DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.001

慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠带3蛋白与红细胞内酸碱调节的实验研究*

论著

杨晓静 毛宝龄 钱桂生 (第三军医大学新桥医院呼吸中心) 630037

提 要 文中报道了慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠红细胞膜带3蛋白结构,含量和阴离子转运功能,以及红细胞内外血气研究结果:慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠红细胞膜带3蛋白阴离子转运功能降低。其产生机制可能是由于长期严重缺氧,使胞浆ATP含量减少,影响幼稚红细胞中带3蛋白的合成,致使网织红细胞阶段嵌入红细胞膜上的带3蛋白量减少,阴离子转运位点数目减少所致。慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠带3蛋白阴离子转运功能降低,HCO_3^-/Cl^-交换受限,阻止红细胞内HCO_3^-转移至细胞外,使红细胞内呈偏碱状态。因此,维护带3蛋白正常的结构和功能,将有助于维持红细胞内外的酸碱稳态。

关键词 缺氧症;血碳酸过多;区带3蛋白质;酸碱平衡;大鼠
中图法分类号 R589.6

酸碱失衡是肺心病呼吸衰竭病人主要致死原因之一。本室曾就肺心病人红细胞膜带3蛋白含量与红细胞内酸碱变化的关系,做了初步研究和探讨[1]。为进一步明确带3蛋白在体内酸碱调节中的作用,本实验通过同步观测慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠红细胞膜带3蛋白相对含量、带3蛋白阴离子转运区域结构以及阴离子交换功能和动力学特征、红细胞内外血气,以期阐明在实验研究条件下,红细胞膜带3蛋白阴离子转运位点结构和阴离子转运功能的变化情况,并探讨这些改变发生的可能机制;同时探讨带3蛋白结构、功能改变与细胞内外酸碱变化的关系,进而揭示带3蛋白在酸碱调节中的作用和地位。

1 材料与方法

1.1 动物模型复制与分组

分别参照薛全福[2]和卢文光[3]的方法,建立慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠肺动脉高压模型。实验动物随机分为①对照组(CG):17只;②慢性常压缺氧组(Ⅰ组):14只;吸入氧浓度(FIO_2)10%,吸入CO_2浓度($FICO_2$)<3.0%,每天8h,共四周;③慢性常压缺氧伴高二氧化碳组(Ⅱ组):15只,$FIO_2$10%,$FICO_2$6.5%,每天8h,共四周。动物在最后一次缺氧实验完成后次日,用10%乌拉坦腹腔麻醉,颈动脉插管抽血。

1.2 带3蛋白相对含量及阴离子转运位点结构测定

1.2.1 红细胞膜影的制备:按张龙翔等的方法[4]。

1.2.2 膜蛋白分析(SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳):参照Leammli的方法[5]。采用不连续的垂直板电泳(10%分离胶,3.6%浓缩胶),以考马斯亮兰R_{250}显色。在CSG_{10}型双波长薄层扫描仪上,550 nm波长处扫描。用C-RIB型数据处理仪记录扫描图谱,并计算各蛋白区带的相对含量。

1.2.3 带3蛋白阴离子转运区域(TrC-55肽段)的分离,纯化与鉴定:①大柱分离提纯TrC-55肽段:采用著名Leammli[5]凝胶系统进行SDS-PAGE(10%分离胶,4%浓缩胶)。将制得的红细胞膜影先用5 μg/ml胰蛋白酶在0℃酶解5h,再加于大柱进行电泳。按照分析型板状电泳的迁移率,用"切补法"[6],使TrC-55条带位于柱底。补胶后,在柱底装上收集盘,并使之与核酸蛋白检测仪及部分收集器相连。分部收集蛋白质浓度峰洗脱液;②TrC-55肽段的纯化:以上收集的洗脱液经聚乙二醇浓缩后,上Sephadex G-25柱,以PBS洗脱。收集蛋白质浓度峰洗脱液,即得纯净的TrC-55肽段;③TrC-55肽段的鉴定:参照Fairbanks等的方法[7]。采用不连续系统的圆盘电泳进行SDS-PAGE,鉴定纯化的TrC-55肽段是否为单一区带;④TrC-55肽段的氨基酸组分分析:采用6300黄金系统氨基酸分析仪,按单柱蛋白水解方法进行分析。采用GOLD软件系统处理数据。

1.3 带3蛋白阴离子交换功能及DIDS抑制效应测定

按张志鸿等介绍的方法[8],联机采样测定红细胞膜对Cl离子通透系数(P_{Cl})。在红细胞悬浮液中,加入带3蛋白阴离子转运特异性抑制剂4,4′-二硫氰基-2,2′二磺酸芪(简称DIDS),测定用DIDS前后的P_{Cl}值,分别以$P_{(Cl)}$和$P_{(Cl)DIDS}$表示。

1.4 血气分析

用IL-1303型血气分析仪测定动脉全血pH(pH_a)、PO_2(P_aO_2)、PCO_2(P_aCO_2)、HCO_3($[HCO_3^-]_a$)。按purcell[9]和本室建立的冻融法测定红细胞内pH(pH_i)、PO_2(P_iO_2)、PCO_2(P_iCO_2)和HCO_3($[HCO_3^-]_i$),并计算红细胞内外pH差值(pH_{e-i}),红细胞内pH下降比值($pH_{\frac{e}{i}}$);红细胞内外PCO_2差值($PCO_{2\,e-i}$),红细胞内PCO_2升高比值($PCO_{2\,\frac{i}{e}}$);红细胞内外HCO_3^-差值($[HCO_3^-]_{e-i}$),红细胞内HCO_3^-下降比值($[HCO_3^-]_{\frac{e}{i}}$),红细

* 国家自然科学基金资助项目,No.39470306
全军"八五"攻关课题

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

胞内外 PO_2 差值($PO_{2(i-e)}$),红细胞内 PO_2 升高比值($PO_{2\frac{(i-e)}{e}}$)。

1.5 红细胞内 ATP(RBC-ATP)含量测定

参照 Kimmich[10]的生物发光法进行。

1.6 统计学处理

数据经方差分析,相关分析统计程序处理。

2 结果

2.1 红细胞膜带 3 蛋白相对含量

Ⅰ组带 3 蛋白相对含量显著低于对照($P<0.05$),Ⅱ组带 3 蛋白相对含量非常显著低于对照($P<0.01$)(表 1)。

表 1 红细胞膜带 3 蛋白相对含量比较

Teb 1 Comperison of relative compositions of erythrocyte membrane band 3 protein ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Reiative compositions of band 3 protein(%)
Control	17	25.12±4.25▲
Ⅰ	14	21.89±3.89
Ⅱ	15	19.99±4.72△

▲: Significant difference between control and Ⅰ ($P<0.05$); △: very significant difference between control and Ⅱ ($P<0.01$).

2.2 TrC-55 肽段的氨基酸组分分析

三组TrC-55肽段的各氨基酸残基数无明显差异($P>0.05$)(表 2)。

表 2 TrC-55 肽段氨基酸组分分析

Tab 2 Amino acid composition of TrC-55 fragment

Amino acid	Control ($n=5$)	Ⅰ ($n=5$)	Ⅱ ($n=5$)
Asp	28.45±2.29	30.77±2.41	30.84±5.77
Thr	24.25±3.29	21.01±3.16	20.92±2.51
Ser	21.82±4.37	24.55±3.20	21.01±2.16
Glu	42.98±2.52	43.27±3.13	42.74±2.74
Pro	23.05±3.20	21.00±2.69	22.36±2.10
Gly	61.05±3.46	62.73±2.56	63.10±3.37
Aal	41.35±3.55	40.28±2.64	39.94±4.59
Val	25.29±3.73	23.69±2.34	24.02±2.58
Met	12.19±1.53	13.79±1.98	13.28±4.39
Ile	24.35±3.96	23.77±2.47	22.95±2.88
Leu	52.26±4.55	53.84±3.32	54.38±2.55
Try	15.98±2.40	13.56±2.02	14.79±3.12
Phe	15.28±2.52	14.12±2.93	16.72±2.37
His	43.25±4.04	39.72±4.58	38.48±5.18
Lys	29.56±3.28	25.87±3.58	28.89±5.29
Arg	24.02±1.98	21.70±2.63	22.64±2.95

Data are expreaaed as residues per mole±SD

2.3 带 3 蛋白阴离子交换功能及 DIDS 抑制效应

比较三组的 P_{Cl} 发现,Ⅰ、Ⅱ组 P_{Cl} 均明显低于CG($P<0.01$);在 DIDS 终浓度为 0.5 μmol/L 时,三组间 $\frac{P_{[Cl]DIDS}}{P_{[Cl]_0}}$ 比值无显著差别($P>0.05$)(表 3)。

表 3 各组 P_{Cl} 值和 $\frac{P_{[Cl]DIDS}}{P_{[Cl]_0}}$ 比值比较

Tab 3 Comparison of anion permeability coefficient and relative ratio ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	P_{Cl}(cm/s)	$\frac{P_{[Cl]DIDS}}{P_{[Cl]_0}}$
Control	17	$2.84\pm0.60\times10^{-7}$▲	0.5258±0.0534
Ⅰ	14	$1.92\pm0.61\times10^{-7}$	0.5466±0.0784
Ⅱ	15	$1.78\pm0.62\times10^{-7}$△	0.5559±0.0759

▲: Very significant difference between control and Ⅰ ($P<0.01$); △: very significant difference between control and Ⅱ ($P<0.01$).

2.4 血气分析(见表 4、5)

表 4 动脉血气分析结果比较

Tab 4 Comparison of arterial blood gas analyses ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	pH(u)	PCO_2 (kPa)	PO_2 (kPa)	HCO_3 (mmol/L)
Extraerythrocyte					
Control	17	7.3179 ±0.0315	5.54 ±0.82	12.16 ±0.98	21.57 ±3.09
Ⅰ	14	7.3054 ±0.0867※	5.66 ±0.95※※	6.55 ±1.72	20.23 ±4.28※※
Ⅱ	15	7.2493 ±0.0613△	7.50 ±0.74△	6.37 ±0.94	24.42 ±2.08△
Intraerythrocyte					
Control	17	7.1609 ±0.0640	6.19 ±0.83	13.51 ±1.12▲	16.69 ±3.34
Ⅰ	14	7.1826 ±0.0742	6.45 ±1.25※※	7.64 ±0.45	17.75 ±3.15※※
Ⅱ	15	7.1818 ±0.0490	7.89 ±1.28△	7.17 ±1.03△	22.19 ±4.82△

▲: Very significant difference between control and Ⅰ ($P<0.01$); △: very significant difference between control and Ⅱ ($P<0.01$); ※: significant difference between Ⅰ and Ⅱ ($P<0.05$); ※※: very significant difference between Ⅰ and Ⅱ ($P<0.01$).

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 5　动脉血气分析各参数与变化的百分率结果比较

Tab 5　Comparison of each parameter and change percentage of arterical blood gas analyses ($\bar{x} \pm s$)

	Control($n=17$)	Ⅰ($n=14$)	Ⅱ($n=15$)
$pH_{e,(u)}$	0.1569±0.0586▲	0.1228±0.0355▲※	0.0675±0.0269△
$pH_{\frac{e}{e}}$	0.0215±0.0080▲	0.0168±0.0048▲※	0.0093±0.0037△
$PCO_{2,e}$(KPa)	0.6549±0.3676	0.5952±0.3020	0.6560±0.4827
$PCO_{2\frac{e}{e}}$	0.1516±0.1242	0.1306±0.0928	0.0879±0.0691
$PO_{2,e}$(KPa)	1.3498±0.6075▲▲	0.6800±0.4353	0.6655±0.3037△
$PO_{2\frac{e}{e}}$	0.1121±0.0516	0.1025±0.0762	0.1071±0.0524
$[HCO_3^-]_{e,}$(mmol/L)	4.8706±2.7638▲	3.0500±0.9280	2.2333±1.3694△
$[HCO_3]_{\frac{e}{e}}$	0.2278±0.1026▲▲	0.1336±0.0371※	0.0910±0.0612△

▲：Compared with Ⅰ，$P<0.05$；▲▲：compared with Ⅰ，$P<0.01$；△：compared with control，$P<0.01$；※：compared with Ⅱ，$P<0.05$；※※：compared with Ⅱ，$P<0.01$.

2.5　RBC-ATP 含量(见表 6)

表 6　RBC-ATP 含量比较

Tab 6　Comparison of content of red blood cell-adenosine triphosphate ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	RBC-ATP (umol/g Hb)
Control	17	2.91±0.32▲
Ⅰ	14	1.49±0.42
Ⅱ	15	1.23±0.35△

▲：Very significant difference between control and Ⅰ ($P<0.01$)；△：very significant difference between control and Ⅱ ($P<0.01$).

2.6　相关分析

表 7 结果表明，Ⅰ、Ⅱ组的带 3 蛋白相对含量与 RBC-ATP 含量，PeO_2 和 $[HCO_3]_{\frac{e}{e}}$ 呈显著正相关($P<0.01$)；Ⅱ组带 3 蛋白相对含量与 P_eCO_2 呈显著负相关($P<0.01$)。

表 7　带 3 蛋白相对含量相关因素分析

Tab 7　Coorelation analyses of relative contents of band 3 protein ($\bar{x} \pm s$)

	Control ($n=17$)	Ⅰ ($n=14$)	Ⅱ ($n=15$)
Relative contents of band 3 protein-RBC-ATP	−0.0389	0.7643▲	0.8698▲
Relative contents of band 3 protein-PO_2	0.2108	0.6691▲	0.8240▲
Relative contents of band 3 protein-PCO_2	−0.2082	0.4120	−0.7994▲

The numbers in the table is correlation coefficient.

▲：$P<0.01$.

表 8 结果表明，Ⅰ、Ⅱ组的 P_{Cl} 值与 PeO_2，带 3 蛋白相对含量和 $[HCO_3]_{\frac{e}{e}}$ 呈显著正相关($P<0.01$)；Ⅱ组的 P_{Cl} 值与 P_eCO_2 呈显著负相关($P<0.01$)。

表 8　P_{Cl} 相关因素分析

Tab 8　Correlation analyses of anion permeability coefficient ($\bar{x} \pm s$)

	Control ($n=17$)	Ⅰ ($n=14$)	Ⅱ ($n=15$)
P_{Cl}-PO_2	−0.3050	0.6641▲	0.8004▲
P_{Cl}-PCO_2	0.0260	0.3852	−0.8668▲
P_{Cl}-Relative contents of band 3 protein	0.0029	0.7795▲	0.8158▲

The numbers in the table is correlation coefficient.

▲：$P<0.01$.

3　讨论

3.1　慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠带 3 蛋白结构、含量和功能变化及其产生机制

3.1.1　带 3 蛋白的结构和含量变化：带 3 蛋白是一种有阴离子转运特性的嵌膜糖蛋白，它首先被肯定存在于红细胞膜上。带 3 蛋白可被大致分为两个区域，即氨基端胞浆区和羧基端膜结合区，它们各自行使不同的功能。氨基端胞浆区域由 N-端 43 kDa 多肽组成，有膜骨架蛋白、糖酵解酶、Hb 及其降解物的结合位点以及磷酸化位点，其主要功能是将胞浆蛋白和膜骨架蛋白固定于红细胞膜上[11]。膜区由 C-端 55 kDa 多肽组成，其主要功能是催化无机阴离子，主要是 Cl^- 和 HCO_3^- 跨红细胞膜脂双层快速交换[12]。Foxwell 等发现带 3 蛋白也是有核红细胞的一种成分，成熟红细胞膜上的

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

绝大多数带3蛋白是中幼红细胞至网织红细胞阶段嵌入红细胞的[13]。

本实验发现，各组TrC-55肽段的各氨基酸残基数无显著差别。结果提示，慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠带3蛋白阴离子转运区域多肽片段的一级结构可能没有改变。

本实验红细胞膜蛋白电泳分析发现，Ⅰ组带3蛋白相对含量显著地低于CG（$P<0.05$），Ⅱ组带3蛋白相对含量非常显著地低于CG（$P<0.01$）。本文Ⅰ、Ⅱ组RBC-ATP含量明显低于CG，Ⅰ、Ⅱ组的带3蛋白相对含量与RBC－ATP含量、PeO_2呈显著正相关，Ⅱ组带3蛋白相对含量与$PeCO_2$呈显著负相关。表明慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠由于长期、严重缺氧、氧分压降低引起ATP与Hb结合，从而使胞浆ATP含量减少。后者可能影响幼稚红细胞中带3蛋白的合成，致使网织红细胞阶段嵌入红细胞膜上的带3蛋白的量减少。但带3蛋白的结构尚维持正常状态，提示慢性缺氧引起的带3蛋白含量降低也许是可逆的。因此，改善低氧状态，提高动脉血氧分压，也许有利于维护红细胞膜带3蛋白正常的结构与功能。

3.1.2 带3蛋白阴离子交换功能的变化：本实验选择张志鸿介绍的溶血动力学方法[8]，用P_{Cl}来检测红细胞膜带3蛋白的功能状态，分析膜上带3蛋白阴离子运输机制。

本实验发现，Ⅰ、Ⅱ组的P_{Cl}值明显低于CG；Ⅰ组与Ⅱ组间无显著差别。提示慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠红细胞膜阴离子通透性异常，带3蛋白阴离子转运功能降低。

为探讨带3蛋白阴离子交换功能降低的原因，进一步了解带3蛋白阴离子转运系统结构有无改变，我们用带3蛋白的专一性抑制剂DIDS进行了实验。在0～1 μmol/L范围终浓度的DIDS作用下，抑制剂处理的红细胞悬液P_{Cl}值较对照均下降，其相对值与DIDS剂量之间呈线性关系，但DIDS对三组的P_{Cl}影响程度一致，在DIDS终浓度为0.5 μmol/L时，三组间$\frac{P_{[Cl\ DIDS}}{P_{[Cl^-]o}}$比值无显著差别。进一步提示带3蛋白离子转运位点的结构可能无异常改变。

带3蛋白阴离子转运功能的正常维持，有赖于带3蛋白阴离子转运位点的结构和数目。本实验结果提示，慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠带3蛋白阴离子转运位点结构可能无异常，其转运功能降低可能与以下二因素有关：

3.1.2.1 红细胞膜带3蛋白相对含量降低：带3蛋白阴离子转运位点通过以下三个步骤完成阴离子转运[14]：①阴离子结合到带3蛋白的转运位点；②结合的阴离子转移；③阴离子从转运位点解离。带3蛋白含量降低，导致阴离子转运位点数目减少，是影响阴离子转运的主要因素之一。本实验发现：Ⅰ组带3蛋白相对含量显著地低于CG（$P<0.05$），Ⅱ组带3蛋白相对含量非常显著地低于CG（$P<0.01$）；相关分析提示Ⅰ、Ⅱ组的P_{Cl}与带3蛋白相对含量呈显著正相关。结果表明，慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠带3蛋白相对含量明显降低，导致阴离子转运位点的数目减少，也许是引起其阴离子转运能力降低的诸因素之一。

3.1.2.2 慢性缺氧：相关分析表明Ⅰ、Ⅱ组P_{Cl}与PeO_2呈显著正相关；Ⅱ组P_{Cl}与$PeCO_2$呈显著负相关。缺氧也许通过影响带3蛋白相对含量，间接影响阴离子交换，缺氧对带3蛋白阴离子转运功能有无直接作用，目前尚不清楚。CO_2潴留与带3蛋白阴离子转运能力降低的因果关系尚不清楚，也许互为因果。

3.2 带3蛋白在慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠酸碱调节中的作用

本研究发现：Ⅱ组的pHe非常显著地低于CG（$P<0.01$），显著地低于Ⅰ组（$P<0.05$）；虽然三组间pHi无显著差别，但Ⅰ组的pH_{e-i}和$pH_{\frac{e}{i}}$显著低于CG（$P<0.05$），Ⅱ组的pH_{e-i}和$pH_{\frac{e}{i}}$明显低于CG和Ⅰ组（$P<0.01$），提示慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠红细胞内相对偏碱，尤以后者更为明显。导致体内酸碱失衡的因素主要有：①代谢因素：原发性HCO_3^-变化；②呼吸因素：原发性PCO_2变化。本文Ⅰ组的$[HCO_3^-]_{e-i}$显著低于CG（$P<0.05$），$[HCO_3^-]_{\frac{e}{i}}$非常显著地低于CG（$P<0.01$）；Ⅱ组的$[HCO_3^-]i$和$[HCO_3^-]e$明显高于CG和Ⅰ组，$[HCO_3^-]_{e-i}$和$[HCO_3^-]_{\frac{e}{i}}$非常显著地低于CG。Ⅱ组的P_rCO_2和P_iCO_2虽高于CG和Ⅰ组，但三组间$PCO_{2,i}$和$PCO_{2\frac{e}{i}}$无显著差别。结果提示，慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠红细胞内相对偏碱是由于$[HCO_3^-]i$相对增高所致。这与我们以前对肺心病人的研究结果相符[1]。

红细胞内酸碱状态的维持，有赖于Hb的缓冲作用、代谢调节和红细胞内外离子交换等机制的相互协调作用。本研究发现，Ⅰ、Ⅱ组的Hb和Ht均非常显著地高于CG；两组的红细胞内外PO_2明显低于CG。提示Hb浓度增加及还原Hb增多，红细胞内缓冲能力增

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

强，可能是导致 Ⅰ、Ⅱ 组[HCO_3^-]i 相对增高的因素之一。本实验重点探讨带 3 蛋白阴离子转运功能对[HCO_3^-]i 增高的影响。

生理条件下，在组织毛细血管，代谢产生的 CO_2 弥散进入红细胞，并在红细胞碳酸酐酶(CA)作用下，迅速转化成 H_2CO_3，H_2CO_3 立即分解成 HCO_3^- 和 H^+。细胞内反应($CO_2 \rightarrow HCO_3^-$)持续进行，其原因为红细胞内 Hb 有很强的缓冲能力，它阻止 H^+ 在细胞内堆积。HCO_3^- 离开红细胞与细胞外 Cl^- 交换，从而使更多的 CO_2 进入红细胞。在肺毛细血管，当 CO_2 从血液转移到肺泡时，此过程以同上完全相反的顺序发生。因为 CO_2 弥散速度很快，且红细胞内含大量 CA，故该过程的限速步骤是 HCO_3^-/cl^- 跨红细胞膜交换[15]。因此，HCO_3^-/Cl^- 交换过程受阻，HCO_3^-/Cl^- 交换速度减慢，将导致红细胞内 HCO_3^- 堆积，影响细胞内外的酸碱状态。已明确，HCO_3^-/Cl 交换是由红细胞膜上的阴离子转运蛋白(带 3 蛋白)介导的[16]。为此，我们对慢性缺氧和缺氧伴高二氧化碳条件下带 3 蛋白的含量、结构和阴离子转运功能进行了深入研究。结果发现，慢性常压缺氧和缺氧伴高二氧化碳大鼠①红细胞膜带 3 蛋白相对含量减少；②带 3 蛋白阴离子转运位点结构无异常；③带 3 蛋白阴离子转运功能降低。相关分析表明，Ⅰ、Ⅱ 组的 P_{cl} 值与带 3 蛋白的相对含量、P_eO_2 和[HCO_3^-]$_{e-i}$ 呈显著正相关。提示带 3 蛋白含量和阴离子转运功能的异常，使 HCO_3^-/Cl^- 交换受限，红细胞内产生的大量 HCO_3^- 排出受阻，影响红细胞外 HCO_3^- 的升高，间接减弱 Hb 缓冲系统对体内酸碱失衡的缓冲作用。因此，维持带 3 蛋白正常的结构和功能，将有助于维持红细胞内外的酸碱稳态。

参考文献

1 杨晓静，钱桂生，毛宝龄，等. 肺心病人红细胞膜带 3 蛋白和酸碱变化的研究. 第三军医大学学报，1991，13(6)：545

2 薛全福，谢剑鸣，胡长贵，等. 常压缺氧性大鼠肺动脉高压模型的建立. 中华结核呼吸杂志，1989，12：350

3 卢文光，徐正惠，陈盛华，等. 低氧高二氧化碳动物饲养箱的研究. 温州大学学报，1989，2：19

4 张龙翔，主编. 生化实验方法和技术. 北京：人民教育出版社，1981：21～23

5 Leammli UK. Cleavage of structurai proteins during the assembly of the head of bacteriophage. Nature (Lond), 1970, 227：680

6 范培昌，王灵宝，何学民，等. 人红细胞膜带 3 蛋白的提纯与鉴定. 生物化学杂志，1985，1：37

7 Fairbanks G, Steck TL, Wallach DFH, et al. Electrophoretic analysis of the major polypeptide of human erythrocyte membrane. Biochemistry, 1971, 10：2606

8 周汉清，张志鸿. 红细胞膜阴离子通透性溶血动力学测量. 生物化学与生物物理学报，1993，25：111

9 Purcell MK, Still GM, Rodman T, et al. Determination of the pH hemolyzed packed red cell from arterial blood. Clin Chem, 1961, 7：536

10 Kimmich GA, Randles J, Brand JS. Assay of picomole of smounts of ATP, ADP, AMP using the luciferase enzytem. Anal Biochem, 1975, 69：187

11 Low PS. Structure and funtion of cytoplasmic domain of band 3：Center of erythrocyte membrane-preipheral protein interactions. Biochim Biophys Acta, 1986, 864：145

12 Bar-Noy S, Cabantchik ZI. Transport domain of erythrocyte anion exchange protein. J Membr Biol, 1990, 115：217

13 Foxwell BMJ, Tanner MJA. Synthesis of the erythrocyte anion transport protein. Immunochemical study of its incorporation into the plasma membrane of erythrocyte cells. Biochem J, 1981, 195：129

14 Lu YB, Chow EH. Bicarbonate/chioride transport kinetics at 37℃ and its relationship to membrane lipids in mammalian erythrocytes. Biochem Biophys Acta, 1982, 689：485

15 Low AG, Lambert A. Chloride-Bicarbonate exchange and related transport processes. Biochim Biochim Biophy Acta, 1983, 694：353

16 Passow H. Moleular aspects of band 3 protein-mediated anion transport across the red blood cell membrane. Rev physiol Biochem Pharmacol, 1986, 103：61

(收稿：1994-09-12；修回：1994-12-06)

Studies of band 3 protein and intraerythrocytic acid—base regulation in chronic isobaric hypoxia with hypercapnia in rats

Yang Xiaojing, Mao Baoling, Qian Guisheng (Department of Respiratory disease, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630037)

Abstract The changes of the structure, content and anion transport function of band 3 protein of the erythrocytic membrane and blood gases in the erythrocytes were studied under chronic isobaric hypoxia and hypoxia with hypercapnia in rats. It was found that the anion transport function of band 3 protein was

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

markedly decreased under chronic isobaric hypoxia and hypoxia with hypercapnia. Low ATP content in the erythrocytic cytoplasm resulting from long-term severe hypoxia may reduce the synthesis of band 3 protein in erythroblasts. Consequently, the amount of band 3 protein incorporated into the membrane of reticulocytes and the site of anion transport are also reduced. Under chronic isobaric hypoxia and hypoxia with hypercapnia, the anion transport function was reduced and the exchange of HCO_3^-/Cl^- was hindered, which could prevent intraerythrocytic HCO_3^- from migrating outward and intraerythrocytic alkalosis is likely to occur. So it is essential to protect the structure and function of band 3 protein in order to keep acid-base balance of the plasma and erythrocytes.

Key words hypoxia; hypercapnia; band 3 protein; acid-base balance; rats

蝶鞍、斜坡区塑化薄片断面解剖及三维重建与MRI对照研究*

论文摘要

A study of sectional anatomy with plastination and 3D reconstruction on the sella turcica and clivus regions in comparison with MRI

张绍祥 何光篪 刘正津 (第三军医大学基础部解剖学教研室) 630038

颅底解剖结构复杂,是脑的重要结构和生命中枢所在地,蝶鞍、斜坡区有垂体、颅内动脉、大部分颅神经、脑干等重要结构,这些结构在颅底外科疾病中发病率最高,因而是颅底最重要的区域。本实验采用生物塑化技术制作了蝶鞍、斜坡区断面标本,用SGI图象工作站对蝶鞍、斜坡区多个结构进行了三维重建和立体显示,用1.0T的NMR机作了正常人体蝶鞍、斜坡区冠、矢、横三方位的连续薄层图像,与断面标本相应层面对照,观测了蝶鞍、斜坡区结构的形态特征,讨论了影像诊断与手术入路要点,主要研究结果如下:

(1)将Plastination(生物塑化)技术率先引进国内,并对某些装置和方法进行了改进,成功地制作出了厚度为1.2 mm的薄片断面标本,锯路损耗为0.3 mm,解决了断面解剖学从宏观走向微观,以便与现代影像诊断相适应的关键技术问题。

(2)在SGI图像工作站上,用C语言编制程序,立体重建了人体蝶鞍、斜坡区的多个复杂结构,可在三维空间绕任意轴旋转,或以不同的速度连续旋转,便于从不同的显示面对各结构的形态、空间位置及相互毗邻关系进行观察。重建一幅包含有50个断面的图像,或转动一幅已重建的图像,费时仅为1.5 s,基本达到了适时显示的效果。

(3)经设定标尺逐片断面摄影和标注,完成了一套"正常人体蝶鞍、斜坡区连续薄片断面解剖图谱",其中冠状断面50幅,矢状断面45幅,横断面40幅。

(4)经断面观测和计算机三维重建,探讨了脑垂体、海绵窦、颈内动脉、视交叉、位听神经和面神经等蝶鞍、斜坡区重要结构的断面位置、形态特点、最佳显示平面和毗邻关系。

①脑垂体:前方是鞍结节和前海绵间窦,后方紧贴鞍背,两侧为海绵窦,并与颈内动脉海绵窦段紧邻,上方为鞍膈。作者从断面标本测量垂体径线,左右径为13.6 mm,前后径9.7 mm,上下径6.2 mm。过垂体中部横断面可同时显示鞍背、鞍结节与垂体的位置关系和垂体前、后叶的相互关系,而在冠状及矢状面则能看清鞍底与垂体的位置关系。三维方向同时观察,有助于全面了解垂体形态及其变化,有益于诊断微小肿瘤。垂体两侧紧靠颈内动脉,颈内动脉扩张、迂曲,将使其间隙发生改变,甚至压迫垂体,有时也会造成经蝶窦垂体手术的困难。

②海绵窦:海绵窦位于蝶鞍和垂体的两侧,顶和外侧壁由硬膜封闭,外侧壁与颞叶紧贴。外侧壁内由上至下排列着动眼、滑车和三叉神经第1、2支。在中年标本上,经肉眼和镜下观察证实,颈内动脉位于海绵窦内。展神经并不走行于外侧壁中,而是位于海绵窦内,但在海绵窦的前半部,与海绵窦外侧壁相贴。

③视交叉与颈内动脉床窦上段:视交叉位于鞍结节之上,垂体柄的前方。紧贴视交叉的外侧,颈内动脉由外下斜向内上,由海绵窦段的前升部穿过鞍膈移行为床突上段,该动脉位于视神经与前床突之间,此处为两侧颈内动脉相距最近点,其间距本文测得为11.5 mm,在经额经视交叉下入路的垂体手术时,应注意到这一毗邻关系。

④面神经和位听神经:经内耳门平面的横断面标本上观察到桥小脑角处蛛网膜下腔较宽,前后径和左右径均在10 mm左右,当发生听神经瘤时,面神经有向前方移位的缓冲余地,这也为听神经瘤摘除时保存面神经,或面神经颅内段损伤后进行重建提供了手术空间。

(5)采用三个方位断面标本与MRI相对照,对蝶鞍区结构进行了观测研究,探讨了视交叉等重要结构在蝶鞍区MRI影像诊断中的意义。

(6)关于计算机三维重建,由于颅底部解剖结构的复杂性,表现在断面切片上,同一结构具有不同的灰度阈值,同一灰度阈值又总是包含了多种不同的结构,靠灰度无法将其分开。而基于轮廓线提取的表面重建法,对于表现多个复杂结构的相互位置关系,可取得较好的重建效果。

关键词 蝶鞍;斜坡;生物塑化;断面解剖;三维重建;核磁共振

中图法分类号 R323.1

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39470366

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net