

温和灸对脾虚证大鼠血浆 β -内啡肽水平的影响*

曾文洁, 吴金峰, 湛海军, 王 威, 周魁明, 蒋文明[△]

(湖南中医药大学, 湖南长沙 410073)

摘要: **目的** 观察温和灸对大黄所致脾虚证大鼠血浆 β -内啡肽的影响, 探讨艾灸治疗脾虚证的作用机制。**方法** 将 40 只健康 SD 大鼠随机分为 4 组, 即生理盐水温和灸组、生理盐水不灸组、大黄水温和灸组、大黄水不灸组。运用大黄水煎剂灌胃制作脾虚证模型, 观察 SD 大鼠一般状况, 使用放射免疫法测定大鼠模型各组血浆 β -内啡肽的水平。**结果** 与生理盐水不灸组比较, 生理盐水温和灸组血浆 β -EP 水平明显提高 ($P < 0.01$)。与大黄水不灸组和大黄水组比较, 大黄水温和灸组血浆 β -EP 水平明显提高 ($P < 0.01$)。与大黄水组比较, 大黄水不灸组血浆 β -EP 水平提高 ($P < 0.05$)。**结论** 艾灸足三里、中脘等穴可明显改善实验性脾虚证大鼠的脾虚状况, 温和灸法对正常大鼠和脾虚大鼠的血浆 β -EP 水平均有调节作用, 对血浆 β -EP 水平的调节可能是艾灸治疗脾虚证的作用机理之一, 也可能是增强正常个体体质, 防治未病的作用机理之一。

关键词: 温和灸; 脾虚; 血浆 β -内啡肽

中图分类号: R245.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)02-0041-03

温和灸疗法具有温阳补虚、回阳固脱等作用, 临床上温和灸治疗脾虚证患者安全有效^[1-2]。Basedovsky 于 1977 年提出神经-内分泌免疫网络学说^[3], 丁红等^[4]从脑肠神经-内分泌-免疫网络多种介质分子水平对脾虚本质进行研究, 发现 β -内啡肽作为重要的脑肠肽, 在中枢神经系统和胃肠道中分布广泛在内源性和外源性神经元中, 起到神经递质的作用, 对胃肠功能调整发挥重要作用。本实验采用放射免疫法测定温和灸对脾虚大鼠血浆 β -内啡肽的水平, 旨在进一步探讨艾灸治疗脾虚证的效应机制与理论意义, 现将结果报告如下:

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 雄性, 体质量 (250~320)g, 月龄 3~4 个月, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。按照大鼠的体重, 从小到大依次标号 1, 2, 3, ……40, 按照随机分配表法将大鼠随机分配到 4 组, 每组 10 只大鼠, 依次为生理盐水温和灸组、生理盐水不灸组、大黄水温和灸组、大黄水不灸

组。饲养于湖南中医药大学实验动物中心实验动物房, 饲养温度 22~25℃, 湿度 40%~60%, 自然采光。

1.2 主要试剂及仪器

4%多聚甲醛、0.9%NaCl (湖南金健药业有限责任公司); β -EP 放射免疫试剂盒 (上海劲马实验设备有限公司); TGL16M 台式高速冷冻离心机 (长沙科威实业有限公司); γ -911 全自动放免计数仪 (中国科技大学实业总公司); DK-8D 型电热恒温水浴锅 (北京科伟永兴仪器有限公司); BD-180S 双层门卧式冷冻柜 (青岛海尔冷柜总公司);

1.3 处理方法

生理盐水温和灸组: 生理盐水灌胃造模 20d, 正常饮食, 第 21 天起施以温和灸, 具体方法如下: 2 组穴位, ①足三里、中脘穴; ②脾俞、胃俞穴。每次取 1 组穴, 2 组交替进行。穴位定位参考王春田主编的基础医学实验动物操作基本技能^[5]。足三里位于膝关节后外侧, 在腓骨小头下约 5 mm 处; 中脘位于脐上约 20 mm (以胸锁联合和耻骨联合连线下 1/4 与上 3/4 交点为肚脐); 脾俞位于第 12 胸椎下两旁肋间;

* 基金项目: 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划

收稿日期: 2014-01-02

作者简介: 曾文洁 (1990-), 女, 湖南衡阳人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 针灸临床研究。

[△]通信作者: 蒋文明, E-mail: 2839040380.qq.com

太冲位于后肢足背第 1、第 2 跖骨凹陷处。大鼠固定好后,将艾条夹在自制小型灸架上,对准施灸部位,距离约 2 cm 处点燃施灸。每天每穴连续灸 30 min,连续 10d。

生理盐水不灸组:生理盐水灌胃造模 20d,正常饮食,第 21 天起只做与生理盐水温灸组相同的固定,不施以任何治疗。

大黄水温灸组:大黄水灌胃造模 20d,正常饮食,第 21 天起施以温灸(同生理盐水温灸组)。

大黄水不灸组:大黄水灌胃造模 20d,正常饮食,第 21 天起只做与生理盐水温灸组相同的固定,不施以任何治疗。

各组灌胃均为每天上午 11 时-11 时 30 分之间进行(为避免灌胃时间的差异带来的系统误差),各组进行固定实验均为下午 4 时左右同时进行。

1.4 造模方法

参照苗明三、朱飞鹏《常用医药研究动物模型》脾虚证动物模型略加改进^[6],采用大黄苦寒泻下法复制脾虚大鼠模型。参考文献[7],制定模型标准:①泄泻,严重时甚至脱肛;②神态萎靡,四肢不收,毛色枯槁;③食少纳呆;④消瘦,体重减轻;⑤卷缩聚堆;⑥易疲劳。第①②项为主症,第③-⑥项为兼症。具备 2 项主症和 2 项兼症时,即可以认为脾虚证造模成功。造模完成后,开始进行相应的处理,第 30 天夜里各组禁食,第 31 天早上 9 时将 4 组麻醉处死,心脏采血。

1.5 检测项目及方法

1.5.1 检测指标

参考《脾虚证的现代研究》中介绍的中医对脾虚的辨证标准,从如下观察脾虚大鼠的见症:包括体质量、食量、精神、活动动作、粪便、拉尾排便反应、悬空拉尾抵抗力测试等。各指标按轻、中、重给予评分并予以积分,其中无症状记 0 分,轻度记 1 分,中度记 2 分,重度记 3 分。检测大鼠血浆 β -EP 水平。

1.5.2 检测方法

用 4 %多聚甲醛以 10mL/kg 腹腔注射麻醉。心脏采血 2mL,立即置入预冷的含 0.3mol/L EDTA-2Na40 μ L 和抑肽酶 40 μ L 的试管中,混匀,3 000 r/min,离心 15 min,取血浆分管保存在 -40 $^{\circ}$ C 低温冰箱待测。放射免疫法测定 β -EP 水平。按药盒说明书操作,测定中自设质量质控管, γ -911

全自动放免计数仪自动检测。

1.6 统计学分析

所有测量数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。所有数据使用 SPSS 17.0 for Windows 软件进行处理。首先进行正态性和方差齐性检验,经过程序检验,除空白对照组的一般见症积分数据不满足正态分布,其余数据均符合正态分布,所有组数据均满足方差齐性,采用单因素方差分析(One-way ANOVA),用 LSD 法进行统计学比较。

2 实验结果

2.1 一般状况

各组动物一般见症积分见表 1。如表所见,生理盐水不灸组与生理盐水温灸组 2 组的值无明显差异($P>0.05$);与大黄水不灸组比较,大黄水温灸组的值明显偏低($P<0.01$);2 组用大黄水造模的组其值都明显大于 2 组没用大黄水造模的组($P<0.01$)。

表 1 各组动物不同观察时点一般见症积分($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	第 30 天
生理盐水温灸组	0.70 $\pm$ 0.67 ¹⁾
生理盐水不灸组	0.50 $\pm$ 0.71
大黄水温灸组	5.40 $\pm$ 1.58 ²⁾
大黄水不灸组	8.60 $\pm$ 1.58 ³⁾

注:与生理盐水不灸组比较,¹⁾ $P>0.05$;与生理盐水不灸组比较,²⁾ $P<0.01$;与大黄水不灸组比较,²⁾ $P<0.01$;与生理盐水温灸组比较,³⁾ $P<0.01$ 。

2.2 对血浆 β -EP 的影响

各组动物血浆 β -EP 浓度水平见表 2。如表所见,与生理盐水不灸组比较,生理盐水温灸组的值明显增高($P<0.01$);与大黄水不灸组比较,大黄水温灸组的值明显增高($P<0.01$);使用大黄水造模的 2 组其值都明显小于没用大黄水造模的 2 组($P<0.01$)。

表 2 各组动物血浆 β -EP 浓度水平($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	β -EP/(pg/mL)
生理盐水温灸组	344.42 $\pm$ 17.72 ¹⁾
生理盐水不灸组	302.23 $\pm$ 13.13
大黄水温灸组	271.40 $\pm$ 14.64 ²⁾
大黄水不灸组	233.25 $\pm$ 13.99 ³⁾

注:与生理盐水不灸组比较,¹⁾ $P<0.01$;与生理盐水不灸组比较,²⁾ $P<0.01$;与大黄水不灸组比较,²⁾ $P<0.01$;与生理盐水温灸组比较,³⁾ $P<0.01$ 。

3 推论

本实验从症状积分和血浆 β -EP 分子水平两方面入手,通过对比研究发现:脾虚证大鼠见症积分越高,其血浆的 β -EP 水平越低,说明大鼠血浆的 β -EP 水平与脾虚证之间存在负相关;大黄水所致脾虚证大鼠,温和灸治疗后其血浆 β -EP 水平明显提高;正常大鼠温和灸刺激后,其血浆的 β -EP 浓度水平亦有所提高;说明温和灸可以刺激脾虚证及正常大鼠分泌释放 β -EP,使血浆 β -EP 浓度水平提高,达到治病防病的目的。

4 讨论

温和灸作为传统医学中一种有效的治疗方法,具有温阳补虚、回阳固脱的作用。目前已从多方面证实温和灸可以提高机体免疫力,从而达到补虚泻实、防病治病的目的^[8-10]。机体的免疫功能是受中枢神经系统调控,温和灸疗法通过温热刺激经由大脑调节达到防治疾病的作用^[11]。

中医学认为,脾为后天之本,气血生化之源,脾主运化,将水谷精微输布全身,濡养五脏六腑;若脾气不足,脾失健运,则脏腑依赖的水谷精微不能正常输布、濡养全身。有研究证明,脾虚证大鼠脾脏的脾小体中淋巴细胞、胸腺皮质淋巴细胞的超微结构出现了破坏,肾上腺的皮质细胞的超微结构也出现了明显的组织学改变,这些是脾虚证大鼠出现神经内分泌紊乱的病理学依据之一^[12]。现代研究也发现,脾胃病与 β -内啡肽有重要关系^[13];吕琳等认为 NEI 网络中 SS、 β -内啡肽紊乱是实验脾虚证大鼠分子生物学特征之一^[14]。 β -内啡肽在胃肠道和中枢神经系统双重分布,又称脑肠肽,是胃-肠-胰内分泌系统中的重要成员,在慢性脾虚证胃肠病变的发生发展中,具有病理生理学意义,它通过刺激胃酸分泌和近段十二指肠 HCO_3^- 分泌,保护胃肠粘膜细胞,影响胃肠运动等作用保护胃肠道^[15]。杨孝朴等认为脾虚时机体的胃肠粘膜损伤和 β -内啡肽升高,表明 β -内啡肽升高可能是机体对胃肠粘膜损伤的一种代偿性自我保护机制^[16]。

我们在研究中发现,血浆 β -EP 水平与脾虚见症积分有负相关性,温和灸可明显改善实验脾虚证大鼠的脾虚状况,对正常大鼠和脾虚证大鼠血浆 β -EP 水平均有调节作用。由此推断,对血浆 β -EP 水平的影响是温和灸治疗脾虚证的作用机理之一,也是增强体质,防治疾病的作用机理之一。而温和

灸“治未病”的思路在本课题中已得到验证,温和灸对于提高个体免疫力和改善脾虚症状是一种行之有效的办法,此方法方便安全、廉价易行,非常利于在过度医疗引发的医患矛盾背景下推广应用。此外,对于 β -内啡肽与“脾”的关系的研究有助于进一步揭示中医脾的本质,为中医五脏本质的研究提供新的思路和方法。

参考文献:

- [1] 夏永莉. 谈谈温和灸[J]. 河南中医, 2008, 28(5): 60-61.
- [2] 刘钺, 胡卡明, 郭耀光. 温和灸治疗功能性消化不良脾气虚证疗效评价[J]. 四川中医, 2011, 29(11): 115-116.
- [3] 周立华, 唐英, 卢依平, 等. 艾灸疗法治疗艾滋病脾气虚腹泄的临床研究[J]. 上海针灸杂志, 2008, 27(5): 17-19.
- [4] 丁红, 王红, 张田, 等. 隔姜灸治疗脾肾阳虚型溃疡性结肠炎疗效观察[J]. 武警医学院学报, 2009, 18(6): 509-601.
- [5] 王春田. 基础医学实验动物操作基本技能[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2009.
- [6] 苗明三, 朱飞鹏. 常用医药研究动物模型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [7] 吕琳, 陈永红, 庞声航. 壮医药线点灸对脾虚大鼠垂体-下丘脑、胃、肠生长抑素和 β -内啡肽的影响[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(2): 61-63.
- [8] 薛海燕. 温和灸足三里对胃癌患者免疫功能的影响[J]. 上海护理, 2013, 13(5): 29-32.
- [9] 栗冬, 张好, 陈以国, 等. 温和灸对痛经大鼠血清 CD3、CD4、CD8 影响的实验研究[J]. 山西中医, 2012, 28(3): 49-51.
- [10] 成泽东, 栗东, 陈以国. 温和灸对原发性痛经大鼠 T 细胞亚群水平的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(11): 2458-2460.
- [11] 张安仁, 朱珍, 王文春, 等. 艾灸对脾虚型慢性腹泻患者唾液淀粉酶及血清 SIgA 含量的影响 [J]. 西南军医, 2006, 8(3): 1-3.
- [12] 吴玲霓, 黄真炎, 王立峰, 等. 强肌健力方对脾虚证大鼠脏器组织超微结构的影响 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1091-1093.
- [13] 王俊伏. 艾灸温和灸的临证应用 [J]. 河南中医杂志, 2004, 24(7): 67.
- [14] 吕琳, 陈永红, 庞声航. 壮医药线点灸对脾虚大鼠垂体、下丘脑、胃、肠 SS、 β -EP 的影响及其作用机制[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 4(4): 37-39.
- [15] 莫剑忠, 王承党. 胃肠激素对胃肠运动的调节作用[J]. 中华消化杂志, 2005, 25(6): 379-981.
- [16] 杨孝朴, 魏彦明. 脾虚证模型大鼠血浆中 β -EP、CGRP、NPY 含量的变化[J]. 中国兽医学报, 2006, 26(1): 85-86.

(编辑: 杨 阳)

(英文摘要见第 50 页)

神经系统发挥正常的功能。放松肌肉,解除痉挛,促进血液循环,腰背部气血疏通,眼目则得经脉濡养。对面部穴位及肌肉按摩可以缓解用眼疲劳,舒解睫状肌痉挛,改善近视情况。

参考文献:

- [1] 中华医学会眼科学会眼屈光组 [J]. 中华眼科杂志, 1986,22:184.
[2] 陶晓雁,茹凯,郎松,等. 针刺眼周奇穴治疗青少年近视疗

效观察[J]. 上海针灸杂志,2010,29(10):643-645.

- [3] 张茜. 青少年近视与颈椎病变的关系浅探[J]. 中国热带医学,2007,7(11):166-2167.
[4] 邓叶清. 女性椎动脉型颈椎病致视力下降疗效观察[J]. 医药论坛杂志,2011,32(16):173-174.
[5] 陈嘉荣,卢阳佳,黄泳,等. 针灸治疗近视取穴规律文献研究[J]. 中医杂志,2011,52(16):1413-1416.

(编辑:徐建平)

Clinical Observation in Therapy of Orthopaedic-spinal Massage Combined with Local Face Massage for Teenagers Pseudomyopia

ZHOU Ping, ZHANG Yi-ming, HONG Xin, ZHAO Peng, LI Yang, LI Shu-juan, CHE Yan, CHANG Rong
(Yuxi Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yunnan Province, Yuxi 653100, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore therapeutic effect in chiropractic massage combined with local face massage for teenagers pseudomyopia and to seek a safe and effective method on traditional Chinese medicine treatment. **Methods** 80 pseudomyopia cases were selected in schoolchildren of aged 7-18 years and were randomly divided into the treatment group and the control group(n=40). The treatment group received therapy of chiropractic massage combined with local face massage. The control group received therapy of local face massage. The changes in visual acuity and in the amplitude values of cerebral blood flow were detected, and the therapeutic effect was evaluated. **Results** Visual acuity, the amplitude values of cerebral blood flow and therapeutic effect after treatment were statistically significant in the treatment group and the control group ($P<0.05$). **Conclusions** Chiropractic massage combined with local face massage can improve the vision level in teenagers pseudomyopia. It is a safe and effective method on traditional Chinese medicine treatment.

KEY WORDS: Pseudomyopia; chiropractic massage; local face massage; cerebral blood flow; visual acuity; schoolchildren

(原文见第 41 页)

Spleen Deficiency Mild Moxibustion on Plasma β -EP Levels

ZENG Wen-jie, WU Jin-feng, CHEN Hai-jun, WANG Wei, ZHOU Kui-ming, JIANG Wen-ming
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410073, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the effect of rhubarb induced mild moxibustion; explore the mechanism of moxibustion treatment of spleen deficiency syndrome. **Methods** 40 healthy SD rats were randomly divided into 4 groups, namely the normal saline and mild moxibustion group, the normal saline without moxibustion group, the rhubarb and mild moxibustion group, the rhubarb without moxibustion group. Water decoction of rhubarb was made by filling the stomach spleen deficiency rat model, observe the general condition of SD rats, determine the level of plasma β -EP endorphin by radio immunoassay. **Results** compared with the normal saline without moxibustion group, the normal saline and mild moxibustion group's plasma β -EP levels significantly increased ($P<0.01$); compared with the rhubarb without moxibustion group and the rhubarb group, the rhubarb and mild moxibustion group's plasma β -EP levels were significantly increased ($P<0.01$); compared with the rhubarb group, the rhubarb without moxibustion group's plasma β -EP level increased ($P<0.05$). **Conclusions** Moxibustion at zusanli, zhongwan point can obviously improve the rat model of spleen deficiency syndrome of spleen deficiency, mild moxibustion has regulatory effect on normal rats and rats with spleen deficiency plasma β -EP levels, the regulation of plasma β -EP levels may be one of the mechanism of Moxibustion in the treatment of spleen deficiency, may also be one of the mechanism of building up normal individuals' constitution and preventing disease.

KEY WORDS: mild moxibustion; spleen deficiency; β -EP