

· 实验研究 ·

中年大鼠气虚血瘀证的模拟及其机制探讨

天津市中医药研究院(300020) 庞树玲 高金亮

摘要 1)目的:建立中年大鼠气虚血瘀模型并探讨其机理。方法:采用饥饿、疲劳、寒凉综合因素作用于大鼠,并观察其耐疲劳时间、T淋巴细胞计数、T淋巴细胞转化率、T细胞亚群、B细胞计数免疫球蛋白和血液流变学、SOD等的改变。结果显示:中年气虚血瘀证大鼠耐疲劳时间缩短,细胞免疫功能显著降低,血液流变性呈低粘状态改变,SOD活性降低并与衰老改变相近。结论:中年气虚血瘀症的出现是早衰早亡的主要病理之一。

关键词 中年 气虚血瘀/证 免疫 血液流变性 超氧化物歧化酶

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用16月龄(相当于中年)健康Wistar大鼠60只,雌雄各半,雄性体重 $564 \pm 46\text{g}$,雌性体重 $360 \pm 25\text{g}$,随机分为对照组和造模组。动物及饲料均由军事科学院第一研究所动物室提供。

1.2 实验方法

1.2 对照组:常规饲养,充足食水。

1.2 造模组:第一周控制食入量,每日只摄正常食量的1/3(约33g/公斤体重,第二周,在控制食量的基础上,又强迫大鼠在凉水(14~16℃)中游泳,疲劳时捞出水面,每日1次,连续3周。造模期间自由进水,第五周第一天造模结束,眶后取血,检测各项指标。

疲劳标准以大鼠第一次自然下沉为度。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 一般状态观察:观察大鼠精神状态、毛色改变、鼠尾温度及活动情况等。

1.3.2 耐疲劳时间测取:即测取大鼠入水后至第一次自然下沉的时间。

1.3.3 免疫功能测定

1)T淋巴细胞计数。用酸性非特异性酯酶染色法(ANAE)^[1]。

2)T淋巴细胞转化试验。用体内诱导法^[2]。

3)T淋巴细胞亚群测定。采用单克隆抗体SPA直接花环法^{[3][4]}。单克隆抗体由英国牛津大学D. W. Mason教授制备。由上海第二军医大学免疫室惠供。

4)B细胞计数。用荧光显微镜计数法。

5)免疫球蛋白测定(IgG、IgA、IgM),用免疫浊

度法^[5]。单抗大鼠IgG、IgA、IgM和标准物由上海生物制品研究所惠供。仪器用美国Abb公司VP super system自动分析仪。

1.3.4 血液流变学检测

采用成都仪器厂产NXE—1型锥板式粘度计在25℃下测定不同切变的全血粘度,采用无锡县电子仪器二厂生产的802—3型毛细管粘度计测血浆比粘度,用Wintrobe血沉管,3000转/分速度离心30分钟,测定红细胞压积。

1.3.5 衰老指标测定

1)肝超氧化物歧化酶(SOD)活性测定,采用茴香胺法。

2)肝过氧化脂质(LPO)含量测定。用荧光微量法^[6]。

3)心肌脂褐素(Lip)含量测定,采用荧光分光光度法^[7]。

1.3.6 统计学方法

采用t检验、方差分析及检验等统计学方法处理。

2 结果

2.1 一般状态的变化

造模组大鼠表现出倦怠少动,活动无力,过劳(游泳)后,气短喘息,长时间不能恢复,毛色枯槁、杂乱或脱落,大多数大鼠尾绀稍凉,甚可见皮下瘀斑,体重明显下降。

对照组大鼠则活动灵活,毛色洁白光泽,未见尾绀稍凉,体重逐渐增加,未见其他异常表现。

2.2 耐疲劳时间

造模组耐疲劳时间较对照组明显缩短,差异显著($P < 0.01$)见表1。

表1 耐疲劳时间比较 X ± SD

	n	t(秒)	P
对照组	12	8.30 ± 1.12	< 0.01
造模组	12	4.23 ± 0.46	

W3/25⁺(Th/i 细胞)及 OX—8⁺(Ts/c 细胞) 低于对照组, 差异非常显著(P < 0.01), W3/25²/OX—8⁺ 值两组比较无显著性差异(P > 0.05), 见表3。

表2 T 淋巴细胞功能比较 X ± SD

	n	T 细胞百分比	T 细胞转换率(%)
对照组	12	68.67 ± 2.81	66.25 ± 2.26
造模组	12	60.58 ± 6.54	58.42 ± 5.87
P 值		< 0.01	< 0.01

2.3 免疫功能测定结果

造模组 T 淋巴细胞转换率显著低于对照组(P < 0.01) 见表2。

造模组 T 淋巴细胞亚群 OX—19⁺(全 T 细胞)、

表3 T 细胞亚群比较 X ± SD

	n	OX—19 (%) (全 T 细胞)	W3/25 (%) (Th/i 细胞)	OX—8 (%) (Ts/x 细胞)	W3/25 / OX—8
对照组	12	66.42 ± 2.19	43.33 ± 2.18	21.83 ± 1.64	2.00 ± 0.19
造模组	12	57.50 ± 5.98	39.25 ± 3.62	19.08 ± 2.42	2.07 ± 0.13
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	> 0.05

造模组 IgG 及 IgA 均显著低于对照组(P 0.05 ~ 0.01), 两组的 B 细胞、IgM 无显著性差异。见表4

表4 体液免疫功能比较 X ± SD

	n	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)	B 细胞 (%)
对照组	12	10.98 ± 1.72	3.09 ± 0.64	1.71 ± 0.25	9.50 ± 2.53
造模组	12	9.10 ± 1.15	2.57 ± 0.36	1.63 ± 0.23	8.92 ± 1.00
P 值		< 0.001	< 0.05	> 0.05	> 0.05

2.4 血液流变学检测结果

造模组高、中、低切变率的全血粘度均显著低于对照组(P < 0.05 ~ 0.01), 红细胞压积低于对照组,

但无显著性差异(P > 0.05), 造模组血浆比粘度高

于对照组, 但无显著性差异(P > 0.05), 见表5。

2.5 衰老指标检测结果

表5 血液流变学比较 X ± SD

	对照组 n	造模组 n	P 值	
全血粘度 CP	10	10		
	190.00S ⁻¹	5.48 ± 0.40	4.80 ± 0.58	< 0.05
	76.80S ⁻¹	6.08 ± 0.70	5.17 ± 0.77	< 0.01
	34.40S ⁻¹	8.48 ± 1.02	6.67 ± 1.68	< 0.001
	19.20S ⁻¹	10.39 ± 1.39	7.77 ± 1.58	< 0.001
	9.06S ⁻¹	12.70 ± 2.06	9.24 ± 2.68	< 0.001
3.84S ⁻¹	17.08 ± 3.80	11.34 ± 4.29	< 0.001	
血浆比粘度 (CP)	1.52 ± 0.07	1.60 ± 0.15	> 0.05	
红细胞压积 (%)	44.60 ± 3.66	41.57 ± 5.91	> 0.05	

造模组大鼠肝 SOD 活性显著低于对照组(P < 0.05), 造模组肝 LPO 含量及心肌 LiP 含量均低于

对照组, 但无显著性差异(P > 0.05), 见表6。

表6 衰老指标比较 $\bar{X} \pm SD$

	n	肝 SOD M/g 湿重	肝 LPO nmol/g	心 Lip ug/g 湿重
对照组	11	4305.00 ± 617.23	619.37 ± 93.24	8.92 ± 2.36
造模组	12	3481.24 ± 634.93	694.60 ± 185.56	11.25 ± 7.06
P 值	< 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

3 讨论

3.1 造模依据及机理

目前建立气虚或血瘀动物模型的方法不少,但气虚血瘀证的动物模型尚不多见。本实验根据中医气血理论及大量的文献调查,对气虚血瘀动物模型的制作进行了尝试,力求探索气虚血瘀证的病理规律。

气是构成人体和维持人体生命活动的最基本物质,其主要来源除先天肾精化生外,主要依靠后天脾胃运化的水谷精微。正如《灵枢·玉版篇》曰:“人之所受气者,谷也。”本实验每日只予大鼠正常食量的1/3,并连续4周,使其长时间的摄食不足,必致气血生化之源匮乏。《灵枢·五味篇》曰:“谷不入半日则气衰,一日则气少矣。”^[8]

《素问·举痛论》曰:“劳则气耗”,^[9]又“劳则喘息汗出,外内皆越,故气耗矣。”寒为阴邪,“寒邪客于经脉之中,则血泣而不通。”本实验用使大鼠在凉水中疲劳游泳模拟过劳及寒凉因素,加之摄入不足,使生化之源匮乏且过劳耗越,则“气日以衰,脉道不利”而“脉不通,则血不流”^[10],可见本实验的造模方法是源于中医基础理论的。

本实验表明,造模大鼠表现出系列气虚血瘀证的症状及体征,如气短、懒动、尾绀稍凉,而耐疲劳时间显著缩短等。可见本实验大鼠的证候表现基本符合气虚血瘀证的特点。

3.2 气虚血瘀证病理机制的探讨

3.2.1 免疫功能下降

机体免疫功能的改变被视为衰老的“领头人”^[11],研究表明,机体在衰老过程中,细胞免疫功能随增龄而持续下降,老人细胞免疫能力改变是机体免疫功能减退的主要表现^[12],中医在抗衰老研究中认为,各种虚证的发生与衰老有关,细胞免疫功能的低下可能是虚证一个共性表现,对虚证有定性意义^[13]。本实验表明,造模组 ANAE、T 淋巴细胞转化率,及 IgG、IgA 显著降低($P < 0.05 \sim 0.001$),T 细胞亚群表现为 $OX-19^+$ $W3/25^+$ 及 $OX-8^+$ 均显著下

降($P < 0.01$),但 $W3/25^+$ / $OX-8^+$ 值无显著性差异($P > 0.05$),提示气虚血瘀证存在着以 T 细胞数量及功能降低为主的机体免疫功能异常,该病理变化可能是中年早衰早亡的重要原因之一。

3.2.2 血液流变性异常

血液的粘滞和流动性改变被视为中医血瘀证诊断的微观指标。由于血瘀证的成因不同,血液流变性的改变也十分复杂,研究表明,血瘀证多有血液流变性异常,其中多数表现为血液粘度的增高,少数表现为血液粘度的降低^[14]。最近张氏证实,气虚血瘀证患者的血液粘滞性以红细胞变形能力降低为主要特征^[15]。本实验表明,造模组全血粘度显著降低($P < 0.001$),血球压积降低,血浆比粘度有增高趋势。提示血液的低粘状态亦是气虚血瘀证的病理改变。其机理有待进一步探讨。

3.2.3 自由基代谢紊乱

过氧化脂质(LPO)是生物衰老过程中自由基反应而诱导产生的代谢产物,脂褐素(LiP)是 LPO 分解时产生的醛类物质进一步与磷脂、蛋白质交联反应形成的一种老年色素,大量资料表明,自由基及其代谢产物 LPO 和 LiP 的含量随增龄而升高^[16]。

超氧化物歧化酶(SOD)是体内自由基的主要清除酶,正常体内自由基和 SOD 保持动态平衡,然而随着机体老化及各种不良因素的作用使机体产生 SOD 的能力逐渐下降,自由基及其代谢产物在体内堆积产生的毒害作用,使机体发病、衰老和死亡。

近年研究发现,中医虚证的发生与 SOD 的活性下降有着密切的关系,而虚损及夹瘀的程度越重, SOD 的活性就越低^[17]。本实验发现,造模组 SOD 活性明显降低($P < 0.05$),肝 LPO 和心肌 LiP 含量有增高趋势,表明气虚血瘀自由基代谢异常,主要表现为 SOD 活性降低,这与自由基衰老学说相符,本结果提示,气虚血瘀证的出现预示着机体衰老死亡开始。

近年来气虚血瘀在衰老过程中的作用倍受重视,颜氏明确指出:气虚血瘀是机体衰老的主要机

· 津门名医 ·

叶氏正骨创始人叶希贤

天津中医学院第一附属医院(300193) 叶振芳

唐山市中医医院(063000) 李桂林

叶希贤(1904~1978),字楚樵,北京市人,自幼好学,崇尚医术,1921年于北京市师范附中缀学,从屈连海老师习正骨,后又认杨桂山老师习按摩。1936年悬壶津门,专业骨伤科,屡起深痾而名于时。叶氏致力于中医正骨按摩,对医术精益求精,不断创新,疗效突出。其论治方法独具特色,形成了自己的风格,在骨伤科方面有一定影响。著有《中医正骨讲义》、《中医按摩治疗腰椎间盘突出症十种手法论述》、《中医按摩治疗肩凝症九种手法论述》。

解放后,叶老历任天津中医学院骨伤科教研室主任、中医学院第一附属医院骨科副主任、主任、天津中医学学会理事、骨伤科分会主任理事、全国中华医学总会常务理事、第四届市政协委员等职,先后被评为市级中医药先进工作者、市级五好工作者、市劳

制^[8]。中年是机体衰老过程的重要阶段,故中年大鼠气虚血瘀证动物模型的建立,对中年保健及抗衰老研究有重大的意义。

参 考 文 献

- 1 上海市医学化验所主编.临床免疫学检验(上册).上海:上海科学技术出版社,1983.
- 2 吴 铁,等.用PHA在小鼠体内诱发淋巴细胞转化初步观察.上海免疫学杂志,1984,(1):57
- 3 葛依工,等.流式细胞仪测大鼠外周T细胞亚群(微量全血法).上海免疫学杂志,1988,8(2):81~85
- 4 王兴旺,等.红细胞花环试剂测大鼠淋巴细胞亚群.上海免疫学杂志,1989,9(5):316
- 5 包淑一,等.自动化生化分析仪测定免疫球蛋白.天津医药,1988,8:430
- 6 余嘉丽,等.血清过氧化脂质硫代巴比妥酸荧光微量测定法的标准化.中华医学检验杂志,1987,10(1):24
- 7 范盘生,等.中国药理学与毒理学杂志,1988;2(4):257
- 8 灵枢经.北京:人民卫生出版社,1979.104

动模范。1956年加入中国共产党,曾荣获全国卫生技术革新先锋称号,受到卫生部嘉奖,曾担任叶剑英元帅等国家领导人的保健工作。

现将叶老之学术思想、经验专长进行粗略整理,以供同仁参阅。

1 学术思想

叶氏师承有绪,以经典为宗,但师古不泥古,他在吸收现代医学科学的基础上,丰富和发展了骨伤科临床医学的内容,形成了独特的学术风格,在治疗腰椎间盘突出脱出症、肩凝症等方面具有首创性,对中医骨伤科发展产生了积极影响。

伤科理论,源远流长,尤其《内经》对涉及人体骨肉、皮肉、气血、精津、脏腑、经络诸篇章,必须勤于攻读,加以研究,用以指导伤科的临床实践。后世医家

- 9 黄帝内经素问.人民卫生出版社,1963:222
- 10 张喜德.《内经》血瘀理论探.陕西中医学院学报,1989,12(4):1~5
- 11 Waltood.限食与衰老.国外医学.老年医学分册,1989,10(1):49
- 12 丁桂凤.衰老过程中免疫细胞的变化.国外医学.老年医学分册,1988,1:14
- 13 廖家桢,等.冠心病患者免疫功能与中医辨证关系初探.中西医结合杂志,1988,22(4)206~208
- 14 陈达理,等.中医基础理论现代研究.上海:上海中医学院出版社,1989.116
- 15 杜全行,等.全国中西医结合活血化瘀基础及血瘀证动物模型研究学术会议纪要.中国中西医结合杂志,1997,17(2):125
- 16 石体仁.衰老与自由基学说研究.老年医学在中国.长沙:湖南科学技术出版社,1989.121
- 17 陈晏珍,等.肾虚与超氧化物歧化酶关系初探.中医杂志,1989,4:42~43
- 18 颜德馨,等.气虚血瘀是人体衰老的主要机制.中国医药学报,1989,4(2):10

(收稿日期:1997-05-30)