

寒热证患者红细胞膜乙酰胆碱酯酶活性测定*

富 宏¹ 彭先忠¹ 蔡添浩²

从已往的研究成果得知: 热证患者的交感神经功能处于兴奋状态; 寒证患者的交感神经功能处于抑制状态⁽¹⁾。通过测定红细胞膜上的乙酰胆碱酯酶(AchE)活性, 进一步了解虚热、虚寒不同证型中副交感神经功能状态。

资料与方法

1 病例选择正常对照组 20 例, 均系本院健康职工, 经中医辨证无寒热表现, 其中男 10 例, 女 10 例, 年龄 35~55 岁, 平均 42.2 岁。患者来自本院门诊及护国寺中医医院。其中虚热证患者 20 例, 男 7 例, 女 13 例, 年龄 35~55 岁, 平均 45.2 岁。病种包括神经衰弱, 甲状腺功能亢进(甲亢), 月经不调, 神经官能症, 更年期综合征, 血小板减少, 高血压症, 肺结核, 糖尿病等; 按中医辨证多属肝肾阴虚, 心肾不交, 肺阴虚, 心阴虚, 肾阴不足等证。虚寒证组为 20 例, 男 2 例, 女 18 例, 年龄 35~55 岁, 平均 42.0 岁。病种包括甲亢, 慢性浅表性胃炎, 慢性十二指肠溃疡, 贫血症(原因待查), 偶发心律不齐, 神经衰弱等证, 按中医辨证多属脾胃虚寒, 脾肾阳虚, 心气不足, 气血两虚等证。

2 中医辨证标准 按文献⁽²⁾确定证型。

3 样品收集处理方法 晨起空腹抽取静脉血, 肝素抗凝, 迅速分出部分全血, 加 0.1 mol/L PBS(pH 7.4)缓冲液混匀, 2000 rpm 离心 10 min, 弃去上清, 然后用 50 mmol/L Tris-HCl 溶液洗涤 2 次, 均 2000 rpm 离心 10 min, 再用 10 mmol/L Tris-HCl 溶液洗涤, 3500 rpm 离心 20 min, 重复 3 次, 弃去上清, 管内即为红细胞膜, 待测 AchE 及等量膜蛋白含量。

4 膜蛋白含量测定 取制备好的红细胞

膜加 0.25 ml 0.1 mol/L PBS(pH 8.0), 加入 0.25 ml 1N NaOH 溶液, 于 70°C~80°C 温育 20~30 min 至全溶(透明), 制成膜蛋白水解液。取膜蛋白水解液 100 μ l, 加 5 ml 考马斯亮兰溶液, 2 min 后用紫外分光光度计在 594 nm 波长下测 OD 值, 在标准曲线上找出和光密度相对应的蛋白含量。

5 膜 AchE 活性测定 用改良的 Ellman 法测定⁽³⁾。采用纯品硫代碘化乙酰胆碱(Fluka 公司产品), 二硫双硝基苯甲酸(中国科学院上海生化研究所产品)与红细胞膜上的 AchE 反应, 反应温度 37°C, 时间 10 min, 10 min 后用久效磷中止反应, 用紫外分光光度计在 410 nm 条件下测定 OD 值。对照管为反应前先加入久效磷管。

结 果

膜 AchE 活性 用 1 mg 膜蛋白 1 min 参加反应的硫代乙酰胆碱(ATCh)的 nmol/mg, ($\bar{x} \pm S$)数来表示。测定结果: 正常值为 205.75 ± 50.70 ; 虚寒证组为 266.35 ± 93.54 ; 虚热证组为 165.75 ± 63.20 。对 3 组数据进行统计学处理, 结果: 虚热证组 RBC 膜上 AchE 活性比正常组低, 其差异有显著性 ($P < 0.05$); 虚寒证组比正常组高, 差异也有显著性 ($P < 0.05$); 虚寒证组比虚热证组明显增高, 差异极其显著 ($P < 0.001$)。

讨 论

有人认为⁽⁴⁾, 植物神经功能是通过介质来实现的。乙酰胆碱在体内合成、贮存、释放等过程在一定程度上反映着胆碱能神经的机能状态。而红细胞膜上的 AchE 为真性胆碱酯酶, 它反映副交感神经及其神经介质乙酰胆碱的变化⁽⁵⁾, 而乙酰胆碱的代谢又与 AchE 紧密相关, 故红细胞膜上的 AchE 可反映副交感神经及其神经介质乙酰胆碱的变化。

* 自然科学基金资助的部分内容

1. 北京医科大学第一医院中西医结合研究室(北京 100034); 2. 北京医科大学第一医院中心实验室

从本实验的结果可以看出人体处于虚寒证状态时,副交感神经功能是兴奋的,而处于虚热状态时,副交感神经功能是抑制的。此结果与交感神经功能在虚热证时兴奋性增高,在虚寒证时兴奋性降低正相反。说明机体处于寒、热不同的证型时,植物神经中的交感神经和副交感神经二者的机能状态是不一样的。这为进一步深入阐明中医寒热的本质提供了一个实验依据。

参 考 文 献

1. 谢竹藩, 唐子进, 马 珩. 从尿中儿茶酚胺及 cAMP、

cGMP 的排出量探讨中医寒证、热证本质. 中西医结合杂志 1986; 6(11): 651.

2. 沈自尹整理. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志 1986; 6(10): 599.

3. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, et al. A new and rapid Colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem pharmacology 1961; 7: 88.

4. 张 铎. 久效磷对硫磷抑制乙酰胆碱酯酶动力学比较. 北京医科大学学报 1988; 20(1): 47.

5. 匡培根, 杨左廉, 张凤英. 耳针治疗头痛的临床疗效与乙酰胆碱酯酶关系的观察. 中医杂志 1984; 25(1): 55.

(收稿: 1994-12-05 修回: 1995-02-15)

药膜贴补耳鼓膜穿孔 88 例

涂 鑫

1988 年 6 月~1994 年, 我们用中西药物制成耳用药膜在门诊进行了药膜贴补耳鼓膜穿孔, 取得了较好效果, 现报告如下。

临床资料 88 例(101 耳)均系门诊患者, 男 55 例, 女 33 例, 年龄 7~60 岁, 平均 28.3 岁; 病程 15 天~45 年, 平均 10 年零 3 天。小穿孔(穿孔直径 < 2 mm)16 耳, 中度穿孔(穿孔直径 3~5 mm)40 耳, 大穿孔(穿孔直径 > 5 mm)45 耳。术前已干耳 56 耳, 未干耳 45 耳。患耳内常流脓者 85 耳, 占 84.15%, 听力下降 92 耳, 占 91.08%。

治疗方法 药膜成份 黄芪、黄芩、赤芍、三七、二氧化钛、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡啶酮等。制法: 将黄芪、黄芩、赤芍、三七等切碎, 水煎两次, 合并两次滤液, 浓缩成稠膏状, 加 1 倍量的 75% 乙醇, 拌匀, 静置过夜过滤, 水浴蒸发浓缩成稠膏状, 冷后加入二氧化钛混匀, 羧甲基纤维素钠及聚乙烯吡啶酮用蒸馏水浸泡搅拌全溶, 与上述的膏状药物混合搅匀。倒于消毒好的干玻璃板上, 用玻璃棒拉成薄膜, 置 40℃ 恒温箱鼓风干燥(不要过干, 能脱膜即可), 切成小片, 用食用塑料膜密封, 紫外线灯下消毒后备用。

药膜置入器的制法 用 9 号腰穿针磨去针尖和接头, 在接头处留 2 mm 大的圆锥平面, 从针尖一头套入塑料管以备手持, 即成药膜置入器。用络合碘清洁外耳道和鼓膜, 用 50% 三氯醋酸烧灼耳鼓膜穿孔边缘, 使之出现 1 mm 的白圈, 将药膜剪成略大于穿孔

的圆片, 在药膜置入器平面上涂少许眼药膏, 粘起已剪好的药膜, 送至鼓膜穿孔处, 旋转持手处, 药膜即可贴在穿孔处, 取出置入器(此时患者感到听力明显提高), 术后第 3 天开始滴 5% 尿素液少许, 1 日 2 次, 术后第 5 天复查, 如药膜已溶解吸收, 可再次贴补。

结 果 鼓膜穿孔愈合 91 耳, 占 90.09%, 未愈合的 10 耳(鼓膜穿孔均有不同程度的缩小); 已愈合的 91 耳中, 小穿孔 15 耳, 中穿孔 38 耳, 大穿孔 38 耳; 术前已干耳的 52 耳, 未干耳的 39 耳。贴补 1~5 次 54 耳(59.34%), 贴补 6~10 次的 29 耳(31.86%), 贴补 11 次以上 8 耳(8.79%)。未愈合的 10 耳中, 小穿孔 1 耳, 中穿孔 2 耳, 大穿孔 7 耳, 术前已干耳 4 耳, 未干耳 6 耳, 贴补 1~5 次 4 耳, 贴补 6~10 次 3 耳, 贴补 11 次以上 3 耳。

体 会 药膜主要由黄芪、黄芩、赤芍等中西药物组成, 具有抗菌、抗过敏和促进细胞生长的功能, 所以药膜贴补耳鼓膜穿孔, 不仅可以起到搭桥的作用, 还有抗感染和促进鼓膜生长的作用, 因而效果比较好。因药膜有抗菌作用, 所以对于干耳的要求可以放宽; 对于 45 耳未干耳的进行药膜贴补, 其中 39 耳停止了流脓, 鼓膜穿孔较快愈合, 有 6 耳鼓膜穿孔虽有缩小, 但未能愈合。未愈合的 10 耳中, 有 8 耳为边缘性穿孔, 难以用贴补法来使之愈合。本方法简单易行, 患者无痛苦, 不需住院, 值得推广应用。

(收稿: 1994-11-28 修回: 1995-01-22)