

DOI: 10. 13288/j. 11-2166/r. 2015. 19. 014

不稳定型心绞痛患者血管紧张素转换酶基因多态性与中医证型及冠状动脉斑块性质的关系

邵 静* , 朱晓萌

(河南中医学院第一附属医院, 河南省郑州市人民路 19 号, 450000)

[摘要] 目的 观察不同中医证型及冠状动脉斑块性质的不稳定型心绞痛患者血管紧张素转换酶 (ACE) 基因多态性分布规律。方法 收集 240 例不稳定型心绞痛患者, 气虚血瘀证 38 例, 气滞血瘀证 24 例, 痰阻心脉证 19 例, 心血瘀阻证 39 例, 阴寒凝滞证 18 例, 气阴两虚证 23 例, 心肾阴虚证 32 例, 阳气虚衰证 47 例。另收集健康志愿者 60 例作为对照。采用聚合酶链反应 (PCR) 技术检测其 ACE 等位基因插入/缺失 (I/D) 及 ACE 基因型, 采用多层螺旋 CT 判断冠状动脉斑块的硬化程度, 分析不同中医证型及冠状动脉斑块性质的不稳定型心绞痛患者 ACE 基因多态性分布规律。结果 240 例不稳定型心绞痛患者冠状动脉软斑块者 120 例、中等密度斑块者 54 例、钙化斑块者 66 例。不稳定型心绞痛患者 ACE-DD 基因型者 32.9% (79 例), 显著高于健康志愿者的 15% (9 例) ($P < 0.05$); 不稳定型心绞痛患者 D 等位基因者 54.2% (130 例), 较健康志愿者的 46.7% (28 例) 显著升高 ($P < 0.05$)。气虚血瘀证、痰阻心脉证、心血瘀阻证患者中 DD 基因型分布显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$), 气滞血瘀证、气阴两虚证患者中 ACE-ID 基因型分布显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$)。心血瘀阻证、痰阻心脉证、气阴两虚证患者中 D 等位基因染色体数显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$)。冠状动脉软斑块者与中等密度斑块者 ACE-DD 基因型比例均显著高于钙化斑块者 ($P < 0.05$)。结论 ACE 基因 DD 基因型及 D 等位基因可能是冠心病不稳定心绞痛的易感基因, 且在中医辨证之气虚血瘀证、痰阻心脉证、心血瘀阻证患者中分布较多, ACE-DD 基因型在软斑块及中等密度斑块患者中分布较多。

[关键词] 不稳定型心绞痛; 血管紧张素转换酶; 基因多态性; 中医证候; 冠状动脉斑块

研究显示, 我国冠心病患病总数目前已达 2.3 亿^[1]。不稳定型心绞痛是冠心病的常见临床表现, 冠状动脉内不稳定粥样斑块是不稳定型心绞痛的特征性病理基础^[2]。研究表明, 血管紧张素转换酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 基因多态性可能与冠心病心绞痛的发生、发展密切相关^[3-5]。本课题旨在研究 ACE 基因多态性与不稳定心绞痛中医证型及冠状动脉斑块性质的关系。

1 临床资料

1.1 诊断标准

参照《不稳定型心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死诊断与治疗指南》^[6]。

1.2 中医辨证标准

参照《中药临床药理学》^[7] 中的胸痹定义和冠

心病心绞痛中医证候诊断标准制定, 分为心血瘀阻证、气虚血瘀证、气滞血瘀证、痰阻心脉证、阴寒凝滞证、气阴两虚证、心肾阴虚证、阳气虚衰证。

1.3 纳入标准

符合上述诊断标准与中医辨证标准; 患者签署知情同意书。

1.4 排除标准

既往有心肌梗死、心力衰竭、室性心动过速、风湿性心脏病、心肌病、左心室肥厚等其他器质性心脏疾病者; 尚未得到有效控制的糖尿病、高血压病患者; 有严重的肝肾疾病、恶性肿瘤、自身免疫性疾病者。

1.5 一般资料

收集 2013 年 2 月至 2014 年 6 月在河南中医学院第一附属医院老年病科住院经冠状动脉造影确诊的不稳定型心绞痛患者 240 例, 其中男 148 例, 女 92 例; 年龄 60 ~ 71 岁, 平均 (66.8 ± 9.02) 岁;

基金项目: 河南省二〇一二年科技发展计划(122102310079)

* 通讯作者: shaojing1390@163.com ,13903862656

病程 5.4 ~ 10.3 年, 平均 (7.92 ± 2.05) 年; 体重指数 (BMI) (28.15 ± 4.87); 收缩压 (125.58 ± 15.09) mmHg, 舒张压 (73.56 ± 10.21) mmHg; 气虚血瘀证 38 例, 气滞血瘀证 24 例, 痰阻心脉证 19 例, 心血瘀阻证 39 例, 阴寒凝滞证 18 例, 气阴两虚证 23 例, 心肾阴虚证 32 例, 阳气虚衰证 47 例。另选择同时期在河南中医学院第一附属医院体检中心的 60 例健康志愿者为对照组。其中男 39 例, 女 21 例; 年龄 50 ~ 69 岁, 平均 (59.5 ± 10.05) 岁; BMI (25.73 ± 4.28); 收缩压 (110.65 ± 13.56) mmHg, 舒张压 (70.58 ± 7.74) mmHg。

2 方法

2.1 血脂水平检测

患者入院后 24 h 内空腹 12 h 以上清晨抽取静脉血 5 ml 检测总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平。采用 SynchronCX7 全自动生化分析仪 (美国 Beckman 公司) 检测, 由河南中医学院第一附属医院实验室进行具体操作。

2.2 ACE 基因 I 和 (或) D 多态性的检测

取外周静脉血 2 ml, 应用 DNA 提取试剂盒 (北京康为世纪公司, 批号 CW0655B) 提取 DNA。应用 PCR 技术扩增 ACE 基因第 16 内含子。引物设计: 正向: 5'-CTGGAGA-CCACTC-CATCCTTC-3'; 反向: 5'-CATGTGGCCTCA-CATTCGTCAGA-3', 由北京博迈德科技发展有限公司合成。操作按照试剂盒说明书, 反应条件为: 预变性 95℃ 5 min, 30 个循环, 每个循环 94℃ 变性 45 S, 复性 1 min (复性温度 58℃), 72℃ 延伸 1 min, 反应结束前 72℃ 延伸 10 min。琼脂糖凝胶 (西班牙 BOWEST 公司, 批号 A0009-100) 电泳检测。

目的基因片段经 PCR 扩增后有存在 287 bp 的 DNA 片断则为插入 (I) 型, 即 I 等位基因, 缺

失 287bp 的 DNA 片断则为缺失 (D) 型, 即 D 等位基因。PCR 产物电泳后条带长度为 490 kb, 表示存在插入序列, 为 II 型, 目的条带长度为 190 kb, 表示存在缺失序列, 即 DD 型。若条带长度同时具有 190 kb 又有 490 kb 则表示同时存在插入、缺失序列, 即 ID 杂合子。

2.3 冠状动脉斑块硬化程度评定

采用德国西门子 64 排螺旋 CT (SOMATOM Definition) 对冠状动脉斑块进行检测, 对于静息心率 > 70 次/min 者, 检查前 30 min 口服 50 ~ 100 mg 倍他乐克 (阿斯利康制药有限公司, 批号 1301026) 控制心率至 < 70 次/min。扫描后将图像传至工作站 (MMWP9594) 进行分析, 在原始横断位图像的基础上, 运用多种后处理软件进行图像重建, 包括曲面重组 (CPR)、最大密度投影 (MIP)、多平面重组 (MPR) 和容积再现 (VR)。观察冠状动脉斑块发生的部位, 首先通过原始横断位图像找出斑块部位, 再对病变部位进行多个 (≥ 2 个) 角度重建, 分析管腔内斑块的性质。所有图像由两名有经验的放射科医师进行分析。根据 CT 值 (14 ± 26) HU、(91 ± 21) HU、(419 ± 194) HU 将粥样斑块区分为软斑块、中等密度斑块和钙化斑块^[8]。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 *t* 检验。用基因计数方法计算各组病例基因型和等位基因频率, 计数资料采用 χ^2 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不稳定型心绞痛患者与健康志愿者 ACE 基因型及等位基因比较

表 1 示, 不稳定型心绞痛患者中 ACE-DD 基因型和 D 等位基因显著高于健康志愿者 (P < 0.05)。

表 1 不稳定型心绞痛患者与健康志愿者 ACE 基因型分布和等位基因染色体数比较

组别	中医证型	例数	ACE 基因型 [例 (%)]			ACE 等位基因 [染色体数 (%)]	
			DD	ID	II	D	I
不稳定型心绞痛患者	气虚血瘀证	38	15 (39.5)	10 (26.3)	13 (34.2)	20 (52.7)	18 (47.3)
	气滞血瘀证	24	6 (25.0)	13 (54.2)	5 (20.8)	8 (33.3)	16 (66.7)
	痰阻心脉证	19	8 (42.1)	5 (26.3)	6 (31.6)	13 (68.4)	6 (31.6)
	心血瘀阻证	39	25 (64.1)	8 (20.5)	6 (15.4)	33 (84.6)	6 (15.4)
	阴寒凝滞证	18	4 (22.2)	7 (38.9)	7 (38.9)	7 (38.9)	11 (61.1)
	气阴两虚证	23	4 (17.4)	14 (60.9)	5 (21.7)	16 (69.6)	7 (30.4)
	心肾阴虚证	32	7 (21.9)	15 (46.9)	10 (31.2)	17 (51.5)	16 (48.5)
	阳气虚衰证	47	10 (21.3)	18 (38.3)	19 (40.4)	16 (34.0)	31 (66.0)
	合计	240	79 (32.9)	90 (37.5)	71 (29.6)	130 (54.2)	110 (45.8)
健康志愿者		60	9 (15.0)	24 (40.0)	27 (45.0)	28 (46.7)	32 (53.3)

表 2 不同冠状动脉斑块性质不稳定型心绞痛患者 ACE 的基因型分布与等位基因染色体数比较

冠状动脉斑块性质	例数	ACE 基因型 [例 (%)]			ACE 等位基因 [染色体数 (%)]	
		DD	ID	II	D	I
软斑块	120	48 (40.0)	42 (35.0)	30 (25.0)	56 (46.7)	64 (53.3)
中等密度斑块	54	30 (56.0)	12 (22.0)	12 (22.0)	28 (51.9)	26 (48.1)
钙化斑块	66	12 (18.0)	18 (27.0)	36 (55.0)	30 (45.5)	36 (54.5)

其中气虚血瘀证、痰阻心脉证、心血瘀阻证患者中 DD 基因型分布显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$) ; 气滞血瘀、气阴两虚证患者中 ID 基因型者显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$) ; 心血瘀阻证、痰阻心脉证、气阴两虚证患者中 D 等位基因染色体数显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$) 。

3.2 不同冠状动脉斑块性质患者 ACE 基因型与等位基因分布比较

240 例不稳定心绞痛患者中软斑块者 120 例、中等密度斑块者 54 例、钙化斑块者 66 例。表 2 示, 冠状动脉软斑块者与中等密度斑块者 ACE-DD 基因型分布均显著高于钙化斑块者 ($P < 0.05$) 。不同冠状动脉斑块硬化程度不稳定型心绞痛患者 ACE 等位基因染色体数差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 。

4 讨论

冠状动脉粥样硬化斑块的不稳定是冠心病心绞痛的特征性病理基础^[9], ACE 基因多态性与冠心病动脉粥样硬化的发病有关^[10]。Cambien 等^[3]首先发现了 ACE 基因 DD 基因型与冠心病关系密切。Rasmussen 等^[11]研究发现 ACE 基因多态性可能参与动脉粥样硬化的后期阶段。ACE 基因 DD 基因型是早发冠心病血瘀证的独立危险因素, 可增加早发冠心病的风险^[12]。本研究通过检测 240 例不稳定心绞痛患者和 60 例正常对照组的 ACE 基因插入/缺失 (I/D) 多态性, 发现不稳定性心绞痛患者 ACE-DD 基因型分布和 D 等位基因染色体数与健康志愿者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$) , 提示 ACE 基因 DD 基因型及 D 等位基因与冠心病心绞痛相关, 可能是冠心病不稳定心绞痛的易感基因。

冠心病心绞痛属于中医学“胸痹”“心痛”范畴, 最早见于《黄帝内经》。《素问·标本病传论》曰“心病先心痛”; 《素问·脉要精微论》曰: “脉者, ……血之府也, ……涩则心疼”, 强调胸痹心痛病位在心, 与脾 (胃)、肾、肝 (胆) 等多脏腑相关, 呈现本虚标实的病理特征。《证因脉治》曰“胸痹之因, ……痰凝血滞。”冠心病患者中冠状动脉病变程度重者以痰浊、血瘀为主^[13]。

本研究结果显示, 气虚血瘀证、痰阻心脉证、心血瘀阻证患者中 DD 基因型分布显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$) , 气滞血瘀证、气阴两虚证患者中 ACE-ID 基因型分布显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$) 。心血瘀阻证、痰阻心脉证、气阴两虚证患者的 D 等位基因染色体数显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$) 。冠状动脉软斑块者与中等密度斑块者 ACE-DD 基因型分布均显著高于钙化斑块者 ($P < 0.05$) , 提示不稳定心绞痛患者 ACE-DD 基因型可能与冠转动脉斑块不稳定存在一定联系。

由于本课题研究样本量较少, 结果可能有一定的局限性, 尚需扩大样本数进一步研究。

参考文献

- [1] 王文, 刘明波, 隋辉, 等. 中国心血管病的流行状况与防治对策 [J]. 中国心血管病杂志, 2012, 17(5): 321-323.
- [2] 陈灏珠. 心脏病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 1161-1162.
- [3] Cambien F, Evans A. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and coronary heart disease [J]. Eur Heart J, 1995, 16(Suppl K): 13-22.
- [4] Sayed-Tabatabaei FA, Schut AF, Arias Vázquez A, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and cardiovascular morbidity and mortality the Rotterdam Study [J]. J Med Genet 2005, 42(1): 26-30.
- [5] Terzic R, Letonja M, Terzic I, et al. Insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene risk factor for coron ary artery disease in the Tuzla region population (Bosnia and Herzegovina) [J]. Coll Antropol, 2003, 27(2): 537-540.
- [6] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编委会. 不稳定性心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死诊断与治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(4): 295-304.
- [7] 翁维良. 中药临床药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 393-394.
- [8] Schroeder S, Kopp AF, Baumbach A, et al. Non-invasive detection and evaluation of atherosclerotic coronary plaques with mutislice computed tomography [J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 37(5): 1430-1435.

[9]赵凯 陈文强 徐兴晟 等. 单核细胞自体吞噬相关基因蛋白表达与冠状动脉粥样硬化斑块易损性的关系[J]. 中国动脉硬化杂志 2014 22(1) :37-42.

[10]卢扬. 屈会起. 我国心肌梗塞患者 ACE 基因插入/缺失多态性 Meta 分析[J]. 临床荟萃 2002 ,17(4) :192-194.

[11]Rasmussen LM ,Ledet T. Aortic atherosclerosis in diabetes mellitus is associated with an insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene [J]. Diabetologia ,1996 39(6) :696-700.

[12]胡志希 胡思远 李琳 等. 血管紧张素转换酶基因多态性对早发冠心病血瘀证的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志 2013 11(5) :515-517.

[13]张鹏 徐伟建. 中医证型与冠状动脉病变程度的相关性研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志 2007 5(2) :101-103.

The Relationship Between Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphism , TCM Syndrome and Coronary Artery Plaque Characteristic in Patients with Unstable Angina Pectoris

SHAO Jing ,ZHU Xiaomeng

(The First Affiliated Hospital of Henan College of Chinese Medicine ,Zhengzhou ,Henan Province ,450000)

ABSTRACT Objective To observe distribution rules of angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism in patients with unstable angina pectoris according to different TCM syndrome and coronary artery plaque characteristic.

Methods Collected 240 cases of patients suffering from unstable angina pectoris ,with 38 cases of Qi-deficiency and blood-stasis syndrome ,24 cases of Qi-stagnation and blood-stasis syndrome ,19 cases of phlegm blocking heart vessel syndrome ,39 cases of heart blood stasis syndrome ,18 cases of Yin-cold stagnation syndrome ,23 cases of Qi and Yin deficiency syndrome ,32 cases of heart and kidney Yin deficiency syndrome ,47 cases of vital energy faded syndrome.

Besides ,collected 60 cases of healthy volunteers as control group. Adopted polymerase chain reaction (PCR) technique to examine its ACE allele inserting/deleting (I/D) and ACE genotype. Adopted Multi-slice helical CT to evaluate the degree of coronary artery plaque hardening. Analyzed distribution rules of ACE gene polymorphism of patients suffering from unstable angina pectoris according to different TCM syndrome and coronary artery plaque characteristic.

Results There were 120 cases of coronary artery soft plaque ,54 cases of medium density plaque ,66 cases of calcified plaque in 240 cases of patients suffering from unstable angina pectoris. There were 32.9% (79 cases) ACE-DD genotype in patients suffering from unstable angina pectoris ,remarkably superior to 15% (9 cases) in healthy volunteers ($P < 0.05$); There were 54.2% (130 cases) D allele in patients suffering from unstable angina pectoris ,remarkably superior to 46.7% (28 cases) in healthy volunteers ($P < 0.05$); DD genotype obviously had more people in Qi-deficiency and blood-stasis syndrome ,phlegm blocking heart vessel syndrome ,heart blood stasis syndrome than in healthy volunteers ($P < 0.01$). ACE-ID genotype obviously had more people in blood-stasis syndrome ,Qi and Yin deficiency than in healthy volunteers ($P < 0.01$). D allele chromosome number in patients of heart blood stasis syndrome ,phlegm blocking heart vessel syndrome ,Qi and Yin deficiency syndrome was remarkably more than that in healthy volunteers ($P < 0.01$). The percentage of ACE-DD genotype took in coronary artery soft plaque and medium density plaque patients was more than that in calcified plaque patients ($P < 0.05$).

Conclusion ACE gene DD genotype and D allele may be the susceptibility gene of coronary heart disease unstable angina pectoris ,and had more patients in Qi-deficiency and blood-stasis syndrome ,phlegm blocking heart vessel syndrome ,heart blood stasis syndrome. ACE-DD genotype had more patients in soft plaque and medium density plaque.

Keywords unstable angina pectoris; angiotensin converting enzyme; gene polymorphism; TCM syndrome; coronary artery plaque

(收稿日期: 2015 -01 -20; 修回日期: 2015 -04 -20)

[编辑: 焦 爽]