

【临床基础】

痰湿瘀阻型不稳定心绞痛与血管紧张素转换酶
基因多态性的相关性研究*

邵 静,朱晓萌

(河南中医学院第一附属医院,郑州 450000)

摘要: 目的:探讨痰湿瘀阻型不稳定心绞痛(UAP)与血管紧张素转换酶基因(ACE)多态性的关系。方法:选取UAP患者240例对其进行辨证分型,共分为痰湿瘀阻型、非痰湿瘀阻型2组。应用多聚酶链反应(PCR)技术对各组患者ACE基因插入/缺失(I/D)多态性分布频率进行比较,采用紫外分光法检测ACE活性。结果:痰湿瘀阻型组的DD基因型及D等位基因分布频率较非痰湿瘀阻型组增加,差异有统计学意义。痰湿瘀阻型患者DD基因型TG、TC、LDL-C水平高于ID/II基因型患者,差异有统计学意义。痰湿瘀阻型组ACE活性水平明显低于非痰湿瘀阻型组,两者比较差异有统计学意义。结论:ACE基因I/D多态性与UAP痰湿瘀阻型具有相关性,且与ACE活性有关。痰湿瘀阻型患者DD基因型与TG、TC、LDL-C的增高有明显相关性。

关键词: 痰湿瘀阻型;不稳定心绞痛;血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性

中图分类号:R541.4 文献标志码:B 文章编号:1006-3250(2016)06-0806-03

The Correlation Study of Blood Stasis Phlegm Dampness Type Patients with Unstable Angina Pectoris and Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphism

SHAO Jing ZHANG Xiao-men

(First Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine College Zhengzhou 450000, China)

Abstract: Objective: Discussion phlegm stasis type unstable angina (UAP) and angiotensin converting enzyme gene polymorphism (ACE); Methods: phlegm stasis type and non-phlegm stasis patients with 120 cases each, and 240 cases of patients syndrome type, divided into phlegm stasis, non-phlegm stasis type 2 groups. Polymerase chain reaction (PCR) technique for each patient group ACE gene insertion / deletion (I / D) polymorphism of the frequency comparison; detected by UV spectroscopy ACE activity. Results: DD genotype and D allele frequencies phlegm stasis type group than non-increase phlegm stasis type group had significant difference. Phlegm stasis patients with DD genotype TG, TC, LDL-C levels above ID / II genotype, the difference was statistically significant. Unstable angina phlegm stasis ACE activity was significantly lower than non-phlegm stasis type group, both statistically significant compared to. Conclusion: ACE gene I / D polymorphism and phlegm stasis type UAP relevant; and with ACE activity. Phlegm stasis type DD genotype in patients with TG, TC, LDL-C increased significantly correlated.

Key words: blood stasis phlegm dampness type; unstable angina; angiotensin converting enzyme gene insertion / deletion polymorphism

不稳定心绞痛(Unstable Angina Pectoris, UAP)是一种很常见的急性冠脉综合症,其发病率、死亡率逐年升高,严重影响人们的生命健康。前期研究表明^[1],UAP患者ACE-DD基因型和D等位基因型可能与血脂代谢异常有更明显的相关性,而血脂高与中医理论的“痰浊”、“瘀血”密切相关。目前,临床发现以痰湿瘀阻心脉者发生急性冠脉综合症几率更高^[2]。本文拟进一步研究痰湿瘀阻型UAP患者与血管紧张素转换酶基因插入/缺失多态性及其他危险因素的相关性,为不稳定心绞痛中医辨证客观化寻求支持,为临床辨证施治提供依据。

1 资料与方法

*基金项目:河南省科技攻关项目(122102310079)-血管紧张素基因多态性与不稳定心绞痛关系及中医分型相关性研究

作者简介:邵静(1963-),女,主任医师,教授,博士研究生导师,从事中医药防治老年病的临床与研究。

1.1 一般资料

选取2013年1月至2015年5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且符合标准的不稳定心绞痛病人240例,符合中医辨证分型痰湿瘀阻型及非痰湿瘀阻型患者各120例。收集患者一般资料如体质量指数(BMI)、血压(SBP/DBP)及血脂等相关检查结果并比较。表1显示2组间性别、年龄、体质量指数、血压经t检验分析后表明具有可比性($P > 0.05$)。

表1 2组患者一般资料比较

组别	痰湿瘀阻型	非痰湿瘀阻型
性别(男/女)	72/48	76/44
平均年龄(岁)	65.80 ± 9.02	57.30 ± 7.15
BMI(kg/m ²)	24.43 ± 2.40	24.12 ± 1.97
SBP(mmHg)	131.38 ± 9.65	127.27 ± 10.58
DBP(mmHg)	78.70 ± 8.94	77.23 ± 8.55

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 符合2007年中华医学会心血管病学分会制定的《不稳定型心绞痛和非ST段抬高心肌梗死诊断与治疗指南》^[3]。

1) UAP 临床表现 ①初发劳力型心绞痛:最近1个月内第1次发生心绞痛,疼痛程度分级在III级以上;②恶化劳力型心绞痛:有心绞痛病史,近2个月病情忽然加重,疼痛次数可增加,持续时间可延长或诱发心绞痛的活动阈值下降,硝酸甘油不能很好地缓解症状(心绞痛级别至少增加1级,或至少达到III级);③静息心绞痛:病程在1个月内,心绞痛发生在静息位时,持续的时间一般大于20 min,含硝酸甘油效果不佳;④梗死后心绞痛:指心绞痛发生在心梗发病1 d后至1个月内;⑤变异型心绞痛:自发性的心绞痛,其特征多为心电图一过性ST段抬高,大多数情况下可自我恢复,通常不会演化为心梗,但另外也有个别情况可演化成心梗。血管痉挛是其主要发病机制,硝酸甘油和钙离子拮抗剂可以缓解。

2) UAP 体征:可无明显表现,严重患者可能会出现肺部罗音,也有可能出现如心脏第三听诊音(S3)、心动过缓或心动过速等表现。

3) 心电图表现 心电图是诊断UAP的最重要方法。ST-T动态改变是不稳定心绞痛最为确切的表现,静息状态下心电图可出现2个或多个临近导联ST段下降 ≥ 0.1 mV。

1.2.2 中医辨证标准 参照《中药新药治疗冠心病心绞痛的临床研究指导原则》及高等医药院校《中医内科学》冠心病中医辨证标准,根据临床实际分为痰湿瘀阻型痰湿瘀阻型;非痰湿瘀阻型包含气虚血瘀证、气滞血瘀证、痰阻心脉证、心血瘀阻证,表现胸闷窒塞,胸脘痞满,或胸痛如针刺或刀割或绞痛,痛有定处,痛引肩背,形体肥胖,心悸气短,舌质紫暗或有瘀点,苔白厚腻;脉滑腻,或滑数;非痰湿瘀阻型包含阴寒凝滞证、气阴两虚证、心肾阴虚证、阳气虚衰证。表现为胸痛彻背,感寒痛甚;或胸闷隐痛,时作时止;或胸闷气短、畏寒、倦怠懒言,或心悸盗汗、腰膝酸软、舌淡苔白,或舌红少苔;脉沉迟或沉紧,或脉沉细数。将符合入选标准的患者按照《不稳定心绞痛中医辨证分型研究病例报告表》(CRF)内容,详细询问病史及相关资料,同时将患者的中医望闻问切内容也记录于表内对患者进行中医辨证分型。由我科两位中级职称以上的专业医师对所入选病例进行再次查阅,审核确定各个患者的中医证型诊断。

1.2.3 纳入标准 符合上述不稳定心绞痛西医诊断标准及中医证候诊断标准的住院患者。

1.2.4 排除标准 年龄小于20岁或大于75岁,具有心衰病史、心肌梗死、室上性或室性心动过速、风湿性心脏病、心肌病等其他心脏疾病的患者,

未经控制的高血压、糖尿病患者,合并严重肝、肾、肺疾病者,恶性肿瘤、自身免疫性疾病患者等。

1.3 观察指标

1.3.1 血脂的检测 所有患者住院后24 h内空腹12 h以上清晨采肘静脉血,测定TG(甘油三酯)采用乙酰丙酮显色法,TC(总胆固醇)、HDL-C(高密度脂蛋白胆固醇)、LDL-C(低密度脂蛋白胆固醇)采用沉淀漂浮酶联法。仪器为BecKman公司SynchronCX7全自动生化分析仪。

1.3.2 ACE基因型检测 取外周静脉血2 ml, EDTA抗凝, -20°C 储存。应用DNA提取试剂盒提取DNA,应用PCR技术检测ACEI/D基因多态性扩增ACE基因第16内含子。引物设计为:正向5'-CTGGAGA-CCACTC-CATCCTTC-3';反向5'-GATG TGGCCTCA-CATTC GTCAGAT-3'。PCR扩增反应体积为25 μl ,反应体系内含1 \times PR缓冲液、200 nmol引物、100~200 ng模板DNA、Taq聚合酶1.25 u。反应条件:预变性 95°C 5 min,30个循环,每个循环 94°C 变性45 s,复性1 min(复性温度 58°C), 72°C 延伸1 min,反应结束前 72°C 延伸10 min。琼脂糖凝胶电泳检测。具体操作由河南中医学院第一附属医院生化实验室完成。

1.3.3 血清ACE活性的检测 如上抽取入选患者静脉血,采用紫外分光法检测,按照说明书操作步骤进行检测。

1.4 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析,2组均数间比较用独立样本的t检验,频数间比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ACE基因型分型结果

图1显示,根据ACE基因16内含子上287 bp的插入/缺失多态性,目的基因片段经PCR扩增后有存在287 bp插入序列则PCR产物电泳后目的条带长度为490 kb,即II型,缺失287 bp插入序列则PCR产物电泳后目的条带长度为190 kb,即DD型。如果一等位基因存在插入序列,另一等位基因缺失插入序列则PCR产物电泳后目的条带长度同时具有190 kb条带、490 kb条带的ID杂合子。

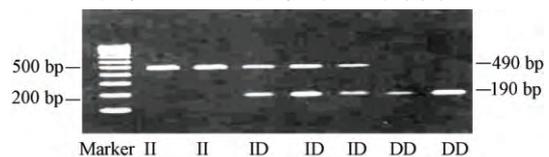


图1 ACE ID基因扩增电泳图

2.2 ACE基因I/D基因多态性基因型及等位基因频率比较

表2显示,通过 χ^2 检验结果显示,痰湿瘀阻型组DD基因型及D等位基因分布频率较非痰湿瘀阻

型组增加,差异有统计学意义($P=0.038 < 0.05$, $P=0.014 < 0.05$)。

表2 ACE基因I/D基因多态性基因型及等位基因频率[例(%)]

组别	例数	基因型			等位基因	
		II (%)	ID (%)	DD (%)	I (%)	D (%)
痰湿瘀阻型组	120	50(43.4)	40(33.7)	30(25.6)*	46(38.2)	74(59.8)*
非痰湿瘀阻型组	120	48(41.4)	54(46.7)	18(14.6)	64(52.4)	56(45.6)

注:与非痰湿瘀阻型组比较:* $P < 0.05$

2.3 痰湿瘀阻型患者不同ACE基因血脂比较

表3显示,痰湿瘀阻患者DD基因型TG、TC、LDL-C水平高于ID/II基因型患者,差异有统计学

意义($P < 0.05$);痰湿瘀阻患者DD基因型与ID/II基因型HDL-C水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 痰湿瘀阻型患者不同ACE基因的血脂比较($\bar{x} \pm s$)

ACE基因型	例数	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	ApoA(g/L)	ApoB(g/L)
DD	30	2.42 ± 1.12 ^{#Δ}	4.77 ± 1.10 ^{#Δ}	1.25 ± 0.33	2.84 ± 0.87 ^{#Δ}	1.47 ± 0.27	0.82 ± 0.20
ID	40	2.12 ± 1.04	4.63 ± 0.64	1.35 ± 0.36	2.63 ± 0.64	1.50 ± 0.42	0.90 ± 0.24
II	50	2.03 ± 0.51	4.51 ± 0.62	1.29 ± 0.34	2.23 ± 0.75	1.45 ± 0.38	0.93 ± 0.25

注:与ID基因型比较:[#] $P < 0.05$;与II基因型比较:^Δ $P < 0.05$

2.4 ACE基因多态性与血清ACE活性间关系

表4显示,痰湿瘀阻型不稳定心绞痛组ACE活性水平明显低于非痰湿瘀阻型组,两者比较差异有统计学意义($P < 0.01$);无论痰湿瘀阻型组还是非痰湿瘀阻型组2组患者ACE活性均为DD基因型 > ID基因型 > II基因型($P < 0.05$)。

表4 2组血清ACE活性水平(U/L)与ACE基因型之间的关系比较($\bar{x} \pm s$)

ACE基因型	痰湿瘀阻型	ACE活性	非痰湿瘀阻型	ACE活性
DD	30	38.5 ± 11.9**	18	50.9 ± 9.5
ID	40	30.1 ± 9.5**	54	35.5 ± 8.4
II	50	23.7 ± 9.7**	48	34.4 ± 8.3
总数	120	28.5 ± 10.7**	120	40.8 ± 9.2

注:与非痰湿瘀阻型组ACE活性比较:** $P < 0.01$

3 讨论

不稳定性心绞痛属于急性冠脉综合症表现之一^[4],冠状动脉粥样硬化斑块的失稳破裂及其伴随的冠状动脉痉挛、血栓形成等是其致病因素。张啸飞等^[5]指出,血脂异常是心血管疾病的主要危险因素之一,最终导致心血管疾病的大量发生甚至导致患者死亡。大量流行病学、病理学及临床研究均已证实,血脂水平尤其是LDL水平与冠心病发病呈显著正相关^[6]。而冠状动脉粥样硬化斑块形成又与遗传相关。越来越多的证据^[7]显示,血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)基因插入/缺失(insertion/deletion, I/D)多态性与冠心病动脉粥样硬化的发病有关。ACE是肾素-血管紧张素-醛固酮(RAAS)系统中的关键酶,当RAAS系统活性持续增高、冠状动脉逐渐持续痉挛,可以使心肌缺血程度加重,梗死范围扩大,加重患者病情^[8]。近日Zhou等^[9]就中国人群ACE I/D基因与冠心病发生易感性的56篇文章进行了荟萃分析,发现该基因的多态性与中国人患冠心病具有显著的相关性。因此ACE I/D基因多态性与血脂代谢异常的相关性研究非常重要。前期研究证实^[11],UAP患者ACE-

DD基因型和D等位基因型与血脂代谢异常有更明显的相关性。

中医对不稳定心绞痛的认识,最早见于《灵枢·五邪》“邪在心,则病心痛”。属于中医“胸痹”“心痛”“厥心痛”等范畴。冠心病心绞痛迁延日久,血瘀、痰浊交阻致气血瘀滞,痰瘀互阻是冠心病的主要证型,而“膏脂”、“痰瘀”与现代医学的血脂代谢异常密切相关。冠心病患者在由“痰凝心脉”发展成“痰瘀痹阻”的过程中,血脂代谢紊乱,冠状动脉粥样斑块亦逐渐形成。有研究表明^[11],痰瘀痹阻可能是冠心病各不同证型日久不愈、缓慢进展的共同归宿,提示在冠心病中医辨证施治的同时,应用化痰祛瘀的药物,可以改善血脂代谢紊乱、血液的黏稠与凝絮性,改善心肌供血,延缓病情进展。“高脂血症注重从痰瘀论治”的这一观点已被多数的临床中医师所接受,基础研究也提示高脂血症与痰瘀证之间的关系,并对高脂血症痰瘀证的本质进行了一定的研究,一些生化指标如LPO等与痰瘀证的关系已被初步揭示,现有的关于高脂血症中医辨证规律的研究也显示痰瘀证是高脂血症的重要证型^[11]。

本研究通过对UAP痰湿瘀阻型及非痰湿瘀阻型者ACE基因I/D多态性分布进行比较,痰湿瘀阻型组的DD基因型及D等位基因分布频率较非痰湿瘀阻型组增加差异有统计学意义,且痰湿瘀阻型患者DD基因型TG、TC、LDL-C水平高于ID/II基因型患者。本研究同时发现,痰湿瘀阻型不稳定心绞痛组ACE活性水平明显低于非痰湿瘀阻型组。

本研究与国内外许多学者研究有类似之处,但痰湿瘀阻型不稳定心绞痛与ACE基因I/D多态性及其与血脂和ACE活性的相关性研究尚未见报道。这将为中医辨证客观化提供新思路,为中医药诊断和靶向治疗不稳定心绞痛开辟新途径。

(下转第843页)

作用维持血管的生理健康状态,然而血管内皮在受到一系列有害因素作用时,内皮细胞释放的舒血管因子 NO 减少,缩血管因子 ET 增多,打破血管平衡稳态,使血管发生挛缩、痉挛甚至迂曲,降低了血管的顺应性与通透性,为椎动脉型颈椎病的发生发展提供了内源性的致病因素。

“川”字针刀松解术是笔者依据恩师李开平教授应用针刀医学系统知识与经络理论,结合近 30 载临床治疗经验总结而成,笔者认为其具备独特的治疗优势和中医特色。

3.1 切入点独具匠心

“川”字针刀松解术均以 C₂、G₄、C₆ 的棘突和横突结节为切入点,这些部位既是项韧带、前斜角肌、头后大直肌等肌群的起止点、附着点也是炎症的好发点、多发点,更是针刀松解过程中生物力学恢复平衡的重构点^[7-9]。

3.2 以“经脉所过,主治所及”的经络腧穴理论立说

“川”字针刀松解的颈周腧穴均位于督脉及足太阳膀胱经上,督脉为“诸阳之会”,足太阳膀胱经为巨阳之脉,针刀松解过程产生的强烈针感能激发阳气,气为血之帅、气能生血、血随气行,为头面清窍供血的恢复提供物质与动力。

3.3 恢复颈椎内外生物力学平衡是关键

颈部软组织的炎性浸润、增生硬化导致颈部拉应力、压应力与切应力的生物力学平衡失调,导致对椎动脉的机械压迫,使椎动脉发生挛缩、迂曲甚至狭窄。“川”字针刀选择上段棘突与下段两个横突结节进行松解,在横轴上为反向拉应力的恢复创造了良性平衡条件;在纵轴上斜拉成两条相等的力矩,为力矩上同向切应力的恢复提供了双向合力基础;3 组力矩形成一个等腰三角形,根据三角形为最稳定图形的概念,“川”字针刀松解术所进行的等腰三角形生物力学重构,能有效促进炎症的消散,延缓、阻止甚至逆转软组织的增生硬化,消除对椎动脉的机械压迫,促进脑部供血的恢复^[10]。

3.4 整体调节是疗效保障

“川”字针刀松解术治疗是在不平衡封闭的系统中重建开放性神经-内分泌-免疫网络信息分子^[11]通道,搭建起系统内外物质-信息-能量相互交换的桥梁,既通过软组织、骨骼与关节传导重建生物力学动态平衡的信息,又借助督脉、膀胱经的循经感传效应传导机体阳气运化营血的能量,也依靠神经肽类物质刺激椎动脉促进 NO 释放而抑制 ET 的聚集提供了物质。

“川”字针刀松解术为治疗椎动脉型颈椎病因安全、绿色、速效的即时疗效及远期效应为针刀疗法增添了一定色彩,其部分治疗机制本课题组已在实验室得到验证。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 136-0-7.
- [2] 张天民. 针刀医学基础理论[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 100-105.
- [3] 王启才. 针灸治疗学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 209-211.
- [4] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 342-343.
- [5] 李金牛, 乔晋琳, 郭长青, 等. 针刀干预对 L₃ 横突综合征模型大鼠骨骼肌 NOS 及 NO 的影响[J]. 中国骨伤, 2009, 22(11): 844-847.
- [6] 吴海昭, 林列, 朱加德, 等. 椎动脉型颈椎病血浆 ET、NO 的变化[J]. 中医正骨, 2004, 16(2): 3-4.
- [7] 郭建中, 孙立靖, 等. 针刀松解斜角肌治疗颈源性眩晕 90 例临床疗效观察[J]. 山东医药, 2014, 37(54): 42-43.
- [8] 魏巍, 石仕元, 王以进, 等. 小针刀治疗颈椎生理曲度变直的生物力学研究[J]. 中国中医药科技, 2012, 19(2): 109-110.
- [9] 李敏, 田弯弯, 李开平. 热敏灸结合项七针治疗椎动脉型颈椎病临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(4): 13-15.
- [10] 李敏. 针刀疗法对椎动脉型颈椎病血清一氧化氮和血浆内皮素的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015: 19-20.
- [11] 宋敏, 董万涛, 等. 浅析椎动脉型颈椎病发病中神经-内分泌-免疫网络信息分子的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2012, 1(29): 15-17.

收稿日期: 2015-12-22

(上接第 808 页)

参考文献:

- [1] 邵静, 贾景香, 陈璐. 不稳定性心绞痛患者血管紧张素转换酶基因多态性与血脂水平的相关性研究[J]. 中医学报, 2014, 11(29): 1655-1657.
- [2] 张莹, 李庆祥. 运用因子分析探讨急性冠脉综合征证候要素及靶位特征[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(13): 1369-1373.
- [3] 柯元南, 陈纪林. 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.
- [4] 冯维杰. 中西医结合治疗不稳定性心绞痛 45 例临床观察[J]. 中外医学研究, 2012, 10(2): 30-31.
- [5] 张啸飞, 胡大一, 等. 中国心脑血管疾病死亡现状及流行趋势[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(3): 179-187.
- [6] 杜海燕, 方振威, 等. 他汀类药物防治动脉粥样硬化性心血管疾病相关指南解读及其临床应用现状分析[J]. 中国医院用

药评价与分析, 2015, 15(2): 148-153.

- [7] Leila Poorgholi Hana Saffar et al. Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism and Its Association with Coronary Artery Disease in an Iranian Population[J]. Teh Univ Heart Ctr, 2013, 8(2): 89-94.
- [8] 陈志媛, 周国胜, 薛鸿群, 等. 急性心肌梗死患者肾素-血管紧张素-醛固酮活性变化[J]. 中国现代医生, 2012, 50(4): 148-149.
- [9] Zhou L, Xi B, Wei Y, et al. Meta-analysis of the association between the insertion/deletion polymorphism in ACE gene and coronary heart disease among the Chinese population[J]. Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2012, 13(2): 296-304.
- [10] 喻松仁, 艾志福, 等. 冠心病痰瘀衍变与心脏彩超指标关系浅析[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 491-492.
- [11] 吴松鹰, 杨持. 影响脂质代谢中医因素的多元分析[J]. 福建中医学院学报, 1998, 8(2): 5-6.

收稿日期: 2015-10-06