

红景天苷对高原红细胞增多症大鼠红细胞膜结构和功能的影响

贾守宁¹, 孙梦茹², 马春花^{1*}, 马丽娟^{1,2}, 张庆光², 葛广波^{2*}

1. 青海省中医院, 青海 西宁 810000

2. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海 201203

摘要: **目的** 研究红景天苷对高原红细胞增多症(HAPC)大鼠红细胞膜结构与功能的影响, 为红景天苷防治 HAPC 提供科学依据。**方法** 40 只 Wistar 大鼠随机分为对照组、HAPC 模型组及红景天苷高、中、低剂量(200、100、50 mg/kg)组, 每组 8 只, 雌雄各半。除对照组外, 其余 4 组制备 HAPC 模型。对照组、模型组大鼠 ig 生理盐水, 红景天苷组大鼠同时 ig 红景天苷, 给药体积为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续给药 40 d。给药结束后, 股动脉取血, 采用生化、酶联免疫法测定大鼠红细胞膜脂质流动性和红细胞膜总胆固醇含量、总磷脂含量, 以及磷脂成分磷脂酸(PA)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰丝氨酸(PS)的含量, Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase 的活性, 红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度。**结果** 红景天苷可显著提高 HAPC 大鼠红细胞膜脂质流动性和红细胞膜总磷脂、PA、PC、PE、PS 含量, 提高 Na^+ , K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase 的活性; 显著降低红细胞膜总胆固醇含量、红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度。**结论** 红景天苷可通过调控红细胞膜脂质成分, 改善红细胞膜的功能和细胞代谢活动, 进而缓解 HAPC 的相关症状。

关键词: 红景天苷; 高原红细胞增多症; 红细胞膜; 结构和功能; 胆固醇; 磷脂

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)15-3960-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.015

Effects of salidroside on structure and function of erythrocyte membrane in high altitude polycythemia rats

JIA Shou-ning¹, SUN Meng-ru², MA Chun-hua¹, MA Li-juan^{1,2}, ZHANG Qing-guang², GE Guang-bo²

1. Qinghai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xining 810000, China

2. Institute of Interdisciplinary Integrative Medicine Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To investigate the effects of salidroside on the structure and function of erythrocyte membrane in rats with high altitude polycythemia (HAPC), and to provide the scientific basis for the mechanism of salidroside preventing and treating HAPC. **Methods** A total of 40 Wistar rats were randomly divided into five groups, control group, HAPC model group, salidroside high-dose (200 mg/kg), medium-dose (100 mg/kg), and low-dose (50 mg/kg) groups, four female and four male rats in each group. In addition to the control group, the remaining four groups established the HAPC model. The rats in the control group and model group were ig administered with saline, and rats in salidroside group were treated with different doses of salidroside at the same time. The dosage volume was 10 mL/kg, and once a day for 40 d. After the administration, blood was collected from femoral artery of the rats. Biochemical and enzyme-linked immunoassay were used to determine the lipid fluidity of erythrocyte membrane, total cholesterol content, total phospholipids content, the content of phospholipid components including phosphatidic acid (PA), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylserine (PS), the activity of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase on erythrocyte membrane, and the concentrations of Na^+ and Ca^{2+} in erythrocyte. **Results** Salidroside can significantly improve the lipid fluidity, total phospholipids, PA, PC, PE, and PS content of erythrocyte membrane, and improve the activity of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase of erythrocyte membrane in HAPC rats. Total cholesterol content on erythrocyte membrane, and the concentrations

收稿日期: 2020-01-20

基金项目: 青海省科学技术厅应用基础研究项目(2017-ZJ-713); 青海省高层次人才(领军人才)项目(2018年, 2019年); 青海省重点研发与转化科技合作专项(2019-HZ-819)

作者简介: 贾守宁, 男, 主任药师, 主要从事中藏药的开发及高原病的研究。E-mail: jiashouning@163.com

*通信作者 马春花 Tel: (0971)8298517 E-mail: qhxmch@sina.com

葛广波 Tel: (021)51323184 E-mail: geguangbo@shutcm.edu.cn

of sodium and calcium in erythrocyte were significantly reduced. **Conclusion** These findings suggested that salidroside can improve the function of erythrocyte membrane and cell metabolic activities by regulating the lipid composition of erythrocyte membrane, thereby alleviating the symptoms associated with high altitude polycythemia.

Key words: salidroside; high altitude polycythemia; erythrocyte membrane; structure and function; cholesterol; phospholipid

高原红细胞增多症(HAPC)是机体因长期暴露于高原缺氧环境中,红细胞过度增生、血液黏度增高和血流阻力增加的一种常见特发性慢性高原病^[1]。由于低氧应激刺激导致人体造血功能和调节机制紊乱,骨髓生成大量红细胞,虽然氧气携带量增加,但同时升高血液黏度,减慢血流速度,使各组织器官灌流减少,加重细胞缺氧,引起以头晕、头疼、疲惫无力、失眠或嗜睡、发绀、结膜充血等多血症为主的症状^[2-3]。研究表明^[4-6],HAPC 常见表现是严重的心、肝、肾等多组织损害,伴高脂血症、高血压、痛风等继发性症的发生率增高,是导致发生混合型慢性高原病的主要原因。

目前,本病一直是高原病防治的难题,由于尚不明确 HAPC 的发病机制,临床上一度缺乏疗效显著的药物治疗。但中医学对于该病有独特的认识,认为其基本病机是瘀血阻络,应以活血化瘀、行气通络的治法治疗^[7],中医药在慢性高原病防治中发挥着重要作用。沈永勤^[8]归纳防治 HAPC 的中药用药规律,发现以红景天为主要原料制备的复方天棘胶囊是临床治疗 HAPC 使用频率最高的药物。前期的大鼠实验研究也证明红景天是防治 HAPC 的有效中药^[9],其主要活性成分红景天苷能够增加 HAPC 大鼠的耳廓微循环的血流量,降低全血黏度,改善微循环^[10],但红景天苷改善 HAPC 症状的分子机制尚未被细致研究。近年来多项研究报道^[11-13],中药可通过改变红细胞膜的结构进而调控红细胞的功能。红细胞膜的正常结构和功能是红细胞维持人体内环境运输、防御、稳定等功能的重要保障,也是红细胞参与生命活动的基础。为此,有必要研究临床防治 HAPC 的常用中药红景天是否可通过改善红细胞膜的结构和功能进而达到防治 HAPC 疾病的目的。

本实验旨在研究红景天主要活性成分红景天苷对 HAPC 发生发展过程中红细胞结构和功能的调节作用、红细胞膜的动态变化及其特征,进而探讨红景天苷防治 HAPC 红细胞低氧损伤的潜在作用和机制,为早期防治 HAPC 提供新的研究思路 and 科学依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

红景天苷(质量分数大于 95%,批号 20170512),成都恒基医药科技有限公司生产;红细胞膜流动性 TMA-DPH 荧光检测试剂盒(批号 HR0954)由北京百奥莱博科技有限公司生产;总胆固醇测定试剂盒(单试剂 GPO-PAP 法)、超微量 Na^+ , K^+ -ATPase 测定试剂盒、超微量 ATP 酶测试盒(Na^+ , K^+ -ATPase、 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase)、钙测试盒、钠测试盒(批号 A111-1-1、A070-2-2、A070-5-1、C002、C004-2)由南京建成生物工程研究所提供;磷脂检测试剂盒(批号 MAK122-1KT)由 Sigma-Aldrich 提供;磷脂酸(PA)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰丝氨酸(PS)ELISA 检测试剂盒(批号 CK-E92986R、CK-E30695R、CK-E30963R、CK-E30694R)由上海源叶生物科技有限公司生产。苯甲基磺酰氟(PMSF,批号 P0100)由北京索莱宝科技有限公司生产;1,6-二苯基 1,3,5-乙三烯(DPH,批号 AAT-21492)由武汉艾美捷科技有限公司生产。

1.2 仪器

FL970 天美荧光分光光度计(广州贝拓科学技术有限公司);Alpha-1106 型可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司);赛默飞酶标仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);HX-10555 恒温循环器、TLL-C 台式高速冷冻离心机(北京四环科学仪器厂)。

1.3 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠 40 只,雌雄各半,体质量(220 ± 20)g,由斯贝特(北京)生物技术有限公司实验动物中心提供,许可证号 SCXK(京)2016-0002;实验动物饲养环境:室温($20 \sim 22$) $^{\circ}\text{C}$,自由饮水,饲固体饲料。

2 方法

2.1 药物配制

分别取 2.0、1.0、0.5 g 红景天苷溶于生理盐水并定容为 100 mL,配成不同质量浓度的红景天苷溶液并低温避光保存。

2.2 动物分组及给药

将 40 只大鼠随机分为 5 组, 每组 8 只, 雌雄各半, 分开饲养, 分别为对照组、HAPC 模型组及红景天苷高、中、低剂量 (200、100、50 mg/kg) 组。除对照组外, 其余 4 组按照文献报道方法^[14]制备 HAPC 大鼠疾病模型。红景天苷组分别 ig 给予不同剂量的药物, 模型组和对照组 ig 等体积生理盐水。每组给药体积均为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 40 d。

2.3 血液样本采集

取血前各组大鼠禁食不禁水, 于末次给药后, ip 乌拉坦进行麻醉, 仰卧于手术台上股总动脉采血, 收集血液标本 4~5 mL 于已肝素化的冷凝管中, 测定各项指标及用于制备红细胞膜。

2.4 红细胞膜的制备

用低渗溶解、差速离心法制备红细胞膜。将收集的血液标本, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 除去主要为白细胞和血小板的中间层, 再以 1:3 加入等渗的 pH 7.4 的磷酸缓冲液 (PBS), 以 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 反复洗涤 3 次, 直至上清液无色, 轻轻吸除上清液, 得到压积红细胞悬液 1.5~2.5 mL。取 0.5 mL 压积红细胞, 向红细胞悬液中以 1:10 加入预冷的 5 mmol/L pH 7.4 Tris-HCl 低渗溶液, 同时加入蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟 (PMSF) 0.1 mmol/L, 放入 4 °C 冰箱中溶血过夜, 将所得红细胞溶血液以 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 再加入 5 mmol/L pH 7.4 Tris-HCl 溶液, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 反复洗涤 3 次, 最后得到乳白色膜或粉红色血影膜样品, 将其 1:1 悬浮在 PBS 溶液中, 用蛋白试剂盒定量膜蛋白, 最后放置 -80 °C 冰箱备用。

2.5 相关生化指标的测定

2.5.1 红细胞膜脂质流动性的测定 取红细胞膜悬液, 加 2 mL 2.0 μmol/L 1,6-二苯基 1,3,5-乙三烯 (DPH) 作荧光探针, 37 °C 孵育 30 min, 加入 pH 7.4 的 10 mmol/L 缓冲液 (PBS), 离心洗涤 2 次, 除标记液。离心条件: 4 °C 下 4 000 r/min 离心 10 min。PBS 重悬样品, 上机检测偏振度。检测条件: 激发波长 362 nm, 发射波长 432 nm, 激发狭缝 5 nm, 发射狭缝 10 nm。检测激发光光轴呈水平方向时水平、垂直方向的荧光强度, 激发光光轴呈垂直方向时水平、垂直方向的强度强度。根据 Shinitzky 等^[15]方法计算荧光偏振度 (polarization, P) 值, 然后根据 Einsteins 硬粒子溶液黏度公式计算细胞膜脂质流

动度 (MF)。

$$MF = (P_{\max}/P - 1)/P$$

P 为荧光偏振度的测定值; $P_{\max} = 0.5$

2.5.2 红细胞膜总胆固醇含量的测定 在提取好的红细胞膜中加入 0.2~0.3 mL 的匀浆介质 PBS (0.01 mol/L, pH 7.4) -PMSF (100:1) 进行匀浆, 冰水浴条件下手动匀浆, 制备好的匀浆液不离心, 混匀, 37 °C 孵育 10 min, 在波长 510 nm 处用酶标仪测定各样品吸光度 (A) 值。

2.5.3 红细胞膜总磷脂含量测定 取红细胞膜顺次加入无水甲醇和氯仿, 震荡混匀, 加 H₂O 离心, 2 000 r/min 离心 5 min, 取下层液体重复离心 1 次; 取下层液体加入 Na₂SO₃, 滤过, 滤液干燥。加氯仿溶解, 加 2 倍体积高氯酸在消化炉上消化至淡黄色, 加 H₂O₂ 加热至无色冷却, 加少量 H₂O, 100 °C 加热 10 min 冷至室温, 按磷脂含量检测试剂盒说明书操作, 检测 A 值, 结合蛋白定量计算红细胞膜磷脂含量。

2.5.4 红细胞膜磷脂成分的测定 (1) 红细胞膜磷脂的提取: 取红细胞膜加入无水甲醇, 混匀, 加入氯仿后在漩涡混匀器上剧烈震荡 2 min, 再加 1 mL 氯仿震荡 1 min, 加去离子水振摇 1 min, 2 000 r/min 离心 5 min, 取底层液体重复 1 次; 取底层液体加入少量的亚硫酸钠, 震荡, 滤过, 收集滤液, 真空干燥, 密封后存于 -20 °C 待测。(2) 磷脂的消化: 取干燥后的膜样品, 加少量氯仿溶解至消化瓶中, 加入 2 倍体积的高氯酸消化, 在消化炉上加热至发白烟, 样品由黑色转变成淡黄色, 取下稍冷, 加 2 滴过氧化氢, 继续加热至溶液呈无色, 冷却, 加少量的水, 于 100 °C 加热 10 min, 使焦磷酸转变为磷酸, 冷至室温, 待测。(3) 使用 ELISA 试剂盒测定磷脂成分 PA、PC、PE、PS 含量, 参照检测试剂盒说明书在 450 nm 波长处用酶标仪测定各样品的 A 值。按标准品线性回归曲线方程计算各样本浓度值。

2.5.5 红细胞膜 Na⁺, K⁺-ATPase 及 Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase 酶活性的测定 采用化学比色法, 取上述红细胞血影膜严格按照试剂盒提供的规范操作步骤进行检测, 660 nm 处测各管 A 值。

2.5.6 红细胞内 Na⁺和 Ca²⁺浓度的测定 吸取 0.5 mL 压积红细胞至组织匀浆器中, 匀浆后得到红细胞匀浆液, 收集匀浆液离心后收集上清, 采用分光光度计检测, 波长 610 nm 或 620 nm, 酶标仪比色, 测各管 A 值。

2.6 数据分析及统计

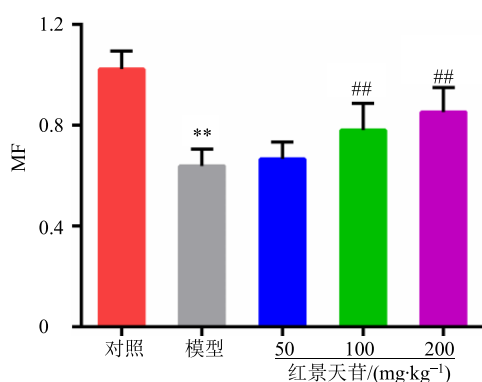
采用 SPSS 17.0 for windows 统计软件, 数据均

采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料组间比较采用单因素方差分析、重复测量方差分析, 多重比较采用 LSD 方法。

3 结果

3.1 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜脂质流动性的影响

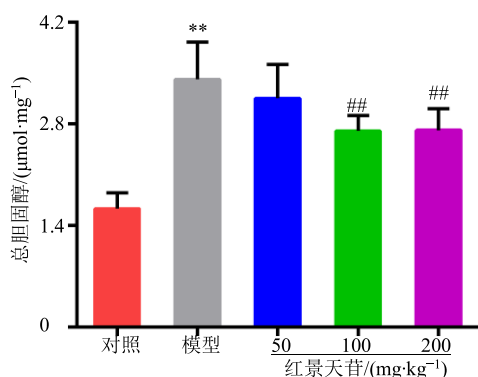
如图 1 所示, 模型组大鼠红细胞膜的脂质流动性显著低于对照组 ($P < 0.01$), 提示 HAPC 大鼠的红细胞膜脂质流动性较健康大鼠明显降低。红景天苷中、高剂量可显著改善 HAPC 大鼠红细胞膜的脂质流动性 ($P < 0.01$), 提示红景天苷可通过调节红细胞膜脂质流动性, 改善血液循环, 进而达到促进



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下图同
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as below figures

图 1 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜脂质流动性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Effect of salidroside on lipid fluidity of erythrocyte membrane in HAPC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



机体供氧和缓解氧化疲劳的功效。

3.2 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜总胆固醇和总磷脂水平的影响

如图 2 所示, 模型组大鼠红细胞膜的总胆固醇水平明显高于对照组 ($P < 0.01$), 总磷脂水平明显低于对照组 ($P < 0.01$)。该结果与临床 HAPC 患者膜总胆固醇和总磷脂的含量变化一致, 提示 HAPC 大鼠的红细胞膜也存在总胆固醇含量上升、磷脂含量下降的现象。值得注意的是, 中、高剂量红景天苷治疗后, 大鼠红细胞膜的总胆固醇含量显著低于模型组 ($P < 0.01$), 高剂量组血中红细胞膜的总磷脂的含量显著高于模型组 ($P < 0.05$), 向对照组回调趋势明显。上述结果提示红景天苷可通过降低 HAPC 大鼠红细胞膜的总胆固醇水平、提高总磷脂含量, 进而改善红细胞的变形能力, 提高细胞膜的稳定性。

3.3 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜磷脂成分的影响

如图 3 所示, 模型组大鼠红细胞膜中 4 种磷脂成分 PA、PC、PE 和 PS 的水平显著低于对照组 ($P < 0.01$), 提示 HAPC 大鼠红细胞膜 PA、PC、PE 和 PS 水平较健康大鼠有明显降低。红景天苷低、中、高剂量组给药后, 大鼠红细胞膜的 PA、PC 和 PE 水平均较模型组有所提升 ($P < 0.05, 0.01$), 尤其是高剂量红景天苷干预后大鼠红细胞膜上述 4 种磷脂成分水平均明显高于模型组 ($P < 0.01$)。该结果提示红景天苷干预对 HAPC 大鼠血中红细胞膜中磷脂成分的水平有正向回调作用, 其对改善红细胞膜异常结构和性能、维持细胞膜稳态有积极作用。

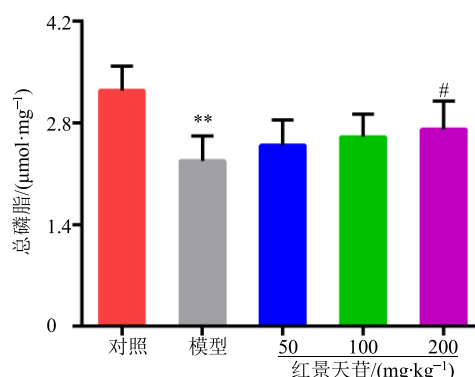


图 2 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜总胆固醇、总磷脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Effect of salidroside on contents of total cholesterol and total phospholipids in erythrocyte membrane of HAPC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

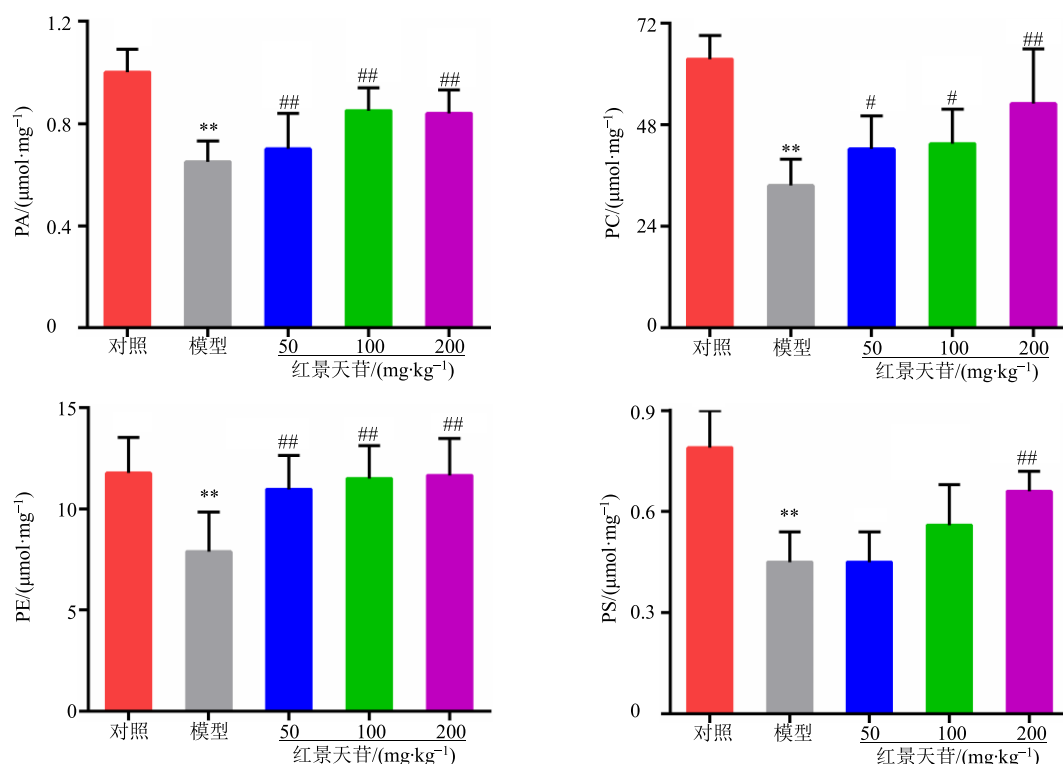


图 3 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜 PA、PC、PE 和 PS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Effect of salidroside on contents of PA, PC, PE, and PS in erythrocyte membranes of HAPC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.4 红景天苷对 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性的影响

结果 (图 4) 显示, 模型组大鼠红细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性明显低于对照组 ($P < 0.01$), 提示 HAPC 模型大鼠红细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase 及 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 的酶活性下降。红景天苷干预后, HAPC 大鼠红细胞膜 Na^+ 、 K^+ -

ATPase、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性明显回调。红景天苷低、中、高剂量组大鼠的红细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 酶活性明显高于模型组 ($P < 0.05, 0.01$), 提示红景天苷可调控 HAPC 大鼠红细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 酶活性消减的程度, 改善红细胞膜的功能和细胞代谢活动。

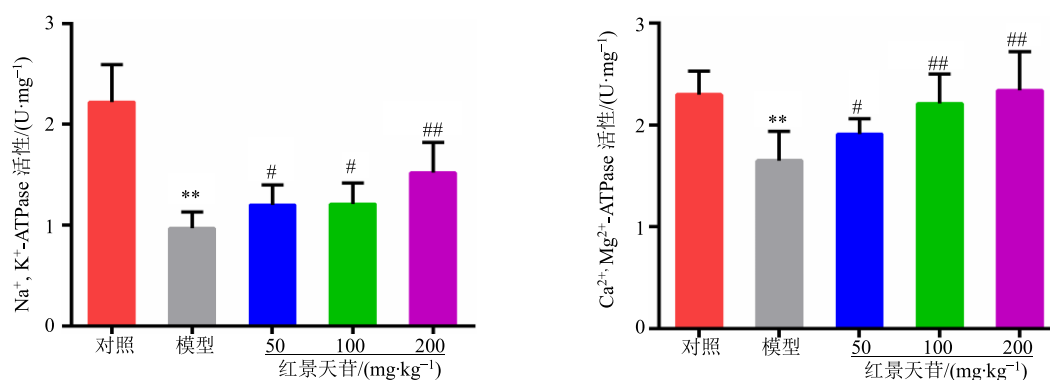


图 4 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 4 Effect of salidroside on activities of Na^+ 、 K^+ -ATPase and Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase in erythrocyte membrane of HAPC rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.5 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度的影响

如图 5 所示, 模型组大鼠红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度水平显著高于对照组 ($P < 0.01$), 提示 HAPC 大鼠相比健康大鼠, 红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度升高。红景天苷干预后, 红景天苷低、中、

高剂量组大鼠红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 的水平明显低于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。该结果提示红景天苷可通过降低 HAPC 大鼠红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度, 维持细胞内外渗透压平衡, 进而保护红细胞正常形态和功能, 提高红细胞膜的稳定性和流动性。

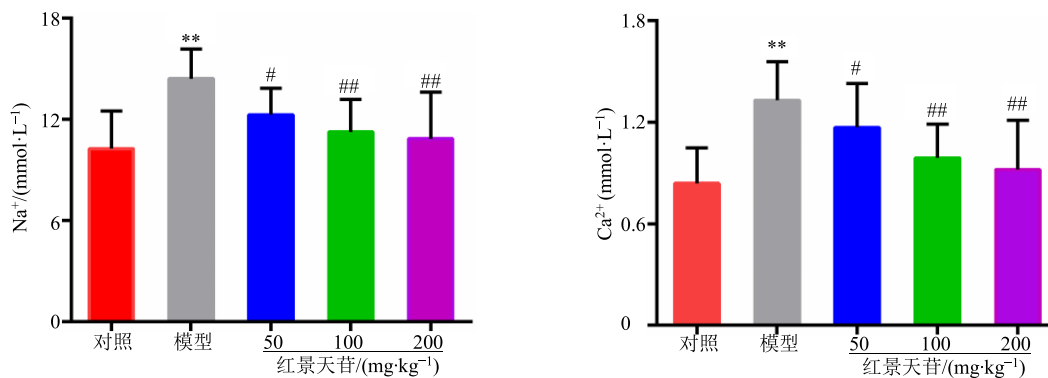


图 5 红景天苷对 HAPC 大鼠红细胞内 Na^+ 和 Ca^{2+} 浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 5 Effect of salidroside on concentration of Na^+ (A) and Ca^{2+} (B) in erythrocytes of HAPC rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

4 讨论

藏药红景天长期用于防治 HAPC, 红景天苷是其活性成分之一。现代药理学研究显示红景天苷具有抗抑郁、抗焦虑、抗应激、抗疲劳、抗氧化、抗缺氧、抗衰老、改善人体造血机能、改善记忆、预防高原反应等多种药理活性^[16-20]。此外, 红景天苷还具有独特的双向调控作用和适应原性作用, 能增强机体应对不同刺激的能力, 使异常变化指标向正常转变。但红景天苷改善 HAPC 症状的分子机制尚不清楚, 基于其药理作用, 本实验对红景天苷在 HAPC 发生过程中对红细胞膜结构和功能的调控作用进行了深入研究。

HAPC 发病与环境缺氧有密切关系, 机体能量代谢异常, 红细胞膜的结构发生变化, 使红细胞膜的物理特性变化, 而红细胞膜物理特性主要是其力学特性, 其力学特性又取决于其结构^[21]。HAPC 使红细胞膜结构的改变必将影响膜的流动性、通透性、渗透脆性, 使膜分子动力学发生改变, 进而影响细胞代谢活动。其中, 红细胞膜流动性与红细胞变形性、寿命、膜表面受体活性、酶活性、特异性抗原、能量转换器以及氧弥散等多种功能密切相关^[22], 研究红细胞膜流动性是了解膜的结构和功能关系的一个重要环节。研究发现^[23], 与健康人相比, HAPC 患者的红细胞膜流动性显著下降, 进而导致红细胞

的变形能力降低、聚集性增加, 血液黏度升高, 机体进一步缺氧。有多项研究发现中药提取物及部分天然产物可通过调节红细胞膜脂质的流动性改善血液循环, 进而提升机体供氧能力^[24-26]。因此, 分析 HAPC 红细胞膜脂质流动性的变化, 对了解 HAPC 患者的红细胞功能异常和研究红景天苷调控红细胞膜结构和功能有重要价值。

红细胞膜组成中脂质约占 50%, 主要由磷脂和胆固醇组成, 磷脂主要包括 PA、PC、PE、PS 等成分。研究发现红细胞膜不同磷脂成分的改变是导致红细胞膜性能异常的主要原因^[27]。在成熟红细胞膜中, 磷脂在脂质双层的成分分布是不对称性的, 即 PC 主要位于膜的外层, PE 的大部分以及全部 PS 位于内层, 这种不对称性对红细胞具有十分重要的意义。磷脂与红细胞的形态、物质转运、识别和清除等密切相关, 还影响红细胞膜内蛋白的功能、血液的黏滞性和凝固性。而胆固醇是红细胞膜脂质双层的重要组成部分, 功能主要是为蛋白质提供结构骨架; 维持膜的通透性, 使细胞正常代谢; 提高膜上脂质双层的机械稳定性; 调节细胞膜的流动性和稳定性, 在维持红细胞形态上起到关键作用^[28]。有研究显示^[29], HAPC 患者红细胞膜磷脂含量降低, 膜胆固醇含量和胆固醇/磷脂值显著升高, 并发现这与红细胞变形能力降低有密切关系, 存在相关性。

三磷酸腺苷酶(ATPase)广泛存在于细胞膜上,与细胞基本功能密切相关。正常细胞中,细胞内 Na^+ 浓度远低于细胞外, K^+ 浓度远高于细胞外,这种梯度电位正是靠 Na^+ 、 K^+ -ATPase水解释放能量来实现:泵出胞内的 Na^+ 并将胞外 K^+ 转入胞内,以维持细胞内外渗透压平衡,保护细胞内外离子浓度稳定。 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase对维持膜脂质不对称分布有重要作用,并将细胞内 Ca^{2+} 主动转送到细胞外,维持细胞内外极高的 Ca^{2+} 浓度差,细胞的许多功能都依赖于这种浓度差,一旦降低,会导致细胞功能性损伤或死亡^[30],而 Mg^{2+} 是 Na^+ 泵和 Ca^{2+} 泵的激动剂。有研究表明^[31-32],细胞内 Ca^{2+} 浓度水平升高影响膜蛋白之间的相互作用,使红细胞膜的黏弹性下降,膜骨架蛋白与脂质分离,并导致细胞膜的稳定性和流动性下降,红细胞变形能力降低。

邹春华等^[33]研究发现 HAPC 患者红细胞膜的 ATPase 活性明显低于正常人,缺氧会导致细胞内线粒体受损,能量代谢紊乱,ATPase 的功能失调,细胞膜离子转运障碍,致细胞内 Na^+ 增多、 K^+ 减少,使红细胞内外渗透压失衡,细胞脆性增加,寿命缩短。因此 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 在维持细胞结构功能方面具有重要意义。

综上,本研究发现红景天苷可改善 HAPC 大鼠红细胞膜的脂质流动性,提示红景天苷可以改善血液循环,进而达到促进供氧和缓解氧化疲劳的功效。红景天苷还可显著提高红细胞膜总磷脂、PA、PC、PE、PS 含量,增加 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 的酶活性;降低总胆固醇的水平和红细胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} 的浓度,提示红景天苷可通过调节红细胞膜的脂质成分,维持红细胞膜的正常结构,改善红细胞膜的功能和细胞代谢活动,进而缓解 HAPC 相关症状。

参考文献

- [1] 白萍,赵泽文,刘晓晴,等.高原红细胞增多症病因发病机制与红细胞膜特征[J].临床军医杂志,2003,31(6): 89-91.
- [2] 杜亚利,白海.高原红细胞增多症及发病机制[J].西北国防医学杂志,2015,36(6): 388-390.
- [3] 中华医学会第三次全国高原医学学术讨论会.我国高原病命名、分型及诊断标准[J].高原医学杂志,2010,20(1): 9-11.
- [4] 青格乐图,张雪峰,裴志伟,等.格尔木地区高原红细胞增多症 87 例临床观察[J].高原医学杂志,2010,20(4): 48-49.
- [5] 王栋军,方海宴.高原红细胞增多症致痛风 19 例[J].临床军医杂志,2003,31(3): 110.
- [6] 黄跃,彭东,罗群,等.高原红细胞增多症与高原病关系的临床回顾[J].中华血液学杂志,2005,26(10): 621-622.
- [7] 邹澍宣.中医药治疗高原红细胞增多症探析[J].天津中医药,2014,31(5): 278-280.
- [8] 沈永勤.中药防治高原红细胞增多症用药规律分析[J].时珍国医国药杂志,2010,21(5): 1206-1207.
- [9] 盛春帅,贾守宁.狭叶红景天防治高原红细胞增多症的实验研究[J].新中医,2012,44(10): 141-142.
- [10] 贾守宁,李军茹,马春花,等.红景天苷对高原红细胞增多症大鼠耳廓微循环的影响[J].云南中医中药杂志,2016,37(2): 56-57.
- [11] 季宇彬,高世勇.海嘧啶对 FC、H₂₂ 荷瘤小鼠红细胞膜功能的影响[J].中国药理学杂志,2004,39(12): 913-916.
- [12] 季宇彬,邹翔,汲晨峰,等.芦荟多糖对 S₁₈₀ 小鼠红细胞膜功能的影响[J].中草药,2004,35(8): 898-901.
- [13] 吴峰.红参提取物对红细胞膜磷脂成分的影响[J].临沂师范学院学报,2001,2(6): 63-64.
- [14] 姜平,贾守宁,徐国治,等.高原红细胞增多症大鼠疾病模型的复制[J].高原医学杂志,1996,6(2): 19-20.
- [15] Shinitzky M, Barenholz Y. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescence polarization[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1978, 515(4): 367-372.
- [16] Perfumi M, Mattioli L. Adaptogenic and central nervous system effects of single doses of 3% rosavin and 1% salidroside *Rhodiola rosea* L. extract in mice[J]. *Phytother Res*, 2007, 21(1): 37-43.
- [17] Ma C, Hu L, Tao G, et al. An UPLC-MS-based metabolomics investigation on the anti-fatigue effect of salidroside in mice[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 105: 84-90.
- [18] Zhang L, Yu H, Sun Y, et al. Protective effects of salidroside on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 564(1/3): 18-25.
- [19] 金雪莲.红景天苷在不同缺氧状况下抗缺氧作用的实验研究[J].卫生职业教育,2012,30(3): 121-122.
- [20] 郑明显,金哲悟,朴红梅,等.红景天苷通过 NF- κ B/TGF- β 1 信号通路抑制哮喘小鼠气道重塑的实验研究[J].中草药,2014,45(17): 2511-2516.
- [21] 邹春华,宋强华,李素芝,等.高原红细胞增多症患者红细胞膜物理特性变化及分子机制探讨[J].中华血液学杂志,2000,21(5): 43-44.
- [22] Cooper R A. Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease[J]. *New Engl J Med*, 1977, 297(7): 371-377.

- [23] 邹春华, 李素芝, 宋强华, 等. 高原红细胞增多症红细胞膜流动性的改变及相关机理 [J]. 解放军预防医学杂志, 1999, 17(3): 22-24.
- [24] 辛双生, 王志宏, 周俊英, 等. 丹参液内关穴注射对心肌缺血性损伤大鼠心肌 SOD、MDA 含量与红细胞膜流动性关系的研究 [J]. 中医研究, 1999, 12(2): 15-16.
- [25] 杨晓静, 张泓崑, 刘丽娟, 等. 3 种人参皂甙对血淤大鼠血液流变学及红细胞膜流动性的影响 [J]. 中草药, 1992, 23(4): 195-196.
- [26] 杨国栋, 周文华, 徐 飞, 等. 山茛菪碱对红细胞膜流动性和膜内源荧光的影响 [J]. 中国现代应用药学, 1993, 10(1): 4-6.
- [27] Kamada T, Otsuji S. Lower levels of erythrocyte membrane fluidity in diabetic patients. A spin label study [J]. *Diabetes*, 1983, 32(7): 585-591.
- [28] 陈文鹤, 郭 黎. 红细胞膜结构与红细胞变形能力 [J]. 上海体育学院学报, 2001, 25(4): 34-39.
- [29] 邹春华, 郑华金, 王晓蕙, 等. 高原红细胞增多症红细胞膜脂质与红细胞变形能力的关系 [J]. 解放军预防医学杂志, 1999, 17(4): 243-245.
- [30] 薛沿宁, 周廷冲. Ca^{2+} 与细胞功能的调节 [J]. 生理科学进展, 1988, 19(4): 328-333.
- [31] Friederichs E, Farley R A, Meiselman H J. Influence of calcium permeabilization and membrane-attached hemoglobin on erythrocyte deformability [J]. *Am J Hematol*, 1992, 41(3): 170-177.
- [32] Anderson J P, Morrow J S. The interaction of calmodulin with human erythrocyte spectrin. Inhibition of protein 4.1-stimulated actin binding [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(13): 6365-6372.
- [33] 邹春华, 李素芝, 薛增军, 等. 高原红细胞增多症患者的红细胞膜脂质含量及三磷酸腺苷酶活性 [J]. 高原医学杂志, 1998, 8(3): 12-13.