

制心肌肥厚的作用。因此可以针对该途径进一步研究维生素 D 类似物,使其有望成为新一代治疗临床心肌肥厚的药物。

参考文献

- 1 李敏,于慧会,时景璞. 25 羟维生素 D 水平与心血管疾病关系的 Meta 分析[J]. 中华疾病控制杂志,2011,16(11):939-942
- 2 Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, *et al.* Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease[J]. *Circulation*,2008,117:503-511
- 3 Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, *et al.* 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study[J]. *Arch Intern Med*, 2008,168(12):1174-1180
- 4 Yuan W, Pan W, Kong J, *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter. [J] *J Biol Chem*

2007,282(9):29821-29830

- 5 陈玲,邹栩. 全球心血管药物研发动态[J]. 中国新药杂志,2010,19(1):8-16
- 6 Ebert R, Schutze N, Adamski J, *et al.* Vitamin D signaling is modulated on multiple levels in health and disease[J]. *Mol Cell Endocrinol*,2006,248(1-2):149-159
- 7 吴淑燕,顾洒洒,李晓莉,等. 维生素 D 类似物帕立骨化醇的药理作用研究进展[J]. 中国药理学杂志,2011,46(22):1700-1703
- 8 Lakshmikanthan S, Zieba BJ, Ge ZD, *et al.* Ras-related protein 1 in smooth muscle and endothelium is required for maintenance of vascular tone and normal blood pressure[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2014, 34(7):1486-1494

(收稿日期:2014-11-15)

(修回日期:2014-12-02)

益髓生血颗粒对血红蛋白 H 病患者抗氧化损伤和细胞因子水平的影响

褚娜利 吴志奎 张新华 王文娟 程艳玲 方素萍

摘要 **目的** 研究益髓生血颗粒对血红蛋白 H 病患者抗氧化损伤和造血相关细胞因子水平的影响。**方法** 采用安慰剂平行对照实验方法,选择 30 例血红蛋白 H 病患者,随机分为治疗组和对照组,每组 15 例,治疗组给予益髓生血颗粒进行治疗,对照组给予安慰剂进行治疗,疗程均为 3 个月。动态监测治疗前后患者 Hb、RBC、HbH 的水平;检测治疗前后血清及红细胞氧化与抗氧化损伤指标(SOD、MDA、GSH-PX)和细胞因子(SCF、GM-CSF、IL-3)活性。**结果** 自益髓生血颗粒治疗 1~3 个月,治疗组患者疗效性血液指标 Hb 水平与治疗前相比显著升高($P<0.01$, $P<0.05$);RBC 疗后 1、3 个月水平与疗前相比显著升高($P<0.05$);Ret 水平治疗后有升高的趋势。对照组经安慰剂治疗后血液指标 Hb、RBC、Ret 水平与疗前相比均无明显改善。经益髓生血颗粒治疗 3 个月后,治疗组患者红细胞 SOD、GSH-Px 水平与疗前相比显著升高($P<0.01$);MDA 水平与疗前相比,显著降低($P<0.01$);血清 SOD 水平与疗前相比显著升高($P<0.01$);对照组各指标水平均无明显变化。经益髓生血颗粒治疗 3 个月后,治疗组患者 SCF 水平与疗前相比显著升高($P<0.05$);GM-CSF、IL-3 水平与疗前相比无明显变化;对照组各指标水平均无明显变化。**结论** 益髓生血颗粒治疗地中海贫血有良好的临床疗效,能显著改善患者血液参数水平。益髓生血颗粒的疗效生物学机制之一与提高 HbH 病患者抗氧化损伤能力和造血正调控细胞因子 SCF 活性有关。

关键词 血红蛋白 H 病 益髓生血颗粒 血液参数 抗氧化损伤 细胞因子

中图分类号 R552

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.06.011

Level of Anti-oxidative Damage and Cytokine in Patients of HbH Disease Treated by Yisui Shengxue Granule. Chu Nali, Wu Zhikui, Zhang Xinhua, *et al.* Guang'anmen Hospital Affiliated to China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Abstract Objective To study the influence of Yisui Shengxue granule on the levels of anti-oxidative damage and cytokine of patients with HbH disease. **Methods** A randomized single-blinded trial was designed. Thirty patients with HbH disease were divided into two groups;15 patients in YSSXG-treated group and 15 in placebo parallel control group. The patients in the two groups were assigned to receive either YSSXG or placebo for three months. The blood parameters [hemoglobin (Hb), red blood cell (RBC) and reticulocytes

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81173167);国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2010CB530406)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院(褚娜利、吴志奎、程艳玲、方素萍);530021 南京,中国人民解放军第 303 医院(张新华);100069 北京,首都医科大学(王文娟)

通讯作者:吴志奎,博士生导师,电子信箱:gamwuzhikui@sina.com

(Ret)] were detected dynamically. We also detected the SOD, MDA and GSH - Px from blood serum as well as red blood cell and the activity of SCF, GM - CSF and IL - 3 from blood serum. **Results** After the treatment of Yisui Shengxue granule, the levels of blood parameter Hb of patients in the treatment group from the first to the end of months were still significantly higher than those of pre - treatment ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and the levels of RBC at the first and the third month were significantly higher than those of pre - treatment; the level of Ret had a rising tendency. The measurements of blood parameters in the placebo group had no statistically changing compared with those of pre - treatment. The activities of erythrocytic SOD and GSH - Px and the serum SOD were significantly higher than those of pre - treatment ($P < 0.01$) and the activity of erythrocytic MDA was significantly lower than that of pre - treatment ($P < 0.01$). The indicators of anti - oxidative damage of the placebo group were no remarkable changing. The level of SCF was significantly higher than that of pre - treatment ($P < 0.05$) and the levels of GM - CSF and IL - 3 had no significant difference with those of pre - treatment in the treatment group as well as in the placebo group. **Conclusion** Yisui Shengxue granule has a positive effect for the patients with HbH disease and dramatically improves the levels of blood parameters. One of biological mechanisms of curative efficacy was to increase the ability of anti - oxidative damage and positively regulate the activity of hematopoietic SCF.

Key words Thalassemias; Yisui Shengxue Granule; Blood parameters; Anti - oxidative damage; Cytokine

地中海贫血是因先天性基因缺陷致使珠蛋白合成障碍引起的一种遗传性溶血性疾病^[1]。它有 α 型和 β 型两种类型。它是世界上发生率高、危害最大的单基因遗传病,至今尚无有效的治疗方法^[2]。根据临床表现的严重程度,将地中海贫血分为轻型、中间型、重型 3 种类型。中间型 α - 地中海贫血又叫血红蛋白 H 病(以下简称 HbH 病),在我国南方尤其是广东省、广西壮族自治区等地的发生率较高。吴志奎课题组根据中医“肾藏精生髓、髓生血”理论,用补肾益髓法代表方——益髓生血颗粒在广西壮族自治区地中海贫血高发区进行了多批次的临床实验,取得了肯定的临床疗效^[3]。为研究益髓生血颗粒对 HbH 病患者抗氧化损伤和造血相关细胞因子水平的影响,吴志奎课题组于 2011 年 7 ~ 10 月在广西壮族自治区地中海贫血高发区采用安慰剂平行对照的试验方法选择 30 例 HbH 病患者,动态观察患者血液参数水平的变化,并检测患者氧化与抗氧化损伤指标和造血相关细胞因子活性水平,现将结果报道如下。

资料与方法

1. 诊断标准:西医诊断根据《血液病诊断及疗效标准》^[4]中对血红蛋白 H 病的诊断标准。

2. 纳入、排除、剔除标准:纳入标准:符合血红蛋白 H 病诊断标准;患者年龄 3 ~ 50 岁;近两个月内未服用其他抗贫血药者。排除标准:伴免疫缺陷,肝、肾及血液系统其他原发性疾病者;妊娠妇女;对试验用药过敏者。剔除标准:未按规定用药者;临床资料数据不全者;试验期间使用可能影响疗效评价的药物或治疗者。

3. 一般资料:30 例 HbH 病患者均为 2011 年 7 ~ 10 月就诊于中国人民解放军第 303 医院的门诊病例。30 例 HbH 病患者中男性 17 例,女性 13 例;患者年龄 6 ~ 40 岁,平均年龄 18.97 ± 9.83 岁;壮族 22 例,汉族 8 例,均为广西籍。

4. 治疗方法:30 例 HbH 病采用随机分组,治疗组 15 例,安慰剂对照组 15 例;治疗组给予益髓生血颗粒,由中国中医科学院广安门医院大兴制剂中心生产(批号:20110602),10 克/袋(含生药量 23.68g)。用法:2 ~ 6 岁,0.5 袋/次,每日 2 次;6 ~ 10 岁,1 袋/次,每日 2 次;10 岁以上 1 袋/次,每日 3 次,温开水冲服。对照组给予安慰剂,安慰剂含糊精和淀粉等,由中国中医科学院广安门医院大兴制剂中心生产(批号:20110519),外包装及服用方法、用量与益髓生血颗粒治疗组完全相同。要求纳入病例在观察期间不输血,坚持服药。药物每月发放 1 次,每月记录其用量。

5. 观察指标及方法:(1)血液参数的检测:动态监测 HbH 病患者血液参数[血红蛋白(Hb)、红细胞(RBC)、网织红细胞(Ret)]的水平。(2)细胞因子活性的检测:检测 HbH 病患者血清中造血细胞因子包括干细胞因子(SCF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM - CSF)、白细胞介素 - 3(IL - 3)的含量。采用欣博盛公司 ELISA 试剂盒[SCF(EHC153.96)批号:H140311 - 53a;GM - CSF(EHC105.96);IL - 3(EHC005.96)批号:H140218 - 13b]。(3)血清和红细胞抗氧化损伤指标的检测:检测 HbH 病患者血清和红细胞中抗氧化损伤指标包括超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)的含量。采用南京建成生物工程研究所生产的 SOD、MDA、GSH - Px 试剂盒[SOD(A001 - 3)批号:20140321;MDA(A003 - 1)批号:20140321;GSH - Px(A005)批号:20140321]。

6. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计软件包进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用配对 t 检验。所有的统计检验均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 治疗组与安慰剂组治疗前后血液指标水平的变化:治疗组患者经益髓生血颗粒治疗 1 ~ 3 个月后疗效性血液指标 Hb 水平与治疗前相比显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);RBC 疗后 1、3 个月水平与疗前

相比显著提高 ($P < 0.05$); Ret 水平治疗后有升高的趋势。安慰剂组患者经安慰剂治疗 1 ~ 3 个月, 血液指标 Hb、RBC 和 Ret 水平与治疗前相比均无明显改善, 详见表 1。

2. 治疗组与安慰剂组治疗前后红细胞及血清抗氧化损伤指标水平的变化: 经益髓生血颗粒治疗 3 个月后, 治疗组患者红细胞 SOD、GSH - Px 水平与治疗前相比显著升高 ($P < 0.01$); MDA 水平与治疗前相比显著降低 ($P < 0.01$)。安慰剂组各指标水平均无明显变化 (表 2)。经益髓生血颗粒治疗 3 个月后, 治疗组患者血清 SOD 水平与治疗前相比显著升高 ($P < 0.01$); MDA、GSH - Px 水平与治疗前相比无明显变化。安慰剂组各指标水平均无明显变化, 详见表 3。

表 2 两组患者治疗前后红细胞抗氧化损伤水平的变化 ($\bar{x} \pm s$)

指标	治疗组 ($n = 15$)		对照组 ($n = 15$)	
	治疗前	治疗后 3 个月	治疗前	治疗后 3 个月
SOD (U/gHb)	6765.79 $\pm$ 557.11	7720.25 $\pm$ 564.12 *	5687.72 $\pm$ 695.65	5575.65 $\pm$ 609.07
MDA (nmol/L)	2.03 $\pm$ 0.53	1.11 $\pm$ 0.59 **	2.62 $\pm$ 0.62	2.31 $\pm$ 0.69
GSH - Px (U/gHb)	164.75 $\pm$ 8.68	183.93 $\pm$ 5.82 **	157.87 $\pm$ 8.21	160.33 $\pm$ 8.23

组内比较, 与治疗前相比, * $P < 0.01$

表 3 两组患者治疗前后血清抗氧化损伤水平的变化 ($\bar{x} \pm s$)

指标	治疗组 ($n = 15$)		对照组 ($n = 15$)	
	治疗前	治疗后 3 个月	治疗前	治疗后 3 个月
SOD (U/gHb)	103.42 $\pm$ 13.73	146.41 $\pm$ 38.95 *	171.11 $\pm$ 53.01	146.25 $\pm$ 20.84
MDA (nmol/L)	3.68 $\pm$ 0.39	3.59 $\pm$ 0.42	2.75 $\pm$ 0.43	2.81 $\pm$ 0.30
GSH - Px (U/gHb)	832.73 $\pm$ 83.32	881.65 $\pm$ 70.08	1032.73 $\pm$ 88.49	1011.57 $\pm$ 93.00

组内比较, 与治疗前相比, * $P < 0.01$

3. 治疗组与安慰剂组治疗前后造血相关细胞因子水平的变化: 经益髓生血颗粒治疗 3 个月后, 治疗组患者 SCF 水平与治疗前相比显著升高 ($P < 0.05$);

GM - CSF、IL - 3 水平与治疗前相比无明显变化。安慰剂组各指标水平均无明显变化, 详见表 4。

表 4 两组患者治疗前后血清造血相关细胞因子水平的变化 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

指标	治疗组 ($n = 15$)		对照组 ($n = 15$)	
	治疗前	治疗后 3 个月	治疗前	治疗后 3 个月
SCF	64.02 $\pm$ 7.67	72.76 $\pm$ 10.84 *	68.95 $\pm$ 10.36	73.35 $\pm$ 12.33
GM - CSF	18.52 $\pm$ 5.15	17.58 $\pm$ 4.74	13.09 $\pm$ 1.11	12.75 $\pm$ 1.49
IL - 3	58.36 $\pm$ 12.95	58.59 $\pm$ 12.42	47.03 $\pm$ 14.09	44.17 $\pm$ 6.32

组内比较, 与治疗前相比, * $P < 0.05$

讨 论

地中海贫血由于血红蛋白珠蛋白基因缺陷而导致肽链失衡, 使得过剩的珠蛋白肽链沉积于红细胞膜, 出现免疫损伤, 诱发氧自由基反应, 继发性酶和代谢异常, 导致红细胞变形性和机械稳定性下降, 最终导致溶血和无效造血, 引起一系列临床综合征^[5]。中医古籍尽管对地中海贫血无专门论述, 但历代医家将其归为“虚劳”、“童子劳”等范畴, 其核心病机为“先

天禀赋不足, 肾精亏虚, 精血化生无源”, 治疗上应采用补肾益髓法^[6]。吴志奎课题组根据经典的中医理论, 采用补肾益髓法代表方益髓生血颗粒治疗地中海贫血, 取得了肯定的临床疗效^[7]。本研究进一步验证益髓生血颗粒治疗地中海贫血的临床疗效, 从地中海贫血发病机制的一个侧面探讨益髓生血颗粒治疗地中海贫血的疗效生物学机制。

研究发现, 经益髓生血颗粒治疗后, 患者主要疗

效性血液指标 Hb 水平与治疗前相比显著升高;安慰剂组疗效性血液指标 Hb 水平与疗前相比无明显改善,说明益髓生血颗粒治疗 HbH 病疗效肯定。地中海贫血患者溶血性贫血的一个重要原因是红细胞对氧化损伤非常敏感^[8]。相对过剩的珠蛋白链沉积在红细胞膜上,与红细胞膜结合,可改变膜蛋白的组成,干扰膜骨架蛋白与膜的联结,导致变形能力下降;诱发膜脂质过氧化反应,导致连接膜骨架的膜蛋白发生氧化损伤,从而造成红细胞膜机械稳定性下降等。MDA 是机体内脂质过氧化损伤的生物标志物^[9]。SOD 和 GSH - Px 是机体抵抗氧化损伤的重要物质^[10,11]。

研究发现,益髓生血颗粒能显著提高 HbH 病患者红细胞及血清抗氧化损伤指标 SOD 和 GSH - Px 水平,降低脂质过氧化物 MDA 水平,说明益髓生血颗粒治疗 HbH 病的临床疗效机制与平衡患者机体氧化与抗氧化损伤系统的平衡有关。SCF 是一类刺激早期造血干细胞及祖细胞增殖和定居的造血生长因子^[12];GM - CSF 具有多种生物学特性,对早期祖细胞具有多项潜能,也对红系和巨核细胞的起始分裂具有刺激作用^[13];IL - 3 为造血调控因子,也为一种炎症因子。研究发现,益髓生血颗粒能提高患者造血正调控因子 SCF 的活性,说明益髓生血颗粒治疗 HbH 病的临床疗效之一与促进机体 SCF 的活性水平有关。

综上所述,益髓生血颗粒治疗 HbH 病的疗效肯定,其疗效生物学机制可能与改善患者抗氧化损伤能力,提高机体造血细胞因子的活性水平有关。

(上接第 2 页)

- 10 Erk S, Spottke A, Meisen A, *et al.* Evidence of neuronal compensation during episodic memory in subjective memory impairment [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2011, 68 (8): 845 - 852
- 11 Rodda J, Dannhauser T, Cutinha DJ, *et al.* Subjective cognitive impairment: functional MRI during a divided attention task [J]. *Eur Psychiatry*, 2011, 26 (7): 457 - 462
- 12 Wang Y, Risacher SL, West JD, *et al.* Altered default mode network connectivity in older adults with cognitive complaints and amnesic mild cognitive impairment [J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 35 (4): 751 - 760
- 13 Li HJ, Hou XH, Liu HH, *et al.* Toward systems neuroscience in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: A Meta - analysis of 75 fMRI studies [J]. *Hum Brain Mapp*, 2015, 36 (3): 1217 - 1232
- 14 Sperling RA, Laviolette PS, O'Keefe K, *et al.* Amyloid deposition is associated with impaired default network function in older persons without dementia [J]. *Neuron*, 2009, 63 (2): 178 - 188
- 15 Amariglio RE, Becker JA, Carmasin J, *et al.* Subjective cognitive complaints and amyloid burden in cognitively normal older individuals [J]. *Neuropsychologia*, 2012, 50 (12): 2880 - 2886
- 16 Li S, Yuan X, Pu F, *et al.* Abnormal Changes of multidimensional

参考文献

- 1 吴志奎. 中医药对边远民族地区人口 - 与健康的贡献 - 益髓生血治疗地中海贫血取得重大进展 [J]. *亚太传统医药*, 2008, 4 (1): 4 - 8
- 2 吴志奎, 张新华, 方素萍, 等. 基于“肾藏精生髓”理论治疗地中海贫血 [J]. *中医杂志*, 2011, 52 (1): 20 - 23
- 3 吴志奎, 张新华, 方素萍, 等. 基于“肾生髓、髓生血”理论治疗地中海贫血 [J]. *世界中医药*, 2014, 9 (6): 717 - 721
- 4 张之南. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 33
- 5 Cao A, Calanella R, Rosatelli MC, *et al.* Clinical experience of management of β - thalassemia: the sarinian experience [J]. *Semin Hematol*, 1996, 33 (1): 66 - 75
- 6 方素萍, 张新华, 吴志奎, 等. 补肾益髓法治疗中间型珠蛋白合成障碍性贫血临床研究 [J]. *医学研究杂志*, 2010, 39 (10): 41 - 44
- 7 吴志奎, 张新华, 李敏, 等. 益髓生血颗粒治疗 β - 地中海贫血 156 例临床观察 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26 (4): 352 - 354
- 8 Rachmilewitz EA, Lubin BH, Shohet SB. Lipid peroxidation in beta - thalassemia major [J]. *Blood*, 1976, 47: 495 - 505
- 9 Duman H, Canatan I D, Alanoglu G, *et al.* The Antioxidant effects of capparitis ovata and deferasirox in patients with thalassemia major [J]. *Blood Disorders Transf*, 2013, 4 (3): 2155 - 2159
- 10 Dhawan V, Kumar KR, Marwaha RK, *et al.* Antioxidant status in children with homozygous β - thalassemia [J]. *Indian Pediatrics*, 2005, 42 (17): 1141 - 1145
- 11 Jomovaa K, Valkob M. Advances in metal - induced oxidative stress and human disease [J]. *Toxicology*, 2011, 283 (2 - 3): 65 - 87
- 12 刘莉, 张新华, 王文娟, 等. 益髓生血颗粒对 α - 血红蛋白 H 病患者造血细胞因子活性与表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2013, 54 (10): 835 - 838
- 13 傅晋翔, 虞斐, 张学光. 再生障碍性贫血患者造血细胞生长因子的测定及其意义 [J]. *新医学*, 2011, 32 (5): 274 - 276

(收稿日期: 2014 - 10 - 27)

(修回日期: 2014 - 11 - 13)

surface features using multivariate pattern classification in amnesic mild cognitive impairment patients [J]. *J Neurosci*, 2014, 34 (32): 10541 - 10553

- 17 Liu J, Yin C, Xia S, *et al.* White matter changes in patients with amnesic mild cognitive impairment detected by diffusion tensor imaging [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (3): e59440
- 18 张忠敏, 崔再续, 郭艳琴, 等. 基于支持向量机的遗忘型轻度认知障碍个体识别研究 [J]. *医学研究生学报*, 2014, 27 (8): 814 - 819
- 19 胡忠婕, 陈楠, 宋海庆, 等. 遗忘型轻度认知障碍和阿尔茨海默病的多模态 MRI 研究进展 [J]. *中华放射学杂志*, 2014, 48 (6): 1 - 4
- 20 Han Y, Wang J, Zhao Z, *et al.* Frequency - dependent changes in the amplitude of low - frequency fluctuations in amnesic mild cognitive impairment: a resting - state fMRI study [J]. *Neuroimage*, 2011, 55 (1): 287 - 295
- 21 胡忠婕, 盛灿, 孙宇, 等. 阿尔茨海默病高风险人群的结构和静息态功能 MRI 特征 [J]. *中华神经科杂志*, 2014, 47 (12): 824 - 830
- 22 Wang J, Zuo X, Dai Z, *et al.* Disrupted functional brain connectome in individuals at risk for Alzheimer's disease [J]. *Biol Psychiatry*, 2013, 73 (5): 472 - 481

(收稿日期: 2015 - 03 - 18)

(修回日期: 2015 - 03 - 21)