

缺血性脑血管病患者红细胞膜脂区流动性的研究

上海医科大学

李其松¹ 汤耀发¹ 马鸿健¹ 施永德² 秦芝九³

内容提要 应用荧光偏振光技术对 36 例瘀症缺血性脑血管病(ICVD)和 21 例无瘀健康人的红细胞膜脂区微粘度进行比较,并用医学统计多因子逐步回归分析法对 36 例 ICVD 患者的微粘度与血液系统中 16 个血浆和全血因子进行相关分析。结果:(1)瘀症 ICVD 患者的红细胞膜脂区微粘度 (3.55 ± 0.21 泊)明显高于无瘀健康人 (2.770 ± 0.12 泊), $P < 0.001$ 。(2) ICVD 患者的红细胞膜脂区微粘度与同时测定的红细胞电泳时间和高密度脂蛋白含量最为相关,前者呈正相关,而后者呈负相关。提示增加红细胞膜表面的流动性和增加高密度脂蛋白的浓度,对防治 ICVD 具有重要意义。

我们于 1985 年开始采用荧光偏振光技术对确诊为缺血性脑血管病(ICVD)的患者有瘀症表现的 36 例及无瘀症的健康人 21 例,进行红细胞膜脂区微粘度测定。并用多因子逐步回归分析方法,对瘀症 36 例的红细胞膜脂区微粘度以及其他 16 项指标,进行对比和相关研究,初步发现一些规律,现报道如下。

资料与方法

一、资料:瘀症 ICVD 组 36 例(其中 CT 证实为完全型中风脑梗塞恢复期 11 例,明确诊断为短暂性脑缺血 25 例),男 23 例,女 13 例;年龄 50~83 岁,平均 65.4 ± 1.4 岁,病程 6 个月~10 年。中医辨证均有气虚血瘀,36 例患者舌下静脉全部有瘀阻表现。21 例健康人,年龄 50~70 岁,平均 60 岁。

二、红细胞微粘度测定⁽¹⁾:(1)完整红细胞悬液制备:将 EDTA 抗凝静脉血经 800g 离心 10 分钟,吸去上清液和白细胞层,连续用 pH7.4 的 BPS 液洗涤 3 次,每次清除上层非红细胞悬液,最后取 0.1ml 完整红细胞液,加入 0.9ml BPS,摇匀备用。(2)标记完整红细胞,将 DPH(1,6-二苯基-1,3,5-己三烯)配成 2×10^{-3}

M 四氢呋喃溶液(美国 Sigma 公司出品)。将 30 μ l 完整红细胞悬液加入含 5 ml DPH 溶液中,震荡均匀后置水温箱,保持 37°C 恒温孵育 1 小时,进行荧光偏振光测定。(3)采用 Hitachi MPF-4 型荧光分光光度计及恒温装备,以 150W 氙灯作为激发光源,发射波长和激发波长固定位置,适当选择光隙及灵敏。根据起偏器和检偏器光轴所置水平或垂直位置,测得荧光偏振度(P)。按下列公式计算微粘度(泊) = $\frac{2P}{0.46-P}$ 。其值愈大则膜脂区流动性愈小。

三、血液系统中其他指标:16 项指标编码如下: X_1 血球压积(%), X_2 全血比粘度(比), X_3 血浆比粘度(比), X_4 红细胞自身血浆电泳(s), X_5 红细胞沉降率(mm/h), X_6 纤维蛋白原(mg/100ml)⁽²⁾, X_7 甘油三酯(mg/100ml), X_8 空腹血糖(mg/100ml), X_9 血浆总胆固醇(mg/100ml), X_{10} 血红蛋白(g/100ml), X_{11} 红细胞总数(万个/ cm^3), X_{12} 白细胞数(个/ cm^3), X_{13} 血小板总数(万个/ cm^3), X_{14} β -脂蛋白(mg/100ml), X_{15} 高密度脂蛋白(mg/100ml), X_{16} 低密度脂蛋白(mg/100ml)。其中 $X_1 \sim X_5$, $X_{15} \sim X_{16}$ 固定专人负责检测。

四、统计资料分析:单变量两组样本均数差别的显著性检验用 t 检验。分析多个自变量与 1 个因变量的相关程度,采用逐步回归分析。

1. 神经生物学教研室;2. 生物物理教研室;3. 神经病学研究所

结 果

一、瘀症ICVD患者红细胞膜脂区微粘度与健康人比较：36例患者红细胞膜脂区微粘度(泊)均值为 3.55 ± 0.21 ，21例健康人均值为 2.77 ± 0.21 ，两组t检验，差异有非常显著意义($P < 0.001$)。

二、瘀症ICVD患者红细胞膜脂区微粘度(X_{17})与其他16项因子的相关性：根据F值的不同的水平排列出对因变量方差贡献大小(即对自变量关系的密切程度)的自变量次序^[3]。与 X_{17} 密切程度大小顺序为 $X_4 \rightarrow X_{15} \rightarrow X_2 \rightarrow X_{16}$ 等，其中 X_4 、 X_2 、 X_{16} 为正相关， X_{15} 为负相关。即 X_4 时间愈长、 X_2 增加、 X_{16} 增高，则 X_{17} 粘度愈大，红细胞膜脂区流动性愈小；而 X_{15} 含量愈高， X_{17} 粘度愈小，红细胞膜脂区流动性愈大。

讨 论

一、荧光偏振光技术应用于ICVD的可行性：测定膜脂区流动性的方法很多，本研究所采用的荧光偏振光技术主要是通过荧光分光光度计及偏振光检测器(起偏器和检偏器)，用150W氙灯作激发光源，测量DPH所标记的红细胞膜的偏振度，再按对换公式计算微粘度。自70年代以来，应用这项技术研究生物膜的报道较多^[4]，进展很快，虽然影响膜脂区流动性的测量因素很多，但严格控制各项操作条件，特别是恒温设备和同时进行正常对照非常重要，目前仍认为是简便、易行，重复性较好的方法。

二、瘀症ICVD患者红细胞膜脂区流动性的特点及其与血液系统中其他因素的关系：本结果显示瘀症ICVD患者红细胞膜脂区流动性明显低于无瘀健康人，提示红细胞膜脂区流动

性的下降，可能是脑血管病的有关病因之一，这对阐明缺血性脑血管病的红细胞膜上的病因提供了数据。关于红细胞膜上组成的改变对膜脂区流动性的影响已有报道^[5,6]，认为膜上胆固醇或胆固醇/磷脂的值增加，流动性即下降。但血浆和全血中的一些因素，是否也有影响尚未有报道。本结果表明，红细胞膜脂区微粘度增加与 X_4 、 X_2 呈正相关，这与以往报道一致^[7]。低密度脂蛋白主要含有胆固醇，故有抑制红细胞膜脂区的流动性。高密度脂蛋白具有清除血清中胆固醇的功能，故被认为是一种抗动脉硬化的有利的脂蛋白，这与本结果也具较好的一致性。多元回归表明，高密度脂蛋白与微粘度呈负相关，因此血中高密度脂蛋白的增加，可使红细胞表面膜脂区的流动性增加，对ICVD具有预防作用。

参 考 文 献

1. 李其松, 等. 耳针戒烟者红细胞膜流动性的变化. 中国针灸 1986; 6:38.
2. 施永德, 等. 从血液变学探讨血瘀本质和活血化瘀原理. 活血化瘀资料汇编. 北京: 北京人民出版社, 1982:201-223.
3. 上海医科大学数学教研室. 医学统计软件包说明书. 1985: 127.
4. 林克椿, 等. 细胞膜的流动性. 生物科学进展 1985; 16: 83.
5. Cooper RA, et al. Factors influencing the lipid composition and fluidity of red cell membranes vitro. Biochemistry 1978; 17:327.
6. Owen JS, et al. Decreased erythrocyte membrane fluidity and altered lipid composition in liver disease. J Lipid Research 1982; 23:124.
7. 施永德, 等. 血小板和红细胞电泳行为的比较和对红细胞电泳减缓因子的探讨. 生物化学与生物物理学报 1983; 15:215.

《实用中医方剂文摘》(第二集)征订启事

本集 40 余万字，收入全国中医专业期刊共 2200 多篇论文，附有方名索引和病名索引，资料翔实可靠，查阅方便，适合中医药人员使用，特别适合于各科临床医生随时查阅。每册 6.60 元(含挂号邮费)。欲购者即汇款至贵阳中医学院编辑部钱光筑收，并注明购《实用中医方剂文摘》及册数。

Abstracts of Original Articles

Clinical and Experimental Study on the Effect of Compound Five-Shen Herbal Drink(复方五参冲剂)in the Treatment of Acute Febrile Diseases with Damage to Yin(阴) and Reddened Tongue Syndrome

Ma Bisheng(马必生), Li Naimin(李乃民)*, Wang Guangrui(王光瑞)**, et al
*Beijing Jishuitan Hospital, Beijing; *211 Army Hospital, Harbin;
 **Dalian Air Force Hospital, Dalian; etc.*

Based on the experience of the late Beijing traditional medicine professor Zhao Bingnan(赵炳南) in treating acute infectious febrile disease and its complications, compound herbal drink composed of five kinds of shen(参). Six hundred cases of febrile disease with damage to Yin and reddened tongue syndrome and hypokalemia. Patients were randomly divided into groups I, II and control. The perspective study of treatment results and experiments were carried out. The results showed that group I and II who received the compound five-Shen herbal drink (CFSHD) showed good therapeutic effects, the rates of significant effectiveness were 65.5% and 73.1% respectively ($P > 0.05$). The total rates of effectiveness were 97.2% and 96.2% respectively. The rate of significant effectiveness of the control group was 11%, total rate of effectiveness was 43%. There was significant statistical difference between the control group and group I or II ($P < 0.001$).

Authors of present paper are the first to propose the "Reddened Tongue" to be the main diagnostic criterion of syndrom of "Damage both to the Qi(气) and Yin". Laboratory examination of 344 cases of "Reddened Tongue" Revealed that 317 cases with hypokalemia (blood potassium < 3.5 mEq/L) were 92.15% of the entire group. The authors point out that most of the patients with "damage to both the Qi and Yin" besides hypokalemia can be also low in calcium, magnesium and trace elements. After treatment with CFSHD restoration of normal blood potassium was parallel with the improvement of the reddened tongue. It was proved that the CFSHD could rapidly correct the following changes in the mouth cavity in patients with reddened tongue, Lowered pH, reduced amylase activity, disturbance in bacterial flora, abnormal arterial and venous waves of the tongue, stagnation of the microcirculation and arterial and venous blood flow of the tongue, including shedding of thinned cornified epithelium noticed, under scanning electro-microscope, atrophy of capillaries in tongue papillae. All these phenomena are pathological changes typical of "damage both to the Qi and Yin". Animal experimentation proved that the CFSHD could enhance the recovery of reddened tongue caused by induction of peritonitis, use of diuretics, restriction of fluid intake in dog models.

(Original article on page 583)

Study on the Fluidity of Erythrocyte Membrane in Patients with Ischemic Cerebral Vascular Disease

Li Qisong(李其松), Shi Yonde(施永德)*, Qing Zhijiu(秦芝九)**, et al
*Dept. of Neurobiology, *Dept of Biophysics, **Dept. of Neurology
 Shanghai Medical University, Shanghai.*

Measurement of fluidity of erythrocyte membrane (FEM) in thirty-six patients with ischemic cerebral vascular disease (ICVD) by fluorescence polarization of DPH (1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene) labelled on lipo-region in intact erythrocyte membrane. Twenty one healthy subjects