

## · 实验研究 ·

## 脾气虚大鼠骨骼肌中某些元素、酶及能荷的变化

中国中医研究院基础理论研究所(北京 100700)

孙恩亭 谢锦玉 李乐红 薛庆海

**内容提要** 为了探讨中医脾与肌肉的关系,测定了脾气虚模型大鼠在造模和复健后,骨骼肌中与能量代谢有关的一些元素和相关酶活性的变化,以及骨骼肌细胞腺苷酸(ATP、ADP和AMP)浓度和能荷值的变化。结果表明,与正常大鼠比较,脾气虚大鼠骨骼肌细胞ATP含量和能荷值显著减小( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ );与无氧酵解相关的乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)活性显著升高( $P$ 均 $< 0.01$ );与之相关的微量元素锌和铁的含量也相应地升高( $P$ 均 $< 0.01$ );与肌肉收缩有关的元素铜、钾、钠减少而钙增多。经健脾益气的黄芪四君子汤治疗后,上述变化可得到纠正而趋于正常。说明脾气虚证的发生机制与脾失健运造成能量代谢异常有着密切的关系。本实验为中医“脾主肌肉”理论的研究提供了实验依据。

**关键词** 脾气虚 骨骼肌 能量代谢 元素 酶 细胞能荷

脾主肌肉是脾的重要功能之一,从微量元素和能量代谢的关系方面研究脾主肌肉的机理尚未见报道。为了探讨中医脾与肌肉的关系,本实验利用脾气虚动物模型,测定了模型动物在造模和复健后骨骼肌中多种元素的代谢及相关酶活性的变化,以及细胞内腺苷酸(ATP、ADP和AMP)的含量和能荷值的变化。从微量元素、宏量元素、酶活性和能量代谢的关系,探讨“脾主肌肉”的机理。现将方法和结果报道如下。

## 材料和方法

一、动物 Wistar大鼠,雄性,体重140~203g,由中国中医研究院动物室提供。

二、中药 (1)厚朴三物汤:厚朴、枳实、大黄制成散剂,按3:3:2比例混合,制成100%煎剂。(2)黄芪四君子汤:炙黄芪、党参、茯苓、炒白术、炙甘草制成散剂,按2:2:2:2:1比例混合,制成100%煎剂。

三、动物分组及模型制作 动物随机分成对照、脾气虚、四君子汤治疗组和自然复健4组。正常对照组:正常饲养,隔日喂水4ml。造模组:用苦降破气中药加饥饱失常共同致虚方法<sup>①</sup>,制作脾气虚大鼠模型。即用厚朴三物汤隔日灌胃2次,每次2ml。喂药日饥饿,次日足量饲喂,共6周。动物出现体瘦、尾细、眼眯、拱背、懒动、纳呆、体重减轻、毛

发枯槁等症状,经中医确认,脾气虚模型建成。黄芪四君子汤治疗组:脾气虚动物隔日胃饲黄芪四君子汤4ml,正常喂食,共3周。自然恢复组:脾气虚动物正常喂养,隔日灌水4ml,共3周。

四、微量元素和宏量元素的测定 准确称取大鼠后腿骨骼肌1g,用去离子水冲洗干净,滤纸吸干水分。经混合酸(高纯硝酸:优级纯高氯酸为5:1)湿法消化后,原子吸收方法测定锌、铜、铁、钾、钠、钙和镁的含量。

五、腺苷酸和能荷值的测定 取大鼠后腿骨骼肌,在液氮冷冻状态下研磨成粉末。准确称重后,加入等量10%高氯酸溶液。离心(3000 r/min, 10 min)。取上清液用3.3 N碳酸钾(pH为7.0),再次离心,条件同上。用超纯水将上清液定容。上述操作均在0~4℃下进行。待测液经0.45 μm滤膜过滤后,用反相高效液相色谱法<sup>⑤</sup>测定ATP、ADP和AMP的含量。并按下列公式计算能荷值。

$$\text{能荷值} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2}[\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

式中〔〕表示浓度,单位为μmol/g。

六、乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)测定 取大鼠左侧跖部肌肉冷冻切片后染色,用硝基四氮蓝盐法显示。用MPV<sub>2</sub>型显微分光光度计对不同类型的肌纤维定量测字,每一类型选取30~50根

肌纤维, 得出每根肌纤维的平均相对含量<sup>(3)</sup>。

## 结 果

各组动物骨骼肌中 Cu、Zn、Fe、K、Na、Ca、Mg 的含量测定结果见表 1。腺苷酸 ATP、ADP、AMP 的含量和细胞能荷值测定结果见表 2。乳酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶活性测定结果见表 3。

实验结果表明: 与正常大鼠比较, 脾气虚大鼠骨骼肌中 Cu、K、Na 含量减少, Zn、Fe、Ca 含量增加, 差异均有显著性意义,  $P < 0.05 \sim 0.01$ ; LDH 酶和 SDH 的活性显著升高,  $P < 0.01$ ; ATP 含量

和能荷值减少,  $P < 0.01 \sim 0.001$ 。

脾气虚大鼠经健脾益气的黄芪四君子汤治疗后, 上述变化可得到纠正而趋于正常组水平。四君子汤组与脾气虚组比较, 骨骼肌中 K 和 Na 的含量增加,  $P < 0.01$ ; Zn 和 Fe 的含量减少,  $P < 0.01$ ; LDH 和 SDH 酶的活性均明显降低,  $P < 0.01$ ; ATP 和能荷值显著增加,  $P < 0.05 \sim 0.01$ 。自然恢复组上述指标有同样趋势的变化, 但不同指标的恢复程度不同。Zn 和 LDH、SDH 酶等恢复程度远不如黄芪四君子汤组, 两组间的差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 而 Cu、Na 和 K 等恢复程度接近于黄芪四君子组。

表 1 各组大鼠骨骼肌中元素含量比较 ( $\mu\text{g/g}$ ,  $\bar{x} \pm S$ )

| 组 别  | 鼠数 | 铜                                 | 锌                            | 铁                            | 钙                                  | 钠                                  | 镁                   | 钾                             |
|------|----|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 对 照  | 5  | 0.87<br>$\pm 0.04$                | 12.35<br>$\pm 0.49$          | 7.55<br>$\pm 0.46$           | 67.45<br>$\pm 3.13$                | 359.5<br>$\pm 11.7$                | 189.9<br>$\pm 6.2$  | 1827.5<br>$\pm 96.9$          |
| 脾气虚  | 5  | 0.71 $\Delta\Delta$<br>$\pm 0.03$ | 15.69 $\Delta$<br>$\pm 0.48$ | 13.32 $\Delta$<br>$\pm 1.18$ | 87.89 $\Delta\Delta$<br>$\pm 8.11$ | 297.9 $\Delta\Delta$<br>$\pm 14.8$ | 175.4<br>$\pm 7.9$  | 1403.5 $\Delta$<br>$\pm 50.1$ |
| 黄芪四君 | 5  | 0.73<br>$\pm 0.03$                | 12.68*<br>$\pm 0.42$         | 6.37*<br>$\pm 0.63$          | 78.85<br>$\pm 3.09$                | 386.7*<br>$\pm 20.9$               | 178.3<br>$\pm 4.0$  | 1992.1*<br>$\pm 96.1$         |
| 自然恢复 | 5  | 0.73<br>$\pm 0.01$                | 14.57<br>$\pm 0.65$          | 6.73*<br>$\pm 0.47$          | 80.13<br>$\pm 1.02$                | 377.4*<br>$\pm 11.3$               | 181.6<br>$\pm 11.3$ | 1989.4*<br>$\pm 52.9$         |

注: 与对照组比,  $\Delta P < 0.01$ ,  $\Delta\Delta P < 0.05$ ; 与脾气虚组比, \* $P < 0.01$

表 2 各组大鼠骨骼肌中腺苷酸含量和细胞能荷值比较 ( $\bar{x} \pm S$ )

| 组 别  | 鼠数 | 腺苷酸含量( $\mu\text{mol/g}$ )     |                 |                 | 能荷值                                  |
|------|----|--------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------------------------|
|      |    | ATP                            | ADP             | AMP             |                                      |
| 对 照  | 6  | 4.27 $\pm 0.60$                | 1.12 $\pm 0.30$ | 0.42 $\pm 0.10$ | 0.84 $\pm 0.03$                      |
| 脾气虚  | 6  | 3.30 $\pm 0.33$ *              | 0.79 $\pm 0.23$ | 0.84 $\pm 0.14$ | 0.75 $\pm 0.03$ **                   |
| 黄芪四君 | 6  | 4.02 $\pm 0.62$ $\Delta\Delta$ | 0.82 $\pm 0.22$ | 0.55 $\pm 0.10$ | 0.82 $\pm 0.04$ $\Delta\Delta\Delta$ |
| 自然恢复 | 6  | 3.88 $\pm 0.58$ $\Delta$       | 0.80 $\pm 0.18$ | 0.69 $\pm 0.15$ | 0.80 $\pm 0.05$ $\Delta$             |

注: 与对照组比, \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ ; 与脾气虚组比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

表 3 各组大鼠骨骼肌中酶活性定量比较 (相对含量,  $\bar{x} \pm S$ )

| 组 别  | LDH                     |                       |                         | SDH                   |                       |                       |
|------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|      | I 型                     | II <sub>A</sub> 型     | II <sub>B</sub> 型       | I 型                   | II <sub>A</sub> 型     | II <sub>B</sub> 型     |
| 对 照  | 21.0 $\pm 0.9$          | 30.9 $\pm 0.7$        | 30.8 $\pm 0.8$          | 37.0 $\pm 3$          | 15.9 $\pm 1$          | 20.7 $\pm 2$          |
| 脾气虚  | 31.0 $\pm 1$ *          | 42.5 $\pm 1$ *        | 43.6 $\pm 1$ **         | 48.5 $\pm 4$ *        | 42.9 $\pm 4$ *        | 36.8 $\pm 4$ *        |
| 黄芪四君 | 20.5 $\pm 0.9$ $\Delta$ | 28.5 $\pm 1$ $\Delta$ | 28.3 $\pm 0.7$ $\Delta$ | 37.3 $\pm 3$ $\Delta$ | 19.0 $\pm 3$ $\Delta$ | 20.8 $\pm 1$ $\Delta$ |
| 自然恢复 | 23.4 $\pm 0.9$          | 38.5 $\pm 2$ $\Delta$ | 37.6 $\pm 1$ $\Delta$   | 31.3 $\pm 2$ $\Delta$ | 13.8 $\pm 2$ $\Delta$ | 22.2 $\pm 3$ $\Delta$ |

注: 与对照组比, \* $P < 0.01$ ; 与脾气虚组比,  $\Delta P < 0.01$ ; 与黄芪四君子汤组比,  $\Delta P < 0.01$ ; 各组鼠数均为 5; 表中 I, II<sub>A</sub>, II<sub>B</sub>型为不同型肌纤维

## 讨 论

中医脾本质的研究认为, 脾是包括消化系统以及与能量代谢、转化和水代谢有关的一切器官系统的综

合功能单位<sup>(2)</sup>, 能将摄入的食物中潜在能量转变为机体本身可以利用的能量, 并将这些能量输送给全身各器官系统, 以进行生命活动。正常情况下, 肌肉的代谢主要是通过有氧化方式, 利用血液中的营养物

质提供能量。脾气虚动物的运化功能失调,吸收和代谢过程受阻,有氧氧化受阻,机体转而通过加强无氧酵解以补充代谢消耗所需要的能量。因此在脾虚失运、化源不足、肌肉失养情况下,无氧酵解活跃。与进行无氧酵解相关的酶,如乳酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶的活性相应地显著升高。微量元素锌和铁分别参加了乳酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶的构成和激活<sup>④</sup>,锌和铁的含量也相应地增加。与肌肉收缩有关系的钠、钾、钙和镁等离子的浓度也发生变化。上述无机元素通过其相关的酶,在肌肉的能量代谢过程中发挥重要作用。脾气虚动物骨骼肌中乳酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶的活性以及锌和铁含量的异常升高,可能是机体的一种代偿性反应。多数情况下,这种代偿作用仍不能满足机体代谢的需要,因而脾虚动物能量产生不足。ATP是肌肉收缩最直接的供能者。反映ATP生成和利用的平衡关系的能荷值,表示细胞能量状态的水平。本实验ATP减少,能荷值降低,反映了脾气虚动物能量代谢功能低下,因而肌肉痿弱无力。

综上所述,脾气虚动物脾失健运,运化受阻,造成肌肉失养,肌肉中存在着能量代谢异常,能量产生不足。表现出“脾虚肌肉无主”的一系列症状。说明“脾主肌肉”是从属于“脾主运化”功能的。本实验结果

证明了“脾主肌肉”与骨骼肌能量代谢有密切关系,为“脾主肌肉”理论的研究提供了实验依据。

本实验自然复健组织的观测指标有向正常值变化的趋势,这显示出动物的自愈能力。但是不同指标恢复的程度不同。有的指标恢复程度不及黄芪四君子汤组,两组比较,差异显著,显示出四君子汤的治疗效果。但有的指标恢复程度与黄芪四君子汤组无差异。这可能与观测时间选择不当有关。应该在复健过程中,多设几个观测点,观察指标在复健过程中的动态变化,以便于发现两个复健组在复健速度和程度上的差异。

### 参 考 文 献

1. 王淑兰,等. 马属动物脾脾气虚证的实验研究. 中医杂志 1990; (3): 49.
2. 侯 灿. 对中医脾本质的初步探讨. 新医药学杂志 1977; (10): 5.
3. 李乐红,等. 大鼠骨骼肌纤维组织化学特性的定量研究. 解剖学报 1990; 21(2): 195.
4. 孔祥瑞. 必需微量元素营养、生理及临床意义. 第1版. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1982.
5. Crescentini G. Fast reversed-phase HPLC determination of nucleotides in red blood cells. J of chromatography 1984; 290: 393.

## · 消息 ·

### 全国第二届中西医结合影像学 学术会议召开

全国第二届中西医结合影像学学术会议于1993年9月23~27日在青岛市召开。出席会议的有来自全国各省、市、自治区的代表98名。大会共收到论文126篇,其中会议交流43篇。多数论文涉及利用现代影像学技术找出中西医结合研究的新结合点问题,展示了中西医结合影像学研究的最新进展,表明用先进的客观指标及手段如临床放射学、CT、介入放射学、B超、超声多普勒等,有助于中医辨证分型的客观化、规范化,提高了中西医结合诊治水平。代表们讨论热烈,各抒己见,通过交流与代表对中西医结合影像学研究方向有了更明确的目标。会议期间还进行了中国中西医结合影像学专业委员会换届改选,卢延教授任主任委员,恽敏、余朝骏教授为副主任委员,包树德主任医师为秘书。

(沈 青)

### 全国第三届中西医结合呼吸病 学术交流会召开

全国第三届中西医结合呼吸病学术交流会于1993年9月19~23日在福建省漳州市召开,出席会议的有来自全国各省、市、自治区200余名代表。郭仓主任委员及许建中副主任委员等有关专家学者到会并发了言。大会共收到学术论文496篇,其中会议交流100余篇,论文内容涉及中西医结合呼吸病的临床治疗、新药物、新疗法、基础实验以及中西医结合护理等多方面、多领域。会议讨论热烈,通过交流代表们对呼吸病及中西医结合诊断、治疗、护理都有了新的认识,使今后的研究工作有了更明确的目标。

(张燕萍)



### Changes of Some Elements, Enzymes and Energy Charge in Skeletal Muscle of Rats with Spleen Qi Deficiency

Sun En-ting (孙恩亭), et al

*Basic Theory Institute, China Academy of TCM, Beijing (100700)*

In order to investigate the relationship between Spleen and muscle, the changes of trace elements, enzyme activity, adenine nucleotides and energy charge (EC) in the skeletal muscle of rats with Syndrome of Spleen Qi Deficiency (SQD) were studied, the curative effects of Sijunzi Tang (SJZT 四君子汤) for SQD were observed too. Results showed that in comparing with normal rats, the levels of ATP and EC lowered significantly (ATP  $P < 0.01$ ; EC  $P < 0.001$ ), the enzyme activity of the anaerobic glycolysis increased significantly ( $P < 0.05$ ), the zinc and iron concentrations were higher ( $P < 0.01$ ) while the copper, potassium and sodium concentrations were lower than normal significantly ( $P < 0.05$ ). These changes could be corrected after treatment with SJZT for strengthening Spleen and tonifying Qi. Above-mentioned results suggested that the mechanism of Spleen Qi Deficiency is closely related to the abnormal energy metabolism, and the TCM theory of Spleen dominating muscles might have its scientific basis.

**Key word** Spleen Qi Deficiency, skeletal muscle, energy metabolism, energy charge, enzyme, trace element

( Original article on page 736 )

### Sequential Observation on the Influence of Artificial Wind-Cold Environment to Immunologic Function of Mononuclear Phagocytic System in Mice

Chen Xin (陈 新), Ou Ying-xin (区永欣)\*, Chen Jie-wen (陈洁文)\*

*Shenzhen Red Cross Hospital, Clinical institute of integrated TCM and WM,  
Shenzhen (518029)*

*\* Guangzhou TCM College, Guangzhou*

According to TCM theory of Six Evils, the Wind-Cold is one of the pathogen. In order to find the mechanism of Wind-Cold in causing disease, the effect of subacute Wind-Cold stimulation on the phagocyte immunization in mice was observed. Results showed that through exposing in the Wind-Cold environment, the reticuloendothelial system (RES) clearance function and the hydrogenperoxide releasing of peritoneal macrophage were suppressed. Sequential observation showed that the peak of immunosuppression occurred on the 3rd day after stimulation and began to normalize at 5th day. These results suggested that Wind-Cold stimulation could inhibit temporary phagocytosis of macrophage and bacteriocidal effect. Action of immunosuppression was believed to be produced by the increase of stress hormone after stimulation. Results also suggested that the pathogenic action of Wind-Cold on disease is somewhat related with the suppression of nonspecific cellular immunity.

**Key word** Wind-Cold environment, phagocytosis, reticuloendothelial system, macrophage

(Original article on page 739)