

[文章编号] 1007-3949(2004)12-06-0713-03

•临床研究•

皮层下动脉硬化性脑病患者外周血红细胞和血小板内钙离子含量的变化

薛慎伍, 张兆岩, 李 玮

(济南军区总医院神经内科, 山东省济南市 250031)

[关键词] 神经病学; Binswager 病外周血血细胞内钙离子浓度的变化; 流式细胞术; 红细胞; 血小板; 钙离子

[摘要] 研究 Binswager 病患者外周血血细胞内钙离子浓度, 探讨钙离子异常分布与 Binswager 病形成的关系, 并寻找预防措施。Binswager 病患者 26 例, 健康对照者 20 例, 采用流式细胞术检测外周血血细胞内钙离子浓度。结果发现, Binswager 病组血细胞内钙离子浓度显著高于对照组 ($P < 0.05$)。重度脑萎缩组钙离子含量高于轻中度脑萎缩组。智能检查评分结果发现, 痴呆组血细胞钙离子增加较正常组及痴呆前期组明显 ($P < 0.05$)。结果提示, Binswager 病形成机制与钙离子浓度分布异常有关。钙离子分布异常可能激活细胞内源性核酶和 T 淋巴细胞受体的交联诱发突触传递中神经递质释放, 使红细胞变形能力和血小板聚集性改变, 加重脑组织缺血、缺氧程度。应用钙拮抗剂可预防因脑循环障碍所致的 Binswager 病。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Changes of $IECa^{2+}$ in Blood Erythrocyte and Platelet in Patients with Binswager's Disease

XUE Sherr Wu, ZHANG Zhao Yan, and LI Wei

(Department of Neurology, Jinan Military General Hospital, Jinan 250031, China)

[KEY WORDS] Erythrocyte; Platelet; $IECa^{2+}$; Binswager's Disease

[ABSTRACT] **Aim** To discuss the relationship of abnormal distribution of Ca^{2+} and formation of 26 Binswager's disease, and to find how to prevent the disease. **Method** Binswager group and control group were detected by flow cytometry.

Results $IECa^{2+}$ in blood hemocytes was significantly higher in encephalatrophy group than that in control group ($P < 0.05$).

In the group with severe cerebral atrophy manifested by computer tomography, $IECa^{2+}$ was higher than that of mild and moderate cerebral atrophy group. In the group with dementia, which were detected by the score of intelligent determination, the increase of $IECa^{2+}$ was much more remarkable than that of control group and prophase dementia group ($P < 0.05$).

Conclusions The formation mechanism of Binswager's disease was related to abnormal distribution of $IECa^{2+}$. The abnormal distribution of $IECa^{2+}$ may activate cross-linking of cellular endogenic ribozyme and antibody of T lymphocyte, evoke neurotransmitter release in synapses, change the deformation ability of erythrocyte and aggregation function of platelet, thereby aggravate ischemia of cerebral tissues. Calcium antagonists can prevent Binswager's disease caused by cerebral circulation disorder.

年龄增长除易患慢性躯体疾病外, 最常见就是脑功能改变性疾病, 随着影像学新技术发展和临床诊疗水平的提高, 皮层下动脉硬化性脑病的研究已成为重要的脑缺血性疾病研究的对象。近年来研究证实, 引起皮层下动脉硬化性脑病的因素很多, 但血钙的浓度分布异常是引起急性慢性脑缺血的主要原因之一。本文对 26 例老年皮层下动脉硬化性脑病 (Binswager's disease) 患者外周血红细胞 (以红细胞内离子指数 $IECa^{2+}$ 表示)、血小板内的 $IECa^{2+}$ 含量进行测定, 并对 $IECa^{2+}$ 水平改变与老年皮层下动脉硬化性脑病的发病机理进行了探讨。

1 对象与方法

1.1 研究对象

老年皮层下动脉硬化性脑病患者 26 例, 均为男性, 年龄 66.5 ± 2.5 岁。CT 显示脑萎缩、脑室扩大、脑室周围有脱髓鞘改变。符合脑血管学及全国第四届脑血管病制定的标准诊断^[1]。受试者均排除血液系统性疾病, 并排除两周内应用钙剂和钙拮抗剂治疗。并设无心、脑血管疾病的健康男性 20 例为对照组, 年龄 64.5 ± 3.5 岁, 脑萎缩程度评价主要依据临床表现和 CT 检查脑室测量值和指数^[1,2]。

1.2 采血

发病后抽取肘静脉血 2 mL, 以 2% EDTA 按 1:9 抗凝。

1.3 钙离子测定

[收稿日期] 2004-03-18

[修回日期] 2004-08-10

[作者简介] 薛慎伍, 主任医师, 主要从事脑血管病的基础与临床研究, E-mail 为 xsw_dr@yahoo.com.cn。

用不含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的磷酸盐缓冲剂 (PBS) 各 2 mL, 分别清洗红细胞和血小板, 1 500 r/min 离心 10 min, 共两次, 弃上清液, 吸出沉积的血小板和红细胞。用 PBS 稀释, 调节血小板和红细胞悬液 490 μL 和 1.0 mmol/L 的 Fluor-3/AM 液 10 μL : 两支试管均放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 然后用 PBS 2 mL 漂洗离心两次, 弃上清液, 最后加 PBS 50 μL 待检。

1.4 流式细胞术检测

应用 FACSscan 型流式细胞仪 (美国 BD 公司生产)。每份标本 (包括 Fluor-3/AM 染色管和无 Fluor-3/AM 染色管) 均收检 2 万个红细胞及血小板, 激光光源为 488 nm 氩离子激光, 取数之点图 x 轴取前向散射 (FSC), y 轴取侧向散射 (SSC); 以组方图检测荧光强度, 荧光素 Fluor-3 强度为 x 轴, y 轴为细胞数。荧光散射强度 FL3-H 以对数 (log 值) 放大。计算机存储检测数据。检测条件 (包括染色时间、浓度、温度及电压等) 保持稳定。以 Cell Quest Plot Fluor-3/AM 染色管红细胞荧光强度 (平均道数值) 得出每例 IECa^{2+} 含量 (以红细胞内钙离子指数 IECa^{2+} 表示), 即 $\text{IECa}^{2+} = (\text{受 Fluor-3/AM 作用后红细胞荧光强度平均道数} \div \text{无 Fluor-3/AM 作用红细胞荧光强度平均道数}) \times 1000$ (乘 1000 是为增加检测值精确度)。

1.5 统计学方法

组间比较采用 t 检验。

2 结果

Binswager 病患者的外周血红细胞、血小板中 IECa^{2+} 含量显著高于健康对照组 ($P < 0.05$; 表 1, Table 1)。CT 检查显示脑萎缩的程度不同而红细胞、血小板内 IECa^{2+} 的含量也有差异 (表 2, Table 2)。长谷川智能检查显示红细胞、血小板中 IECa^{2+} 含量在痴呆组显著高于痴呆前期组和得分正常的皮层下动脉硬化性脑病组 ($P < 0.05$; 表 3, Table 3)。

表 1. Binswager 病组与对照组红细胞、血小板中 IECa^{2+} 含量
Table 1. Erythrocyte and platelet IECa^{2+} in Binswagers and control group ($\bar{x} \pm s$)

分 组	<i>n</i>	红细胞	血小板
Binswager 病组	26	1374.18 \pm 461.37 ^a	1848.50 \pm 441 ^b
对照组	20	1133.41 \pm 293.14	1307.23 \pm 376.14

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与对照组比较。

3 讨论

钙离子作为信号传导系统中的第二信使发挥调

表 2. 不同程度的脑萎缩组红细胞、血小板内 IECa^{2+} 含量

Table 2. Erythrocyte and platelet IECa^{2+} in different degree of encephalatrophy group ($\bar{x} \pm s$)

分 组	<i>n</i>	红细胞	血小板
轻度萎缩组	8	1168.91 \pm 276.61	1396.21 \pm 362.33
中度萎缩组	13	1221.15 \pm 433.20	1696.55 \pm 378.57 ^a
重度萎缩组	5	1732.47 \pm 673.31 ^b	2252.74 \pm 584.48 ^b

a: $P < 0.05$, 与轻度萎缩组比较; b: $P < 0.05$, 与中度萎缩组比较。

表 3. 长谷川智能检查表显示红细胞、血小板内 IECa^{2+} 含量

Table 3. Erythrocyte and platelet IECa^{2+} in Chang Guchuan brainpower examination table ($\bar{x} \pm s$)

分 组	<i>n</i>	红细胞	血小板
正常组	4	1039.71 \pm 296.11	1274.56 \pm 292.13
痴呆前期组	13	1183.21 \pm 367.42	1342.66 \pm 371.29
痴呆组	9	1499.31 \pm 421.32 ^{ab}	1864.73 \pm 562.78 ^{ab}

a: $P < 0.05$, 与痴呆前期组比较; b: $P < 0.01$, 与正常组比较。

节细胞增殖、分化及诱导凋亡的介导作用。钙离子在细胞内的浓度升高可激活某些蛋白酶、磷脂酶和內源性核酸, 这些酶的激活可诱发细胞凋亡。有人用细胞内钙离子缓冲试剂和细胞外钙离子螯合剂进行试验直接证实了钙离子浓度的升高可引起细胞凋亡特有的染色体断裂碎片和凋亡性细胞死亡。

本研究结果发现, Binswager 病患者红细胞、血小板内 IECa^{2+} 的含量显著较对照组高。CT 显示脑萎缩程度不同的 Binswager 病组中, 红细胞、血小板内 IECa^{2+} 含量变化的程度有显著差异; 其中中度脑萎缩组外周血红细胞、血小板中 IECa^{2+} 含量显著高于其他两组。另外, 对 Binswager 病患者采用长谷川智能量表评分检查的分组统计中发现, 痴呆组 IECa^{2+} 增高的幅度明显高于正常组和痴呆前期组, 且这种异常含量变化有随脑萎缩和痴呆程度的加重而增高的趋势。

研究表明皮层下动脉硬化性脑病的发生机理不单纯是以往高血压病和动脉弥慢性硬化性病变所致, 可能与钙离子在血液组织中的分布不均有关, 这种分布的失衡可能通过以下几个方面来实现^[3,4]: 钙离子 ionophores 可引起细胞内源性核酸酶的激活和胸腺细胞凋亡时典型的形态改变, 内质网钙离子—ATP 酶抑制剂 thapsigargin 能引起胸腺细胞和其他某些类型的形态学和生物化学改变, 迅速、持久的钙离子浓度升高先于毒性 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞引起的靶细胞的溶解。在 T 淋巴细胞的发育过程中, T 细胞受体的交联可诱发细胞凋亡, 而在此之前

即有钙离子浓度升高。④钙离子介导细胞凋亡的机制可能与钙离子激活的蛋白酶有关。(四)一是胞内 Ca^{2+} 库释放,胞外钙内流促使胞浆 Ca^{2+} 持续升高,启动细胞凋亡信号;二是 Ca^{2+} 的释放打破了细胞内结构的稳定性,使得细胞凋亡效应系统的关键成分开始和细胞结构正常时不能接触到的基膜接触,从而促发细胞凋亡;三是 Ca^{2+} 大量向细胞内移,激发突触传递中神经递质的释放,特别是兴奋性氨基酸(谷氨酸、天门冬氨酸)、单氨基类递质(多巴胺、5-羟色胺和去甲肾上腺素等)的大量释放。这些兴奋性氨基酸,特别是谷氨酸通过 NMDA (N-甲基-D-天门冬氨酸)受体产生细胞毒性作用,并进一步使离子通道开放, Ca^{2+} 大量内流,线粒体肿胀和氧化磷酸化障碍致细胞死亡,同时通过激活许多蛋白酶和脂酶,加速细胞蛋白和脂质降解而使细胞死亡、溶解。

因此红细胞和血小板中 IECa^{2+} 增加后,可诱导

K^{+} 及水外流,红细胞皱缩,表面积和容积下降,血小板聚集性增强,粘度增大^[5],影响血流速度及血流中氧的传递,使血栓烷素 A2 合成增加,在原动脉粥样硬化的基础上,加速微动脉血栓的形成过程,并提示应用钙离子拮抗剂减轻 IECa^{2+} 诱发的各种毒性作用,可预防脑动脉微血栓形成,提高预后。

[参考文献]

- [1] 蒲传强. 脑血管病学. 北京:人民军医出版社,1999.
 - [2] 吴思惠. 头颅 CT 诊断学. 北京:人民卫生出版社,1984.
 - [3] Pomfy M, Nicak A, Mojzis J, et al. Experimental studies of some microthrombotic factors in serious brain ischemia after stobadine pretreatment. *Mol Chem Neuropharmacol*, 1995, **25** (2-3): 115
 - [4] Mcconkey DJ, Sten orrenius. The role of calcium in the regulation of apoptosis. *J Leukoc Biol*, 1996, **59** (3): 775
 - [5] 刘成玉,尹协英. 高血压患者血细胞变形能力与红细胞内钙浓度的关系. *中华老年医学杂志*, 1995, **14** (1): 18-20
- (此文编辑 文玉珊)

•会议征文•

中国检验医学中青年论坛征文通知

为促进我国检验医学(实验诊断学)学术交流与发展,更好地为中青年学者提供展示和交流不同学术观点的平台,发现和培育中青年学术带头人。为此,由中华医学会中华检验医学杂志编辑委员会主办的“中国检验医学中青年论坛”,拟于 2005 年 4 月下旬在深圳召开(具体时间和地点另行通知)。会议设“中国检验医学阳普杯论文奖”;获奖论文将在《中华检验医学杂志》全文发表。现将征文内容和注意事项通知如下:

一、征文内容:(1) 各科疾病的实验室诊断或方法学研究;(2) 检验医学基础与临床结合的研究;(3) 临床实验室管理、医学实验室认可、临床实验室室内质量评价、临床实验室质量控制、临床实验室标准化等实践与研究;(4) 临床检验和血液学实验室诊断研究;(5) 临床生物化学检测的方法学和临床与基础研究;(6) 免疫学实验室诊断的基础与临床研究;(7) 微生物学实验室检测、鉴定和细菌耐药性研究;(8) 检验医学教育理论与教育管理;(9) 其他相关领域的基础与临床研究等。

二、优秀论文奖:本次论坛由广州阳普医疗用品有限公司独家赞助,设立“中国检验医学阳普杯论文奖”。拟设特等奖一个(奖金 20 000 元);一等奖一个(奖金 15 000 元);二等奖 3 个(奖金 8 000 元);三等奖 8 个(奖金 5 000 元)。获奖者由中华医学会颁发获奖证书。

三、征文要求与评奖:(1) 55 岁以下中青年,各级检验医学(实验诊断学)学者和专业技术人员。(2) 投稿:论著、经验总结和论述性均可,必须是未发表过的文章。但评奖入围论文原则上以原始研究(论著)为主;文章全文和 1000 字的摘要各一份,无摘要或摘要字数过少者不予受理。注明详细单位、地址、邮政编码和联系电话。请务必提供文章软盘。(4) 会议成立论文评奖专家委员会。论文以“科学性、创新性、实用性”为基础,在来稿中进行遴选和评审,最后以无记名投票形式产生各奖项。(5) 所有获奖论文均将在本刊公开发表,并附作者简介。(6) 征文截稿日期:2005 年 2 月 28 日。请在信封上注明“中青年论坛”字样。

四、联系地址:稿件请寄北京东四西大街 42 号 中华医学会《中华检验医学杂志》编辑部 袁桂清收,邮政编码为 100710,电话为 010-65249989—1405、1427、2401。传真 010-65273372, Email 为 yuanguiqing@263.net

中华医学会
中华检验医学杂志编辑委员会
2004. 10. 12