

不同次数捏脊疗法对卫气虚大鼠免疫功能影响的实验研究

李青敏 李忠正 郭永明 王海军

(天津中医药大学实验针灸学研究中心, 天津 300123)

摘要 目的:研究不同次数捏脊疗法对卫气虚模型大鼠免疫功能的影响,为捏脊疗法健脾益卫作用机制研究提供效应平台。方法:健康SD大鼠25只(雄性)随机分为空白组、模型组、捏脊12遍组、捏脊20遍组、捏脊24遍组,每组5只。除空白组以外,其余各组大鼠采用疲劳寒热刺激法造模,每日1次,连续7d。捏脊组于造模结束第2天起开始捏脊治疗,每日2次,连续7d。观察并比较各组大鼠体重及一般行为学表现、胸腺指数、脾脏指数,并用Elisa法检测血清、脾脏、胸腺中的白介素(IL)-2的含量。结果:造模后,模型组和捏脊组大鼠均出现蜷缩、扎堆、背毛凌乱、无光泽、汗出明显、咳嗽、反应迟钝、懒动等症状,体重显著低于空白组($P<0.01$)。治疗后,捏脊组大鼠的症状得到明显改善,胸腺指数、脾脏指数、血清和胸腺的IL-2含量也均显著高于模型组($P<0.01$),以捏脊20遍组各指标改善最为明显($P<0.05, P<0.01$)。结论:捏脊可以提高卫气虚模型大鼠的免疫功能,但捏脊次数与疗效并不呈正相关,每次捏脊20遍可能是最佳刺激强度。

关键词 卫气虚 捏脊疗法 大鼠 实验研究 胸腺指数 脾脏指数 IL-2

中图分类号 R244.1 文献标志码 A 文章编号 1672-397X(2017)09-0075-03

捏脊疗法是中医一种独具特色的外治法,可健脾益卫,增强机体抵抗力,且操作简便、疗效独特、无毒副作用。近年来,随着人们对提高机体抗病能力及改善脏腑功能等方面的重视,治未病干预已广泛开展^[1-2]。目前,捏脊疗法已成为防病保健的疗法之一,但是其作用机理和机制尚不清楚。本实验通过卫气虚大鼠模型探究捏脊疗法对免疫功能的影响及其与捏脊遍数之间的量效关系,以期对捏脊疗法健脾益卫作用机制研究提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 健康雄性SD大鼠25只,SPF级,体重(250 ± 10)g,中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所实验动物中心提供,许可证号:SCXK(军)2014-0001。所有动物给予自然照明,自由饮水和饮食,实验前适应性饲养1周。

1.2 仪器与试剂 恒温干燥箱(HN-25BS,邦西仪器科技上海有限公司);冰柜(SC/SD-229GT-229L,美菱股份有限公司);自制圆筒游泳池(水深30cm);酶标仪(Multiskan MS 353型,芬兰);离心机(Thermo Electron LED GmbH d-37520 Osterode,德国);精密天平(AL204, Mettler-Toledo Group);大鼠白介素(IL)-2、IL-6试剂盒(北京达科为生物技术有限公司);RIPA裂解液、BAD试剂盒等(赛东南生物有限公司)。

2 实验方法

2.1 分组与造模 25只SD大鼠采用随机数字法分为空白组、模型组、捏脊12遍组、捏脊20遍组和捏脊24遍组,每组5只。除空白组外,其余各组大鼠均采用疲劳寒热刺激法进行造模,即在自制游泳池中游泳30min,将水擦干后放入50℃的恒温箱中15min,最后放入-20℃的冰柜里25min,每日1次,连续7d。造模结束后,空白组和模型组正常饲养,各捏脊组分别捏脊,每日2次,每次12遍、20遍、24遍,连续7d^[3]。

2.2 捏脊方法 一助手固定大鼠于操作平台上,术者食、中指在前,拇指在后,把大鼠脊中线尾根两侧皮肤捏起,一直向头部捏到大椎穴处为1遍,各组均在最后3遍采用“捏三提一”法。捏起皮肤的多少及提拉力量大小要适当,以老鼠不尖叫、不明显挣扎为度^[4]。

2.3 取材 捏脊治疗结束后次日所有大鼠用10%水合氯醛按体重0.35/100g进行腹腔麻醉,取腹主动脉血、脾脏、胸腺。胸腺和脾脏取后立即称重,血液用离心机以4℃、2000r/min离心10min,吸取上清液于EP管中,将离心后的血清、脾脏和胸腺保存于-80℃冰箱待测。

2.4 模型宏观证候评定标准 造模后卫气虚证大鼠模型评定标准:蜷缩、扎堆、怕冷、恶风、背毛凌乱、无光泽、汗出明显、咳嗽、有痰鸣音及鼻分泌物、反应迟钝、懒动^[5]。

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81403494)

2.5 检测指标和方法 (1) 观察各组大鼠体重变化值及行为学表现。造模后体重变化值=第7天体重-第1天体重; 捏脊治疗后体重变化值=第14天体重-第1天体重。(2) 测胸腺和脾脏的质量, 并计算胸腺及脾脏指数。免疫器官指数=免疫器官质量(mg)/体重(g)×100%。(3) Elisa法检测血清、胸腺、脾脏中的IL-2含量, 严格按照说明书操作。

2.6 统计学方法 应用SPSS 20.0统计软件处理数据, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 用One-Way ANOVA进行单因素方差分析, 均数间两两比较用SNK法 q 检验。

3 实验结果

3.1 各组大鼠体重比较 造模前各组大鼠体重无明显差异。造模后, 与空白组比较, 模型组与捏脊组大鼠重量增加值均显著降低($P<0.01$)。捏脊治疗后, 与模型组比较, 捏脊组的体重增加量显著增高($P<0.01$); 空白组与捏脊20遍组之间无明显差异($P>0.05$); 各捏脊组间比较, 捏脊20遍组体重增加值要显著高于捏脊12遍与捏脊24遍组($P<0.05$)。结果见表1。

3.2 各组大鼠胸腺指数、脾脏指数比较 与空白组比较, 模型组大鼠胸腺指数和脾脏指数显著降低, 差异有统计学意义($P<0.01$); 与模型组比较, 各捏脊组胸腺指数和脾脏指数显著升高($P<0.01$); 各捏脊组间比较, 捏脊20遍组大鼠胸腺、脾脏指数明显高于捏脊12、24遍组($P<0.05$)。结果见表2。

3.3 各组大鼠血清、脾脏、胸腺中IL-2含量比较 与空白组比较, 模型组大鼠血清和胸腺中IL-2含量显著降低, 差异有统计学意义($P<0.01$), 脾脏的IL-2含量变化不明显; 与模型组比较, 各捏脊组大鼠血清和胸腺中IL-2含量显著升高($P<0.01$); 各捏脊组间比较, 捏脊20遍组比捏脊12、24遍组大鼠血清和胸腺的IL-2含量升高更为显著($P<0.05$, $P<0.01$)。结果见表3。

4 讨论

捏脊疗法是中医推拿疗法的重要组成部分, 具有健脾和胃、益卫固表的功效, 近年来在改善脏腑功能及增强机体抗病能力方面的作用受到人们的重视。中医认为, 卫气是一种循行脉外具有防御外邪、温煦机体、调控腠理功能的慄疾滑利之气, 很多文献显示卫气防

御外邪的功能与机体的免疫系统类似^[6], 因此我们从免疫功能入手来研究捏脊疗法健脾益卫的作用机制。

胸腺指数与脾脏指数是反映机体胸腺和脾脏免疫功能的重要指征之一, 其数值高低的变化可以反映机体免疫功能的状态^[7]。本实验结果表明, 捏脊可使卫气虚大鼠的胸腺指数和脾脏指数恢复正常或升高, 每日2次, 每次捏脊20遍疗效最好。细胞白介素是免疫细胞间相互作用的细胞因子, 它在传递信息、激活与调节免疫细胞以及介导T、B细胞活化、增殖中起着重要作用。IL-2是由CD4+和CD8+T细胞产生的, 参与免疫应答的重要细胞因子, 具有刺激T淋巴细胞、NK细胞增生和增强巨噬细胞吞噬功能的作用, 同时IL-2也能反映T淋巴细胞的功能即细胞免疫功能, IL-2的含量减少表明细胞免疫功能降低。免疫器官的大小及细胞因子的含量会直接反映机体的免疫状态, 因此胸腺和脾脏指数及其组织中IL-2的含量变化是研究捏脊增强卫气虚大鼠免疫功能的重要指标。本研究结果表明, 捏脊治疗能使卫气虚大鼠血清、胸腺的IL-2含量升高, 说明捏脊疗法能提高机体免疫功能, 其中捏脊20遍组效果最好。之前有人探索捏脊3、6、9遍对疗效的影响, 提出捏脊遍数与

表1 各组大鼠造模后和治疗后与实验第1天体重的变化值比较($\bar{x} \pm s$) g

组别	动物数(只)	造模后体重变化值	捏脊治疗后体重变化值
空白组	5	20.6±5.86	40.8±6.42 ^{##}
模型组	5	5.00±2.0 ^{**}	12.2±4.55 ^{**△}
捏脊12遍组	5	5.80±0.45 ^{**}	29.0±4.06 ^{###△}
捏脊20遍组	5	7.60±2.07 ^{**}	40.6±4.04 ^{##}
捏脊24遍组	5	5.60±1.14 ^{**}	27.8±6.46 ^{###△}

注: **与空白组比较, $P<0.01$; ##与模型组比较, $P<0.01$; △与捏脊20遍组比较, $P<0.05$ 。

表2 各组大鼠胸腺指数、脾脏指数比较 g/100g

组别	动物数(只)	胸腺指数	脾脏指数
空白组	5	2.19±0.22 ^{##}	1.84±0.13 ^{##}
模型组	5	1.73±0.18 ^{**}	1.19±0.12 ^{**}
捏脊12遍组	5	2.27±0.11 ^{##△}	1.87±0.13 ^{##△}
捏脊20遍组	5	2.47±0.08 ^{##}	2.03±0.19 ^{##}
捏脊24遍组	5	2.2±0.25 ^{##△}	1.79±0.13 ^{##△}

注: **与空白组比较, $P<0.01$; ##与模型组比较, $P<0.01$; △与捏脊20遍组比较, $P<0.05$ 。

表3 各组大鼠血清、脾脏、胸腺中IL-2含量比较($\bar{x} \pm s$) pg/mL

组别	动物数(只)	血清 IL-2	胸腺 IL-2	脾脏 IL-2
空白组	5	1145.59±64.42 ^{##}	1344.19±191.81 ^{##}	1347.82±55.06
模型组	5	934.43±100.2 ^{**}	1009.82±51.19 ^{**}	1208.53±106.61
捏脊12遍组	5	1020.94±66.16 ^{##△△}	1254.58±86.72 ^{##△}	1325.75±80.69
捏脊20遍组	5	1202.12±135.23 ^{##}	1388.16±94.41 ^{##}	1379.53±145.95
捏脊24遍组	5	1107.77±119.59 ^{##△}	1228.62±109.89 ^{##△}	1255.39±147.15

注: **与空白组比较, $P<0.01$; ##与模型组比较, $P<0.01$; 与捏脊20遍组比较, △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$ 。

疗效间成正相关^[8],本实验结果显示并非如此。我们分析认为,捏脊调节具有自限性,捏脊疗效并非随着刺激强度的增强一直升高,达到一定刺激量时捏脊疗效可能会随强度升高而下降或不变,本次实验显示捏脊20遍可能是对卫气虚SD大鼠的最佳刺激强度。

中医理论认为,脊背部为诸阳经交会之地,捏脊时主要涉及了督脉和两侧膀胱经,内连脏腑,外达四肢,具有疏经通络、调整气血分布、调节阴阳平衡的作用,使气血通畅、脏器和谐,提高机体免疫能力。另外,源于脾胃的卫气和组织液、淋巴液等血管外体液循环系统在物质基础、循行分布和功能作用等方面十分类似,我们推测捏脊疗法-健脾益卫-淋巴循环三者之间有着密切的联系^[9]。多年来的临床和实验研究主要集中在捏脊疗法对消化系统的调节作用上,其机理研究往往集中在神经和内分泌等方面,从免疫系统入手的研究较少^[10]。本实验从免疫方面证实捏脊疗法的健脾益卫功能,并确定最佳捏脊次数,为下一步探讨基于淋巴系统的捏脊疗法健脾益胃机制研究建立稳定的效应平台。

参考文献

- [1] 周运峰,焦凡,雷洋.捏脊疗法治疗小儿脾胃虚弱证的机理探讨[J].中医学报,2011,26(6):760.

- [2] 穆蕊.改良捏脊疗法对跆拳道运动员抗疲劳能力、免疫功能及血流变的影响[D].西安:西安体育学院,2013.
- [3] 贾琳,王亚利,张明全,等.卫气虚证大鼠模型的建立及玉屏风散的反证效果[J].中医杂志,2015,56(8):690.
- [4] 崔瑾,向开维,吴高鑫.捏脊对厌食大鼠下丘脑和血浆CCK-8的影响[J].四川中医,2008,26(10):13.
- [5] 区永欣,邱杰钊,王洪琦,等.卫气理论的实验研究[J].广州中医学院学报,1992(3):135.
- [6] 章格.卫气:免疫细胞的中医表达形式[J].湖北中医杂志,2001,23(3):3.
- [7] 刘茜,刘向国,武松.肺气肿肺气虚证模型大鼠胸腺指数、脾脏指数变化的实验研究[J].甘肃中医学院学报,2006,23(1):20.
- [8] 李珍,唐勇,林小兰.捏脊疗法对大鼠血清中IL-2和免疫球蛋白的影响[J].新中医,2012,44(5):131.
- [9] 李忠正,郭义,郭永明.浅析卫气与血管外体液循环系统的关系[J].中医药学报,2010,38(4):1.
- [10] 杨小平.捏脊疗法益气健脾作用的临床探讨[J].按摩与导引,2000,16(1):13.

第一作者:李青敏(1993—),女,硕士研究生,针灸推拿学专业。

通讯作者:李忠正,博士,讲师。lizhzh2008@163.com

收稿日期:2017-05-10

编辑:吴宁

(上接第74页)

生物被膜的形成有抑制作用,且随着药物浓度的增加,对生物被膜的抑制作用有增强的趋势。

复方白玉散临床以粉剂形式喷洒于创面,本实验为了研究便利,采用的是其水煎煮浓缩溶液,可能存在一定的差异,但实验的结果仍然为复方白玉散的临床应用提供了一定的参考依据,具体作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 胡晓丰,史云,戚丽华,等.金黄色葡萄球菌生物膜形成机制研究进展[J].生物技术通讯,2014,25(5):714.
- [2] 赵丽,陈杏春.住院患者脓液及伤口分泌物的病原菌分析[J].中国临床新医学,2013,6(8):779.
- [3] 刘晓蓉,葛云霞.白玉散治疗口腔溃疡患者的观察及护理[J].中国实用护理杂志,2011,27(36):1.
- [4] 刘晓蓉,王昆,葛云霞,等.复方白玉散外敷治疗慢性难愈性创面30例临床研究[J].江苏中医药,2016,48(9):44.
- [5] 张全凯,杨公明,余铭,等.实验用金黄色葡萄球菌生物被膜体外模型的建立[J].中国酿造,2014,33(5):53.
- [6] TREMBLAY Y D, LAMARCHE D, CHEVER P, et al. Characterization of the ability of coagulase-negative

staphylococci isolated from the milk of Canadian farms to form biofilms[J].J Dairy Sci,2013,96(1):234.

- [7] 晋兴,武爱荣,黄波,等.用纸巾扩散法和微量稀释法进行药物敏感性测定的比较[J].国际检验医学杂志,2014,35(3):322.
- [8] 祝司霞.穿心莲内酯对金黄色葡萄球菌生物膜的体外抑制作用[J].广东医学,2016,37(11):1598.
- [9] 吴忠好.烧伤外科病人再手术原因分析与预防[J].中国医药导刊,2013,15(8):1459.
- [10] CLINTON A, CARTER T. Chronic Wound Biofilms: Pathogenesis and Potential Therapies[J].Lab Med,2015,46(4):277.
- [11] 顾莎莎,葛云霞.白玉散用于体表脓肿切开引流换药的疗效观察[J].中国保健营养(中旬刊),2013(7):464.

第一作者:姚孝明(1973—),男,硕士,主任技师,临床检验诊断学专业。

通讯作者:刘晓蓉,本科学历,主任护师。476820302@qq.com

收稿日期:2017-05-21

编辑:吴宁