

肝火上炎证患者红细胞内核苷酸含量分析*

朱崇学¹ 金益强¹ 胡小萍² 张翔¹ 鄢东红¹

内容提要 采用高效液相色谱法测定肝火上炎证患者及健康人的红细胞内核苷酸含量,发现肝火上炎证患者红细胞内三磷酸腺苷较健康人降低,一磷酸腺苷高于健康人,腺苷酸池及能荷值均低于健康人,说明肝火上炎证患者代谢旺盛,能量消耗增加,能量储备减少。

关键词 肝火上炎证 腺核苷酸 高效液相色谱 能荷值

Analysis of Nucleotide Level of Human Erythrocytes in Patients with Liver-Fire Exuberance Syndrome ZHU Chong-xue, JIN Yi-qiang, HU Xiao-ping, et al *Institute of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan Medical University, Changsha (410078)*

Level of erythrocytes in 30 patients with Liver-Fire Exuberance Syndrome (LFES) was observed, and that of 30 healthy persons was determined in the meantime as control by high-performance liquid chromatography. It was found that the adenosine triphosphate in erythrocytes of LFES patients was lower and level of adenosine monophosphate was higher than that of healthy persons. While, the levels of adenylate pool and energy load ratio were lower than that of control. These results showed the metabolism was exuberant, the energy consumption increased and the energy storage reduced in patients of LFES.

Key words Liver-Fire Exuberance Syndrome, nucleotide, high-performance liquid chromatography, energy charge

肝火上炎证属中医肝病实火证型,火为阳,具有功能偏亢的特性,在临床上主要表现为目赤肿痛,烦躁易怒等⁽¹⁾。储藏在腺苷酸中的高能磷酸键是机体各种生理功能的主要能源,本研究测定红细胞内核苷酸各组分,探讨肝火上炎证患者功能状态与能量物质的关系。

对象与方法

1 对象 健康人组 30 名,为医院职工和初次献血员,男 17 名,女 13 名;年龄 18~61(32.6±16.3)岁;按中医肝病证候临床辨证标准⁽²⁾,选择肝火上炎证组 30 例(为湘雅医院、长沙市第二医院及南县中医院门诊和住院患者),男 16 例,女 14 例;年龄 20~65(34.2±15.8)岁;病程 1~7(3.57±0.62)天;西医诊断为急性色素层炎 12 例,角膜炎 11 例,眼外伤 3 例及高血压病 4 例。其

中出现目赤肿痛 30 例,头胀头痛 27 例,烦躁易怒 29 例,口干口苦 24 例,大便干结,小便短赤 22 例,舌质红 25 例,苔黄 23 例,脉弦数 20 例。

2 方法

2.1 按文献方法^(3,4)稍加修改,用日本 Shimazu 公司 LC-9 A 高效液相色谱仪(单泵)及 SPD-6 AV 紫外检测器。色谱柱: 15×4.6(I_d)C₁₈ 径向柱(Shimazu 公司)。洗脱液 A: 0.05 mol/L 的 KH₂PO₄、0.05 mol/L 的 P₂HPO₄, pH 6.0; 洗脱液 B: A 液加 8% 甲醇。使用前以 0.4 μm 砂芯漏斗负压抽滤,先用 A 液使三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)出峰,4 min 后用三通阀切换成 B 液洗脱尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)。流速: 1.4 ml/min; 波长: 254 nm; 量程: 0.04 au, 进样量 5 μl, 柱温为室温。

2.2 血样处理 取肝素抗凝静脉血 0.5 ml, 加入 10% HClO₄ 0.5 ml, 剧烈振荡, 3000 rpm 离心 10 min, 收集上清液, 加入

* 国家自然科学基金资助项目

1. 湖南医科大学中西医结合研究所(长沙 410078); 2. 湖南医科大学检验系

3.3 N 的 K_2CO_3 0.05 ml 中和, 离心弃去 $KClO_4$ 沉淀, 调加重蒸水至上清液定容 1 ml。在 0~4℃ 下进行, 静脉新鲜血须尽快处理, 处理后标本立即测定。

2.3 数据统计学方法 核苷酸各组分含量在两组间比较用 Student's t 检验。依据 Atkinson⁽⁵⁾ 的方法, 腺苷酸池 = ATP + ADP + AMP, 蓄能率(能荷值) = $(ATP + \frac{1}{2} AMP) / \text{腺苷酸池}$ 。

结 果

表 1 肝火上炎证和健康人红细胞内核苷酸含量比较 ($\mu\text{mol/g}$, $\bar{x} \pm S$)

组 别	例数	ATP	ADP	AMP	NADP	NAD
健康人	30	4.106 $\pm$ 1.457	0.843 $\pm$ 0.296	0.154 $\pm$ 0.054	0.134 $\pm$ 0.047	0.287 $\pm$ 0.101
肝火上炎证	30	2.011 $\pm$ 0.710*	0.713 $\pm$ 0.253	0.440 $\pm$ 0.155*	0.173 $\pm$ 0.061	0.289 $\pm$ 0.101

注: 与健康人组比较, * $P < 0.01$

肝火上炎证患者 ATP 和 AMP 与健康人组比较差异显著($P < 0.01$), ADP、NADP、NAD 与健康人组比较差异不显著($P > 0.05$)。

3 健康人、肝火上炎证患者红细胞内腺苷酸池水平及能荷值比较, 见表 2。

表 2 肝火上炎证和健康人红细胞腺苷酸池水平及能荷值比较 ($\bar{x} \pm S$)

组 别	例数	腺苷酸池 ($\mu\text{mol/L}$)	能荷值 (%)
健康人	30	5.123 $\pm$ 1.546	0.882 $\pm$ 0.201
肝火上炎证	30	3.164 $\pm$ 1.016*	0.767 $\pm$ 0.184*

注: 与健康人组比较, * $P < 0.05$

肝火上炎证组腺苷酸池和能荷值与健康人组比较差异显著($P < 0.05$), 提示肝火上炎证患者代谢旺盛, 能量消耗增加, 能量储备减少。

讨 论

肝火上炎证是肝火炽盛, 气火上逆所出现的证候, 属实火。本研究通过测定人体红细胞内核苷酸水平以探讨肝火证能量代谢特征。测定正常成熟红细胞内核苷酸含量, 有助于一定程度上了解人体内能量代谢状态⁽⁶⁾。Ericson 等认为, 腺苷酸池(ATP+ADP+AMP)是构成能量代谢的重要参数⁽⁷⁾, 糖酵解过程中

1 标准核苷酸 健康人及肝火上炎证患者红细胞内核苷酸高效液相色谱(HPLC)分析图谱中可见流动相 A 向流动相 B 切换时出现基线漂移和一个切换峰。标准品及红细胞核苷酸色谱图经基线校正后待测峰的分离完全分辨率 R_s 均 > 1.2 。取 1 份血样做 4 次重复测定, ATP、ADP、三磷酸吡啶核苷酸(NADP)、AMP、NAD 的批内变异系数分别为 4.5%、5.1%、6.2%、5.4% 和 4.3%。

2 健康人和肝火上炎证患者红细胞内核苷酸含量, 见表 1。

AMP 或 ADP 生成 ATP, ATP 经 ATP 酶将势能转化成红细胞需能反应, 如钠泵, 所以, 正常情况下, ATP、ADP、AMP 是存在于红细胞中又可相互转化的动态平衡。本研究测定其 ATP、ADP、AMP 含量及能荷值可反映能量供应状态, 红细胞内 NADP、NAD 是糖代谢有关的辅酶, 对于维持红细胞的形态和能量供应起调节作用, 但不是能量的直接来源。

肝为风木之脏, 喜条达, 主疏泄, 如疏泄太过, 气郁化火, 气火上逆则形成肝火上炎证。临床出现目赤肿痛, 头胀, 头痛, 烦躁易怒, 口干口苦, 暴鸣暴聋, 舌质红, 苔黄燥, 脉弦数等一派阳热之象即功能偏亢的特征。

本研究结果显示, 肝火上炎证组红细胞内 ATP 较健康人组低, AMP 较健康人组高, 腺苷酸池水平下降且能荷值减少, 说明肝火上炎证患者 ATP—ADP—AMP 平衡向右移, 机体处于储备能量不断释放, 这与肝火上炎证临床实火征象相一致, 说明肝火上炎证具有代谢旺盛、能量消耗增加、能量储备减少的特点, 并可由此推测肝火上炎证患者能量储备减少并非产能障碍, 主要由于消耗过多, 这有待于进一步论证红细胞膜 ATP 酶等能量代谢环

节。患者 NADP 和 NAD 正常, 说明肝火上炎证患者并无红细胞特定旁路代谢障碍。

参 考 文 献

1. 陈泽奇, 陈国林, 潘其民, 等. 肝火上炎证与肝胆湿热证临床辨证标准的研究. 黑龙江中医药 1992; (4): 12—15.
2. 陈国林, 潘其民, 赵玉秋, 等. 中医肝病证候临床辨证标准的研究. 中国医药学报 1990; 5(1): 66.
3. Emily A, Hull-ryde, William R. et al. Simple step gradient elution of the major high-energy compounds and their catabolites in cardiac muscle using high performance liquid chromatography. J. Chromatography 1986; 377: 165—166.

4. 刘斯奇, 聂洪勇, 卢义钦. 反相高效液相色谱测定人体红细胞内腺嘌呤和吡啶核苷酸. 生物化学和生物物理进展 1986; (6): 49—51.
5. Atkinson DE. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter interaction with feedback modifiers. Biochemistry 1968; 7(14): 4030.
6. 金益强, 刘斯奇, 余美德, 等. 肝阳上亢证病人红细胞内核苷酸水平. 湖南医科大学学报 1988; 13(1): 47—49.
7. Ake Ericson, Frank Niklasson, Carl-Henric de Verdier. A systematic study of nucleotide analysis of human erythrocytes using an anionic exchanger and HPLC. Clinica Chimica Acta 1983; 127(1): 47—50.

(收稿: 1995—03—26 修回: 1996—02—15)

转律汤联合胺碘达隆转复房颤 40 例

傅广生 王金玲

自 1990 年以来, 我们用中药转律汤联合胺碘达隆转复慢性房颤 40 例, 并与单用胺碘达隆进行对照观察, 疗效满意, 现报道如下。

临床资料 病例选择: 心电图检查确诊为心房纤颤, 房颤持续时间一般在 6 个月内, 最长不超过 1 年; 心功能正常或原有心衰已纠正; 心脏超声: 左房 < 50 mm, 且无附壁血栓; 心脏增大, 胸片证实心胸比例 < 55%; 房颤室率 70~100 次/min; 无病态窦房结综合征及 II° 以上房室传导阻滞; 房颤诱因纠正后(如风湿活动)仍持续房颤者。治疗组 40 例, 男 28 例, 女 12 例; 年龄 33~79 岁, 平均 56 岁; 原发病: 冠心病 26 例(伴高血压 17 例), 风湿性心脏病(风心病)8 例, 充血性心肌病 6 例; 40 例中 18 例由快速房颤用西地兰控制在 100 次/min 内; 房颤发生时间 6 个月内者 38 例, 达 1 年者 2 例; 原发病程 3~10 年, 平均 6 年; 入院时心功能: 正常 19 例, II 级 15 例, III 级 4 例, IV 级 2 例; 转律前心衰均已纠正。对照组 40 例, 男 26 例, 女 14 例; 年龄 30~77 岁, 平均 53 岁; 原发病: 冠心病 28 例(伴高血压 16 例), 风心病 6 例, 充血性心肌病 6 例; 13 例快速房颤用西地兰控制在 100 次/min 内; 房颤发生时间 6 个月内 38 例, 10 个月 2 例; 原发病程 3~12 年, 平均 7 年; 入院时心功能正常 20 例, I 级 2 例, II 级 13 例, III 级 3 例, IV 级 2 例, 转律前心衰均已纠正。

治疗方法 治疗组选用转律汤: 红参 10 g 丹参 10 g 苦参 30 g 枣仁 30 g 车前子 30 g 琥珀 8 g (冲服); 血虚加当归 20 g, 龙眼肉 15 g; 阳虚加桂皮

10 g, 附子 10 g; 阴虚加生地 20 g, 玄参 10 g, 麦冬 10 g。每日 1 剂, 煎汤 300 ml, 分 2 次口服。同时口服胺碘达隆(石家庄第五制药厂, 批号 851101)0.2 g, 每日 3 次, 疗程 2 周。转律前测心电图, 治疗期间每日描记心电图 1 次, 转复成功后停用转律汤, 每日服胺碘达隆 0.2 g 以维持窦性心律。对照组单用胺碘达隆, 服药方法、剂量、疗程、观察项目同治疗组。

结果 疗效标准 有效: 服药 2 周内转复为窦性心律者; 无效: 服药 2 周末转复为窦性心律或转复期间因药物的毒副作用或其他原因而终止转律者。结果治疗组 3~7 天转为窦性心律者 24 例(60%), 8~14 天转为窦性心律者 10 例(25%), 总有效率 85%, 无效 6 例(15%)。对照组 3~7 天转为窦性心律者 8 例(20%), 8~14 天转窦性心律者 18 例(45%), 总有效率 65%, 无效 14 例(35%), 经 χ^2 检验, 治疗组总有效率显著优于对照组($P < 0.05$), 转复成功时间较对照组明显缩短($P < 0.05$)。3 个月后随访, 治疗组复发 2 例(5.9%), 对照组复发 2 例(7.7%), 复发原因与心功能恶化有关。

体会 本病属中医学“心悸”、“怔忡”等范畴, 发病机制与气虚血瘀、心脉失养有关。本方中人参改善心肌营养代谢, 增强心肌功能, 减少胺碘达隆的副作用; 丹参活血化瘀, 扩张冠脉有利于房颤的转复; 苦参有奎尼丁样效应, 可加强胺碘达隆的治疗作用。通过临床应用转律汤联合胺碘达隆转复房颤, 疗效高, 副作用少, 易为患者接受, 适用于基层医院应用。

(收稿: 1995—07—10 修回: 1996—02—18)