

血小板衍生生长因子家族及内皮素-1 的表达与非瓣膜性房颤中医辨证分型相关性的初步研究



付明朝¹, 刘 强²

摘要:目的 探讨非瓣膜性房颤病人血清中血小板衍生生长因子家族(PDGFs)及内皮素-1(ET-1)的表达及其与中医辨证分型的相关性。方法 对 91 例非瓣膜性房颤病人进行中医辨证分型,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定病人血清 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 的表达。结果 非瓣膜性房颤组病人 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 的表达水平明显高于窦性心律对照组($P < 0.05$)。心脉瘀阻证血清 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 的表达水平明显高于气阴两虚证、心阳不振证及痰浊阻滞证($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。气阴两虚证、心阳不振证及痰浊阻滞证间上述参数比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 心脉瘀阻证房颤病人心肌纤维化反应更为显著,PDGFs 及 ET-1 的表达水平可能为房颤心脉瘀阻证病人的辨证分型提供一定的客观依据。

关键词:房颤;血小板衍生生长因子;内皮素-1;心肌纤维化;中医证型

中图分类号:R541.7 R256.2 文献标识码:B doi:10.12102/j.issn.1672-1349.2019.11.019

Preliminary Research on the Relationship between the Expression of Platelet-derived Growth Factor Family and Endothelin-1 and Syndrome Differentiation of Traditional Chinese Medicine in Patients with Non-valvular Atrial Fibrillation

FU Mingzhao, LIU Qiang

Zhuji Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhuji 311800, Zhejiang, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between the expression of platelet-derived growth factor family (PDGFs), endothelin-1 (ET-1) and syndrome differentiation of traditional Chinese medicine (TCM) in patients with non-valvular atrial fibrillation (NVAF).

Methods Ninety-one patients with NVAF were diagnosed by TCM syndrome differentiation. The expressions of serum PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-DD, and ET-1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The levels of serum PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-DD, and ET-1 in patients with NVAF were significantly higher than those in the sinus rhythm group ($P < 0.05$). The levels of serum PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-DD, and ET-1 in patients with blood stasis syndrome were significantly higher than those in patients with qi and yin deficiency syndrome, heart yang deficiency syndrome, and turbid phlegm syndrome ($P < 0.05$). There was no significant difference in the levels of serum PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-DD, and ET-1 among qi and yin deficiency syndrome, heart yang deficiency syndrome, and turbid phlegm syndrome ($P > 0.05$). **Conclusion** Myocardial fibrosis is more significant in NVAF patients with blood stasis syndrome. The expression levels of PDGFs and ET-1 may provide some objective basis for the syndrome differentiation in NVAF patients with blood stasis syndrome.

Keywords: atrial fibrillation; platelet-derived growth factor; endothelin-1; myocardial fibrosis; traditional Chinese medicine syndrome

房颤为临床上最常见的心律失常之一,根据 2010 年中国人口普查所纳入的 35 岁以上总计约 68 603 万城镇居民中,就有 526 万房颤病人,患病率高达 0.77%^[1]。房颤临床症状轻重不一,反复发作后不易转复,并且是心力衰竭、痴呆、脑卒中乃至死亡的重要危险因素^[2]。为此,国内外研究者从心肌纤维化、炎症、氧化应激、血液的高凝状态以及离子通道等多个方面对房颤开展了大量研究,尤其是心肌纤维化与房颤

的相关性在近年来受到关注。血清中血小板衍生生长因子家族(PDGFs)是一种促成纤维细胞及血管平滑肌细胞有丝分裂和趋化作用的细胞因子,已被研究证实与多种器官纤维化发生发展关系密切^[3]。内皮素-1(endothelin-1, ET-1)是一种具有强烈收缩血管作用的生物活性肽,与心肌纤维化及房颤的发生相关,研究亦证实 ET-1 对 PDGFs 具有调控作用^[4]。本研究在已取得研究成果的基础上,进一步探讨 PDGFs 及 ET-1 表达与非瓣膜性房颤病人中医各证型的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象来自 2016 年 5 月—2016 年 10 月浙江省中医院心内科住院病人,共 106 例。非瓣膜性房颤组 91 例,男 57 例,女 49 例;年龄(68.19 ± 9.61)岁;冠心病 36 例,高血压病 66 例,糖尿病 15 例;服用抗血小板药物 48 例,服用抗凝药物 30 例,服用他

基金项目 浙江省中医药管理局科研基金项目(No.2016ZA070)

作者单位 1.诸暨市中医医院(浙江诸暨 311800),E-mail:nejing20111@163.com;2.浙江中医药大学附属第一医院

引用信息 付明朝,刘强.血小板衍生生长因子家族及内皮素-1 的表达与非瓣膜性房颤中医辨证分型相关性的初步研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(11):1671-1674.

汀类药物 58 例。窦性心律对照组 15 例,男 8 例,女 7 例;年龄(66.79±10.03)岁;冠心病 3 例,高血压病 9 例,糖尿病 2 例;服用抗血小板药物 8 例,服用抗凝药物 4 例,服用他汀类药物 9 例。

1.2 诊断标准 规则有序的心房电活动消失,心电图(ECG)或 Holter 检查表现为 P 波消失,代之以大小、形态不整齐的颤动波(“f”波),频率在 350~600 次/min,QRS 波群大多与窦性心律时相同,但 R-R 间期绝对不规整,即可诊断为心房颤动。

1.3 排除标准 年龄超过 80 岁或继发于心脏瓣膜病房颤病人;严重的心力衰竭或近 3 个月内有急性心、脑血管事件的病人;合并有扩张型心肌病、肥厚型心肌病、缺血性心肌病等其他心肌病;伴有严重感染或内环境紊乱的病人;合并恶性心律失常:包括病态窦房结综合征、阵发性室性心动过速等;合并肝、肾、造血系统、内分泌系统等严重原发性疾病。

1.4 房颤中医辨证分型 通过对房颤相关文献整理、回顾性临床病例统计及省内专家调查结果的综合分析形成共识,确定了 5 个房颤中医常见证型及其症候表现。
 ①气阴两虚证,主症:倦怠乏力,口干少饮,心闷隐痛,心悸气短,动则益甚,时作时休,舌红或淡、少苔或无苔,脉细弱。次症:动则汗出,咽燥口干,形瘦恶风,脉虚细缓或结代。
 ②心阳不振证,主症:心悸怔忡,小便清长或大便稀溏,食少面白,胸中憋闷,舌质胖苔润。次症:脘腹胀满,肢冷畏寒,脉沉细弱或微迟或结代。
 ③痰浊阻滞证,主症:胸闷心悸,胸脘痞满,头重昏蒙,痰多恶心,苔白腻或黄腻,脉滑或弦数。次症:身重倦怠,呕吐痰涎,脉弦滑或濡。
 ④心脉瘀阻证,主症:心胸憋闷,痛有定处,时作时休,唇暗肢冷,舌色紫暗或暗红伴瘀斑,脉涩或结代。次症:爪甲青紫,悸惕不安,脉细涩或脉沉微。
 ⑤心肾阳虚证,主症:心悸气短,胸脘痞痞,神疲倦怠,形寒肢冷,肢体浮肿,恶心呕吐小便不利,舌紫淡苔白滑,脉沉细弱。次症:腰膝酸软,唇甲青紫,苔白腻脉弦滑。

证型诊断标准:一个主症+两个次症,兼顾舌脉纳

入证型。

1.5 检测方法 超声检查:使用飞利浦 IE33 心脏彩色超声诊断仪。受检者取左侧卧位,嘱受检者平静呼吸。在 M 型超声引导下取胸骨旁左室长轴切面,于收缩期末测量左房前后径(LAD),舒张期末测量左室内径(LVIDd)、室间隔厚度(IVSd)、左室射血分数(LVEF)等相关指标信息。血液指标采集:所有受试者入院后进行常规检查,次日清晨清醒状态下空腹采静脉血,取 4 mL 抗凝静脉全血,院内常规送检 C 反应蛋白(CRP)、脑钠肽(BNP)等指标,全血自动分析仪测定。PDGFs 及 ET-1 采集:抽取 1 试管 6 mL 空腹静脉血,在 4℃下 3 000 r/min 离心 10 min 后留取上层血浆,均置于 1.5 mL 离心管并冻存在-70℃冰箱中备用。采用单盲间接酶联免疫法测定 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1,按照 PDGFs 及 ET-1 酶联免疫检测试剂盒(美国 R&D 公司)说明书操作。

1.6 统计学处理 全部数据用 SPSS 20.0 软件包进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;计数资料以例数(百分比)表示;组间差异采用 χ^2 检验或单因素方差分析。检验标准以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心脏超声相关参数及 BNP、CRP 水平结果 房颤组经中医辨证后,气阴两虚证 32 例,痰浊阻滞证 24 例,心阳不振证 15 例,心脉瘀阻证 20 例,心肾阳虚证 2 例(因课题质控需要,排除了严重心力衰竭病人,故心肾阳虚的病例较少,未纳入统计)。在中医各证型中 LAD 从高到低为:心脉瘀阻证>气阴两虚证>心阳不振证>痰浊阻滞证,且心脉瘀阻证 LAD 其余各组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);BNP 从高到低为:心脉瘀阻证>痰浊阻滞证>气阴两虚证>心阳不振证,且心脉瘀阻证 BNP 水平较其余各组差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);LVEF 及 CRP 在中医各证型间无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 1。

表 1 各组心脏超声相关参数及 BNP、CRP 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	LAD(mm)	LVEF(%)	BNP(ng/L)	CRP(mg/L)
气阴两虚证	32	44.43±7.41 ²⁾	65.09±11.77	204.13±274.28 ¹⁾	1.59±2.39
痰浊阻滞证	24	43.45±7.20 ²⁾	65.98±11.21	213.78±236.09 ¹⁾	2.89±2.86
心阳不振证	15	44.27±2.87 ¹⁾	66.83±7.61	154.65±122.39 ²⁾	2.26±2.14
心脉瘀阻证	20	49.29±4.79	62.86±10.47	392.93±330.83	4.78±2.54

与心脉瘀阻证相比,1) $P < 0.05$,2) $P < 0.01$

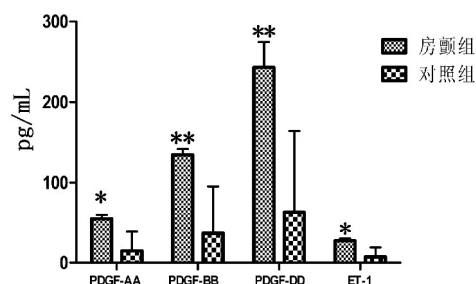
2.2 PDGFs 及 ET-1 表达水平比较

2.2.1 非瓣膜性房颤组与窦性心律失常对照组 PDGFs 及 ET-1 表达水平比较 非瓣膜性房颤组血清 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 表达水平均较对照组明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。详见图 1。

2.2.2 各中医证型间 PDGFs 及 ET-1 表达水平比较

心脉瘀阻证血清 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 的表达水平明显高于气阴两虚证、心阳不振证及痰浊阻滞证 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。气阴两虚证、心阳不振证及痰浊阻滞证间上述参数比较差异无统计

学意义 ($P > 0.05$)。详见表 2。



与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 房颤组与对照组 PDGFs 及 ET-1 表达水平比较

表 2 各证型间血清 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD、ET-1 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PDGF-AA	PDGF-BB	PDGF-DD	ET-1
气阴两虚证	32	54.04 ± 4.47 ²⁾	132.63 ± 6.42 ²⁾	239.74 ± 29.88 ²⁾	27.03 ± 2.78 ¹⁾
痰浊阻滞证	24	54.74 ± 5.14 ²⁾	134.56 ± 6.83 ¹⁾	244.21 ± 30.85 ¹⁾	27.02 ± 3.16 ¹⁾
心阳不振证	15	54.55 ± 5.41 ¹⁾	132.40 ± 8.90 ²⁾	235.87 ± 35.89 ¹⁾	25.58 ± 3.42 ²⁾
心脉瘀阻证	20	58.65 ± 4.08	139.23 ± 5.74	262.59 ± 24.40	29.07 ± 1.04

与心脉瘀阻证比较, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

3 讨论

近年来研究发现,心房电重构和结构重构在心房颤动的发生发展中有着密切联系,且组织结构重构的作用远远大于电重构^[5],心房的组织结构重构是维持心房颤动长期存在的病理基础,而心房结构重构在宏观上及病理性的表现主要为心房扩张及心肌纤维化^[6]。心肌纤维化主要指心肌间质中沉积了过量胶原纤维,造成心房内结构异常交通,影响心肌细胞间的正常连接和心肌细胞凋亡,导致心房局部电传导及兴奋性改变,加速形成心房异位起搏病灶,为诱发及维持心房颤动提供了充分条件。由成纤维细胞(FBS)分泌的胶原是心肌间质主要组成部分,大多数成纤维细胞在正常情况下均处于静息状态,当受到刺激后即活化并增殖、分化,转变成肌成纤维细胞(MFBS),其合成胶原的能力大大增强^[7],促使心肌纤维化,导致左心房扩大与重构,引起心房牵张,反射性地使 BNP 释放增加^[8]。

PDGFs 是一种促成纤维细胞及血管平滑肌细胞有丝分裂和趋化作用的细胞因子,已被研究证实与多种器官纤维化发生发展关系密切^[3]。PDGFs 家族共分 5 种亚型,其中 A 型、B 型和 D 型在心脏中高度表达,与心血管疾病有着密切的关系^[9]。PDGFs 在与其受体结合后,其尾部发生磷酸化后可组装成一个信号复合物,作用于核内蛋白转录因子编码的蛋白质参与基因表达的调控,导致发生一系列的细胞表型改变,促进细胞生长和分裂^[10],导致成纤维细胞的增殖以及胶

原的大量合成。ET-1 是现已知的最强烈的内源性血管收缩物质,对成纤维细胞和平滑肌细胞的促有丝分裂有成倍提高的作用,并促进成纤维细胞合成 I 型和 III 型胶原^[11]。ET-1 可通过促进基质蛋白和基质降解蛋白酶抑制物的合成来促进细胞外基质增生来参与心肌纤维化的发生与发展^[12]。洪钰杰等^[13]研究发现,ET-1 可以促进 H9c2 细胞 PDGF-BBmRNA 的合成,ET-1 可在基因转录水平上对 PDGF 信号通路进行调控。ET-1 的表达失调不仅可以引起心脑血管内皮损伤及功能障碍,也可能通过调节 PDGF 水平来影响成纤维细胞与血管平滑肌细胞的增殖,使得胶原分泌合成增加,从而导致心肌纤维化。由此可见,PDGFs 及 ET-1 是胶原代谢异常导致心肌纤维化过程的关键调控因子,本研究结果亦显示房颤组病人 PDGFs 及 ET-1 的表达水平明显高于对照组 ($P < 0.05$),表明 PDGFs 及 ET-1 的表达上调与房颤的发生显著相关。

房颤属中医学“心悸”“怔忡”等范畴,“心悸”一词最早见于《金匱要略》,曰“寸口脉动而弱,动则为惊,弱则为悸”。病位在心,病机为本虚标实,本虚包括气血阴阳之虚,标实有瘀血、气滞、寒凝、痰浊等。从本研究中 91 例房颤病人辨证分型的分布可以看出,对于房颤的证候确有虚有实,其中以气阴两虚证型最为常见。中医学很早就认识到瘀血阻滞可引起心悸,如《素问》中有:“心痹者,脉不通,烦则心下鼓”的论述,认为心脉痹阻不通可致心下鼓(心悸)。清代王清任《医林改错》

强调瘀血内阻导致心悸怔忡,首倡血府逐瘀汤以活血化瘀来治疗本病,皆有殊效。现代理论研究将血瘀归纳为病理学中血液循环障碍及结缔组织的增生和变性,即局部缺血或出血、体内血栓形成或瘀血、增生或变性的结缔组织^[14]。张双伟^[15]研究发现,在所有心肌纤维化的病例中,几乎都存在心血瘀阻证的各项临床表现,相关的理化指标如甲皱微循环、血液流变学、血小板聚集率等也表现出与心血瘀阻证相似的异常;而心血瘀阻证病人反映心肌纤维化的相关指标水平较非心血瘀阻证组有显著升高,证实血瘀证病人心肌纤维化程度明显大于非心血瘀阻证,推断心血瘀阻证是导致心肌纤维化主要的中医病机。本课题研究显示,房颤各证型的血清 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 表达水平明显高于对照组,而在中医证型组间比较中,心脉瘀阻证上述指标明显高于气阴两虚型、心阳不振型及痰浊阻滞型。由此可见,房颤证型不同,PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-DD 及 ET-1 表达水平亦有差异。

中医研究认为血瘀证是房颤常见证型,心脉瘀阻是房颤主要病理改变之一。本研究结果显示,心脉瘀阻证病人的血清 PDGFs、ET-1、BNP 表达水平及 LAD 均较其他证型增高,提示心血瘀阻证房颤病人心肌纤维化程度更高。本研究结果提示,PDGFs 及 ET-1 可以作为心脉瘀阻型房颤病人中医辨证的客观化指标,同时也可能为房颤心脉瘀阻证病人的辨证分型提供一定的客观依据。因此认为,活血化瘀法是中医治疗房颤的重要治则之一,同时亦是中西医结合治疗与改善房颤病人心肌纤维化程度的重要手段。本课题组目前正在以抗心肌纤维化为靶点的中西医结合治疗房颤相关研究,以期活血化瘀法中医药抗心肌纤维化治疗提供新的证据,为指导房颤的临床诊治提供一种新的思路。

参考文献:

- [1] LI Y, WU Y F, CHEN K P, *et al*. Prevalence of atrial fibrillation in China and its risk factors[J]. *Biomed Environ Sci*, 2013, 26(9): 709-716.
- [2] 梁峰, 胡大一, 沈珠军, 等. 2014 年美国心房颤动管理治疗指南概要[J]. *中国医药科学*, 2014, 4(19): 9-16.
- [3] ANDRAE J, GALLINI R, BETSHOLTZ C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(10): 1276-312.
- [4] JAFFER F E, KNAUSS T C, POPTIC E, *et al*. Endothelin stimulates PDGF secretion in cultured human mesangial cells[J]. *Kidney Int*, 1990, 38(6): 1193-1198.
- [5] XU J, CUI G, ESMAILIAN F, *et al*. Atrial extracellular matrix remodeling and the maintenance of atrial fibrillation[J]. *Circulation*, 2004, 109(3): 363-368.
- [6] 马金, 丁春华. 房颤发病机制和相关中药研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13(2): 149-151.
- [7] BORDER W A, NOBLE N A. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis[J]. *N Engl J Med*, 1994, 331(19): 1286-1292.
- [8] 徐颖. 高敏 C 反应蛋白、脑钠肽、内皮素 1 与非瓣膜性心房颤动关系的探讨[D]. 天津: 天津医科大学, 2011.
- [9] FREDRIKSSON L, LI H, ERIKSSON U. The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15(4): 197-204.
- [10] TALLQUIST M, KAZLAUSKAS A. PDGF signaling in cells and mice[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15(4): 205-213.
- [11] 夏书月, 李振华, 佟振月, 等. 内皮素的表达与鼠肺纤维化的关系[J]. *中国病理生理杂志*, 1999, 15(9): 844-846.
- [12] TANG L, YI R, YANG B, *et al*. Valsartan inhibited HIF-1 α pathway and attenuated renal interstitial fibrosis in streptozotocin-diabetic rats[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 97(1): 125-131.
- [13] 洪钰杰, 钟国强, 蒋智渊, 等. 内皮素-1 在心房颤动发生中的机制探讨[J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(2): 146-150.
- [14] 王阶, 姚魁武. 血瘀证证候实质研究进展与思考[J]. *中国医药学报*, 2003, 18(8): 490-493.
- [15] 张双伟. 活血化瘀法抗冠心病心血瘀阻证心肌纤维化的临床研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2006.

(收稿日期: 2018-01-08)

(本文编辑 王雅洁)