

冰毒成瘾者外周血白细胞端粒长度与中医证素关系的研究*

童秋玲, 钟名天, 曹晓慈, 丁鹏林, 刘新爱, 杨朝阳[△]

(福建中医药大学, 福建 福州 350122)

摘要: **目的** 探讨冰毒成瘾者外周血白细胞端粒长度与中医证素的关系, 从而在基因水平上揭示冰毒对人体健康影响的可能中医内在机制。**方法** 研究对象均为年龄在 20~49 岁的汉族人, 试验组为冰毒吸食者 136 例; 对照组为 200 例健康受试者, 规范采集四诊信息, 应用证素辨证方法提取中医证素特征和运用 QPCR 基础技术来测量外周血白细胞的端粒长度。**结果** ①校正年龄和性别后, 冰毒组的端粒长度比健康组的短($P<0.05$)。②冰毒成瘾者的中医证素分布: 病位以肝、脾、肾为主, 尤以肝最为多见; 病性上, 实证以气滞最为多见; 虚证以气虚最为多见。③校正年龄和性别后, 形成肝、湿、热等证素的冰毒组端粒长度与健康组的端粒长度之间均具有明显差异($P<0.05$), 且端粒长度比健康组的端粒长度短。**结论** ①吸食冰毒会造成端粒损伤, 使端粒长度缩短。②冰毒对人体的损伤是多脏腑功能失调共同所致, 肝是冰毒成瘾者最主要的病位因素, 气滞和气虚是冰毒成瘾者最主要的病性因素。③冰毒成瘾者端粒长度的缩短主要体现在中医肝、湿、热证素的形成上, 在基因水平上揭示了冰毒对人体健康影响的可能中医内在机制。

关键词: 冰毒成瘾者; 端粒长度; 中医证素

中图分类号: R277.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)03-0072-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.03.018

毒品滥用是我国一个严重的医学和社会问题, 严重影响了社会的和谐稳定。毒品的滥用会导致端粒损伤, 造成端粒长度缩短^[1]。而端粒是在保证基因稳定性方面起着重要作用的染色体结构^[2]。端粒长度的缩短可以导致细胞衰老、凋亡等结果。中医药在戒毒方面具有悠久的历史, 近年来中医药在毒瘾的中医病因病机、证候特点以及治疗手段方面均进行了积极的探索与尝试。但戒毒的周期较长, 从急性期脱毒治疗、稽延期戒断症状的康复再到重返社会, 每一个环节都至关重要。因而, 中医药在戒毒与防复吸方面, 具有重要的发展前景。笔者通过比较冰毒成瘾人群和健康人群的外周血白细胞的端粒长度特点及探讨与中医证素的关系, 从而探讨冰毒成瘾者外周血白细胞端粒长度变化的中医含义, 为中医药戒毒工作提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

所有参与者均为年龄在 20~49 岁的汉族人, 试验组为冰毒吸食者 136 例 (男性 80 例和女性 56 例), 来源于 2012~2014 年福州市公安强制戒毒所和司法厅戒毒管理局所辖的强制戒毒所; 对照组为 200 例健康受试者 (男性 115 例和女性 85 例), 招募自福建省第二人民医院体检中心。纳入标准: 强制戒毒人群康复期人员①符合美国精神障碍诊断与统计手册第 4 版(DSM-IV)苯丙胺类药物成瘾者诊断标准制定; ②自知力完整, 无精神疾病病史; ③本人同意参加本次调查; ④对调查中的各种评估量表能够理解、正确回答, 能够配合完成问卷调查者。排除标准: 排除肝、肾、心功能不全者及精神病患者。

1.2 资料收集

在知情同意下, 以问卷的方式及专业人员访谈方式客观准确地调查《毒品成瘾者中医 PRO 量表》, 同时由经过严格培训且合格的中医专业人员进行

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81373553)

收稿日期: 2016-03-14

作者简介: 童秋玲(1987-), 女, 福建龙岩人, 在读硕士研究生, 研究方向: 毒瘾的中医证研究。

[△]通信作者: 杨朝阳, E-mail: yzy813@126.com.

四诊采集,将所调查的量表内容、四诊信息内容参照“600种常见症状的辨证意义”进行整理。

1.3 证素辨证

采用《中华人民共和国国家标准·中医临床诊疗术语》,参照“600种常见症状的辨证意义”以各症状要素积分和阈值法确定证候及各个证的要素权重。各证的要素的诊断确定,以100作为通用阈值,各症状对各证的要素贡献度之和达到或超过100时,即可诊断为这些证的要素。每一症状的轻重,以中等程度为准,若该症状重时,其定量诊断值乘1.5,若该症状轻时,乘0.7。

1.4 实验方法

提取人全血DNA:空腹抽取EDTA抗凝全血,使用ABI6100核酸提取仪,用德国Qiagen公司生产的试剂盒提取外周血白细胞DNA,放置-80℃冰箱保存。

外周血白细胞端粒长度的测量:使用QPCR基础技术来测量端粒长度。每个样本的端粒长度相对值为T/S(端粒/单拷贝基因)比值,每个样品均以核糖核酸酶P作为参考(ABI)。端粒重复的数量和作为参考的核糖核酸酶P的数量为每个样本一式2份,同在ABI7900 HT热循环仪10mL反应体系的孔板上。端粒和核糖核酸酶P化验的循环条件为95℃留置10min,然后各在95℃15s内循环50次、60℃1min循环50次。

端粒酶的反应包含1个TaqMan基因表达预混液(ABI)试剂盒,300nM正向引物,300nM反向引物和1ng的模板DNA引物:

正向引物:5'-CGGTTTGTGTTGGGTTTGGGTT-TGGGTTTGGGTTTGGGTT-3';

反向引物:5'-GGCTTGCCTTACCCTTACCCT-TACCCTTACCCTTACCCT-3'。

1.5 统计方法

采用Access 2003软件,录入问卷资料,建立数据库。采用SPSS 19.0软件进行统计分析。计量资料均以均数±标准差表示;相关分析采用Pearson's相关、Spearman相关。各组端粒长度T/S比率比较采用协方差分析。计数资料采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健康组与冰毒组端粒长度的比较

校正各组的年龄和性别后,结果发现冰毒组端粒长度与健康组端粒长度比较具有统计学意义,

且冰毒组端粒长度较健康组短, $P=0.023<0.05$ 。结果见表1。

表1 健康组和冰毒组端粒长度的比较

组别 (I)	组别 (J)	均值差 值(I-J)	标准 误差	P	差分的95%置信区间	
					下限	上限
健康组	冰毒组	0.053*	0.023	0.023	0.007	0.098

注:* $P<0.05$

2.2 冰毒组的主要证素分布情况

选取冰毒组百分比大于30%的证素,结果发现,冰毒组的病位上均含肝、肾、脾等,其中以肝最为多见,肾、脾次之,结果见表2。病性上,冰毒组实证证素均含气滞、湿、痰、热、血瘀,其中以气滞最高;在虚证证素方面,含有气虚、阳虚、阴虚、血虚,其中以气虚最高。具体分布情况见表3。

表2 冰毒组主要病位证素分布(n=136)

病位要素	例数	百分比
肝	121	88.97
肾	110	80.88
脾	108	79.41
心	69	50.74
心神	65	47.79
胃	62	45.59
肺	45	33.09

表3 海洛因组和冰毒组实证证素分布(n=136)

实证要素	例数	百分比	虚证要素	例数	百分比
气滞	115	84.56	气虚	127	93.38
湿	104	76.47	阳虚	123	90.44
痰	104	76.47	阴虚	116	85.29
热	84	61.76	血虚	108	79.41
血瘀	41	30.15	气虚	127	93.38

2.3 健康组的端粒长度与冰毒组各证素的端粒长度比较

选取冰毒组证素分布前30%的证素,分别比较冰毒组各证素的端粒长度与健康组端粒长度,校正年龄和性别后,结果发现,冰毒组肝、湿、热证素的端粒长度与健康组的端粒长度之间均具有明显差异, $P<0.05$,且肝、湿、热证素的端粒长度比健康组的端粒长度缩短;其余证素的端粒长度与健康组端粒长度之间均没有明显差异, $P>0.05$ 。结果见表4。

表 4 健康组的端粒长度与冰毒组各证素的端粒长度比较

组别	均值差值	标准差	III 型平方和	df	均方	F	P	差分的 95%置信区间	
								下限	上限
健康组 * 肝	0.053*	0.024	0.209	1	0.209	4.966	0.027	0.006	0.099
健康组 * 脾	0.041	0.025	0.117	1	0.117	2.762	0.098	-0.008	0.089
健康组 * 肾	0.038	0.024	0.102	1	0.102	2.423	0.121	-0.010	0.086
健康组 * 心	0.033	0.029	0.055	1	0.055	1.303	0.255	-0.024	0.089
健康组 * 胃	0.040	0.024	0.074	1	0.074	2.854	0.092	-0.007	0.086
健康组 * 心神	0.031	0.023	0.046	1	0.046	1.790	0.182	-0.015	0.076
健康组 * 肺	-0.015	0.032	0.008	1	0.008	0.215	0.643	-0.078	0.048
健康组 * 气滞	0.046	0.024	0.153	1	0.153	3.636	0.057	-0.001	0.093
健康组 * 湿	0.051*	0.025	0.178	1	0.178	4.265	0.040	0.002	0.100
健康组 * 痰	0.032	0.025	0.069	1	0.069	1.662	0.198	-0.017	0.080
健康组 * 热	0.043*	0.021	0.107	1	0.107	4.270	0.040	0.002	0.083
健康组 * 血瘀	0.032	0.028	0.034	1	0.034	1.325	0.251	-0.023	0.086
健康组 * 气虚	0.046	0.023	0.163	1	0.163	3.806	0.052	0.000	0.092
健康组 * 阳虚	0.042	0.024	0.136	1	0.136	3.152	0.077	-0.005	0.089
健康组 * 阴虚	0.030	0.024	0.067	1	0.067	1.560	0.213	-0.017	0.078
健康组 * 血虚	0.031	0.025	0.065	1	0.065	1.519	0.219	-0.018	0.079

注:* $P<0.05$

3 分析与讨论

3.1 吸食冰毒会造成机体端粒损伤,导致端粒长度缩短

端粒的主要功能是维持基因组的稳定性,端粒长短与细胞衰老密切相关,从而决定了细胞寿命^[3]。端粒的缩短可以导致细胞衰老、凋亡以及携带不稳定基因继续分裂等结果。从生物学角度,正常细胞随体细胞的不断分裂、增殖,细胞端粒长度也会逐渐缩短。同时,细胞端粒的长度还会受心理和社会因素的影响,比如氧化应激、炎症反应、吸烟等。其中,氧化应激及炎症反应是端粒长度缩短的主要因素^[4-5],尤其是氧化应激可加速细胞的衰老^[6]。

本研究在校正年龄和性别后,比较吸食冰毒的人群与健康人群的端粒长度特征,结果发现,吸食冰毒人群的端粒长度均比健康人群的短($P=0.023$)。有实验研究发现,海洛因依赖大鼠的端粒酶活性降低,并且氧化与抗氧化失衡^[7],同样,氧化与抗氧化失衡也是冰毒导致中枢神经系统毒性作用的重要机制^[8-9],可见,吸食冰毒会引起严重的氧化应激反应。而氧化应激又是毒品引起染色体端粒长度缩短

的最常见机制^[10-11]。为此,可以说明吸食冰毒主要是通过机体的氧化和抗氧化失衡来造成端粒损伤,从而使端粒长度缩短的。

3.2 冰毒组主要证素特征

证素由病位和病性组成,为朱文锋教授所提出^[12],其根据证候辨别证素,由证素组合为证名,从而构建证素辨证新体系,为中医科研的客观化、标准化提供了新思路。本研究表明,吸食冰毒会引起脏腑功能失调,以肝、脾、肾功能失调为主,尤其是引起肝的功能失调最为常见,这与鲁丽等^[13]、杨朝阳等^[14-16]研究结果相符。病性上,实证以气滞最为多见,虚证以气虚最为常见。

虽然冰毒是后期合成的新型毒品,在中医相关戒毒书籍中也并无冰毒等新型毒品的记载,但冰毒仍然易散肝气,耗肝血,易使肝疏泄失常,气机不畅,且肝郁日久,易化火伤阴,临床表现上正如清代杜钟骏《抉癮刍言》有云:“肝受癮,癮至则泪出呕逆,饥不欲食,胁痛怯满,一身筋痛。胆受癮,癮至则口苦,呕吐胆汁,耳鸣,胁胀。”此外,也有研究表明^[17],吸食冰毒会加重吸毒人员与家人朋友的矛盾,

且毒品吸食者与家人朋友的关系越差,其证素肝形成的可能性越大。由此可见,冰毒引起的脏腑病变以肝为主。但也正如《扶臈刍言》所言:“五脏六腑皆能受癮。”因此,冰毒对人体脏腑功能损伤不仅在于肝,而是脾、肾等多脏腑功能失常共同所致。

吸食冰毒容易出现气滞病证。毒品味辛性温燥,久用、多用则易散肝气,耗肝血,以其涩滞之力,凝涩气血流通,使肝疏泄失常,气机不畅,从而出现气滞之证。同时,其可涩滞肺气,肺气不通,肺宣发肃降失常,则津液无以输布,水液内停聚而为痰为饮阻滞胸中气机,而致气机不利。吸毒人员常为饮食不节,可因毒品辛燥而喜食生冷蔬果,或渴思大量凉水,从而损伤脾胃,而脾胃为中焦气机升降之枢纽,脾胃损伤,水湿痰饮内生,阻滞中焦气机,致中焦气机不畅而出现气滞。此外,前期研究也发现^[14],肝郁为毒品成瘾发生的重要诱因,戒毒者康复中偏颇体质主要气郁质为主^[18]。由此可说明,气滞是冰毒成瘾者出现实证病变最主要的因素。

本研究表明,气虚是冰毒成瘾者虚证发病因素中最常见的病理变化。《王氏医存》所说:“元气在人,如日月之转,自子初至亥末,怡轮全周,自然而然,同于天度。天惟运行不息乃健,气惟运行不息乃生,其机一停立毁。而人习而好之者,因周身元气被其牵引,倦者不倦,乏者不乏,陡然爽快,疑为精神长也。”实则均可暗耗元气,常服可导致元气不支,从而出现精神萎靡,气短懒言,倦怠乏力,嗜卧等气虚表现,而严重者则出现冷汗淋漓,四肢厥逆,泄泻不止等气阳两脱之证。结合本研究结果,故可认为气虚是冰毒成瘾者最主要的虚证发病因素。

3.3 冰毒成瘾者端粒长度与中医证素关系的探讨

本研究对冰毒组各证素的端粒长度与健康组端粒长度也进行了比较,在校正年龄和性别后发现,冰毒组肝、湿、热证素的端粒长度与健康组的端粒长度之间均具有明显差异($P<0.05$),且肝、湿、热证素的端粒长度比健康组的端粒长度短,这与冰毒成瘾者的证素分布特点具有一致性的地方,在证素分布上,冰毒成瘾者病位上以肝最为常见,且湿、热也是冰毒成瘾者主要的实证要素。为此,可认为吸食冰毒造成端粒长度的缩短可能体现在中医肝、湿、热证素的形成上,就证而言,可认为冰毒成瘾者

端粒长度的缩短主要体现在肝湿热证的形成上。

冰毒是新型毒品,属苯丙胺类毒品,对中枢神经具有强烈的兴奋作用,其成瘾性对人类精神的控制作用更强,从而容易出现很强的精神依赖性,甚至出现严重的精神性疾病,其临床主要表现为意识清晰时出现幻觉,妄想,思维障碍等。这类精神性疾病多归属情志疾病,而肝主疏泄,能够调节精神情志,故肝与情志密切相关。冰毒吸食人员表现出情志病变,多与肝气耗散,气机不畅有关,甚至日久可郁而化热,伤及阴血。此外,长期吸食冰毒,可因毒品辛燥而喜食生冷蔬果,或渴思大量凉水,从而损伤脾阳,脾阳受损,运化失常则湿浊内生,湿浊阻滞中焦,日久可化热,湿热交蒸,缠绵难去。此外,湿热的产生也可以是外界环境气候所致,福州地处沿海,气候环境中湿邪相对来说比较重,久居则易感受湿邪,如加之吸食辛燥毒品,则更容易产生湿热之证。因湿热重浊粘滞,故本研究认为其与冰毒成瘾者毒瘾缠绵难除有关。这对我们后续更进一步的研究能够提供一定的提示,同时对中医戒毒治疗也具有一定的参考意义。

参考文献:

- [1] Yang Z, Ye J, Li C, et al. Drug addiction is associated with leukocyte telomere length [J]. Scientific Reports, 2013, 3 (3): 1542.
- [2] 李晓芳, 曹能, 徐伟江, 等. 端粒、端粒酶与人类基因组稳定性和健康的关系 [J]. 国际遗传学杂志, 2014, 37(4): 163-167.
- [3] Gilley D, Herbert BS, Huda N, et al. Factors impacting human telomere homeostasis and age-related disease [J]. Mechanisms of Ageing & Development, 2008, 129 (1-2): 27-34.
- [4] Epel ES, Blackburn EH, Dhabhar FS, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(49): 17312-17315.
- [5] Von ZT. Oxidative stress shortens telomeres [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2002, 27(7): 339-344.
- [6] Tie G, Messina KE, Yan J, et al. Hypercholesterolemia induces oxidant stress that accelerates the ageing of hematopoietic stem cells [J]. Journal of the American Heart Association, 2014, 3(1): e000241.
- [7] 王昱. 贯叶连翘提取物和美沙酮对海洛因依赖大鼠端粒酶活性和抗氧化能力的影响 [J]. 绵阳师范学院学报,

- 2014,33(11):49-52.
- [8] 安美玲. CCK-8 对甲基苯丙胺致神经损伤的保护作用及氧化应激机制研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2015.
- [9] Ramkisson A, Wells PG. Methamphetamine oxidative stress, neurotoxicity, and functional deficits are modulated by nuclear factor-E2-related factor 2 [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2015, 89(1):358-368.
- [10] Kovacic P. Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer [J]. Medical Hypotheses, 2005, 64(2):350-356.
- [11] Zhou JF, Yan XF, Ruan ZR, et al. Heroin abuse and nitric oxide, oxidation, peroxidation, lipoperoxidation [J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2000, 13(2):131-139.
- [12] 朱文锋. 创立以证素为核心的辨证新体系 [J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(6):38-39.
- [13] 鲁丽, 刘艳萍, 杨柏枫. 107 例戒毒者健康状况与中医证候特点分析[J]. 中国药物依赖性杂志, 2008, 14(4):219-220.
- [14] 杨朝阳, 李灿东, 黄世庚, 等. 吸毒人群中中医证素特点的临床研究[C]//中华中医药学会中医诊断学分会. 全国第十三届中医诊断学术年会论文汇编. 南昌:中华中医药学会中医诊断学分会, 2012:5.
- [15] 杨朝阳, 李灿东, 黄世庚, 等. 吸毒人群中中医病理因素的临床研究[C]//中华中医药学会. 朱文锋学术思想研讨会暨中医诊断师资班 30 周年纪念大会论文集. 长沙:中华中医药学会, 2012:113-117.
- [16] 杨朝阳, 李灿东, 李陵军, 等. 吸毒人群“毒瘾”相关证素的研究[C]//中华中医药学会. 中华中医药学会中医诊断学分会第十次学术研讨会论文集. 咸阳:中华中医药学会, 2009:7.
- [17] 曹晓慈, 丁鹏林, 钟名天, 等. 冰毒成瘾者中医证素与流行病学特征关联研究 [J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(1):73-76.
- [18] 蔡美美, 苏志扬, 章琴, 等. 强制戒毒人员中医体质的分布及影响因素分析 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(8):2476-2479.

(编辑:岳胜难)

Study on the Relationship between Telomere Length in Peripheral White Blood Cells of Methamphetamine Addicts and TCM Syndrome Elements

TONG Qiuling, ZHONG Mingtian, CAO Xiaoci, DING Penglin, LIU Xinai, YANG Zhaoyang
(Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the relationship between the telomere length in peripheral white blood cells of methamphetamine addicts and TCM syndrome elements, thus exploring effects of methamphetamine on human health of TCM internal mechanism at the gene level. **Methods** All of the study participants are Han Chinese between the ages of 20 and 49, the experimental group is recruited from 136 cases of methamphetamine addicts and the control group is recruited from 200 cases healthy volunteers. Standard diagnostic information collection and using plain dialectical method of extracting features of TCM syndrome elements, and applying to QPCR based techniques for the measurement of peripheral blood leukocyte telomere length. **Results** (1) Correction for age and gender, the telomere length of methamphetamine group is shorter than that in the healthy group ($P < 0.05$). (2) The distribution of TCM syndrome elements of methamphetamine addicts: disease is mainly distributed in the liver, spleen and kidney, especially in liver most common; the most common case is Qi stagnation of excess syndrome; the most common case is Qi-deficiency of asthenia syndrome. (3) After adjusting the age and sex, there is significant difference ($P < 0.05$) among the telomere length of formation of liver, wet and heat syndrome of methamphetamine group and telomere length of adjusted group is more shorter than that in the healthy group. **Conclusion** (1) Methamphetamine addicts will cause telomere damage in peripheral white blood cells and will make telomere length short. (2) Methamphetamine can cause organs dysfunction and disease is mainly in liver; Qi stagnation and Qi deficiency are the most prominent characteristics of disease leading to the methamphetamine addict. (3) The shortened of methamphetamine addicts telomere length is related to the formation of liver, wet and heat syndrome, and reveal the effects of methamphetamine on human health of TCM internal mechanism at the gene level.

KEY WORDS: methamphetamine addicts; telomere length; TCM syndrome elements