

血栓闭塞性脉管炎氧自由基与前列环素的变化及其与中医辨证分型的关系

湖南中医学院活血化癥研究室(长沙 410007)

葛金文 江一平 李安国* 邓常青

湖南医科大学检验系 贺石林

湖南马王堆脉管炎专科医院 肖德安

内容提要 对 56 例血栓闭塞性脉管炎(TAO)患者血浆丙二醛(MDA)、6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-Keto-PGF $_{1\alpha}$)含量和红细胞超氧化物歧化酶(Ery-SODA)检测结果表明:和健康对照组比较,TAO组MDA升高,6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 和Ery-SODA降低,差异有显著性意义($P<0.01$);且6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 含量与Ery-SODA和MDA显著相关($P<0.01$);III期与II期比较,6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 、Ery-SODA下降明显($P<0.05$, $P<0.01$),MDA上升显著($P<0.01$);与寒证组比较,热证组Ery-SODA下降显著($P<0.01$),6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 下降明显($P<0.05$),而MDA上升显著($P<0.01$)。提示,TAO患者脂质过氧化反应剧增,并可能参与血管内皮细胞(VEC)损伤,上述指标可望为TAO辨证提供辅助依据。

关键词 血栓闭塞性脉管炎 氧自由基 前列环素 血管内皮细胞

近年来,随着自由基生物学和自由基医学的深入研究,氧自由基与自身免疫性疾病的关系日益引起重视。我们检测了56例TAO患者体内反映氧自由基水平的Ery-SODA及MDA,并与反映VEC功能状态指标的前列环素(PGI $_2$,在体内稳定的代谢产物为6-Keto-PGF $_{1\alpha}$)进行了相关分析,报告如下。

对象与方法

一、研究对象 按1984年中国中西医结合学会周围血管病专业委员会制订的诊断标准和分期分级标准^①,收集湖南马王堆脉管炎专科医院住院及门诊TAO患者56例,全部为男性,平均年龄为34.5岁。其中II期患者18例,III期患者38例。根据1971年全国中西医结合治疗TAO经验交流会总结的分型标准^②,其中阴寒型14例,血瘀型12例,湿热型14例,热毒型16例。又根据八纲辨证的原则,凡患肢喜暖怕冷,触及冰凉,局部皮肤苍白或紫红、暗红或青紫,麻木,疼痛,遇冷及夜间加剧,舌淡或紫暗,苔薄白或白,脉沉细

或迟或涩等为寒证,26例;凡患肢发凉,怕冷较轻,剧痛,昼轻夜重,喜冷怕热,局部发热,潮红或紫红,肿胀或溃疡和坏疽,舌质红或红绛,苔滑腻或黄腻或黄燥,脉洪大滑数或弦数等为热证,30例。健康对照组38名,全部男性,平均年龄为32岁,体格检查正常,排除各脏器器质性病变。

二、方法

1. 标本收集 晨起空腹安静状态下,自肘静脉用塑料注射器取血,按所测指标要求分别以2%Na $_2$ EDTA 1:9抗凝和125 u/ml肝素(56℃烤干)抗凝,立即置冰浴中。从肝素抗凝管中取20 μ l进行Hb测定,取50 μ l加入5 ml 4℃生理盐水中制备SOD粗提液。抗凝血以3000 r/min离心15 min制备贫血小板血浆,分装。 $\pm 26^\circ\text{C}$ 冷藏待测。

2. 测定指标和方法 血红蛋白测定,HiCN比色法;6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 测定,采用放射免疫法,药盒由苏州医学院血栓形成与止血研究室提供,操作参照药盒说明书;Ery-SODA测定,采用邻苯三酚自氧化法^③,

MDA测定, 采用硫代巴比妥酸法(TBA法)⁽⁴⁾。

结 果

一、TAO组与健康对照组 Ery-SODA、MDA与前列环素的变化及相关分析 见表1。

表1 TAO组与对照组 Ery-SODA、MDA、6-Keto-PGF_{1α} 测定结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	Ery-SODA (u/gHb)	MDA (nmol/ml)	6-Keto-PGF _{1α} (pg/ml)
对照	38	1867.88±198.52	6.51±1.01	32.70±10.81
TAO	56	1578.08±225.52*	8.91±1.57*	18.82±8.28*

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$

与健康对照组比较, TAO患者 Ery-SODA及血浆6-Keto-PGF_{1α}含量降低, 血浆MDA含量升高, 经统计学处理, 差异具有显著性意义($P < 0.01$)。对各指标作进一步相关分析发现, 血浆6-Keto-PGF_{1α}含量的改变与Ery-SODA变化呈正相关($r = 0.6167$, $P < 0.01$), 与血浆MDA含量变化呈负相关($r = -0.6594$, $P < 0.01$), 表明TAO患者体内前列环素的变化与氧自由基有关。

二、TAO II、III期患者 Ery-SODA、MDA与前列环素的变化 见表2。

表2 TAO、III期 Ery-SODA、MDA、6-Keto-PGF_{1α} 结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	Ery-SODA (u/gHb)	MDA (nmol/ml)	6-Keto-PGF _{1α} (pg/ml)
TAO II	18	1677.04±160.48	7.77±1.35	23.15±7.48
TAO III	38	1541.74±170.16 ^{△△}	9.44±1.38 ^{△△}	16.77±7.92 [△]
对 照	38	1867.88±198.52	6.51±1.01	32.70±10.81

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与TAO II期比较, $P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

与健康对照组比较, TAO II、III期 Ery-SODA, 血浆6-Keto-PGF_{1α}含量下降, 血浆MDA含量升高, 经统计学处理, 均具有显著性意义($P < 0.01$); III期与II期比较, Ery-SODA下降显著($P < 0.01$), 血浆MDA含量升高显著($P < 0.01$), 血浆6-Keto-PGF_{1α}含量下降明显($P < 0.05$)。

三、TAO各辨证组 Ery-SODA、MDA与前列环素的变化 见表3。

表3 两组及TAO组各证型间 Ery-SODA、MDA、6-Keto-PGF_{1α} 比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	Ery-SODA (u/gHb)	MDA (nmol/ml)	6-Keto-PGF _{1α} (pg/ml)
TAO 阴寒	14	1702.63±169.18 [*]	7.94±1.16 [*]	24.63±7.66 [*]
TAO 血瘀	12	1680.03±141.69 [*]	8.14±1.64 [*]	23.60±6.41 [*]
TAO 湿热	14	1537.02±137.21 ^{△△}	9.48±1.25 ^{△△}	14.24±6.69 ^{△△}
TAO 热毒	16	1453.58±137.70 ^{△△}	9.79±1.42 ^{△△}	14.16±6.23 ^{△△}
对照	38	1867.88±198.52	6.51±1.01	32.70±10.81

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与TAO阴寒组或血瘀组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

与健康对照组比较, TAO阴寒组、血瘀组、湿热组和热毒组 Ery-SODA、血浆6-Keto-PGF_{1α}含量均显著降低($P < 0.01$), 血浆MDA含量升高显著($P < 0.01$)。与阴寒组和血瘀组比较, 湿热组、热毒组 Ery-SODA下降显著($P < 0.01$, $P < 0.05$); 血浆MDA在湿热组与热毒组均显著升高($P < 0.01$), 6-Keto-PGF_{1α}含量则下降显著($P < 0.01$)。阴寒组与血瘀组, 湿热组与热毒组之间变化无显著性意义($P < 0.05$)。

四、TAO寒热辨证 Ery-SODA、MDA与前列环素的变化 见表4。

表4 TAO寒热证 Ery-SODA、MDA、6-Keto-PGF_{1α} 测定结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	Ery-SODA (u/gHb)	MDA (nmol/ml)	6-Keto-PGF _{1α} (pg/ml)
寒证	26	1692.19±154.44 [*]	8.04±1.38 [*]	24.15±7.01 [*]
热证	30	1492.52±141.57 [△]	9.65±1.33 [△]	14.20±6.33 [△]
对照	38	1867.88±198.52	6.51±1.01	32.70±10.81

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与寒证比较 $\Delta P < 0.01$

TAO寒证组和热证组与健康对照组比较, Ery-SODA、血浆6-Keto-PGF_{1α}水平均显著下降($P < 0.01$), 血浆MDA水平升高显著($P < 0.01$)。热证组与寒证组比较, Ery-SODA、6-Keto-PGF_{1α}下降与MDA

升高均具有显著性意义($P < 0.01$)。

讨 论

作为一种血栓性疾病, VEC功能改变在TAO发病过程中具有重要意义⁽⁵⁾。正常情况下, VEC单层紧密铺衬于血管内壁, 不仅参与血管壁的细胞生长、血管平滑肌活动及造血的调节⁽⁶⁾, 而且还是代谢及内分泌器官⁽⁷⁾, 分泌多种生物活性物质, 如前列环素和组织型纤溶酶原激活物(t-PA)及抑制物(PAI)等, 在血栓形成过程中发挥重要作用。TAO患者前列环素水平降低, 表明其对抗血小板活化及血管舒张功能减弱, 血液呈高凝血低纤溶的状态⁽⁸⁾, 这些变化可能与VEC功能改变有关。脂质过氧化反应是细胞损伤的重要机制, 此反应的进行与细胞内代谢产生的超氧阴离子有密切的关系。因此, 测定体内清除超氧阴离子的SOD活性和脂质过氧化的最终产物MDA水平可以用来反映脂质过氧化损伤的严重程度。TAO患者Ery-SODA降低和血浆MDA含量升高表明其氧自由基产生和清除失去平衡, 体内存在严重的脂质过氧化损伤。进一步的分析结果显示, TAO患者前列环素的降低与Ery-SODA和MDA存在显著的相关性。因此我们认为, VEC功能变化可能是膜脂质过氧化反应所致, 自由基参与了VEC损伤。近年来, 有学者提出TAO血栓形成是由于VEC免疫损伤而继发⁽⁹⁾, 我们通过测定TAO患者血清中抗血管内皮细胞抗体检测支持这一观点⁽¹⁰⁾。但是, 在VEC损伤过程中, 免疫因素与氧自由基之间的关系尚不清楚, 有待深入研究。氧自由基导致VEC功能改变与TAO进展有密切关系。从II期向III期转变的过程中, VEC抗血栓功能更为低下, 而脂质过氧化反应更加严重。我们认为, VEC抗血栓功能的逐步减弱, 是由于脂质过氧化反应的进行性加重所致, 而过氧化脂质的不断堆积又为病程加重提供了病理基础。

TAO患者从阴寒型、血瘀型进展至湿热

型、热毒型, 基本反映了TAO寒→瘀→痛→热→腐的病理演变过程。Ery-SODA、血浆MDA和6-Keto-PGF_{1α}水平在各证型间的变化表明, 任何证型的TAO均存在VEC的脂质过氧化损伤, 这种损伤在湿热型和热毒型表现尤为严重。但在阴寒型与血瘀型, 湿热型与热毒型之间其区别并不显著, 其原因可能是寒与瘀, 热与毒之间并无寒热本质的区别。如把TAO分为寒、热两大证型, 则两型中Ery-SODA和MDA、6-Keto-PGF_{1α}变化的差异十分显著。因此, 通过辨证可以推测TAO患者体内脂质过氧化反应的严重程度, 反之, 测定这些物质又可以为TAO的辨证提供一定的客观依据。

总之, TAO的发生发展与体内脂质过氧化和VEC功能改变有密切的关系。提高机体氧自由基清除能力, 防止脂质过氧化损伤, 保护VEC是临床治疗和控制TAO发展的重要手段。

参 考 文 献

1. 陈可冀. 心脑血管疾病研究. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1988: 342.
2. 陈自权, 等. 血栓闭塞性脉管炎的诊断和治疗. 第1版. 西安: 陕西科学技术出版社, 1986: 62.
3. 向森鑫, 等. 9例Down氏综合征患者微量指血超氧化物歧化酶测定结果分析. 中华医学检验杂志 1990; 13(1): 19.
4. 齐凤菊, 等. 血浆丙二醛测定方法——改良的八木国夫法. 第一军医大学学报 1986; 6(2): 152.
5. Scharffetter K, et al. Pathogenetic key position of thromboangiitis: the endothelial cell. Serum dependent proliferation studies of endothelial cells in obliterative angiopathies. Vasa 1986; 15(1): 34.
6. 贺石林. 血管内皮细胞的功能. 国外医学——生理病理科学与临床分册 1986; (2): 74.
7. 汤健, 等. 循环系统的内分泌功能. 第1版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1989: 76.
8. 肖苏红, 等. 血栓闭塞性脉管炎前列腺素代谢与凝血象变化的观察. 中华血液学杂志 1990; 11(10): 517.
9. 王振义, 等. 血栓与止血——基础与临床. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1988: 246.
10. 葛金文, 等. 血栓闭塞性脉管炎血管内皮细胞脂质过氧化损伤的初步研究. 生理学通报(广东) 1991; (1): 32.

Abstract of Articles

An Initial Study of Cytochemistry on Thin-White Coating of Tongue with Deficiency-Cold Syndrome

Wu Zheng-zhi (吴正治), et al

Shenzhen Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, (518029)

The method of qualitative and quantitative analysis and localization of cytochemistry were used to observe the epithelial cells of the thin-white coating of tongue from 25 patients with Deficiency Cold Syndrome (DCS) and 20 normal persons. Results showed that the level of intracellular DNA, PAS of the epithelial cells in the DCS group were markedly enhanced, while the activities of succinate dehydrogenase (SDH) and acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) were reduced significantly compared to normal group, $P < 0.05$, 0.001 , 0.001 , 0.01 respectively.

Key words glossoscopy, thin-white coating, cytochemistry, microspectrophotometry

(Original article on page 649)

Changes of Oxygen Free Radical and Prostacyclin in Thromboangiitis Obliterans and Its Relationship with Syndrome Differentiation

Ge Jin-wen (葛金文), Jiang Yi-ping (江一平), He Shi-lin (贺石林), et al

Hunan College of TCM, Changsha (410007)

Malondialdehyde (MDA) and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels in plasma and erythrocyte superoxide dismutase activities (Ery-SODA) were observed in 56 cases of thromboangiitis obliterans (TAO). The results showed that: (1) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels lowered and MDA raised significantly in TAO ($P < 0.01$), compared with that in control. (2) 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels were markedly related with Ery-SODA and MDA in TAO ($P < 0.01$). (3) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels were lower and MDA higher in III phase of TAO than that in II phase. (4) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels markedly declined and MDA contents elevated significantly in Dampness-Heat (DH) and Heat-Toxin (HT) group, compared with that in Yin-Cold (YC) group and Blood-Stasis (BS) group, respectively ($P < 0.05$, $P < 0.01$); all above substances between YC and BS group or between DH and HT group had no significant differences ($P > 0.05$). (5) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels were lower and MDA higher in Heat Syndrome than that in Cold Syndrome ($P < 0.01$). It suggested that oxygen free radical and lipid peroxide response that might participate in vascular endothelial cell injury in TAO markedly increased and the detection of these substances might provide complementary evidences for syndrome differentiation of TAO.

Key words thromboangiitis obliterans, oxygen free radical, prostacyclin, vascular endothelial cell, Syndrome Differentiation

(Original article on page 652)

Observation on Treatment of Qing-Shen Tiao-Zhi Tablet (轻身调脂片) for Hyperlipemia in Middle and Old-Aged Subjects

Xu Fang (徐放), Fu Hong-mei (富红梅)

Dept. of Gerontology, Shenyang Institute of TCM, Shenyang (110003)

The effect of Qing-Shen Tiao-Zhi (QSTZ) tablet which consisted of *Rheum palmatum* and *Alismatis orientale* etc. on serum TC, TG, HDL-C, LDL-C and atherogenic index (AI) was reported in 73 senile hyperlipemic patient, while another 21 patients took Yue Jian Cao (YJC) oil