-455A 等位基因型影响 AMI 发病的确切机制尚不明确。相关分析发现 Fg-455A 等位基因频率与血浆 Fg 水平呈正相关。可能的机制是-455A 等位基因型通过影响 Fg 基因的转录和表达,导致血浆 Fg 浓度异常变化,影响动脉粥样硬化的发生发展过程及血栓形成过程,从而影响了 AMI 的发病。

参考文献

- 1 Johanna G, Moniek PM, Michiel L, et al. Elevated plasma fibrinogen. Arterioscl Thromb Vasc Biol, 1998,18:621-625.
- 2 Weng X, Cloutier G, Genest J, et al. Contribution of the -455G/A polymorphism at the beta-fibrinogen gene to erythrocyte aggregation in patients with coronary artery disease. Thromb Haemost, 1999,82:1406-1411.
- 3 Garcia RM, Gonzalez LD, Hernandez ER, et al. Polymorphism of the glycoprotein III a gene in patients with coronary stenosis. Thromb Haemost, 1998,79:1126-1129.
- 4 Fellows AP, Brennan SO, George PM, et al. Identification and characterization of five new fibrinogen gene polymorphisms. Ann NY Acad Sci, 2001,936:536-541.
- 5 Menegatti M, Asselta R, Duga S, et al. Identification of four novel polymorphisms in the Aalpha and gamma fibrinogen genes and analysis of association with plasma levels of the protein. Thromb Res, 2001,103:299-307.