

基于颈动脉粥样硬化的血瘀证研究思路

李林森¹ 田金洲² 蔡艺灵³ 时 晶² 崔 箭¹ 徐斯凡¹

(1. 中央民族大学中国少数民族传统医学研究中心, 北京市中关村南大街 27 号, 100081;

2. 北京中医药大学东直门医院老年病科; 3. 中国人民解放军第三零六医院神经内科)

[摘 要] 通过血瘀证研究的背景及意义分析, 结合前期的研究结果, 探讨从颈动脉粥样硬化的角度来揭示血瘀证实质的思路, 提出基于颈动脉粥样硬化的血瘀证研究内容及技术手段。

[关键词] 颈动脉粥样硬化; 血瘀证; 脑梗死

血瘀证的生物学基础研究始于 20 世纪 60 年代, 目前虽然取得了很多成果, 但其证候实质仍未弄清。在前期血瘀证的生物学基础研究上, 我们拟进一步从颈动脉血流动力学、颈动脉粥样硬化斑块及颈动脉粥样硬化相关活性物质等角度来探讨血瘀证的生物学基础, 为血瘀证实质研究提供科学依据。

1 研究思路的背景及意义

随着人口老龄化的加速, 动脉粥样硬化(AS)患病率增高, 脑血管疾病(CVD)成为目前威胁人类生命和健康的主要疾病。据卫生部 2000 年统计资料, 无论在大中城市还是在农村, 卒中的死因顺位均为第二^[1]。据 1982~2002 年《中国卫生年鉴》报告, 1985~2001 年我国城市的卒中死亡率波动于 110~135/10 万之间, 农村波动于 97~115/10 万之间^[2]。国内报道^[3]了 17 个医疗单位对 1991~2000 年期间年龄≥25 岁的 16031 例脑卒中患者分析的结果, 其中缺血性脑卒中占 62.4%, 27.5% 为脑出血, 1.8% 为蛛网膜下腔出血, 另有 8.3% 病因未确定。2002 年, 世界卫生组织的 MONICA 方案统计表明, 急性脑卒中的发病率男性为 101~285/10 万, 女性为 80~200/10 万, 每年大约有 1700 万人死于各种心脑血管疾病。因此, 脑血管疾病给社会和家庭带来了沉重的负担。

血瘀证是多种复杂性重大疾病的共同证候。一项 221 例脑卒中证候分布调查显示^[4], 各种证候在脑卒中急性期的发生频率依次为: 血瘀证 68%、痰证 52%、火热证 30%、风证 29%、阴虚阳亢证 25%、气虚证 24%。一项 216 例腔隙性脑梗死中医证候学观察显示^[5], 腔隙性脑梗死患者的始发态(发病 72 小时内)证候特征为风证 55.5%(120/216), 痰证 31%(67/216), 火热证 44%(95/216), 血瘀证 20.8%(45/216) 出现的概率较高, 从其证候的组合形式看, 两证、三证的组合形式占多数,

以风证+火证+痰证及风证+痰证+瘀证为主要组合。另一项对 2004 例 5 种疾病血瘀证的分布调查^[6]显示, 血瘀证在冠心病中占 62%(277/444), 在功能性子宫出血中占 60%(92/153), 在脑梗死中占 54%(359/666), 在高血压中占 53%(284/532), 在糖尿病中占 51%(106/209)。以上资料说明, 血瘀证不仅是脑卒中的常见证候, 同时也是多种疾病常见的共同证候。血瘀证是中医诊断和治疗疾病的重大基础, 是证候研究具有代表性的切入点, 因此, 对血瘀证的生物学基础研究无疑具有重要意义。血瘀证的生物学基础目前尚不明确。现代医学认为, 各种致病因子所造成的全身或局部组织器官的缺血、缺氧、血循环障碍等导致各组织器官水肿、炎症渗出、血栓形成、组织变性、结缔组织增生等一系列的病理变化, 都可以概括在血瘀证的病理实质中。目前研究主要就血液生化学、血流动力学、血液流变学、免疫功能、病理形态、微循环等方面进行了探索。蔡钦朝等^[7]对 20 例血瘀证患者体内一氧化氮(NO)及血浆内皮素(ET)水平进行检测, 发现患者 NO 及 NO/ET 比值均明显低于对照组。石志芸等^[8]对 74 例非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)及 88 例其他疾病(心血管疾病、肾脏病)患者进行血浆 P 选择素(GMP-140)、ET 测定, 结果显示, NIDDM 血瘀证患者 GMP-140、ET 值均明显高于非血瘀证组及正常对照组。另外, 糖尿病、心血管疾病及肾脏病的血瘀证患者 GMP-140 含量均明显高于同病种的非血瘀证患者。孙锡印等^[9]研究发现, 冠心病血瘀证患者高密度脂蛋白标志物血载脂蛋白 I(apoA-1)水平低于健康人, 而低密度脂蛋白标志物血载脂蛋白 B(apoB)及 apoB/apoA-1 水平高于健康人。既往的研究还发现, 血液黏度增高和微循环障碍等与血瘀证有关。然而也有研究^[10]发现, 血瘀证证候要素评分与凝血因子含量变化无相关性, 常规的四项凝血因子检测并不能作为缺血性中风血瘀证微观辨证的指标。这些探索为进一步研究奠定了较好的基础, 但是目前生物学检测指标的确定比较

宽泛,或用单一指标代替血瘀证的全部内涵,均未能涉及血瘀证实质。因此,血瘀证的生物学基础实质仍有待于进一步研究和探索。

证候是一个非线性的“内实外虚”、“动态时空”和“多维界面”的复杂系统,其中“内实外虚”是证候最重要的特性^[11]。基于证候概念的新诠释,我们提出了证候靶位及证候表征概念,即证候不仅是方剂的治疗目标,而且也是方剂的效应基础。证候表征是指证候的外在表现征象,通常包括必要和非必要的外在表象征象。而靶位在生物学和药理学中有特定含义,指受体、组织或细胞、蛋白或基因等,中药方剂治疗所针对的靶位多是总体、是系统,这个总体和系统就是某一特定的证候^[12]。因此,我们认为血瘀证的研究可以通过寻找其“内实”点来寻找突破口。

颈动脉粥样硬化是缺血性脑血管发病的重要危险因素之一,将近68%的缺血性脑血管病伴有不同程度的颈动脉粥样硬化,其中颈动脉粥样硬化斑块的性质与脑梗死的发生更是密切相关。鉴于超声检查简单易行、可实时成像、重复性好,已成为颈动脉粥样硬化性疾病的首选检查手段^[13]。超声检查通常主要通过二维灰阶显像、彩色血流成像和多普勒血流动力学分析等对颈动脉硬化性狭窄病变进行评估。在动脉粥样硬化的早期阶段无管腔狭窄时,其病变主要为动脉壁的膨胀或IMT增厚,超声检查可进行客观评价,对早期颈动脉粥样硬化的流行病学及危险因素的研究有重要意义^[14]。基于颈动脉的解剖特点,高分辨率彩色多普勒超声诊断仪能较容易的发现其硬化斑块,并能分辨斑块的大小、分布、形态及超声特性,研究表明^[15,16],颈动脉硬化斑块的声学特征与病理组织学有良好的相关性。低回声提示其富含脂质,不规则低回声暗区提示其并有斑块内出血。薄薄的高反射亮区提示纤维帽,而纤维帽不完整、表面回声不连续、有火山口样龛影提示斑块已破裂。偏心性使其承受的切应力更大,在血流异常、血管痉挛时易于破裂。颈动脉超声可显示颈动脉的横轴和纵轴解剖图像,观察动脉壁的厚度、斑块的形态、大小、范围、管腔的狭窄或闭塞,根据斑块回声的特征可分低、中、强回声,通过彩色血流影像反映的血流分布及充盈状态,评价管腔内径变化而产生的血液动力学改变。因此,颈动脉超声检查可作为反映动脉粥样硬化的重要窗口。

基质金属蛋白激酶9(MMP-9)是明胶酶的一种,分子量92kD。研究表明,MMP-9是很多生理过程的关键调节剂,如参与骨骼形成、血管发生、伤口愈合、血液凝固^[17]及子宫组织重塑等^[18]。MMP-9通过血管中膜平滑肌细胞迁移、增殖凋亡及细胞外基质的重塑在动脉

粥样硬化斑块的形成、发展及破裂中发挥了重要作用。MMP-9的调控主要通过基因转录、酶原激活及MMP-9生理性抑制物3个水平实现。基质金属蛋白酶组织抑制剂1(TIMP-1)是组织中MMP主要的内源性抑制因子,MMP/TIMPs之间的平衡在ECM的重建中发挥着极其重要的作用。在不稳定粥样斑块中常见到巨噬细胞增多,MMP-9分泌增加,使基质降解增强,TIMP-1对有MMP-9产生的基质降解起着很重要的平衡作用,纤维帽的胶原分解与否取决于MMP-9与TIMP-1之间衡状态^[19]。成纤维细胞生长因子是一类由FGF基因家族编码的结构相关的蛋白质,碱性成纤维生长因子(bFGF)最初是由Gospodarowicz于1974年从牛脑和牛的脑垂体中提取出的,因其对3T3细胞有强烈的促进增殖和有丝分裂作用而得名^[20]。bFGF在体内分布广泛,尤其是在神经组织中含丰富。其分布于不同部位,可呈现出不同功能。大量研究证实,VSMC增殖是动脉粥样硬化、再狭窄和肺动脉高压等多种心血管疾病的病理基础。FGF在斑块的形成中发挥了重要作用,在FGF等细胞因子的刺激作用下,SMC开始由中膜向内膜迁移,并产生I型、III型胶原、弹性蛋白和糖蛋白,这些蛋白构成了斑块的基质,使其结构加固^[21]。超敏C反应蛋白(High C-reactive protein, Hs-CRP)是人体非特异性炎症反应主要的、最敏感的标志物之一,是肝脏在IL-6调控下产生的一种急性时相蛋白。正常血清中含量极微,但在急性炎症反应阶段其含量可迅速增加100多倍,因此,CRP水平是炎症过程中最具标志性的因子,被认为是动脉粥样硬化发生发展中极具敏感性的检测指标^[22]。因此测定患者血清MMP-9、TIMP-1、MMP-9/TIMP-1、bFGF、hs-CRP水平的变化,可以作为颈动脉粥样硬化及斑块不稳定的血清学指标。

由以上可知,血瘀证是缺血性脑血管疾病常见证候之一,而AS是脑梗死的最常见病因,综观目前血瘀证的生物学基础及客观化研究现状,血瘀证与AS存在何种关系目前尚不清楚,有待于进一步研究。

2 血瘀证生物学基础研究的前期结果

基于王永炎院士提出的证候概念及其属性,我们在前期开展了大量的血瘀证生物学基础探索,在近年来取得了一定的研究结果^[23]:①血瘀证主要与寒(阴性因素、阴性证候)相关,寒热程度差异是血瘀证产生的原因;手术外伤出血史可能是血瘀证的直接危险因素;血瘀证是脑梗死、冠心病和糖尿病的常见证候,但不是必见证候。②血瘀证相关的因素有年龄;可能与血瘀证相关的因素为凝血酶原时间;炎症反应因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、sICAM-1、sVCAM-1参与了急性脑梗

死的炎症反应过程,这些因子的异常升高与急性脑梗死相关,其中IL-1 β 水平与血瘀证呈正相关;sICAM-1水平与急性脑梗死血瘀证呈正相关;TNF- α 水平与血瘀证呈负相关;TGF- β 水平与急性脑梗死血瘀证呈负相关。炎症反应因子IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 、sICAM-1可能为急性脑梗死血瘀证的生物学基础。③血瘀证患者中78.6%被发现有颈动脉粥样硬化斑块,脑卒中患者血瘀证与颈动脉粥样硬化形成有相关性,肝风证、痰浊证、火热证、阴虚阳亢证与颈动脉粥样硬化的形成没有明显的相关关系。④血瘀证的发生不仅因为脑梗死,而与颈动脉粥样硬化斑块的形成有密切的关系。

上述研究显示,血瘀证实质具有复杂的生物特征规律,其具体实质现仍不清楚,因此,血瘀证的实质必须从生物学、信息学及复杂系统科学等多角度来进一步开展研究。血瘀证是急性脑梗死的常见中医证候之一,目前血瘀证与颈动脉血流动力学、颈动脉粥样硬化斑块及颈动脉粥样硬化相关活性物质等的相关性尚不清楚。

3 基于颈动脉粥样硬化的血瘀证研究主要内容及技术手段

在前期研究的基础上,围绕王永炎院士提出的“证候概念及其属性”及“证候靶位及证候表征”理论,以颈动脉血流动力学、颈动脉粥样硬化斑块及颈动脉粥样硬化相关活性物质为切入点,我们拟从颈动脉粥样硬化角度来探索血瘀证的本质。通过对脑梗死患者及对照人群进行中医证候要素评分,颈动脉彩色多普勒超声检查(包括双侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉的血流动力学及颈动脉粥样硬化斑块的性质等指标),并检测脑梗死患者血清中MMPS-9、TIMP-1、b-FGF、Hs-CRP的含量,探讨血瘀证与颈动脉粥样硬化的相关性,以期为血瘀证的生物学基础研究提供科学依据。

参考文献

[1]方向华.中国卒中的流行现状及其影响因素[J].中国脑血管病杂志,2004,1(5):233-237.
[2]中国卫生年鉴[M].北京:人民卫生出版社,2002:484-485.
[3]王兆钺.血栓相关性疾病的临床流行病学[J].中华医学杂志,2004,84(5):432-434.
[4]梁伟雄,黄培新,刘茂才,等.中风病急性期中医证候分布规律的研究[J].广州中医药大学学报,1997,14(2):71-75.
[5]高颖,吴燕,任占利,等.216例腔隙性脑梗死中医证候学观察及临床资料分析[J].中国中医药信息杂志,2000,10(7):29-30.
[6]姚魁武,王阶,陈可冀.血瘀证量化诊断及病证结合研究学位论文.北京:中国中医研究院,2001.
[7]蔡钦朝,汪琼华,吴云智.血瘀证患者血管内皮内分泌功能的观察[J].安徽中医学院学报,1998,17(2):61-62.

[8]石志芸,施赛珠,陈剑秋,等.中医血瘀证与血栓相关分子标志物的研究[J].中医研究,2003,16(6):21-22.
[9]孙锡印,杨雯琳.冠心病气滞血瘀与气虚血瘀证型间血载脂蛋白的异同及辨治影响[J].江苏中医,1997,18(6):40-41.
[10]李林森,田金洲,蔡艺灵,等.215例急性脑梗死患者凝血因子变化与血瘀证的相关性研究,2007,26(10):642-646.
[11]郭蕾,王永炎,张志斌.关于证候概念的诠释[J].北京中医药大学学报,2003,26(2):5-8.
[12]田金洲,王永炎,时晶,等.证候的概念及其属性[J].北京中医药大学学报,2005,28(5):6-8.
[13]Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study[J]. JAMA, 1995, 273(18):1421-1428.
[14]Allan PL, Mowbray PJ, Lee AJ, et al. Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery Study[J]. Stroke, 1997, 28(2):348-353.
[15]El-Barghouty NM, Levine T, Ladva S, et al. Histological verification of computerized carotid plaque characterisation[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1996, 11(4):414-416.
[16]Wilhelm JE, Gronholdt ML, Wiebe B, et al. Quantitative analysis of ultrasound B-mode image of carotid atherosclerotic plaque: correlation with visual classification and histological examination[J]. IEEE Trans Med Imaging, 1998, 17(6):910-922.
[17]Lemaitre V, D'Amiento J. Matrix metalloproteinases in development and disease[J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2006, 78(1):1-10.
[18]Zhang X, Chirstenson LK, Nothnick WB. Regulation of MMP-9 expression and activity in the mouse uterus by estrogen[J]. Mol Reprod Dev, 2007, 74(3):321-331.
[19]Rouis M, Adamy C, Duverger N, et al. Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 reduces atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Circulation, 1999, 100(5):533-540.
[20]Gospodarovicz D, Cheng J, Lui GM, et al. Isolation of brain fibroblast growth factor by heparin-Sepharose affinity chromatography: identity with pituitary fibroblast growth factor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81(22):6963-6967.
[21]陈灏珠主编.实用内科学[M].12版.北京:人民卫生出版社,2004:1459~1467.
[22]Yeh ET. High-sensitivity C-reactive protein as a risk assessment tool for cardiovascular disease[J]. Clin Cardiol, 2005, 28(9):408-412.
[23]田金洲,时晶,倪敬年,等.脑梗死患者颈动脉斑块与血瘀证的相关性研究[J].中华中医药杂志,2007,22(3):149-153.