

肝血虚证患者红细胞膜 ATP 酶活性和红细胞耗氧率变化*

石林阶¹ 刘俊凡² 张自强¹ 卢义钦² 舒毅刚³ 陈国林¹ 邢之华¹ 徐金耀²

内容提要 对辨证属肝血虚证的缺铁性贫血和慢性再生障碍性贫血患者分别进行红细胞膜 ATP 酶活性及耗氧率的检测。结果表明,肝血虚证患者红细胞膜 Mg^{2+} -ATP 酶、 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶及 Ca^{2+} -ATP 酶活性均显著低于健康对照组(P 均 <0.01),红细胞耗氧率亦较健康对照组降低($P < 0.01$)。提示肝血虚证患者红细胞膜 ATP 酶活性与红细胞耗氧率低下,以致能量代谢减退。

关键词 肝血虚证 红细胞膜 ATP 酶 耗氧率

Assay of Adenosine Triphosphatase Activity and Oxygen Consumption Rate of Erythrocyte Membrane in Patients with Liver-Blood Deficiency Syndrome SHI Lin-jie, LIU Jun-fan, ZHANG Zi-qiang, et al *The Institute of Integrated TCM and Western Medicine, Hunan Medical University, Changsha (410008)*

The adenosine triphosphatase (ATPase) activity and oxygen consumption rate (OCR) of erythrocyte membrane were determined in patients of iron-deficiency anemia or chronic aplastic anemia with Liver-Blood Deficiency Syndrome (LBDS) diagnosed by Differentiation of TCM. Results showed that the ATPase activity of patients (Mg^{2+} -ATPase, Na^{+} - K^{+} -ATPase and Ca^{2+} -ATPase) lowered very significantly, $P < 0.01$, and OCR also decreased significantly, $P < 0.05$, as compared with normal control. It suggested that both the ATPase activity and OCR of erythrocyte membrane were reduced in LBDS patients, thus to cause the energy hypometabolism.

Key words Liver-Blood Syndrome Deficiency, erythrocyte membrane, adenosine triphosphatase activity, oxygen consumption rate

红细胞是血中主要的细胞,具有其代谢特性。我们曾对肝血虚证患者进行了血液流变学检测^①,发现患者红细胞压积较正常对照组明显降低,表明红细胞数量减少。肝血虚证患者是否伴有红细胞代谢功能的改变,文献报道甚少。本研究对辨证属肝血虚证的缺铁性贫血(iron deficiency anemia,IDA)和慢性再生障碍性贫血(chronic aplastic anemia,CAA)患者分别检测其红细胞膜的 ATP 酶活性与耗氧率,旨在探讨其红细胞的能量代谢情况,现报

告如下。

资料和方法

1 临床资料 采用中医辨证,西医辨病,证病结合的方法选择研究对象。全部对象选自本院血液科和中西医结合研究所的住院及少量门诊患者,经两名医师共同辨证确定。辨证属肝血虚证的第1组患者31例,男11例,女20例,年龄19~56岁,平均 36.6 ± 13.6 岁,其中IDA 16例,CAA 15例,作红细胞膜 ATP 酶活性检测。第2组患者35例,男13例,女22例,年龄21~48岁,平均 35.8 ± 15.2 岁,其中IDA 19例,CAA 16例,作红细胞的葡萄糖耗氧率检测。健康对照组30例,

*国家自然科学基金资助课题(No.39170881)

1. 湖南医科大学中西医结合研究所(长沙 410008); 2. 湖南医科大学生化教研室和血液生化研究室; 3. 湖南医科大学湘雅医院血液病研究室

选自湘雅医院健康献血员, 男女各 15 例, 年龄 20~46 岁, 平均 34.2 ± 10.4 岁。

2 诊断标准 IDA 诊断标准参照“临床疾病诊断依据治愈好转标准”⁽²⁾。CAA 诊断标准符合 1987 年 6 月宝鸡会议修订标准⁽³⁾。辨证标准: 参照本所经过鉴定的辨证标准⁽⁴⁾, (1)眩晕; (2)视物昏花或视力减退; (3)肢体麻木; (4)面、唇、爪甲淡白无华; (5)舌质淡、脉弦细或细。以上(2)、(3)项具有 1 项兼有其他 2 项者即可辨证为肝血虚证(排除具有阴虚、阳虚及气虚表现者)。

3 仪器 XWT-104 型台式自动平衡记录仪购自上海大华仪表厂; Clark 电极和 SP-2 溶氧测定控制器购自中国科学院植物生理研究所; 2219-II 型恒温循环水浴箱由 LKB 生产; 751 型分光光度计购自上海分析仪器三厂。

4 红细胞膜的制备 清晨空腹抽取肘静脉血 5 ml, 以肝素抗凝, 3000 rpm 离心 10 min, 吸去血沉棕黄层(Buffy coat), 用等渗液 Tris-HCl(310 mOsm, pH7.4)洗涤 3 次, 按 1:30 加入预冷的低渗液 Tris-HCl(20 mOsm, 2mmol/L EDTA, pH7.4)。12000 rpm 离心 35 min 后, 可在管壁处见粉红色可流动沉淀物, 用低渗液洗涤 3 次, 制得乳白色细胞膜。全部操作在 0~4℃ 下进行, 膜制品必须保存于 -20℃ 冰箱中。测定 ATP 酶活性前 20 min, 用 2 mg/100 ml 皂素溶膜, 膜蛋白量用改良 Lowry 法测定⁽⁵⁾。

5 红细胞膜 ATP 酶活性测定 采用 Reinila M 等的方法⁽⁶⁾, 分别测定 Mg^{2+} -ATP 酶、 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶。

6 红细胞耗氧率的测定 采用薄膜氧电极(Clark)测氧技术⁽⁷⁾, 并按公式计算红细胞的耗氧率。

7 统计学处理 用方差分析、t 或 t' 检验。

结 果

1 两组红细胞膜 ATP 酶活性比较 见表 1。

表 1 两组红细胞膜 ATP 酶活性比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	Mg^{2+} -ATP 酶 ($\mu\text{mol Pi} \cdot \text{mg 蛋白}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	Na^{+} - K^{+} -ATP 酶 ($\mu\text{mol Pi} \cdot \text{mg 蛋白}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	Ca^{2+} -ATP 酶 ($\mu\text{mol Pi} \cdot \text{mg 蛋白}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
健康对照	30	0.300 ± 0.160	0.250 ± 0.120	0.620 ± 0.170
肝血虚证	31	$0.138 \pm 0.072^{**}$	$0.154 \pm 0.081^{**}$	$0.530 \pm 0.159^{**}$
CAA	15	$0.132 \pm 0.044^{**}$	$0.156 \pm 0.067^{**}$	0.562 ± 0.130
IDA	16	$0.132 \pm 0.081^{**}$	$0.152 \pm 0.093^{**}$	$0.468 \pm 0.215^{*}$

注: 与健康对照组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$

肝血虚证组患者红细胞膜的 Mg^{2+} -ATP 酶、 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶及 Ca^{2+} -ATP 酶活性显著低于健康对照组(P 均 < 0.01)。与健康对照组比较, 除 CAA 患者的 Ca^{2+} -ATP 酶结果差异无统计学意义($P > 0.05$)外, IDA 和 CAA 患者的其他 ATP 酶活性均显著低于健康对照组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 且两组患者的三种 ATP 酶活性组间两两比较均无显著性差异($P > 0.05$)。

2 两组红细胞耗氧率比较 见表 2。

表 2 两组红细胞耗氧率比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	红细胞耗氧率 ($\mu\text{l} \times 10^2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{ml 压积红细胞}^{-1}$)
健康对照	30	107.26 ± 18.46
肝血虚证	35	$82.25 \pm 36.39^{*}$
CAA	16	$68.83 \pm 24.83^{*}$
IDA	19	$100.17 \pm 13.86^{\Delta}$

注: 与健康对照组比较, $*P < 0.01$; 与 CAA 比较, $\Delta P < 0.05$

肝血虚证组患者红细胞的耗氧率较健康对照组明显减少($P < 0.01$); 如按病种分别比较时, 只有 CAA 患者的结果与健康对照组比较差异非常显著($P < 0.01$)。CAA 和 IDA 两者之间亦存在显著性差异($P < 0.05$), 提示 CAA 患者较 IDA 患者耗氧率更低。

讨 论

红细胞膜上含有钠泵, 担负着膜内外 Na^{+} 、 K^{+} 的主动转运, 以维持红细胞内高钾、低钠状态。但这种转运是一个耗能过程, 需要 ATP 的参与⁽⁸⁾。钠泵即红细胞膜 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶, 它是一种镶嵌在膜脂质双层中的特殊酶蛋白, 可被 Na^{+} 、 K^{+} 和 Mg^{2+} 等离子所激活, 分解 ATP 以释出能量。若 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶的活性降低, 就会引起红细胞内 Na^{+}

以致 Ca^{2+} 的浓度增高⁽⁹⁾。这不仅导致红细胞能量水平低下, 而且在 ATP 贫乏的红细胞中, 由于膜蛋白的磷酸化受阻, 将不利于膜蛋白低聚体形成, 从而影响膜骨架的稳定性⁽⁹⁾, 使红细胞的正常形态、结构和功能具有重要作用⁽¹⁰⁾。在成熟红细胞中, 糖的分解代谢相当活跃, 红细胞所需能量约 90% 来自糖酵解, 10% 来自磷酸戊糖途径, 它们为红细胞钠泵提供能量, 维持其正常生理功能⁽⁷⁾。本研究结果表明, 肝血虚证患者红细胞膜的 Mg^{2+} -ATP 酶、 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶及 Ca^{2+} -ATP 酶活性显著低于健康对照组, 且在 IDA 和 CAA 患者之间无显著性差异。添加葡萄糖后, 肝血虚证患者红细胞的耗氧率较健康对照组显著降低, 若分别同健康对照组比较, CAA 降低显著, IDA 降低但差异无显著性意义。

参 考 文 献

1. 石林阶, 陈昌华, 舒毅刚, 等. 肝血虚证患者血液流变学.

- 红细胞变形性检测与分析. 湖南医科大学学报 1996; 21(2): 131—133.
- 中国人民解放军总后勤部卫生部编. 临床疾病诊断依据治愈好转标准. 北京: 人民军医出版社, 1989: 140—141.
- 再生障碍性贫血诊断标准. 中华血液学杂志 1987; 8(8): 封四.
- 陈贵廷, 薛赛琴主编. 最新国内外疾病诊疗标准. 第一版. 北京: 学苑出版社, 1991: 710—712.
- 李虹, 卢义钦, 彭兴华, 等. 人参总皂甙对苯诱发再障大鼠红细胞中四种己糖利用的影响. 湖南医科大学学报 1994; 19(5): 381—384.
- Reinila M, Mac Donald E, Salem N, et al. Standardised method for determination of human erythrocytes membrane adenosine triphosphase. Anal Biochem 1982; 124: 19—26.
- Arnott RD. Effect of thyroid status on Ouabain binding to the human lymphocyte. J Clin Endocri & Metab 1982; 54: 1150—1156.
- De Wardenr HE. Dahl's hypothesis that a saluretic substance may be responsible for a sustained rise in arterial pressure: Its possible role in essential hypertension. Kidney Int 1980; 18: 1—9.
- Grotzer WB. The red cell membrane and its cytoskeleton. J Biochem 1981; 80: 35—37.
- 林钧材主编. 血液生物化学. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 230—232.

(收稿: 1996-02-11 修回: 1996-07-15)

穴位注射治疗变态反应性鼻炎合并过敏性鼻炎 71 例

陶 洪¹ 侯志良¹ 刘桂云¹ 张昭藩¹ 赵 琳¹ 崔建伟²

1990 年 2 月~1995 年 2 月我们以曲安缩松混悬液穴位注射治疗变态反应性鼻炎合并过敏性鼻炎, 取得良好效果, 报道如下。

临床资料 符合变态反应性鼻炎诊断标准〔中西医结合杂志 1989; 9(2): 124〕及伴有季节性或常年性呼吸急促、痰鸣、咳嗽、胸闷及面部青紫等症, 症状缓解后有气喘者, 诊断为过敏性鼻炎者 111 例, 分为穴位组 71 例, 男 48 例, 女 23 例; 年龄 21~60 岁, 平均 41.3 岁; 病程 5~13 年, 平均 7.24 年。71 例患者皮肤敏感试验阳性率 78.54%, 季节性 19 例, 常年性 52 例。对照组 40 例, 男 29 例, 女 11 例; 年龄 26~65 岁, 平均 39.92 岁; 病程 4~12 年, 平均 6.8 年, 皮肤敏感试验阳性率 65.31%, 季节性 19 例, 常年性 21 例。两组具有可比性 ($P > 0.05$)。

治疗方法 穴位组: 曲安缩松混悬液(西德亚斯平大药厂生产, 批号 36194) 40 mg/ml, 加注射用水 1 ml 行两侧迎香穴(每次每侧 0.8 ml)和天突穴(每次 0.4 ml)注射, 每 4 周 1 次, 3 次为 1 个疗程; 治疗期间停止使用抗过敏和平喘药物。对照组: 曲安缩松混悬液 40 mg/ml, 加注射用水 1 ml 行两侧迎香穴(每

次每侧 1 ml)注射每 4 周 1 次, 疗程同穴位组; 并以氨茶碱 100~200 mg 每日 3 次、博利康尼 2.5 mg 每日 2 次、酮替芬 1 mg 每日 2 次口服; 喘息发作时配合舒喘灵每日 3~4 次, 每次 1~2 揲。

结 果 疗效评定标准: 参照变态反应性鼻炎治愈标准〔临床耳鼻喉科杂志 1990; 4(3): 187〕, 哮喘症状经 2 个疗程治疗, 连续 2 年未复发者为显效; 2 年内未发生呼吸急促、咳嗽、痰多, 但仍有胸闷者为有效; 鼻部症状明显改善, 仍有呼吸急促, 咳嗽等症为无效。结果: 穴位组 71 例, 显效 58 例(81.69%), 有效 12 例(16.90%), 无效 1 例(1.41%)。对照组 40 例, 显效 3 例(7.50%), 有效 28 例(70.00%), 无效 9 例(22.50%)。经统计学处理 $P < 0.005$ 。穴位组 58 例显效者, 除局部有泡、有胀感外, 均有唇部麻木感, 0.5 h 后消失; 天突穴颈前区胀感尤为显著; 鼻部显效时间在 0.5~2 h, 呼吸系统症状显效时间在 48 h 后开始。

讨 论 曲安缩松混悬液全身抗炎作用与去炎松相同, 局部作用较去炎松为强。穴位注射通过药液机械刺激和经络循环途径, 作用于相应的经穴及器官, 达到宣肺涤痰、养阴利气目的。

(收稿: 1995-10-04 修回: 1996-01-12)

1: 北京市和平里医院(北京 100013); 2: 中国化学工程公司