

# Lp(a) 基因 G/A (-773) 多态性与 2 型糖尿病视网膜病变的关系

李 秋, 刘 真

(山东省立医院, 山东济南 250021)

**【摘要】** 对 2 型糖尿病(T2DM)合并视网膜病变(DR 组)及无 DR(NDR 组)患者进行血脂、血浆脂蛋白(a) [Lp(a)]及 Lp(a)基因 G/A (-773)多态性检测。结果显示,DR 组 Lp(a)基因多态的基因型为 AA 型 28.3%、GA 型 32.6%、GC 型 39.1%,等位基因频率分别为 44.6%、55.4%; NDR 组基因型分别为 AA 型 59.5%、GA 型 32.1%、GC 型 8.3%,等位基因频率分别为 75.6%、24.4%。两组 LP(a)、Lp(a)基因 G/A(-773)多态性、吸烟、空腹血糖、餐后血糖、糖化血红蛋白、病程等有统计学差异( $P < 0.05$ )。提示 Lp(a)基因 G/A(-773)多态性是 DR 的独立危险因素。

**【关键词】** 脂蛋白(a);基因多态性;糖尿病;视网膜病

**【中图分类号】** R587.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-266X(2007)34-0059-02

临床发现,糖尿病性视网膜病变(DR)发展到一定程度可导致不可逆视力丧失。因此,早期发现 DR 高危人群,早期对其干预治疗非常重要。研究表明,DR 与脂蛋白(a) [LP(a)]相关。为探讨 Lp(a)基因 G/A(-773)多态性与 DR 的关系,我们进行了相关研究。现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选择 2005 ~ 2006 年我院收治的 130 例 2 型糖尿病(T2DM)患者,根据国际糖尿病—亚洲太平洋地区诊断标准及眼底检查,合并视网膜病变(DR 组)46 例,其中增殖性病变 6 例;单纯糖尿病(NDR 组)84 例。患者祖籍均为山东汉族、无血缘关系者,均无严重肝、肾疾患,痛风及甲状腺功能异常。两组临床资料见表 1。

## 1.2 检测方法

**1.2.1 血脂检测** 禁食 12 ~ 14 h 后,抽取晨 7 时肘静脉血 6 ml,其中 1 ml 经 EDTA 抗凝,用于基因多态性分析;2 ml 测定血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、糖化血红蛋白(GHbA<sub>1c</sub>)及 Lp(a)。

**1.2.2 Lp(a)基因多态性检测** 采用聚合酶链反应—限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测 Lp(a)基因 G/A(-773)多态性,用白细胞 DNA 快速提取法提取基因组 DNA,通过 PCR 扩增目的基因:上游引物:5'-GAT CAC GCG TGC GGA AAG ATT GAT ACT ATGC-3',31 bp。下游引物:5'-TCA GAG

ATC TCT TCC TTA TGT TCC CTT TTG GGA CTGG-3',37 bp。PCR 反应体系:10 × EX Taq Buffer 10 μl,dNTP Mixture (2.5 mM) 8 μl MgCl<sub>2</sub> (25 mM) 8 μl,上游引物 20 pmol,下游引物 20 pmol,提取的模板 DNA < 1 μg TaKaRa EX Taq 0.5 灭菌水加至 100 μl。PCR 扩增循环程序:94 °C 预变性 4 min,94 °C 变性 30 s,58 °C 复性 60 s,72 °C 延伸 80 s,循环 30 个周期,最后 72 °C 延伸 5 min。将 PCR 产物用限制性内切酶 TaqI 酶切。酶切产物电泳判断基因型。

**1.3 统计学方法** 用 SPSS 12.0 软件处理数据,计算各组 Lp(a)基因型频率及等位基因频率,组间比较用 *t* 检验、Logistic 回归分析。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 两组血脂比较** 见表 1。

**2.2 两组 Lp(a)基因 G/A (-773)多态基因型分布与等位基因频率比较** 本实验 PCR 产物经酶切后出现 GG 型、GC 型、AA 型三种基因型,两组结果见表 2。

**2.3 Logistic 回归分析** 以 DR(+)为因变量,Lp(a)-773(G/A)多态和各临床指标为自变量,做 Logistic 回归分析。分析显示,LP(a)、Lp(a)基因 G/A(-773)多态性、吸烟、病程及空腹血糖( $P$  均 < 0.05)进入方程,说明其均是 DR 发病的独立危险因素。DR 增殖性病变与非增殖性病变患者的 LP(a)水平无统计学差异( $P > 0.05$ )。

表 1 两组临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

临床资料	NDR 组 (n=84)	DR 组 (n=84)	P 值
性别(男/女)	44/40	26/21	>0.25
年龄(岁)	58.5 ± 10.8	59.7 ± 11.3	>0.05
吸烟	24/60	30/16	<0.05
病程(a)	10.50 ± 5.9	13.20 ± 3.3	<0.05
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.00 ± 2.3	24.40 ± 2.4	>0.05
GHbA <sub>1c</sub> (%)	6.60 ± 1.12	7.80 ± 1.24	<0.05
收缩压(mmHg)	139.10 ± 18.5	145.00 ± 16.7	>0.05
舒张压(mmHg)	82.50 ± 9.4	82.60 ± 9.0	>0.05
空腹血糖(mmol/L)	4.57 ± 0.95	6.00 ± 2.18	<0.05
餐后血糖(mmol/L)	10.50 ± 2.50	11.70 ± 2.90	<0.05
HDL(mmol/L)	1.20 ± 0.28	1.18 ± 0.27	>0.05
LDL(mmol/L)	4.56 ± 1.57	4.59 ± 1.65	>0.05
LP(a)(mg/L)	181.60 ± 27.10	205.40 ± 30.00	<0.05

表 2 两组 Lp(a) 基因 G/A (-773) 多态基因型分布与等位基因频率比较

组别	n	基因型(例,%)			等位基因(例,%)	
		AA	AG	GG	A	G
DR 组	46	13 28.3*	15 32.6	18 39.1*	41 44.6*	51 55.4
NDR 组	84	50 59.5	27 32.1	7 8.3	127 75.6	41 24.4

注:与 NDR 组比较,\*P<0.05;

### 3 讨论

LP(a) 是结构复杂的大分子复合物,其部分蛋白由 ApoA 和 ApoB100 通过二硫键连接而成,ApoA 的结构近似于纤溶酶原,可以认为是纤溶酶原基因超家族的一部分。我们以往研究发现,T2DM 患者的 LP(a) 明显高于非糖尿病患者<sup>[1]</sup>。本文结果显示,T2DM 有 DR 患者的 LP(a) 明显高于无 DR 者 (P<0.01),与 Jenkins 等<sup>[2]</sup>研究结果相似,说明 LP(a) 确

实与 T2DM 患者的 DR 有关。其机制可能是 LP(a) 抑制内皮细胞膜表面的纤溶活性,加重糖尿病高凝状态,从而加重微循环障碍,致 T2DM 患者微血管病变发生及发展。本文 DR 有无增殖性病变患者的 LP(a) 无统计学差异,说明 LP(a) 不参与增殖性病变的发生发展。

血浆 LP(a) 浓度主要受 LP(a) 基因影响,不受年龄、性别、营养、其他环境因素或药物影响,也不受饮食、胆固醇和大部分降胆固醇药物影响。LP(a) 基因 G/A (-773) 多态性是已发现 LP(a) 基因第一外显子起始位点上游惟一的点突变多态性,其对 LP(a) 调控起一定作用<sup>[3]</sup>。本文相关分析显示,LP(a) 基因 G/A (-773) 多态性为 DR 发病的独立危险因素,不依赖于空腹血糖、糖尿病病程和血脂代谢等因素。因此认为,检测 LP(a) 基因 G/A (-773) 多态性对于在 T2DM 患者中筛查高危人群,早期发现和及时防治 DR 具有重要的意义。

### 【参考文献】

- [1] 李秋. 脂蛋白(a) 基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究[J]. 山东大学学报(医学版),2005,43(5):391-395.
- [2] Jenkins AJ. Lipoproteins and diabetic microvascular complications [J]. Current Pharmaceutical Design, 2004,10(27):3395-3418.
- [3] Ichinose A. Detection of polymorphisms in the 5-flanking region of the gene for apolipoprotein(a) [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1995,209(6): 372-378.

(收稿日期:2007-11-05)

## · 临床札记 ·

### 多功能电离子治疗舌系带过短 30 例报告

柴宝义

(文安县人民医院,河北文安 065800)

1999 年以来,笔者试用多功能电离子治疗舌系带过短患儿 30 例,疗效较好。现报告如下。

临床资料:本组 30 例患儿均为先天性舌系带过短,其中男 17 例、女 13 例,年龄 1.5~13 岁。临床表现均为舌运动不能正常前伸,勉强前伸时舌尖部呈 W 形,大龄患儿不能正确地发出舌腭音及卷舌音。

治疗方法:口腔及舌系带部位常规消毒,局部浸润麻醉。用血管钳夹住患儿舌腹部系带上端,向上提起,拉紧舌系带;右手持电离子治疗机机柄(南宁科伦技术有限公司产 CX-3 型多功能电离子手术治疗机),探头对准舌系带正中部,用短火烧灼至舌系带根部。治疗后用龙胆紫药水涂布创面。

结果:本组 30 例中,除 1 例 1.8 岁及 1 例 3 岁患儿治疗时拒不张口合作而行二次手术外,其余均一次治愈。7~10 d 伤口痊愈,舌体能正常前伸;追踪观察 1~2 a,患儿均能发出舌腭音及卷舌音。

体会:以往治疗舌系带过短,多采用手术切开缝合及 CO<sub>2</sub> 激光治疗。本组采用多功能电离子治疗舌系带过短,与常规手术治疗比较,具有不需缝合、创伤小、无感染、简便易行等优点;与 CO<sub>2</sub> 激光治疗比较,具有探头对准手术部位准确性高、可避免伤及其他部位黏膜等优点,值得临床应用。