

表3 EA 和 Hb 在兔体内各组织中衰变
常数(K)的比较

抗 原	肝	脾	淋巴结
EA	0.01587	0.0380	0.00825
Hb	0.0103	0.01067	0.01235

抗体。所以,狗 Hb 在兔脾脏中衰变较慢,可能与其抗原性较弱有关。我们并不试图由此作出推断:“强抗原较弱抗原更快地被机体处理掉”。但通过本文的实验结果,将提示我们研究更广泛的抗原材料,以进一步探讨抗原性的强弱与其在体内代谢衰变率的关系。

参 考 文 献

- [1] Opie, E. L.: *Immunol*, 8, 55, 1923.
[2] 李 刚、杜国光、聂松青《生物化学与生物物理进展》5, 1982。

- [3] 吴宪、周启沅《生物化学试验》中华医学会编译部出版, 1939。
[4] Kabat, E. A.: *Experimental Immunochemistry*, 464, 1948.
[5] 王世中《免疫化学技术》科学出版社, 1980。
[6] 北京医学院微生物教研组:《实验免疫学》人民卫生出版社, 1980。
[7] Gold, E. R., et al.: *J. Immunol.*, 99, 859, 1967.
[8] Ingraham, J. S.: *J. Infect. Dis.*, 89, 117, 1951.
[9] Garvey, J. S. et al.: *J. Exptl. Med.*, 107, 497, 1958.
[10] Compbell, D. H., et al.: *Intern. Arch. Allergy. Appl. Immunol.*, 12 70, 1958.
[11] Pratt, H. N. et al.: *J. Immunol.*, 40, 163, 1941.
[12] Richter, M. et al.: *J. Immunol.*, 84, 420, 1960.
[13] Nakamura, R. M., et al.: *J. Immunol.*, 100, 376, 1968.
[14] Stark, J. M.: *J. Immunol.*, 108, 800, 1972.
[15] Gerald, D.: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd. ed. Chemical Rubber Co. 1976.

[本文于1983年3月7日收到]

ADP 诱导血小板凝聚的动力学和热力学 及其临床应用的研究

施永德

陈松鹤

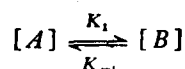
(上海第一医学院生物物理学教研室) (上海第一医学院中山医院血液科)

用 ADP 诱导血小板发生凝聚反应及反应过程中表面电荷的下降^[1,2],是目前临床检验血小板功能的较新方法之一,可用它进行缺血性疾病的诊断及治疗中的动态观察,它也是一种筛选改善血小板功能药物的方法。血小板凝聚过程可用血小板比浊仪在 X、Y 记录仪上描出来。判断所描绘的曲线是否正常,一般用最大聚集强度和反应时间、平均速率、速率变化率及曲线的坡度、半反应时间、每分钟聚集度等^[2-4]指标。这些方法的特点都是以静止的,某一特定时间的数据进行描述。而动力学和热力学则从其动态的和平衡的观点进行分析,国内外对此未见报道。本文试图以动力学和热力学的方法描述 ADP 诱导血小板的凝聚反应性。结果

表明,它一方面能用动力学和热力学原理阐明血小板功能异常的原因,又可能为临床诊断提供简便的方法。

一、动力学模型的假设

如系统中血小板的起始浓度为 $[A]_0$,当 ADP 加入后,即发生凝聚。血小板从 A 的分散形式转变为 B 的凝聚形式。假定此反应为可逆反应:



式中 k_1 和 k_{-1} 分别示正、逆反应速度常数,从动力学可知:

$$\frac{d[A]}{dt} = K_{-1}[B] - K_1[A]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = K_1[A] - K_{-1}[B]$$

$$[A]_0 = [A] + [B]$$

$$\frac{d[A]}{dt} = K_{-1}[A]_0 - (K_{-1} + K_1)[A]$$

积分上式则得:

$$-\frac{1}{K_{-1} + K_1} \ln \{cK_{-1}[A]_0 - (K_{-1} + K_1)[A]\} = t + c$$

由于 $t = 0$ 时, $[A] = [A]_0$, 故

$$c = -\frac{1}{K_{-1} + 1} \ln(-K_{-1}[A])$$

代入上式则得到:

$$[A] = [A]_0 \frac{K_{-1} + K_1 e^{-(K_{-1} + K_1)t}}{K_{-1} + K_1}$$

$$[B] = [A]_0 \frac{K_{-1}K_1 e^{-(K_{-1} + K_1)t}}{K_{-1} + K_1}$$

当 $t = \infty$ 时, 则:

$$[A] = [A]_0 \frac{K_{-1}}{K_{-1} + K_1}$$

$$[B] = [A]_0 \frac{K_1}{K_{-1} + K_1}$$

二、动力学模型的验证

由于 $[B]$ 与透光度成正比, 则可通过血小板凝聚仪上被描绘出的透光度——时间曲线计算出反应速度常数 K_1 和 K_{-1} , 并用其求出不同时间的 $[B]$ 值, 再将 $[B]$ 的理论曲线与实际曲线比较, 用 χ^2 法验证。

血小板浓度为 20—25 万/立方毫米 (用自身血浆配制)。0.5 毫升血小板中加入一个微克分子 ADP, 在 Chrono-Log430 型血小板凝聚仪上测其透光度——时间曲线。当 100% 为 A 时, 透光度为零, 即透光度的增加显示 $[B]$ 的增加。从曲线上可求得 $[B]$ (即 $t = \infty$ 时的透光度值) 和 $T_{1/2}$ (达 $\frac{1}{2} B_{\infty}$ 时所需时间), 可

求出 K_1 和 K_{-1} 。

当 $t = \infty$, 则 $[A]_{\infty} = [A]$,

$$\frac{K_{-1}}{K_{-1} + K_1},$$

和 $[B]_{\infty} = [A]_0 \frac{K_1}{K_{-1} + K_1}$ 令 $[A]_0 = 100\%$, 则:

$$\frac{[A]_{\infty}}{[B]_{\infty}} = \frac{1 - [B]_{\infty}}{[B]_{\infty}} = \frac{K_{-1}}{K_1}$$

表 1 11 例健康人

例 号	$[B]_{\infty}$	$T_{1/2}$ (秒)	K_{-1}	K_1	χ^2
1	0.075	12	0.062	0.0050	0.83
2	0.325	30	0.034	0.0164	0.19
3	0.150	24	0.034	0.0060	0.00
4	0.175	16	0.052	0.0110	0.06
5	0.150	22	0.037	0.0065	0.00
6	0.225	24	0.037	0.0108	0.01
7	0.175	26	0.032	0.0068	0.10
8	0.200	56	0.015	0.0038	0.14
9	0.200	20	0.043	0.0108	1.90
10	0.200	20	0.043	0.0108	0.02
11	0.225	20	0.043	0.0129	0.01
平 均	0.191	24.5	0.039	0.0092	
标准差	± 0.062	± 11.5	± 0.012	± 0.0038	

* χ^2 检查, 分别将 1, 2, 3, 4, 5 分钟时的理论和实际值进行比较 $n = 6$, $F = 5$, 本表均小于 11.07, 故与实际相符。

当 $[B] = \frac{1}{2} [B]_{\infty}$, 则:

$$\frac{1}{2} [B]_{\infty} = \frac{K_1 - K_{-1} e^{-(K_{-1} + K_1) T_{1/2}}}{K_{-1} + K_1}$$

将以上两式联立, 解得:

$$K_{-1} = \frac{0.69}{T_{1/2}(1 - [B]_{\infty})}$$

$$K_1 = K_{-1} \frac{[B]_{\infty}}{1 - [B]_{\infty}}$$

已知 K_{-1} 和 K_1 的值, 即可求知 $[B]$ 和 t 的关系图, 再用 χ^2 证明与实际是否相符。

11 例健康人作为对照组, 11 例缺血性中风和急性心肌梗塞病人的 $[B]_{\infty}$ 、 $T_{1/2}$ 和 K_{-1} 和 K_1 见表 1 和表 2、图 1 和图 2。

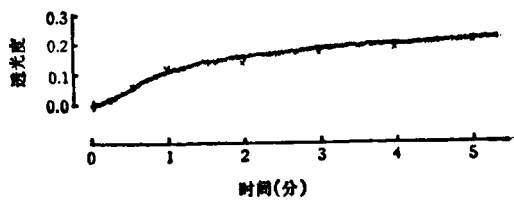


图 1 健康人血小板凝聚曲线 (×指理论值)

表 2 11 例缺血性疾病患者(缺血性中风和急性心肌梗塞)

例 号	$[B]_{\infty}$	$T_{1/2}$ (秒)	K_{-1}	K_1	χ^2*
1	0.550	56	0.0274	0.0335	0.18
2	0.600	44	0.0392	0.0583	0.00
3	0.788	54	0.0603	0.2240	0.18
4	0.800	44	0.0784	0.3140	0.16
5	0.425	40	0.0300	0.0220	0.12
6	0.325	28	0.0365	0.0180	0.01
7	0.763	46	0.0633	0.2040	0.13
8	0.450	50	0.0251	0.2050	0.16
9	0.400	30	0.0383	0.0260	0.01
10	0.550	56	0.0274	0.0340	0.13
11	0.475	32	0.0411	0.0380	0.10
平 均	0.556	43.6	0.0420	0.1070	
标准差	± 0.164	± 10.2	± 0.0170	± 0.1070	
* *	$P < 0.05$	$P < 0.05$		$P < 0.05$	

* 见表 1 说明, ** 与表 1 相应值相比

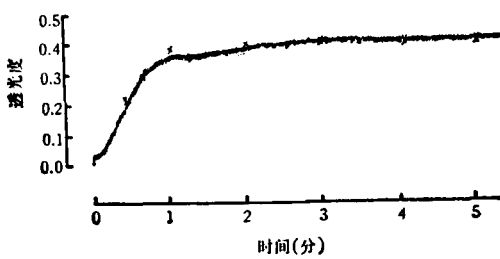


图 2 缺血性疾病患者血小板凝聚曲线 (×指理论值)

从表 1 和表 2、图 1 和图 2 可见, 正常人和病人的血小板凝聚曲线, 与用本方法算出的理论值是相符的 (用 χ^2 检查证明)。还可见正常人与病人的 K_1 值大小有明显区别, 而 K_{-1} 无明显区别, 这说明病人血小板正反应速度明

显地比正常人增加, 而逆反应两组间几乎无区别。由此可见用 K_1 做指标它能较好地反映血小板对 ADP 的反应性和血小板功能上的异常性。此外如 K_1 和 K_{-1} 确定了, 凝聚曲线的形状也大致确定了, 这样就可以避免用静止的观点考察血小板与 ADP 反应的整个过程。

三、热力学的推理

从表 1 和 2, 还可进行热力学上平衡常数 K 和标准自由能 G^0 的推理。其中 $K = \frac{K_1}{K_{-1}}$, $G^0 = -RT \ln K$ 。 K 是 $t = \infty$ 时 $[B]$ 和 $[A]$ 的比值, 即凝聚的和分散的血小板之比, 它代表反应进行的程度。 G^0 表示每个人血小板与

表3 K 和 G^0

例 号	对 照 组		病 人 组	
	K	G^{0**}	K	G^{0**}
1	0.081	1488	1.22	-722
2	0.482	432	1.50	-592
3	0.176	1029	3.71	-776
4	0.200	952	4.01	-882
5	0.175	1032	0.74	178
6	0.292	728	0.48	432
7	0.212	918	3.22	-692
8	0.257	804	8.17	-1244
9	0.251	818	0.67	237
10	0.251	818	1.22	-118
11	0.290	733	4.01	-822
平均	0.234	887	2.63	-455
标准差	± 0.107	± 261	± 2.31	± 545
*			$P < 0.05$	$P < 0.05$

* 病人与对照组相比

** 单位为卡·克分子⁻¹·度⁻¹

ADP 混合时,判断可否自发进行的程度, G^0 是负值时表示反应可自发进行;负的绝对值愈大,表明自发进行程度愈高。 K 和 G^0 的结果如表3。

从表3可见,对照组的 K 值比病人的小,即达平衡时,血小板的凝聚数与分散数的比值,对照组小,病人组大。从自由能看,对照组为正值,平均为 887 卡·克分子⁻¹·度⁻¹,而病人多数是负值,平均 -445 卡·克分子⁻¹·度⁻¹。可见病人的反应容易自发进行,对照组与之相

反。

四、讨 论

我们首次用动力学和热力学的观点,研究了血小板与 ADP 的反应并计算了正、逆反应速度常数 K_1 和 K_{-1} ,平衡常数 K 和标准自由能 G^0 。其中 K_1 、 K 和 G^0 能区别正常人和缺血性疾病的界限,可用它们在临床上判断血小板功能异常,同时也为血小板功能异常变化提供了符合实际的理论依据。正常人和病人的血小板在本实验条件下对 ADP 的反应曲线,每个人都不相同,大致可分为三种类型,大多数遵循 $A \rightleftharpoons B$ 的可逆型,少数凝聚发生最大值后略有下降,另有少数呈两次凝聚型,但用 χ^2 检验,仍符合 $A \rightleftharpoons B$ 的可逆曲线。但是否有更为精密的模型以及在其他 ADP 浓度下的凝聚曲线的表达,还有其他致聚剂(如肾上腺素、胶原等)表现,这些均是值得进一步探讨的问题。

参 考 文 献

- [1] 施永德等:《生物化学与生物物理进展》,4,49,1982。
- [2] 陈松鹤等:《上海第一医学院学报》,9(2),87,1982。
- [3] Velaskar, DS et al: *Am. J. Clin. Pathol.*, 77 (3), 267, 1982。
- [4] Minnear, FL et al: *Am. J. Physiol.*, 242 (4), H 645, 1982。

[本文于1983年2月2日收到]

融合细胞质膜内化与过剩的估算

郑富盛 唐智琴 岳丽清

(北京医学院生物物理教研室、生物教研室)

细胞相融合时,一部分质膜内化,一部分质膜过剩。我们在电镜观察的基础上,提出了细胞融合时质膜变化的数学模型,估算了质膜的内化率与过剩率,并对电镜下见到的质膜形态

变化做出了适当的解释。

一、材料与 方法

1. 融合系统 小鼠 Ehrlich 腹水癌(以下