

补肾化瘀方药对再生障碍性贫血患者骨髓细胞 DNA 含量的影响*

王树庆¹ 李建华¹ 张圣明¹ 刘捷¹ 李义清¹

胡匡祐² 李子孝² 谭爱美¹ 黄宗滨¹

内容提要 采用计算机图像分析技术,对 30 例再生障碍性贫血(AA)患者经补肾化瘀方药治疗前后的骨髓有核细胞进行 DNA 含量测试分析,并与 30 例健康人的测试结果比较,结果表明:AA 患者治疗前骨髓有核细胞 DNA 平均含量明显低于健康人($P < 0.01$),治疗后与健康人趋于同一水平。补肾化瘀方药影响 DNA 含量的机理可能与改善骨髓微循环或(和)刺激造血细胞从而促进 DNA 合成代谢有关。

关键词 补肾化瘀方药 再生障碍性贫血 计算机图像分析技术

Effect of Bushen Huayu Recipe on DNA Content of Myeloid Cells in Aplastic Anemia Patients

WANG Shu-qing, LI Jian-hua, ZHANG Sheng-ming, et al *The Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Shandong(261031)*

Quantification of myeloid cell-DNA in 30 cases with aplastic anemia(AA) was performed with computer image analysis technique pre- and post-treatmentally with Bushen Huayu recipe respectively, and compared with that of a control group of 30 healthy subjects. The results showed the average level of DNA in myeloid cells from AA patients was significantly lower than that of control($P < 0.01$) prior to the treatment and it raised to the same level approximately as that of control after the treatment. This change of DNA quantity might result from the improvement of microcirculation or(and) stimulus to hematopoietical cells which accelerated the DNA anabolism in these cells.

Key words Bushen Huayu recipe, aplastic anemia, computer image analysis technique

近年来,对补肾化瘀治疗再生障碍性贫血(AA)的研究,从实验和临床方面都取得了可喜的成绩。为进一步探讨其治疗机制,我们采用新型的计算机图像分析技术(CIAT)对 30 例 AA 患者用补肾化瘀方药治疗前后的骨髓有核细胞 DNA 含量进行了测试分析,以观察补肾化瘀方药对 DNA 含量的影响。现报道如下。

资料与方法

1 临床资料 全部资料分为两组,治疗组 30 例均为病程较长且经雄激素及其他方法

长期治疗无显效的 AA 患者,符合 1987 年宝鸡全国再生障碍性贫血会议制订的诊断与分型标准^①。男 16 例,女 14 例;年龄 7~63 岁,中位年龄 27 岁;病程 2~228 个月,中位数 22 个月;其中急性 AA(贫血、感染和出血较重)5 例,慢性 AA(以贫血为主,感染和出血较轻)25 例;Hb 20~80 g/L,中位数 46 g/L;WBC($1.2 \sim 4.2$) $\times 10^9$ /L,中位数 2.7×10^9 /L;血小板(PLT)($20 \sim 87$) $\times 10^9$ /L,中位数 55×10^9 /L;网织红细胞(Ret)0.3%~0.6%,中位数 0.4%;骨髓有核细胞增生重度减低 12 例,减低 15 例,活跃 3 例。对照组 30 例,皆为健康的患者家属及志愿者,其中男 20 例,女 10 例;年龄 20~45 岁,平均 36.5 岁。

*北京中关村地区联合分析测试中心资助课题

1. 潍坊医学院附属医院(山东 261031); 2. 中国科学院生物物理研究所

2 治疗方法 治疗组均给予补肾活血汤: 生地 20g 熟地 20g 当归 10g 何首乌 20g 菟丝子 20g 丹参 30g 枸杞子 20g 补骨脂 20g 鸡血藤 30g 女贞子 15g 旱莲草 15g 肉苁蓉 20g 川芎 10g 益母草 30g。水煎两次, 取汁 400 ml, 每天 1 剂, 每周服 5 剂, 休息 2 天, 3 个月为 1 个疗程; 合并感染时, 用经验性抗生素治疗, 如青霉素(每天 800~1600 万 u, 分 2 次静脉注射)、先锋霉素 V(每天 3~6 g, 分 2 次静脉注射)等。严重感染时, 根据药敏结果选择敏感抗生素治疗。有 19 例患者贫血较严重($Hb < 40 g/L$), 间断输注浓缩红细胞, 每次 2~4 u; 有 6 例患者合并严重鼻腔、牙龈或阴道出血; 经输浓缩血小板(每次 12 u, 连续 3 次)或新鲜全血(每次 400~800 ml)后, 出血倾向得以纠正。对照组不作任何处理。

3 标本制备与测试方法

3.1 标本制备 所测患者服药前和服药 2 个疗程后分别做髂骨部位穿刺, 抽吸骨髓液约 0.3 ml, 作骨髓常规涂片, 同时抽吸健康人骨髓约 0.3 ml, 涂于同一载玻片无标记端, 标记端涂患者骨髓。待血膜自然干燥, 用 Feulgen 法^[2]染色后制成标本。

3.2 测试方法 使用西德产 MPV-TAS 显微分光图像分析仪, 随机测量, 波长 450~465 nm, 放大 16×40 倍。每例标本至少测 30 个细胞, 得出骨髓有核细胞 DNA 平均值为任意单位(AU), 同时测定 30 例健康人外周血淋巴细胞(每例测 30 个细胞)的 DNA 含量并以其均值作为正常的二倍体(2N)对照参考值。

4 统计学处理 采用两均数差别的显著性检验做 t 检验。

结 果

1 临床疗效标准 按全国统一标准评定疗效^[3]。基本治愈: 贫血和出血症状消失, Hb : 男性 $> 120 g/L$, 女性 $> 100 g/L$; $WBC > 4.0 \times 10^9/L$, $PLT > 80 \times 10^9/L$, 随

访 1 年以上无复发者。缓解: 贫血和出血症状消失, Hb : 男性 $> 120 g/L$, 女性 $> 100 g/L$; $WBC 3.5 \times 10^9/L$ 左右, PLT 也有一定程度增长, 随访 3 个月病情稳定或继续进步者。明显进步: 贫血和出血症状明显好转, 不输血, Hb 较治疗前 1 个月内常见值增长 $30 g/L$ 以上, 并能维持 3 个月以上者。无效: 经充分治疗后症状、血象未达明显进步者。

2 临床疗效 30 例 AA 患者经 2 个疗程以上治疗及随访, 基本治愈 8 例(26.67%), 缓解 11 例(36.67%), 明显进步 4 例(13.33%), 无效 7 例(23.33%), 总有效率 76.67%。

3 服中药前后 DNA 含量测定结果比较 见附表。治疗组服中药前 DNA 含量与对照组比较及服药前后自身对照比较, 皆有显著性差异($P < 0.01$)。缓解后与健康人 DNA 含量接近($P > 0.05$)。

附表 AA 患者服药前后 DNA 含量比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	细胞数(个)	DNA(AU)
对照	30	1269	12.5604 ± 3.9220
治疗	30 服药前	1055	$7.9532 \pm 1.7987^*$
	30 服药后	1194	$11.9142 \pm 3.6143 \Delta$

注: 与对照组比较, $*P < 0.01$; 与本组治疗前比较, $\Delta P < 0.01$

讨 论

AA 属中医的“血证”、“血枯”、“血劳”等证范畴。其发病与心、肝、肾有关, 与肾更为密切。因肾藏精, 主骨生髓, 精血同源, 精能化血。所以说骨髓的造血功能旺盛与否和肾的盛衰密切相关, 肾脏亏虚则精血化生乏源。肾虚日久必然致瘀, 肾虚与血瘀相互影响而成本病。现代医学认为: AA 是由造血干细胞缺乏、骨髓造血微环境障碍和免疫介导三种原因引起。有学者从分子学水平证实有明显的细胞 DNA 损伤^[4], 我们测试的结果也证实这一点: AA 患者骨髓有核细胞 DNA 平均含量显著低于治疗后及健康人。提示 AA 患者骨髓细胞 DNA 复制减弱或造血功能的部分停滞。

关于 AA 患者 DNA 含量低下的机理, 有学者认为与细胞衰老有关, 是细胞衰老的一种表现, 而 AA 患者的造血细胞是一种衰老的细胞, 这种衰老的细胞部分丧失了增殖能力⁽⁵⁾。多数文献^(5, 6)认为细胞 DNA 含量的高低反映其增殖活性, DNA 含量增多, 细胞分裂增殖旺盛, 反之则分裂增殖受抑。我们认为: 当某些致病因子(化学、生物或物理因素等)进入敏感个体并随血循环到达骨髓血窦腔时, 首先破坏血—骨髓屏障引起骨髓微环境和造血细胞双重损害, 从而影响造血细胞的能量供给, 使 DNA 合成代谢障碍或致病因子直接作用于 DNA (RNA), 影响核酸及蛋白质合成代谢, 导致细胞增殖、分化和发育动力学改变而发病⁽⁷⁾。

因肾虚血瘀是 AA 的重要病机, 故治疗以补肾化瘀为主每能取得较好疗效, 且较单纯补肾或化瘀效果更佳。本研究通过对骨髓有核细胞 DNA 含量的测定结果提示: AA 患者病情的轻重、转归与 DNA 含量密切相关。经补肾化瘀方药治疗后 DNA 含量均有不同程度增高, 病情亦逐渐好转向愈。可见 DNA 含量的变化也是判断 AA 疗效及预后的较可靠指标之一。现代药理研究表明: 补肾化瘀中药既能刺激骨髓造血, 改善骨髓微环境, 又能调整机体免疫功能。有人用体外甲基纤维素半固体培养方法, 观察补肾中药对 AA 骨髓造血祖细胞的作用, 结果发现有良好和直接的促进作用⁽⁸⁾。动物实验亦证实: 补肾化瘀中药可使血液流速和毛细血管网交点明显增加, 从而改善骨髓微环境, 促进骨髓细胞 DNA 的合成代谢并能提高 DNA 的抗损伤能力⁽⁹⁾。根据实验结果, 结合有关文献, 我们认为补肾化瘀方药影

响骨髓有核细胞 DNA 含量的机理为: (1) 直接或通过兴奋脊神经刺激骨髓毛细血管, 使血管扩张、血流增速、骨髓基质细胞 DNA 合成代谢及 rDNA 转录活性增强, 进而改善骨髓缺血、缺氧状态, 促进造血干细胞的增殖与分化; (2) 直接作用于造血干细胞(CFU-S), 启动了 CFU-S 的 DNA 合成, 促使骨髓造血功能的恢复重建; (3) 激活了骨髓细胞内生物氧化酶系列, 使 ATP 产生增加, 能量供给改善或直接作用于 DNA 使核酸及蛋白质合成代谢增强, 进而促进造血细胞的增殖分化。本研究为临床应用补肾化瘀治疗 AA 提供了部分实验依据。

参 考 文 献

1. 第四届全国再生障碍性贫血学术会议, 再生障碍性贫血诊断标准. 中华血液学杂志 1987; 8(8): 封四.
2. 邓家栋, 杨崇礼, 杨天楹. 血液病实验诊断. 第 1 版. 天津: 天津科学技术出版社, 1985: 128—129.
3. 第四届全国再生障碍性贫血学术会议, 再生障碍性贫血疗效标准. 中华血液学杂志 1987; 8(8): 468.
4. 达万明, 欧英贤, 韦树楠, 等. 氯霉素所致再生障碍性贫血发病机理的研究. 中华内科杂志 1988; 27(12): 754.
5. 魏旭东, 赵志平. 再生障碍性贫血 DNA 损伤修复合活性的研究. 中华血液学杂志 1992; 13(10): 540.
6. 谢锦玉, 刘铭福, 黄威权, 等. 人乳腺正常和癌变细胞 DNA 原位定量的研究. 解剖学报 1987; 18(1): 96—100.
7. 李建华, 张圣明, 崔为发, 等. 慢性再生障碍性贫血骨髓细胞组织化学及超微结构动态研究. 中华血液学杂志 1991; 12(5): 234—235.
8. 展昭民. 补肾药对再生障碍性贫血骨髓造血祖细胞作用的研究. 中医药信息 1989; 6(1): 23.
9. 蒋文跃, 李顺成, 王传社, 等. 补肾化瘀方药调整免疫衰老的机理研究. 中国中西医结合杂志 1995; 15(6): 353—355.

(收稿: 1995—09—04 修回: 1996—03—08)

· 书 讯 ·

欢迎订阅本刊《1996 年基础理论研究特集》

为了扩大学术交流, 提高理论水平, 应广大读者的要求, 并经上级有关部门批准, 本刊《1996 年基础理论研究特集》将于 8 月份出版。本特集共收入论文近 140 篇, 附有英文摘要, 约 70 余万字。本特集选题广泛, 内容丰富, 学术水平较高, 科学性较强, 集中反映了我国中西医结合基础理论研究领域近 1~2 年的最新进展。每册定价 38.00 元(另加邮费 3.8 元)。订阅办法: 可直接向本社汇款订购。本社地址: 北京西苑中国中西医结合杂志社(邮编: 100091)。开户银行: 北京工商银行海淀区办事处, 中国中西医结合杂志社。帐号: 046098—24。务请写清收刊者详细地址、姓名及所在地邮政编码, 注明“购 1996 年特集”。