

· 临床论著 ·

慢性再生障碍性贫血患者铁过载
与中医血瘀证的相关性研究

刘文宾 吴迪炯 叶宝东 高雁婷 胡慧瑾 俞庆宏 沈一平 周郁鸿

摘要 目的 观察慢性再生障碍性贫血患者的中医血瘀证候,探讨血瘀证与铁过载和由铁过载介导的氧化应激反应的相关性。**方法** 选择慢性再生障碍性贫血患者 63 例,根据是否符合铁过载诊断标准分为铁过载组(37 例)和非铁过载组(26 例)。入组患者进行中医血瘀证候评分,采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清铁调素(Hepcidin)、活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平,并与血瘀证进行相关性分析。**结果** 铁过载组中血瘀证 30 例(81.08%),且血瘀证评分显著高于非铁过载组($P < 0.05$);血清铁蛋白(SF)与血瘀证评分呈正相关($r = 0.702, P < 0.01$),Hepcidin 与血瘀证评分呈负相关($r = -0.905, P < 0.01$);铁过载组中 ROS、MDA 表达明显较非铁过载组高($P < 0.05$);SOD、GSH-Px 表达则较非铁过载组明显下降($P < 0.05$),其中 ROS 和 MDA 与血瘀证评分呈正相关($r = 0.403, 0.471, P < 0.01$);SOD、GSH-Px 与血瘀证评分呈负相关($r = -0.645, -0.562, P < 0.01$)。**结论** 铁过载与血瘀证呈显著正相关性;其诱导产生氧化应激反应,与血瘀证相关。

关键词 铁过载;慢性再生障碍性贫血;血瘀证;氧化应激反应

Correlation Study between Iron Overload and Blood Stasis Syndrome in Chronic Aplastic Anemia Patients LIU Wen-bin, WU Di-jiong, YE Bao-dong, GAO Yan-ting, HU Hui-jin, YU Qing-hong, SHEN Yi-ping, and ZHOU Yu-hong Department of Hematology, First Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310006)

ABSTRACT Objective To observe blood stasis syndrome (BSS) of chronic aplastic anemia (CAA) patients, and to explore the correlation between BSS and iron overload as well as oxidative stress response mediated by iron overload. **Methods** According to whether they met the diagnostic criteria of iron overload, 63 CAA patients were assigned to the iron overload group (37 cases) and the non-iron overload group (26 cases). TCM BSS score was graded. The levels of serum Hepcidin, reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) were detected by ELISA. The correlation between these indices and BSS was analysed. **Results** In the iron overload group, 30 patients (81.08%) met the diagnostic criteria of BSS, and TCM BSS score was significantly higher than that of the non-iron overload group ($P < 0.05$). The serum ferritin (FS) level was positively correlated with BSS score ($r = 0.702, P < 0.01$). Hepcidin level was negatively correlated with BSS score ($r = -0.905, P < 0.01$). Compared with the non-iron overload group, the levels of ROS and MDA were significantly higher ($P < 0.05$), and the levels of SOD and GSH-Px obviously decreased in the iron overload group ($P < 0.05$). Levels of ROS and MDA were positively correlated with BSS score ($r = 0.403, P < 0.01; r = 0.471, P < 0.01$). Level of GSH-Px and SOD were negatively correlated with BSS score ($r = -0.645, P < 0.01; r = -0.562, P < 0.01$). **Conclusions** Iron overload was positively correlated with BSS. Oxidative stress response might be induced by iron overload, which was correlated with BSS.

KEYWORDS iron overload; chronic aplastic anemia; blood stasis syndrome; oxidative stress response

基金项目:浙江省中医药优秀青年人才基金资助项目(No. 2015ZQ013);国家中医临床基地科研专项课题(No. JDZX2015118)

作者单位:浙江中医药大学附属第一医院血液科(杭州 310006)

通讯作者:周郁鸿, Tel: 571-86620325, E-mail: szyyblood@163.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20171115. 285

铁过载是慢性再生障碍性贫血患者最常见的并发症之一,近年来越来越受到国内外学者、临床医生的重视。因反复输注红细胞造成输入性铁元素沉积在体内而形成铁负荷过多,导致全身重要组织器官的结构受损和功能障碍^[1],即铁过载,临床上可表现为肝硬化、心力衰竭、糖尿病、性功能不全、甲状腺功能减退、以及关节痛等,严重降低了患者的生活质量和预后^[2]。

目前中医学对于铁过载尚缺乏系统的认识,铁过载患者临床症状常表现为面色黧黑、肌肤甲错、固定刺痛、肢体麻木等,与中医血瘀证相关,有文献报道,铁负荷过多造成的自由基增多、氧化应激反应等与血瘀证有密切关系^[3],本研究从血瘀证入手,观察铁过载及其介导的氧化应激反应与血瘀证的相关性,以期完善铁过载的中医辨证,探索从中医瘀证论治铁过载,提高临床疗效提供依据。

资料与方法

1 诊断标准 慢性再生障碍性贫血诊断标准:依据 2015 年英国血液学标准委员会(British Committee for Standards in Haematology,BCSH)指南关于慢性再生障碍性贫血诊断标准和分型标准^[4]。铁过载的诊断标准:铁蛋白 >1 000 ng/mL 或红细胞总输注量 >20 U,根据炎症标志物纤维蛋白原和 C 反应蛋白(CRP)及肝、肾功能检查,排除活动性肝炎、肝病、肿瘤、溶血和酗酒等因素的影响^[5]。血瘀证评分标准:参考“血瘀证量化标准”^[5],积分 >4 分诊断为血瘀证。

2 纳入及排除标准 纳入标准:符合慢性再生障碍性贫血的诊断标准^[5]。排除标准:合并严重心、脑、肝、肾疾病及精神病患者,英国东部肿瘤协作组(ECOG)评分 >2 分;有严重不可控制的感染、出血等症状的患者;妊娠或哺乳期妇女;有外伤、手术史等其他原因引起的血瘀证者。

3 一般资料 2015 年 1 月—2016 年 3 月纳入本院血液科收治的符合上述纳入、排除标准的慢性再生障碍性贫血患者共 63 例;根据是否符合铁过载诊断标准^[5],分为铁过载组和非铁过载组,其中铁过载组 37 例,男性 20 例,女性 17 例,年龄 14~88 岁,平均(45.13 ± 19.58)岁,病程 6~240 个月,平均(27.77 ± 86.36)个月;非铁过载组 26 例,男性 14 例,女性 12 例,年龄 10~63 岁,平均(35.27 ± 17.41)岁,病程 3~444 个月,平均(24.81 ± 45.51)个月。两组患者年龄、性别、病程比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 观测指标及方法 收集相关病例详细病史及查体,测定血常规、网织红细胞比例(Ret)、CRP、血生

化、骨髓常规、血清铁蛋白(SF)等辅助检查,并按中医血瘀证候评分表进行评分,用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA 法)测铁调素(Hepcidin)、活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)。

5 统计学方法 所有数据集采用 SPSS 17.0 统计软件分析。对所有计量资料进行正态性检验,正态分布且方差齐的计量数据描述以 $\bar{x} \pm s$ 表示;组间比较运用 t 检验进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义;应用 Spearman 进行相关性分析及回归分析。

结 果

1 中医血瘀证分布情况及评分比较(表 1) 按血瘀证评分标准,研究共纳入 63 例,血瘀证评分呈正态分布,均值为(5.13 ± 1.45)分,符合血瘀证诊断(>4 分)共 46 例(73.02%)。最常见症状比例依次为:脉涩或无脉 98.41%(62/63);出血及月经紊乱 69.84%(44/63);眩晕、善忘 69.84%(44/63);肢体麻木或偏瘫 50.79%(32/63);舌象异常 34.92%(22/63);面象异常 28.57%(18/63);肌肤甲错 23.81%(15/63);疼痛 12.70%(8/63);癥瘕 1.59%(1/63)。非铁过载组血瘀证评分明显低于铁过载组($P<0.05$)。

表 1 两组患者血瘀证例数及评分比较

组别	例数	血瘀证 [例(%)]	血瘀证评分 (分, $\bar{x} \pm s$)
非铁过载	26	16(61.54)	4.38 ± 1.33
铁过载	37	30(81.08)	5.64 ± 1.32 *
共计	63	46(73.06)	5.13 ± 1.45

注:与非铁过载组比较, * $P<0.05$

2 SF 和 Hepcidin 与血瘀证的相关性(表 2) 铁过载组 SF 水平高于非铁过载组($P<0.05$);Hepcidin 水平明显低于非铁过载组($P<0.05$)。

表 2 两组患者 SF 和 Hepcidin 比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	SF	Hepcidin
非铁过载	26	734.58 ± 206.73	272.18 ± 42.96
铁过载	37	4 067.63 ± 2 345.61 *	221.00 ± 34.23 *

注:与非铁过载组比较, * $P<0.05$

Spearman 相关分析: SF 与血瘀证评分呈显著正相关($r=0.702, P<0.01$);Hepcidin 与血瘀证评分呈显著负相关($r=-0.905, P<0.01$)。

3 氧化应激反应物质与血瘀证的相关性(表 3) ROS、MDA 铁过载组明显较非铁过载组高($P<0.05$);SOD、GSH-Px 则较非铁过载组明显下降($P<0.05$)。

表 3 两组患者 ROS、MDA、SOD、GSH-Px 比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ROS	MDA	SOD	GSH-Px
非铁过载	26	457.07 ± 23.26	5.01 ± 0.36	88.22 ± 2.64	309.65 ± 14.81
铁过载	37	484.65 ± 24.65 *	5.29 ± 0.38 *	85.10 ± 2.91 *	297.71 ± 15.63 *

注:与非铁过载组比较,* $P < 0.05$

Spearman 相关分析:63 例患者的血瘀证评分与 ROS、MDA 呈正相关($r = 0.403, 0.471, P < 0.01$);与 SOD 和 GSH-Px 呈负相关($r = -0.645, P < 0.01$ 和 $r = -0.562, P < 0.01$)。

讨 论

铁是人体必需的微量元素,在机体内的代谢扮演着重要角色,是血红蛋白、肌红蛋白、细胞的重要组成部分,体内以 SF 和含铁血黄素的形式储存,当机体内铁供给超过需求、铁利用障碍等原因导致铁在某些组织器官储存过多的病理现象就形成铁过载,慢性再生障碍性贫血由于铁利用障碍和输血依赖极易发生继发性铁过载,研究显示发生率 13% ~ 18%^[7],本研究中铁过载发生率显著增高,可能与纳入病例均为病情较重的住院患者有关。且铁过载又可抑制骨髓造血功能,严重影响患者的生活质量和预后。

目前中医学对于铁负荷尚缺乏系统的认识,日本的寺泽捷年氏认为颜面黑色属血瘀证,从辨证论治切入,根据铁过载患者临床症状,认为铁过载与中医血瘀证相关^[8]。本研究共纳入 63 例慢性再生障碍性贫血患者,血瘀证症候积分呈正态分布,符合血瘀证诊断共 46 例,其中铁过载组血瘀证 30 例(81.08%),平均积分(5.64 ± 1.32)分,显著高于非铁过载组($P < 0.05$)。研究结果支持上述观点,显示铁过载与血瘀证的相关性。

从病因病机来看,所输之血为“离经之血”,自外界入体,淤积体内,多次输血导致外源性铁负荷显著增加,“铁”类似有形的实邪,在脉道内与血结合,压迫、阻塞脉络,致血运受阻,而形成血瘀。此外,研究显示 Hcpidin 在铁吸收的调节中发挥负性调控作用^[9],在慢性再生障碍性贫血患者铁过载的发生中扮演着重要的角色^[10]。本研究铁过载组 SF 水平显著高于非铁过载组($P < 0.05$);Hcpidin 水平明显则明显降低($P < 0.05$),同上述结论一致。且 SF 与血瘀证呈显著正相关($r = 0.702, P < 0.01$);Hcpidin 与血瘀证呈显著负相关($r = -0.905, P < 0.01$),进一步证实铁过载与血瘀证呈显著正相关性。

现代研究认为血瘀证与机体血液流变学异常、微循环障碍和相关微观指标异常有关^[10],而这与机体局

部的氧化应激反应亦存在关联。研究证明,铁过载引起的 ROS 升高^[12],导致 DNA 损伤和老化,诱导造血干细胞的老化和凋亡,从而破坏造血干细胞再生能力;ROS 影响造血微环境,直接参与造血干细胞微环境的调控而影响骨髓造血^[13]。MDA 可间接反应体内活性氧水平,当铁大量沉积在肝脏时,致肝细胞脂质过氧化产生 MDA,使血浆中 MDA 升高^[14]。本研究结果显示 ROS 和 MDA 水平铁过载组明显升高($P < 0.05$)。说明氧化应激现象在铁过载组中更加明显。SOD 和 GSH-Px 为抗氧化系统的主要物质和机体内清除氧自由基的重要成分。本研究结果显示,SOD 和 GSH-Px 水平铁过载组明显降低($P < 0.05$),这与 Cheng ML 等^[15]研究结果一致,说明铁过载不仅有促进活性氧生成的作用,对抗氧化系统也存在着损伤破坏作用。此外,血瘀证评分与 ROS、MDA 呈正相关;而与 SOD 和 GSH-Px 呈负相关,再次证实铁过载介导氧化应激反应与血瘀证相关性。

综上所述,铁过载与血瘀证存在显著正相关,为中医活血化瘀法治疗慢性再生障碍性贫血,特别是合并铁过载提供理论依据。与此同时,研究证实铁过载中血瘀证评分与氧化应激反应存在一定相关性,提示中医活血祛瘀可以防止氧化损伤,这也为中医活血祛瘀减少铁过载所致附加损害提供了依据。但本研究尚属探索阶段,仍需活血祛瘀法的多中心随机双盲临床试验验证。

参 考 文 献

[1] Wood JC. Guidelines for quantifying iron overload [J]. Hematology Am Soc Hematol Edu Program, 2014(1): 210 - 215.

[2] Fleming RE, Ponka P. Iron overload in human disease[J]. N Engl J Med, 2012, 366(4): 348 - 359.

[3] 秦旺华, 印大中. 中西医结合研究血瘀证本质的现状及进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(20): 2659 - 2661.

[4] Killick SB, Bown N, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia[J]. Br J Haematol, 2016, 172(2): 187 - 207.

[5] 中华医学会血液学分会/中国医师协会血液科医师分会. 铁过载诊断与治疗的中国专家共识[J]. 中华血液

- 学杂志, 2011, 32(8):572-574.
- [6] 吴迪炯, 罗赞飞, 刘文宾, 等. 慢性“髓劳”患者“血瘀证”与铁负荷过载的相关性研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40(4): 265-269.
- [7] 金朋, 施均, 李星鑫, 等. 再生障碍性贫血患者铁代谢异常及铁过载状况研究[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(10): 877-882.
- [8] 符为民, 徐晋文, 熊宁宁主编. 实用中医瘀血病证治[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 157-158.
- [9] Gardenghi S, Ramos P, Follenzi A, et al. Hfe in iron overload in beta-thalassemia[J]. Ann N Y Acad USA, 2010, 1202(1): 221-225.
- [10] Pinto JP, Ribeiro S, Pontes H, et al. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha[J]. Blood, 2008, 111(12): 5727-5733.
- [11] 杨银花, 王佳宁, 韩雪, 等. 血瘀证与客观检测指标关联性研究进展[J]. 中医临床研究, 2014, 29(6): 142-144.
- [12] Ghoti H, Fibach E, Merkel D, et al. Changes in parameters of oxidative stress and free iron biomarkers during treatment with deferasirox in iron overloaded patients with myelodysplastic syndromes[J]. Haematologica, 2010, 95(8): 1433-1434.
- [13] 谢芳, 赵明峰. 活性氧化物质对骨髓造血功能的影响[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(2):133-136.
- [14] Walter PB, Fung EB, Killilea DW, et al. Oxidative stress and inflammation in iron overloaded patients with beta-thalassaemia or sickle cell disease[J]. Br J Haematol, 2006, 135(2): 254-263.
- [15] Cheng ML, Ho HY, Tseng HC, et al. Antioxidant deficit and enhanced susceptibility to oxidative damage in individuals with different forms of alpha-thalassaemia[J]. Br J Haematol, 2005, 128(1): 119-127.

(收稿:2016-08-10 修回:2017-09-12)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶

《中国中西医结合杂志》第八届编委会名单

总编辑 陈可冀

副总编辑 王文健 史大卓 吕爱平 肖培根 吴伟康 沈自尹 雷燕

顾问 王永炎 邓铁涛 吴咸中 辛育龄 张伯礼 陈香美 陈凯先 陈维养 侯灿

唐由之 曹洪欣

编辑委员

于德泉 马必生 王一涛 王卫霞 王宁生 王伟 王阶 王拥军(上海) 王拥军(北京)
 王昌恩 王学美 王硕仁 王舒 车镇涛 卞兆祥 方邦江 尹光耀 邓跃毅 叶文才 史载祥
 白彦萍 吕志平 吕维柏 朱元杰 朱兵 朱明军 危北海 庄曾渊 刘干中 刘平 刘良
 刘建平 刘建勋 刘保延 刘鲁明 齐清会 阮新民 孙汉董 孙燕 苏励 杨任民 杨宇飞
 杨秀伟 李乃卿 李大金 李廷谦 李军祥 李连达 李国栋 李国勤 李顺成 李恩 李涛
 李焕荣 连方 吴大嵘 吴万垠 吴泰相 吴根诚 吴烈 时毓民 邱峰 张大钊 张永贤
 张永祥 张荣华 张亭栋 张家庆 张敏州 张敏建 陆付耳 陈士奎 陈小野 陈冬燕 范吉平
 范维琥 林志彬 林求诚 林瑞超 郁仁存 果德安 季光 周俊 周霭祥 郑国庆 赵一鸣
 赵伟康 赵健雄 胡义扬 胡镜清 侯凡凡 饶向荣 洪传岳 顾振纶 栗原博(日本) 徐凤芹
 徐治鸿 徐浩 殷惠军 郭军 郭艳 郭赛珊 唐旭东 凌昌全 黄光英 黄晓愚 黄熙
 黄璐琦 梅之南 曹小定 崔红 麻柔 梁晓春 梁繁荣 葛秦生 董竞成 董福慧 韩济生
 谢竹藩 谢明村 谢恬 蔡定芳 裴正学 廖福龙 衡先培 戴瑞鸿

Yung-chi CHENG(美国) Sheng-xing MA(美国) Qun-hao ZHANG(美国)

(以上名单按姓氏笔画为序)