

艾灸对脾虚大鼠小肠上皮线粒体超微结构及呼吸链酶含量的影响

易受乡, 彭艳, 彭芬, 常小荣, 龙奕文, 林亚平

■背景资料

艾灸疗法具有温通和温补作用, 其温补作用在治疗脾胃病方面尤为突出。现代研究发现艾灸治疗脾虚证具有良好疗效, 并发现其作用与改善胃肠运动及吸收功能, 调节消化酶活性等有关。

易受乡, 彭艳, 彭芬, 常小荣, 龙奕文, 林亚平, 湖南中医药大学针灸推拿学院 经穴与脏腑相关重点实验室 国家中医药管理局三级实验室 湖南省长沙市 410007

易受乡, 教授, 主要从事经脉脏腑相关的研究。

国家重大基础研究(973)基金资助项目, No. 2009CB522904

湖南省教育厅基金资助项目, No. 11C0965

作者贡献分布: 此课题由易受乡设计; 研究过程由彭艳、彭芬及龙奕文操作完成; 研究所用工具由易受乡、常小荣及林亚平提供; 数据分析由彭艳与彭芬完成; 本论文写作由彭艳完成。

通讯作者: 易受乡, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学东塘校区. yishouxiang@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-08-15 修回日期: 2011-10-05

接受日期: 2011-10-12 在线出版日期: 2011-10-18

Effect of moxibustion on mitochondrial ultrastructure and contents of mitochondrial enzymes in the intestinal epithelium of spleen-deficiency rats

Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Fen Peng, Xiao-Rong Chang, Yi-Wen Long, Ya-Ping Lin

Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Fen Peng, Xiao-Rong Chang, Yi-Wen Long, Ya-Ping Lin, Key Laboratory of Meridians and Viscera, Tertiary Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Institute of Acupuncture, Moxibustion and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by: the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program), No. 2009CB522904; and the Foundation of Hunan Education Department, No. 11C0965

Correspondence to: Shou-Xiang Yi, Professor, Institute of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. yishouxiang@yahoo.com.cn
Received: 2011-08-15 Revised: 2011-10-05

Accepted: 2011-10-12 Published online: 2011-10-18

Abstract

AIM: To observe the effect of moxibustion on symptom scores, mitochondrial ultrastructure, contents of succinodehydrogenase (SDH) and cytochrome oxidase (CCO), expression of COX I in the jejunal epithelium of spleen-deficiency rats and to explore the mechanism by which moxibustion reinforces the spleen-stomach.

METHODS: Forty healthy Sprague-Dawley

rats were randomly assigned into four groups: A (blank group; normal rats), B (model group; spleen-deficiency rats), C (moxibustion group; spleen-deficiency rats intragastrically given Sijunzi Decoction) and D (herbs group; spleen-deficiency rats receiving moxibustion at Zusanli, Zhongwan, Guanyuan, Pishu and Weishu points). An animal model of spleen-deficiency was established by intragastric administration of Chinese Rhubarb Infusion. Common symptoms were recorded. Mitochondrial ultrastructure of the jejunal epithelium was observed by electron microscopy. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the contents of SDH and CCO. The expression of COX I was detected by Western blot.

RESULTS: Compared to group A, symptom score increased significantly ($P < 0.01$), the contents of SDH and CCO and expression of COX I decreased significantly ($P < 0.05$ or 0.01), and the mitochondrial ultrastructure of the jejunal epithelium was terribly destroyed in group B. Compared to group B, the mitochondrial ultrastructure of the jejunal epithelium was only mildly destroyed, and the contents of SDH and CCO and expression of COX I increased significantly (0.387 ± 0.076 , 0.343 ± 0.053 vs 0.277 ± 0.037 ; 0.246 ± 0.058 , 0.231 ± 0.038 vs 0.167 ± 0.021 ; 0.941 ± 0.204 , 1.040 ± 0.214 vs 0.481 ± 0.131 , $P < 0.05$ or 0.01) in groups C and D. There were no significant differences in the above parameters between groups C and D.

CONCLUSION: Moxibustion could warm and reinforce the spleen-stomach and relieve symptoms of spleen-deficiency possibly by promoting the recovery of mitochondrial ultrastructure of the intestinal epithelium and increasing the contents of respiratory chain enzymes.

Key words: Moxibustion; Zusanli; Spleen-deficiency; Mitochondria; Sijunzi decoction

Yi SX, Peng Y, Peng F, Chang XR, Long YW, Lin YP. Effect of moxibustion on mitochondrial ultrastructure and contents of mitochondrial enzymes in the intestinal

■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海龙华医院 肿瘤五科

epithelium of spleen-deficiency rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(29): 3028-3034

摘要

目的: 观察艾灸足三里等穴对脾虚大鼠一般症状积分、空肠组织线粒体结构、琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素氧化酶(CCO)含量及其亚基蛋白COX I表达的影响, 探讨艾灸温补脾胃改善脾虚证的作用机制。

方法: 40只SD大鼠随机分为4组: A空白对照组, B脾虚模型组, C艾灸穴位组(脾虚+艾条温和灸组), D中药对照组(脾虚+四君子汤组), 每组10只。200%大黄水浸剂灌胃造成脾虚大鼠模型, 艾灸足三里、中脘、关元、脾俞、胃俞等穴, 观察大鼠一般症状, 透射电镜观察大鼠空肠组织线粒体结构, 酶联免疫法(ELISA)测定空肠上皮SDH和CCO含量, 免疫印记(Western blot)方法测定空肠上皮细胞内细胞色素氧化酶亚基 I (Cytochrome oxidase I, COX I)蛋白表达。

结果: 与A组比较, B组脾虚模型大鼠脾虚症状积分显著增加($P<0.01$), 空肠上皮细胞线粒体超微结构严重破坏, 空肠上皮细胞SDH和CCO含量及COX I表达较A组显著降低($P<0.05$ 或 0.01)。经艾灸足三里等穴或四君子药液灌胃治疗的C、D组空肠上皮细胞线粒体超微结构轻微损伤, 空肠上皮细胞SDH、CCO含量及COX I表达量均显著高于B组(0.387 ± 0.076 , 0.343 ± 0.053 vs 0.277 ± 0.037 ; 0.246 ± 0.058 , 0.231 ± 0.038 vs 0.167 ± 0.021 ; 0.941 ± 0.204 , 1.040 ± 0.214 vs 0.481 ± 0.131 , $P<0.05$ 或 0.01), C、D两组比较无显著性差异。

结论: 艾灸足三里等穴可温补脾胃, 改善大鼠脾虚症状, 其机制与促进脾虚大鼠小肠上皮细胞线粒体结构恢复, 增加呼吸链酶含量及其亚基蛋白的表达有关, 提示艾灸可通过促进线粒体结构和功能的恢复, 改善能量代谢。

关键词: 艾灸; 足三里; 脾虚; 线粒体; 四君子汤

易受乡, 彭艳, 彭芬, 常小荣, 龙奕文, 林亚平. 艾灸对脾虚大鼠小肠上皮线粒体超微结构及呼吸链酶含量的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(29): 3028-3034
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3028.asp>

0 引言

中医学理论认为^[1], 脾的主要生理功能为主运化、主升举和主统血, 其中以运化为核心。艾灸具有温补脾胃的效应, 可改善“脾主运化”功

能。有学者认为, 中医脾主运化的细胞生物学基础与线粒体功能关系密切^[2]。线粒体的功能特点与脾的生理功能有着多方面的共通之处, 其氧化磷酸化产能过程与脾主运化功能相吻合。线粒体含有进行食物氧化所需的酶, 将食物的潜能转化成供细胞所用的能量。因此, 本研究采用苦寒泻下法建立大鼠脾虚模型, 观察艾灸足三里、中脘、关元、脾俞、胃俞穴对脾虚大鼠症状、空肠上皮细胞线粒体结构、线粒体酶含量及亚基蛋白表达的影响, 分析艾灸改善脾虚证与线粒体能量代谢的关系, 从能量代谢角度探讨艾灸温补脾胃的分子生物学机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠, SPF级, 雌雄各半, 体重180-220 g, 共40只, 由湖南中医药大学实验动物中心提供。艾条(南阳市卧龙汉医艾绒厂); SDH含量测定试剂盒, CCO含量测定试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司); 2.5%的戊二醛, 2%的钨酸(由中南大学湘雅医学院配制提供); BCA蛋白定量试剂盒(Wellbio); Tris, APS, SDS, Tween-20, 丙烯酰胺, 甘氨酸, 甲叉双丙烯酰胺, 丽春红(Sigma公司); 山羊抗小鼠IgG(goat anti-mouse IgG), 山羊抗兔IgG(goat anti-rabbit IgG)(Proteintech公司); RIPA裂解液(北京普利莱公司); SuperECL Plus超敏发光液(Thermo pierce公司); 显影液, 定影液(WellBiology公司)。四君子汤: 市购人参、白术、茯苓、炙甘草, 按照9:9:9:6比例依照中药传统水煮方法煎煮, 100℃恒温水浴加热浓缩, 得到含生药1 mL的四君子汤药液^[3]。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模: (1)分组。40只大鼠随机分为4组, 每组10只。A空白对照组, B脾虚模型组, C艾灸穴位组(脾虚+艾条温和灸)D组: 中药对照组(脾虚+四君子汤组); (2)动物造模及评价方法。脾虚动物模型: 采用苦寒泻下法, 200%的大黄水浸剂浓缩液4℃灌胃, 每只1 mL/100 g, 每天2次, 连续14 d。观察体质量、体温、饮食、大便、精神状态、行为变化等。200%的大黄水煎剂浓缩液制备方法: 市售生大黄(安徽沪淮中药饮片厂, 10 g/包), 加入100℃蒸馏水煮沸5 min, 四层纱布过滤3-4次, 100℃水浴浓缩至200%(相当于生药2 mg/mL), 4℃保存备用; 脾虚动物模型评价标准: 泄泻, 严重时甚至脱肛; 食少纳呆; 消瘦, 体质量减轻; 神态萎靡, 四肢不收,

■研究前沿

目前研究已表明, 中医“脾”的生理功能与线粒体的功能特点有着多方面的共通之处, 其氧化磷酸化产能过程与脾主运化功能相吻合。艾灸温补脾胃效应与线粒体结构和功能之间的有何联系, 中医“脾主运化”的生理功能与能量代谢之间的关系, 有待深入探讨。

■相关报道

现阶段研究表明,脾虚患者和动物主要表现为胃肠道运动和吸收功能障碍,胃肠细胞线粒体结构改变,线粒体酶含量或活性降低,能量代谢障碍。中药四君子汤对脾虚动物胃肠细胞线粒体能量代谢有一定调节作用。

表 1 脾虚动物模型症状量化积分表

症状	无症状 (0分)	轻度 (1分)	中度 (2分)	重度 (3分)
大便稀溏	无,成形	半成形,稍稀,拉尾排便反应阳性	稀便,拉尾排便反应阳性	溏便,肛周污浊,拉尾排便反应强阳性
食少	无	食欲较差,食量减少10%–20%	食欲不佳,食量减少20%–40%	终日不欲进食
体质量增长率	≥10%	7%–10%(含7%)	4%–7%(含4%)	<4%
倦怠	无倦怠,反应灵敏,拉尾抵抗持续时间>1 min	肢体稍倦,反应较灵活,拉尾抵抗持续时间30–60 s	少动,乏力,拉尾抵抗力持续5–30 s	无力,扎堆,拉尾抵抗持续时间<5 s
皮毛	皮毛光泽	稍荣,少光泽	蓬松不荣	枯槁无光泽

具有前两项症状,且总积分≥4分,认为脾虚模型造模成功;≤5分为轻度,6–10分为中度,>10分为重度;尾排便试验:拉尾排便率(观察1 min内,牵拉大鼠尾巴时,是否出现排便现象);悬空拉尾抵抗力测试:观察方法,手捉大鼠尾巴,呈悬空状,大鼠开始摇晃挣扎,开始计时,直至大鼠无力旋转挣扎时为止,统计时间,可以反映大鼠的乏力程度。

毛色枯槁;卷缩聚堆;易疲劳。第1,2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。

1.2.2 治疗方法: (1)穴位定位。穴位定位参考林文注主编《实验针灸学》常用动物穴位定位法及拟人对照法定位,以胸锁联合和耻骨联合连线下1/4与上3/4交点为肚脐。足三里:膝关节后外侧,腓骨小头下约5 mm处;脾俞:第十二胸椎下两旁肋间;胃俞:第十三胸椎下两旁肋间;中脘:脐与胸骨剑突连线中点,约脐上20 mm处;关元:脐与耻骨联合上缘连线上3/5与下2/5交点,约脐下25 mm处; (2)艾灸方法。取大鼠中脘穴、关元穴、单侧足三里穴,单侧脾俞穴,单侧胃俞穴。单日大鼠仰卧位固定,灸中脘、关元及一侧足三里穴(隔日左右交替);双日大鼠俯卧位固定,灸单侧脾俞胃俞(隔日左右交替)。大鼠束缚于鼠板上,定穴后局部剪毛,用隔热纸包裹局部,隔热纸上剪一5 mm×5 mm的小孔并对准穴位,将艾条固定于自制艾条支架上,

使艾条点燃部位垂直距离大鼠穴位约3 cm,点燃施灸,每天每穴艾灸30 min,连续艾灸14 d; (3)实验步骤。所有大鼠分组处理,A组蒸馏水灌胃,每只1 mL/100 g,每天2次,连续14 d。B、C、D组200%的大黄水煎剂浓缩液4 ℃灌胃,每只1 mL/100 g,每天2次,连续14 d。同时,从实验第1天开始,A、B组捆绑30 min不艾灸;C组艾灸穴位30 min,D组四君子颗粒药液1.2 mL/只,连续处理14 d。于实验第14天处理后,4组大鼠禁食不禁水24 h,第15天处死全部大鼠取材。

1.2.3 观察指标: (1)一般症状积分。分别于实验第0天(造模前1 d),第14天(造模最后1 d)观察大便、精神状态、行为变化等,并记录体质量,食

量,拉尾抵抗时间,按表1计分; (2)空肠组织线粒体结构观察。取近端空肠黏膜组织,2.5%的戊二醛固定24 h以上,2%的锇酸后固定2 h,梯度脱水,环氧树脂混合液浸泡24 h,包埋,超薄切片,电子染色,透射电镜观察、照片; (3)空肠组织SDH、CCO含量。取大鼠空肠新鲜组织200 mg,加入适量生理盐水捣碎,3 000 r/min离心10 min取上清。采用ELISA法检测上清液中SDH和CCO的含量(具体操作方法参照北京博奥申生物技术有限公司ELISA检测试剂盒使用说明书); (4)空肠上皮细胞COX I蛋白含量测定。采用蛋白免疫印记(Western blot)检测空肠上皮细胞COX I蛋白含量。将曝光后的底片扫描,用Imager Quant 400成像系统软件对Western blot条带进行灰度扫描,将灰度值数字化,以目的蛋白的灰度值除以内参β-actin的灰度值以校正误差,测定其I4值。

统计学处理 数据用mean±SD表示,所有资料进行正态性检验;多组计量资料采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐者用LSD和SNK法,方差不齐者用Tamhane's T2或Dunnett's T3法,前后比较采用配对t检验,所有数据使用SPSS17 for Windows软件进行处理。

2 结果

2.1 艾灸对大鼠脾虚症状的影响 大黄水浸剂灌胃14 d后,模型大鼠体质量增长缓慢,食量下降,活动减少,喜蜷聚,大便溏泄,毛色不泽,食量下降。造模后B组大鼠脾虚症状积分与造模前相比显著增高,亦显著高于A组($P<0.01$),提示造模成功。经艾灸或四君子汤药液同步治疗的C组和D组大鼠脾虚症状不明显,脾虚症状积分显著低于B组($P<0.01$),造模前后无显著性差异,与A组

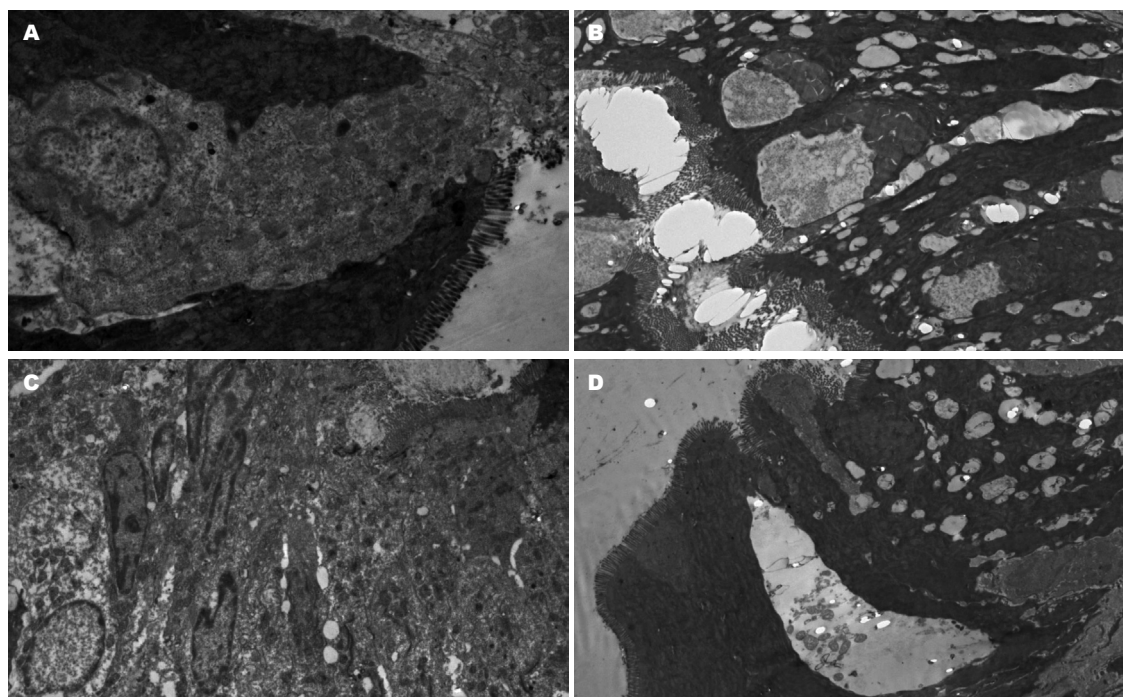


图1 艾灸对脾虚大鼠空肠上皮线粒体结构的影响($\times 5000$)。A: A组; B: B组; C: C组; D: D组。

■应用要点

本文从脾虚证入手, 分析“脾主运化”与能量代谢的关系, 探讨“脾”与线粒体相关性。在国内率先开展了艾灸改善脾虚证与线粒体结构与功能之间关系的研究, 具有一定的创新性。

比较无显著差异。C组症状总积分略优于D组, C、D两组比较无显著性差异。结果提示艾灸足三里等穴或以四君子汤药液灌胃均可改善大黄水浸剂灌胃所致的大鼠脾虚症状, 艾灸效果略优于四君子汤(表2)。

2.2 艾灸对脾虚大鼠空肠上皮线粒体结构的影响 A组空白对照组: 空肠上皮细胞微绒毛排列整齐, 线粒体结构正常, 嵴清晰(图1A); B组脾虚模型组: 上皮细胞之间间隙扩大, 连接变短、水肿, 上皮细胞胞浆水肿, 线粒体空泡化(图1B); C组艾灸穴位组: 腺上皮结构正常, 仅少数线粒体水肿(图1C); D组中药对照组: 肠上皮胞浆水肿, 可见一小空泡, 但线粒体正常(图1D)。

2.3 艾灸对脾虚大鼠空肠组织SDH、CCO含量的影响 与A组比较, B组模型大鼠空肠上皮细胞SDH和CCO含量显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 表明脾虚模型建立后, 空肠上皮细胞呼吸链酶含量降低; 与B组比较, C组和D组大鼠空肠上皮细胞SDH和CCO含量显著增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 表明艾灸或四君子汤药液可增加空肠上皮细胞SDH和CCO含量; C组空肠上皮细胞SDH和CCO含量略高于D组($P>0.05$), 表明艾灸效果略优于四君子汤, 但未出现显著性差异(表3)。

2.4 艾灸对脾虚大鼠空肠上皮细胞COX I蛋白表达的影响 与A组比较, B组模型大鼠空肠上皮细胞COX I表达量显著降低(0.481 ± 0.131 vs 0.827 ± 0.207 , $P<0.05$), 表明脾虚模型建立后, 大

表2 各组大鼠脾虚症状积分比较 (mean \pm SD, $n=10$)

分组	造模前 (造模第0天)	造模后 (造模第14天)	差值
A组	0.90 ± 0.57	1.10 ± 0.74	0.20 ± 0.25
B组	1.10 ± 0.57	6.20 ± 0.79^b	5.10 ± 0.35^d
C组	1.00 ± 0.47	2.00 ± 0.47	1.00 ± 0.21^f
D组	0.90 ± 0.32	1.80 ± 0.42	0.90 ± 0.18^f

^b $P<0.01$ vs 造模前; ^d $P<0.01$ vs A组; ^f $P<0.01$ vs B组。

表3 各组大鼠空肠组织SDH和CCO含量比较 (mean \pm SD, $n=10$)

分组	SDH(μ mol/g)	CCO(k/mg)
A组	0.343 ± 0.039	0.231 ± 0.024
B组	0.277 ± 0.037^a	0.167 ± 0.021^b
C组	0.387 ± 0.076^d	0.246 ± 0.058^c
D组	0.343 ± 0.053^c	0.231 ± 0.038^c

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs A组; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs B组。

鼠空肠上皮细胞COX I表达量下降; 与B组比较, C组和D组大鼠空肠上皮细胞COX I表达量显著增强(0.941 ± 0.204 , 1.040 ± 0.214 vs 0.481 ± 0.131 , $P<0.01$), 表明艾灸或四君子汤药液可使空肠上皮细胞COX I表达增强; D组空肠上皮细胞COX I表达量略高于C组($P>0.05$), 表明四君子汤药液效果略优于艾灸, 但无显著性差异(图2)。

■同行评价

本研究设计合理, 结果可靠, 结论可信, 对艾灸温补脾胃效应的机制研究有一定的参考价值。

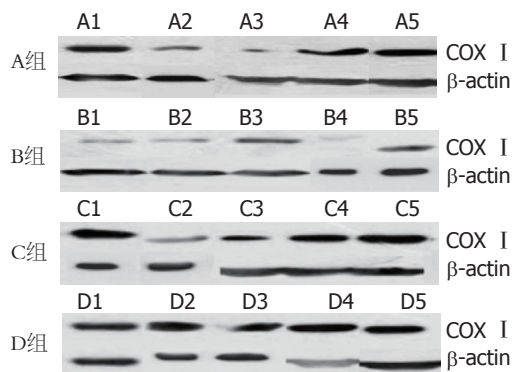


图2 各组大鼠空肠上皮细胞COX I表达凝胶电泳图。A: A组; B: B组; C: C组; D: D组。

3 讨论

中医学理论认为, 脾的主要功能是运化水谷精微, 化生气血, 荣养五脏六腑、四肢百骸。五脏六腑依赖脾脏所化生气血的滋养, 才能发挥其各自的生理功能。脾虚失运, 则出现食欲不振、腹胀、便溏、消化不良, 以至倦怠, 消瘦等气血生化不足的病变, 即脾虚证。治疗应以健脾益气、升发脾阳、运化水谷为主要治疗原则, 以达到脾运恢复的目的^[4]。临床治疗脾虚证, 常用健脾益气方药, 四君子汤是益气健脾方剂的基础方和代表方。亦可采用针灸治疗^[5-7]。灸法具有温经散寒、温阳化湿、消瘀散结、行气止痛之功, 通过合理配穴, 可助脾胃恢复其升降之机。升降和, 湿滞消, 则诸症自除^[8]。本研究采用艾灸足三里等穴对脾虚大鼠进行治疗, 大鼠体质量、食量及体力等均得到改善, 表明艾灸可温补脾胃, 改善脾虚症状, 其疗效与四君子汤药液无明显差异。

脾主运化, 为后天之本, 脾从饮食水谷中摄取精微以营养五脏六腑、四肢百骸。从现代医学角度来看, 食物中的营养物质, 经小肠吸收后, 由血液输送到全身的组织细胞之中, 然后主要在细胞内的线粒体进行生物氧化, 产生能量以维持机体的生理活动。组织器官代谢相关酶的活性以及线粒体结构和功能的变化都是脾虚证发生的病理机制^[9]。近年来, 有关脾主运化的研究已深入到亚细胞分子水平。有学者认为, 中医脾主运化的细胞生物学基础与线粒体功能关系密切, 并提出了“脾—线粒体相关”理论^[2]。线粒体是细胞内进行呼吸和能量转换的场所, 是细胞的“动力工厂”^[10]。线粒体形态结构主要是封闭的双层膜结构, 内膜上分布有电子传递复合物和其他与线粒体代谢相关的酶蛋白分子,

因此内膜在能量转换功能中起着主要作用。线粒体的这种结构与能量合成功能密切相关^[11,12]。嵴膜破坏可引起线粒体功能下降, 线粒体肿胀(基质空间增大)同样会引起线粒体电子传递受阻, 氧化磷酸化解偶联以及ATP合成量减少。脾虚时, 线粒体结构和含量会发生相应改变。临床观察发现^[13], 脾胃气虚胃脘痛患者壁细胞线粒体数目明显减少; 壁细胞及浆细胞均可见线粒体肿胀, 膜缺损, 嵴断裂、基质变淡等变化, 与对照组相比有明显差异。在对长期脾虚模型大鼠的研究中也发现^[14], 心肌细胞、肝细胞、骨骼肌细胞、胃壁细胞、胃主细胞线粒体结构均出现了改变, 线粒体形状异常, 结构紊乱, 基质改变或成空泡样变。这些病理性改变的出现, 必然引起细胞的能量代谢障碍, 导致相应细胞的功能低下, 如: 胃壁细胞泌酸、主细胞分泌胃蛋白酶减少; 小肠吸收细胞对营养物质的吸收, 结肠柱状细胞对水分的吸收障碍, 使整个消化道处于一种低下状态, 出现中医脾虚失运的症候, 如纳差、食后腹胀、便溏、腹泻等。因此, 胃肠线粒体的改变是脾虚证候发生的一个重要超微病理基础。本研究中显示, 脾虚大鼠空肠组织线粒体空泡化, 水肿。从现代医学分析, 线粒体肿胀, 内质网扩张, 可能是由于线粒体功能受损, 能量不足, Na^+/K^+ 泵运转障碍, 过多的水停积于细胞器内所引起。这与中医脾运化水湿无力密切相关。经艾灸处理的脾虚大鼠, 仅观察到少数线粒体水肿, 提示艾灸足三里等穴可促进线粒体损伤恢复, 改善能量代谢。

中医脾主运化, 不仅仅是指食物在胃肠的消化吸收, 更重要的是线粒体的生物氧化产能过程。线粒体的功能特点与脾的生理功能有着多方面的共通之处, 其氧化磷酸化产能过程与脾主运化功能相吻合^[15]。线粒体含有进行食物氧化所需的酶, 因而线粒体可以把各种食物的潜能转化成能为细胞用来实现它的各种功能活动的能量。脾虚时, “脾主运化”功能受损, 胃肠功能减弱, 蛋白质的消化吸收障碍, 生产各种酶的原料缺乏。而脾虚导致其他脏器组织细胞受到损伤, 也会导致酶的生成减少。呼吸链是位于线粒体内膜的一个酶体系, 由四个酶复合体(complex I, II, III, IV)和连通复合物I, II和III的辅酶Q(CoQ)以及连通复合物I和IV的细胞色素c(Cyt. c)组成。这一酶系催化生物底物的氧化并和催化ATP合成的ATP酶相偶联共同组成生物能量转化的分子机构^[16]。琥珀酸脱氢酶(SDH)

作为参与三羧酸循环的关键酶,是反映线粒体功能的标志酶之一,其活性一般可作为评价三羧酸循环运行程度的指标. SDH活性下降时,细胞物质转运、能量代谢功能低下,影响离子运送,影响消化酶合成分泌和细胞正常生理功能活动,以致消化吸收障碍^[17]. 目前在脾虚动物的胃肠组织^[18]、脑组织^[19]、心肌^[20]和骨骼肌^[21]中,均观察到SDH活性降低. 而细胞色素氧化酶(COX)即呼吸链复合体IV,是呼吸链上的关键酶,是线粒体中唯一能被氧分子氧化的细胞色素,其活性直接影响线粒体生物氧化、产生能量的过程. 研究发现,脾虚大鼠肝脏线粒体SDH、COX活性均显著降低,说明脾虚大鼠肝脏线粒体受损,能量代谢障碍,导致细胞氧化磷酸化功能障碍,合成ATP的能力降低^[22]. COX与线粒体功能及细胞能量的产生密切相关,其编码基因的改变、表达及酶活性的发挥对细胞在生理和病理情况下的机能、代谢和形态结构有直接影响. COX多个亚基的复合物镶嵌在线粒体内膜上,其中I、II、III三个大亚基由线粒体基因编码并定位合成. 其中任何一个亚基受损均可导致电子传递障碍,直接影响线粒体功能^[23]. 刘友章等^[24]发现,长期耗气破气加上饥饱失调制作的脾虚模型大鼠,无论是肝、心肌、胃还是骨骼肌细胞线粒体细胞色素a、b、c、c1均降低,细胞色素氧化酶的量低于正常大鼠,mtDNA编码COX I a、COX II、COXIII存在突变现象,表明长期处于脾虚状态可导致各器官线粒体DNA损害,细胞色素氧化酶减少,机体能量代谢减少. 本研究结果显示,脾虚模型大鼠小肠上皮细胞胞浆水肿,线粒体空泡化,SDH和CCO含量降低,COX I 蛋白表达减少,提示线粒体结构和功能被破坏,能量生成障碍. 经艾灸或四君子汤治疗后,大鼠小肠上皮细胞线粒体结构仅轻微损伤,SDH和CCO含量增高,COX I 蛋白表达增强,甚至略高于空白对照组. 推测可能由于组织细胞线粒体在恢复过程中,为了满足体能恢复及体重增加所需的能量,能量代谢加快所致.

总之,脾虚证是以消化系统为中心的多系统、多器官功能障碍综合征候群,即以消化、运动和吸收功能障碍为主要症候. “脾主运化”的生理功能与能量代谢关系密切. 食物中的各种营养物质,经小肠吸收后,由血液输送到全身的组织细胞之中,然后主要在细胞内的线粒体进行生物氧化,产生能量以维持机体的生理活动. 小肠是食物消化和吸收的重要部位,小

肠吸收细胞对一些物质(糖、氨基酸、钠)等的吸收是一个主动的耗能过程,需不断地消耗ATP来实现. 若某种因素影响到线粒体的能量代谢,并超过了本身的代偿能力,就必然会影响到小肠吸收细胞的吸收功能,导致营养物质的吸收障碍,出现吸收不良症状. 艾叶药性偏温,加之艾火产生的热力,使得艾灸疗法具有独特的温补脾胃之功效. 现代研究亦发现,艾灸时的红外辐射可为机体细胞的代谢活动提供所必需的能量,也能给缺乏能量的病态细胞提供活化能^[25]. 本研究成果显示,脾虚模型大鼠空肠上皮细胞线粒体超微结构损伤,呼吸链酶含量降低,能量代谢障碍. 而艾灸可促进线粒体结构恢复,增加呼吸链酶含量,促进生物氧化,改善能量代谢,从而达到温补脾胃,改善“脾主运化”功能的效应. 因此,促进线粒体结构和功能恢复是艾灸温补脾胃改善脾虚证的重要环节.

4 参考文献

- 1 孙广仁. 中医基础理论. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 83
- 2 Liu Yz. Exploration of the nature of PI "spleen" in Traditional Chinese Medicine on a subcellular level: A study on the gastric mucosal ultrastructure of 51 cases of diarrhea due to weakness of function of "PI". *Traditional Chinese Medicine Digest* 1987; 11: 3-20
- 3 彭成, 雷载权. 四君子汤对消化、运动、吸收作用的实验研究. *中药药理与临床* 1995; 11: 6-8
- 4 江玉, 王明杰. 脾虚证的研究进展. *泸州医学院学报* 2006; 29: 269-270
- 5 王贵华. 温针灸治疗脾虚湿困型慢性结肠炎80例. *中国针灸* 2006; 26: 351
- 6 何邦广, 吴海标, 钱火辉. 温针灸治疗脾虚型溃疡性结肠炎临床观察. *吉林中医药* 2009; 29: 410-411
- 7 余华, 王文莉. 麦粒灸治疗脾虚泄泻证的临床研究. *中国针灸* 2001; 21: 131-134
- 8 曹锐, 黄芳. 灸法在常见脾胃病治疗中的应用. *中国实用乡村医生杂志* 2007; 14: 23-24
- 9 王乐. 脾虚证实验研究概况. *辽宁中医杂志* 2007; 34: 246-247
- 10 Huang ML, Becker EM, Whitnall M, Suryo Rahmanto Y, Ponka P, Richardson DR. Elucidation of the mechanism of mitochondrial iron loading in Friedreich's ataxia by analysis of a mouse mutant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 16381-16386
- 11 翟中和, 王喜中, 丁明孝. *细胞生物学*. 第1版, 北京: 高等教育出版社, 2001: 208
- 12 McBride HM, Neuspiel M, Wasiak S. Mitochondria: more than just a powerhouse. *Curr Biol* 2006; 16: R551-R560
- 13 刘友章, 宋雅芳, 劳绍贤, 邓铁涛, 王建华. 胃脘痛患者胃黏膜超微结构研究及中医“脾-线粒体相关”理论探讨. *中华中医药学刊* 2007; 25: 2439-2442
- 14 刘友章, 王昌俊, 周俊亮, 刘静, 刘兆周, 欧志穗, 金友. 长期脾虚模型大鼠细胞线粒体的研究. *中华中医药学刊* 2006; 24: 391-394
- 15 郑敏麟, 阮诗玮. 中医藏象实质细胞生物学假说之一——“脾”与线粒体. *中国中医基础医学杂志* 2002; 8: 10-12

- 16 Jongpipitvanich S, Sueblinvong T, Norapacsunton T. Mitochondrial respiratory chain dysfunction in various neuromuscular diseases. *J Clin Neurosci* 2005; 12: 426-428
- 17 Armstrong C, Staples JF. The role of succinate dehydrogenase and oxaloacetate in metabolic suppression during hibernation and arousal. *J Comp Physiol B* 2010; 180: 775-783
- 18 刘旺根, 王红霞, 王雪萍. 黄芪建中汤对大鼠脾虚证胃粘膜酶组织化学的影响. *浙江中医杂志* 2004; 39: 355-356
- 19 王艳杰, 柳春, 王德山. 实验性脾气虚证大鼠脑组织酶含量变化的实验研究. *辽宁中医药大学学报* 2008; 10: 736-738
- 20 任周新. 补中益气丸对脾虚大鼠血压的影响及其机理初探. *河南中医学院学报* 2004; 19: 16-17
- 21 孙恩亨, 谢锦玉. 脾气虚大鼠骨骼肌中某些元素、酶及能荷的变化. *中国中西医结合杂志* 1993; 13: 736-738
- 22 宋雅芳, 王汝俊, 刘友章, 刘静, 黄秋凌. 健脾益气中药对脾虚大鼠肝组织线粒体功能的影响. *中药新药与临床药理* 2009; 20: 423-426
- 23 Pecina P, Houstkova H, Hansikova H, Zeman J, Houstek J. Genetic Defects of Cytochrome C Oxidase Assembly. *Physiol Res* 2004; 53(Suppl 1): S213-S223
- 24 刘友章, 王昌俊, 周俊亮, 刘静, 刘兆周, 欧志穗, 金友. 四君子汤修复脾虚大鼠线粒体细胞色素氧化酶的作用及机制. *中国临床康复* 2006; 10: 118-122
- 25 王丽君. 艾灸疗法结合脾胃调理治疗前期糖尿病20例. *中国医药导报* 2010; 7: 108-109

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。