

· 基础研究 ·

电针对肾虚型复合应激模型大鼠 脾脏形态学的影响*

马彦红¹ 孟 宏² 辛随成³ 图 娅³

摘要 目的:观察电针对肾虚型复合应激模型大鼠脾脏光镜结构的变化,以期为 CFS 与免疫系统相关性提供形态学依据。**方法**:光镜下观察电针治疗肾虚型复合应激模型大鼠脾脏一般形态学状况,并测定脾指数,脾小体直径、中央动脉管腔直径,每组检测同时设立正常组和模型组为对照。**结果**:电针组、模型组、正常组光镜下形态学改变差异显著,肾虚模型组大鼠脾小体直径、中央动脉管腔直径都明显缩小,与正常组比较差异有显著性意义($P<0.05$);电针组脾小体直径、中央动脉管腔直径都增加,与模型组比较差异有显著性意义($P<0.05$)。**结论**:复合应激所致的肾虚型大鼠脾脏形态学发生了改变,电针对其有调整作用。

关键词 慢性疲劳综合征;脾;针刺

中图分类号:R493,R749 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2006)-06-0488-03

Effects of electroacupuncture on morphology of spleen in compound stress rats with kidney deficiency/MA Yanhong, MENG Hong, XIN Suicheng, et al. // Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2006, 21(6):488—490

Abstract Objective: To find a related morphology evidence for immunosystemic change of chronic fatigue syndrome (CFS). **Method:** Sixty male Wistar rats were randomly assigned to blank group, model group and electroacupuncture group with 20 rats in each group. The rats in the model group and electroacupuncture group were made into models by drug withdrawal method using swimming in cold water adding adrenal cortical hormone. When models were built, those in the electroacupuncture group were treated with electroacupuncture at Baihui (GV20), Zusanli (ST36), Taixi (KI3), etc. After building models, 8 rats were selected from each group randomly, and this spleens were harvested under anesthesia. Then observed spleen index, diameter of splenic nodules and central artery under high power microscope. **Result:** Twenty-four rats were all involved in the result analysis. ① Diameter of splenic nodules and central artery in the model group were decreased significantly than those in the blank group, and the difference had apparent significance ($P<0.05$); ② Diameter of splenic nodules and central artery in the electroacupuncture group were increased than those in the model group, and the difference had markedly significance between the two groups ($P<0.05$). **Conclusion:** There was marked change on the morphology of spleen in compound stress rats with kidney deficiency. The electroacupuncture can adjust function of immune system in experimental animals, and reinforce the ability of disease prevention.

Author's address Dept. of Physical Therapy, The 305th Hospital of PLA, Beijing, 100017

Key words chronic fatigue syndrome(CFS); spleen; acupuncture

慢性疲劳综合征 (chronic fatigue syndrome, CFS) 由美国疾病控制中心 1988 年正式命名; CFS 在各国均有发病, 近年来其患病率、危害性正在逐年增加^[1], 给社会 and 人群造成巨大的经济损失。

“肾”为“先天之本, 后天之根”, 历代中医学家均认为人体的生长、发育、衰老无不与肾气盛衰息息相关。中医理论有“恐伤肾”、“房劳伤肾”, “久病及肾”, 说明精神、体力及长期疾病应激能导致肾虚, 表现为精神不振、体倦乏力、筋骨痿软、不耐久立等症状。由于 CFS 征候组合的复杂性、多变性, 很难用少数固定的征候概括全部病例, 且随着病情的加重, 虚像越来越明显, 病情较为复杂, 复合征候增多, 因此本研究仅通过电针对肾虚型复合应激大鼠脾脏光镜结构

的变化, 从肾虚这一单方面征候进行实验和探讨, 以观察肾虚与 CFS、免疫功能的关系, 以及电针对其的调整作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

二级 Wistar 雄性大鼠, 体重 160—180g, 由北京维通利华实验动物中心提供。

* 基金项目: 国家中医药管理局资助项目 (02-03jp05)

1 中国人民解放军第 305 医院理疗科, 北京, 100017

2 中国中医研究院针灸研究所

3 北京中医药大学针灸学院

作者简介: 马彦红, 女, 硕士, 主治医师

收稿日期: 2005-08-21

1.2 试剂与仪器

试剂: 10% 福尔马林。

仪器: SAKURA VIP5Jr 脱水机(韩国)、电子天平、北航 MIAS 医学图像分析管理系统。

1.3 方法

1.3.1 分组方法: Wistar 大鼠 24 只, 置于 7:00—19:00 自然光照, 19:00—7:00 黑暗的实验室中, 饲养 1 周后, 随机分为正常组、肾虚模型组、肾虚电针治疗组, 每组 8 只。模型组与电针组动物造模, 电针组在造模同时进行电针治疗。

1.3.2 模型制备: 从第 8 天起, 每笼饲养 8 只, 除正常组外, 其他各组动物开始接受肾上腺皮质激素应用一停药法^[2]加冷水游泳: 肌肉注射氢化考的松 20mg/kg 体重, 连续注射 9 天停药, 同时每天在水温 21℃ 左右水中游泳 30min, 共 21 天, 电针组治疗 21 天。

1.3.3 治疗方法: 电针组于适应性饲养第 8 天, 造模开始, 参照《实验针灸学》^[3]大鼠穴位定位。取“百会”、“足三里”和“太溪”(左右两侧交替使用, 每次取单侧)。以华佗牌 30 号, 1 寸毫针进行针刺, “百会”平刺 10—15mm, “足三里”、“太溪”刺入 5—10mm。针柄接 WQ-6F 型电针治疗仪, 电压 4.5V, 疏密波型, 频率 0—20Hz, 强度以局部皮肤肌肉轻微颤动为度。每次留针 30min, 每日 1 次, 连续治疗 21 天。

1.3.4 取材方法: 大鼠快速断头取血, 打开胸腔、腹腔, 在冰上迅速分离出脾脏, 称重后置 Eppendorf 管中, 保存于 -70℃ 的冰箱中。

1.4 测定和观察指标

1.4.1 脾指数的测定

脾指数 = 脾脏重量(g)/体重(g) × %

1.4.2 病理学检查: 每个脾脏经 10% 福尔马林固定, SAKURA VIP5Jr 脱水机 20h 脱水浸蜡, 包埋后选择最大切面切片、常规 HE 染色, 光镜下观察一般形态学状况, 并用 Olympus 光镜及北航 MIAS 医学图像分析管理系统进行图像摄片。

1.4.3 脾小体直径、中央动脉管腔直径测定: 每例标本观察 4 张切片, 分别在低倍镜下观察脾小体、中央动脉的改变, 拍摄图片, 输入北航 MIAS 医学图像分析管理系统, 在各图像中选其分布较均匀的部位进行直径、管腔直径测量, 测量目标每项测 3—5 处, 其均值作为该目标的最后分值。

1.5 统计学分析

实验数据用 SPSS10.0 软件进行分析, 以平均值 ± 标准差表示, 组间差异采用方差分析(ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 脾指数测定结果

见表 1。模型组与正常组、电针组比较体重增长缓慢, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 但三组间脾指数比较差异无显著性意义。

2.2 三组动物脾脏形态学改变比较

2.2.1 光镜结构比较: 正常组镜下可见脾脏组织被膜完整光滑, 由中央动脉及其周围的淋巴鞘、淋巴小结等组成的白髓、红髓中的边缘带、脾索及脾窦结构均无异常。正常脾小体清楚, 脾小体中心有中心母细胞, 周围大量成熟淋巴细胞。动脉周围淋巴鞘中心动脉管腔开放, 动脉周围弥散存在淋巴细胞(见图 1—2)。肾虚模型组脾脏组织白髓发育不良, 脾小体个数较正常组明显减少, 且无明显的生发中心, 可见散在的成熟淋巴细胞; 动脉周围淋巴鞘内淋巴细胞稀疏, 中央动脉管腔壁纤维化、动脉腔狭窄、甚至闭塞、散在少量淋巴细胞; 边缘带也明显变薄, 白髓与红髓分界不清(见图 3—5)。肾虚电针组: 脾脏组织被膜比较完整, 脾小体个数较模型组明显增加, 部分脾小体中心坏死, 部分脾小体增生, 其中心免疫母细胞增生。动脉周围淋巴鞘中央动脉腔较模型组增粗、开放。白髓与红髓分界清楚(见图 6—8)。

2.2.2 三组动物脾小体直径、中央动脉管腔直径测定结果比较: 见表 2。肾虚模型组大鼠脾小体直径、中央动脉管腔直径都明显缩小, 与正常组比较差异有显著性意义($P < 0.05$); 电针组脾小体直径、中央动脉管腔直径都增加, 与模型组比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。说明复合应激所致的肾虚型大鼠脾脏形态学发生了改变, 电针对其有调整作用。

表 1 电针对三组肾虚型复合应激大鼠脾指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	体重(g)	脾指数(%)
正常组	8	216.25 ± 10.87 ^①	0.64 ± 0.26
肾虚模型组	8	192.75 ± 10.19	0.43 ± 0.07
肾虚电针组	8	206.88 ± 10.02 ^①	0.53 ± 0.20

①与模型组比较 $P < 0.05$

表 2 三组大鼠脾小体直径、中央动脉管腔直径的比较 ($\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$)

组别	动物数	脾小体直径	中央动脉管腔直径
正常组	8	320.27 ± 13.67	22.81 ± 3.98
肾虚模型组	8	243.01 ± 31.31 ^①	8.80 ± 2.41 ^①
肾虚电针组	8	300.48 ± 22.29 ^②	17.45 ± 2.00 ^②

①与正常组比较 $P < 0.05$; ②与模型组比 $P < 0.05$

3 讨论

CFS 的发病倾向于多因素, 其表现除了疲劳外, 还有一些伴随的症状^[4-5]。临床中大致辨证分型为肝

图 1 正常脾组织形态学表现

HE 染色×10

脾脏组织被膜完整光滑, 白髓、红髓中的边缘带、脾索及脾窦结构均无异常

图 2 正常脾组织形态学表现

HE 染色×10

正常脾小体清晰, 数目较多

图 3 肾虚模型组脾组织

形态学表现 HE

HE 染色×10

脾脏组织被膜不光润, 白髓发育不良

图 4 肾虚模型组脾组织

形态学表现

HE 染色×20

脾小体弥散, 无生发中心

图 5 肾虚模型组脾组织形态学表现

HE 染色×40

中央动脉管腔壁纤维化、动脉腔狭窄, 甚至闭塞

图 6 肾虚电针组脾组织形态学表现

HE 染色×10

脾组织被膜较完整、光滑

图 7 肾虚电针组脾组织形态学表现

HE 染色×20

脾组织被膜完整, 红白髓分界清, 脾小体个数较模型组明显增加

图 8 肾虚电针组脾组织形态学表现

HE 染色×40

中央动脉腔较模型组增粗、开放

郁、脾虚、肾虚三型^[6-10], 中医认为由于各种致病原因导致气血阴阳失常及脏腑功能失调是疲劳产生的主要机制。证候是中医诊断治疗疾病的基础, 近年来中医界关于 CFS 证候的研究多仅局限于个案总结, 说服力不强。另外由于 CFS 证候组合的复杂性、多变性, 很难用少数固定的证类概括全部病例, 且随着病情的加重, 虚像越来越明显, 病情较为复杂, 复合证候增多, 因此本研究仅通过电针对肾虚型复合应激大鼠免疫系统功能影响的研究从肾虚这一单方面证候进行实验和探讨, 以观察肾虚与 CFS、免疫功能的关系, 以及电针对其的调整作用。

“肾”为“先天之本, 后天之根”, 历代中医学家均认为人体的生长、发育、衰老无不与肾气盛衰息息相关。肾气是以肾精为物质基础的肾的功能表现, 分为元阴、元阳之气。肾之元气属人体正气范畴, 中医理论的“正气存内, 邪不可干”, 是指人体有抵御各种病邪的功能。现代研究证明, 中医的肾包括了免疫系统的功能。骨髓是重要的免疫中枢器官, 粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、T、B 淋巴细胞均起源于骨髓多能造血干细胞, 而“肾主骨生髓”, 故肾与免疫功能密切相关。肾主藏精, 而精能生髓养骨。若肾精虚少, 骨髓化源不足, 则骨髓脆弱无力、发育不良。肾主骨生髓, 髓有骨髓、脊髓和脑髓之分, 三者皆由肾精所化生。肾精充足, 则脑髓充养, 精力充沛, 耳目聪明, 维持正常的生长发育。若先天禀赋不足, 或后天调养失宜, 或久病、房室伤肾, 致肾虚精亏, 则脑髓失养、精血乏源, 表现为精神不振、体倦乏力、筋骨痿软、不耐久立

等症状。

肾虚对免疫器官影响的研究主要集中在胸腺和脾脏, 多数研究认为肾虚导致免疫器官萎缩。如王米渠等^[11]以“恐伤肾”造先天肾虚模型, 发现惊吓组小鼠的胸腺和脾脏的重量均低于正常对照组。雷妮妮等^[12]用醋酸氢化可的松肌肉注射造肾阳虚证模型, 结果发现脾和胸腺的超微结构均有明显的破坏, 提示免疫器官超微结构的破坏是肾阳虚证病理学证据之一。

脾脏是机体内最大的外周免疫器官, 是产生致敏淋巴细胞和抗体的场所之一, 并能清除衰老细胞和微生物等物质, 其中的大量 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及巨噬细胞在机体防御和清除功能中有重要作用。因此, 脾脏的功能与机体免疫功能与病变关系极为密切。

表 1 提示电针治疗组体重增长速度虽然低于正常对照组, 但高于模型组, 说明电针能部分抗应激所致的体重增长缓慢。三组间脾指数比较虽然无显著性差异, 但从表 2 可以看出脾脏组织内细胞数量和组织构成已出现退化, 但并未在脏器重量上显现出来, 从而掩盖了脏器实体成分构成下降的情况, 杜伯雨^[13]有相似的报道, 并认为可能是由于模型组脾脏细胞大部分为脂肪所替代导致。

4 结论

本研究的肾虚型复合应激模型大鼠造模比较成
(下转 500 页)