

基础理论研究

肾主耳理论的生物物质基础

——缺铁大鼠肾虚证与内耳铁含量及含铁酶变化

孙爱华¹ 王正敏² 萧毓之¹ 李兆基¹ 张锦方¹ 李津婴³ 奚建华⁴ 周毅伟⁴

我们以往的临床研究表明, 肾虚型感觉神经性聋患者血清铁含量明显低于无肾虚见证者及正常听力健康人, 对这些患者以补肾治疗为主, 重用含铁量很高的磁石, 辅以西药铁剂, 可获较好疗效, 提示微量元素铁可能是中医肾与耳联系的物质之一⁽¹⁻³⁾。为对此进行更深入探讨, 我们于1985年1月至1990年4月运用现代科学方法研究缺铁大鼠肾虚证形成与内耳铁含量及含铁酶变化的关系, 对肾主耳理论的生物物质基础提供初步实验依据。

材料和方法

一、动物模型复制

1. 实验饲料: 缺铁饲料、标准饲料的配制及质量检测均同前文⁽⁴⁾。

2. 实验动物及分组: 选用体重30~45克的健康、无耳疾、脑干听觉诱发电位(ABR)与耳蜗电图N₁波阈值(ECoG-N₁阈)正常的幼龄Wistar大鼠(雌雄各半)214只。随机分为3组: 缺铁组88只, 饲缺铁饲料及双蒸水; 正常对照组64只, 饲标准饲料及自来水; 贫血对照组62只, 饲养同正常对照组, 自饲养的第5天起, 以盐酸苯肼30 mg/公斤体重尾静脉注射, 每5~7天一次, 造成溶血性贫血, 使血红蛋白含量维持在与缺铁组大鼠相当的水平。动物的饲养观察期为2~12周。

3. 肾虚辨证标准: 选用ABR阈、ECoG-N₁阈评价实验动物听力变化。参照临床肾虚诊断标准⁽⁵⁾对动物进行肾虚辨证。肾虚必须同时或先后出现下列三项症候: (1) 四肢无力, 活动减少; (2) 皮毛枯槁或脱落稀疏; (3) 听力减退(ABR阈和ECoG-N₁阈提高值均≥15 dB)。

二、观察项目与方法

1. 血红蛋白含量: 用氰化高铁法, 全部动物均予测定。

2. 血清铁含量: 用原子吸收光谱法, 每组动物各测30只。

3. 内耳铁、锌、铜、镁含量: 每个测定样品用大鼠1只。正常对照组、缺铁组肾虚大鼠、缺铁组无肾虚大鼠各测5个样品。主要操作步骤如下: 断头取材, 在解剖显微镜下剔除耳蜗骨壳, 剥取膜性成分, 浸入去离子水中, 4℃冰箱保存, 测元素含铁时吸出去离子水, 称取内耳膜性成分干重。按原子吸收光谱法操作规程, 测定标本的各元素含量。

4. 耳蜗含铁酶组织化学观察: 做三种含铁酶的组化观察。(1) 细胞色素氧化酶: 酶反应液参照DAB法⁽⁶⁾配制, 按大鼠耳蜗表面标本制备技术⁽⁷⁾对一侧耳蜗铺片观察, 另侧耳蜗常规火棉胶切片。(2) 过氧化物酶: 操作步骤同前文⁽⁸⁾。(3) 琥珀酸脱氢酶: 酶反应液参照牧田法⁽⁹⁾配制。观察方法同细胞色素氧化酶。

每种含铁酶各观察20只动物40个耳蜗样品(正常对照、贫血对照各取5只动物, 缺铁组肾虚大鼠、无肾虚大鼠各取5只)。

实验结果

实验过程中观察到, 正常对照组大鼠表现机警, 反应快, 皮毛致密、整齐有光泽, 贫血对照大鼠中有40只与正常对照组无明显差异, 另有22只精神较差, 活动减少, 但这两组均未发现符合肾虚辨证标准的大鼠。缺铁组88只动物中, 从2~12周起, 部分大鼠陆续出现活动减少, 反应迟钝, 皮毛稀疏蓬乱、枯槁无光, 以及听力减退, 符合肾虚辨证标准的大鼠共21只, 另有5只大鼠ABR和ECoG-N₁阈提高值≥15 dB, 但无其他肾虚症候。缺铁组肾虚大鼠在血液、内耳铁

1 第二军医大学长海医院耳鼻喉科; 2 上海医科大学眼耳鼻喉科医院; 3 第二军医大学长海医院血液科; 4 第二

代谢以及含铁酶活性变化方面的主要特征如下:

一、血液铁代谢变化

表1示, 缺铁肾虚组、缺铁无肾虚组、贫血对照组血红蛋白含量均明显低于正常对照组, 但三组间无显著性差异 ($P>0.05$)。缺铁肾虚组和缺铁无肾虚组大鼠血清铁平均含量明显低于两个对照组, 缺铁肾虚组血清铁还明显低于缺铁无肾虚组, 经统计学处理, 各组测值间的差异非常显著 ($P<0.01$)。

表1 各组大鼠血红蛋白与血清铁含量变化

分 组	鼠数	血红蛋白(g/L)	血清铁($\mu\text{mol/L}$)
正常对照	64	140.13 $\pm$ 21.10	38.03 $\pm$ 3.27
缺铁肾虚	21	62.87 $\pm$ 20.36*	10.45 $\pm$ 4.38**
缺铁无肾虚	67	61.44 $\pm$ 19.68*	15.62 $\pm$ 4.80*
贫血对照	62	62.51 $\pm$ 18.89*	39.76 $\pm$ 4.19

表中数据为均值 $\pm$ 标准差, 下表同; * 与正常对照组比较 $P<0.01$; ^ 与缺铁无肾虚组比较 $P<0.01$

二、内耳铁、锌、铜、镁含量变化

表2示, 内耳铁、锌、铜、镁含量均不受缺铁或肾虚的影响, 但缺铁或肾虚都可致内耳铁含量降低, 肾虚比无肾虚对内耳铁含量的影响更为显著 ($P<0.05$)。

表2 肾虚对内耳铁、锌、铜、镁含量(mmol/kg干重)的影响

元素测定	缺 铁 组		正常对照组 (64只鼠)
	肾虚大鼠 (21只鼠)	无肾虚大鼠 (67只鼠)	
铁	14.22 $\pm$ 5.14**^	19.03 $\pm$ 7.57*	25.01 $\pm$ 11.30
锌	62.51 $\pm$ 27.44	60.79 $\pm$ 28.11	58.18 $\pm$ 29.04
铜	3.14 $\pm$ 1.28	3.08 $\pm$ 1.35	3.49 $\pm$ 2.13
镁	99.47 $\pm$ 40.83	112.56 $\pm$ 46.83	108.85 $\pm$ 55.66

* 与正常对照组比较 $P<0.01$; ^ 与无肾虚组比较 $P<0.05$

三、耳蜗含铁酶活性变化

在正常对照组大鼠耳蜗的听毛细胞与血管纹区, 细胞色素氧化酶、过氧化物酶和琥珀酸脱氢酶的活性很强, 组化反应着色深, 反应产物分布均匀一致。缺铁肾虚组大鼠耳蜗各含铁酶活性变化具有不同特点:

1. 细胞色素氧化酶: 与正常对照大鼠比较, 贫血对照组及缺铁无肾虚组大鼠耳蜗各种酶活性无明显变化, 反应产物分布均匀。缺铁肾虚组大鼠耳蜗血管纹酶活性显著减弱, Corti氏器区域酶活性的变化在缺铁饲养的初期不明显, 后期则可见外毛细胞、内毛细胞酶活性减弱, 反应产物分布不均匀。

2. 过氧化物酶: 缺铁无肾虚组2/5只大鼠耳蜗血管纹酶和内、外听毛细胞酶活性有不同程度的同步性减弱; 与正常对照组比较, 贫血对照组大鼠耳蜗各部酶活性无明显变化, 反应产物分布均匀。缺铁肾虚组大鼠酶活性变化最早见于血管纹, 表现为酶反应产物分布异常及活性减弱, Corti氏器酶活性改变多迟于血管纹。

3. 琥珀酸脱氢酶: 各饲养观察期的贫血对照大鼠, 耳蜗酶反应产物分布规律及强度与正常对照大鼠无明显差异。缺铁无肾虚组大鼠中, 有1个耳蜗样品显示外毛细胞酶活性减弱, 其余9个样品的耳蜗各部均未发现酶活性强度与分布的异常。缺铁肾虚组大鼠耳蜗酶活性变化常先见于血管纹, 随饲养观察期的延长, Corti氏器酶活性也有显著减弱, 甚至呈阴性反应。

讨 论

一、肾主耳理论与内耳铁代谢

中医理论中将贫血统称为血虚, 认为血液源于脾, 根本在肾, 脾虚不能运化和吸收水谷的精髓, 肾虚则不能助脾运化, 精髓空虚就不能变化而为血, 故贫血既可以脾虚为主, 也可以肾虚为主。在本实验过程中, 贫血对照组大鼠均无肾虚见证, 而缺铁大鼠中, 约1/4的动物出现肾虚证, 说明肾虚并非贫血引起, 而只能是铁缺乏的直接后果, 肾虚又反过来影响铁的吸收与利用, 使铁代谢障碍进一步加重, 形成缺铁与肾虚的恶性循环。换言之, 任何原因引起的肾虚都有可能影响铁代谢。从表2可以看出, 无论有无肾虚见证, 缺铁大鼠内耳铁、铜、镁的含量都在正常范围内, 惟铁含量显著低于正常对照组, 缺铁肾虚组大鼠内耳铁含量又明显低于无肾虚大鼠, 提示肾主耳理论与内耳铁代谢关系十分密切。

在本实验期间, 缺铁组88只大鼠先后有26只发生感觉神经性聋, 其中符合肾虚辨证标准的占80.8%(21/26), 无肾虚见证的大鼠仅5只, 占缺铁引起的感觉神经性聋总发病率的19.2%(5/26)。这可能说明, 感觉神经性聋的病理基础以肾虚为主, 同时又同心、肝、脾、肺等脏腑功能失调有直接或间接的关系。脾的功能也涉及包括铁在内的营养物质代谢, 故脾与耳的关系的物质基础也是值得今后认真探讨的重要课题。

二、肾主耳理论与耳蜗含铁酶

细胞色素氧化酶、过氧化物酶和琥珀酸脱氢酶都是耳蜗细胞生化代谢的重要环节, 对细胞功能有直接

影响。同时,它们又都同属含铁酶类,在耳蜗各部的活性很强。本文对肾虚见证的缺铁大鼠内耳含铁酶组织化学观察发现,无论细胞色素氧化酶、过氧化物酶或琥珀酸脱氢酶,都有其程度不同的相似的变化特征,酶产物分布异常,活性减弱或消失,都有其相似的变化规律:血管纹区酶活性变化最早出现,Corti氏器酶活性变化往往是继发性的。而在无肾虚见证的缺铁大鼠,耳蜗含铁酶活性变化则不明显。这一现象似可说明,中医理论的“肾”主要经血管纹途径影响耳蜗含铁酶活性,参与听毛细胞的细胞呼吸和生物氧化过程,从而实现其对耳蜗功能的制导作用。

三、肾主耳理论的物质基础与肾对耳的作用部位
肾气通于耳,肾和则耳能闻五音⁽⁹⁾。耳的听觉要依赖于肾精的滋养,才能耳目聪敏。若肾失职司或精气亏损,则耳窍濡养不及,即可见耳鸣耳聋或头暈目眩。由此可见,肾对耳的影响,涉及现代医学概念中内耳的耳蜗与前庭部分、中耳的鼓室与听骨链、外耳道,以及听觉、前庭反射的神经传导路。从这个意义上说,肾主耳理论的物质基础与中医“肾”对耳的作用部位有密切关系。近年来的临床与实验观察表明,肾主耳理论的物质基础可能包括铁⁽¹⁾、醛固酮⁽¹¹⁾和钙⁽¹¹⁾。临床观察⁽¹⁾与本实验研究都证实,铁是肾主耳理论的生化物质基础之一,肾通过耳蜗含铁酶参与内耳听毛细胞的细胞呼吸和生物氧化过程,影响耳蜗感音功能。³H-醛固酮在豚鼠耳蜗和其他组织中分布的研究⁽¹¹⁾提示,肾可通过醛固酮调节内淋巴液水盐平衡,直接影响前庭功能。56例肾虚患者钙磷代谢观察⁽¹¹⁾说明,肾可通过血钙作用于耳,影响听神经的兴

奋性及信息传递。

综上所述,我们认为,在病理情况下,肾可能通过不同物质和影响途径,使外耳、中耳、内耳相应部位发生代谢改变,从而构成中医异病同治的物质基础。

实验过程中,张家庆主任曾对本文工作提供宝贵意见,谨此致谢。

参 考 文 献

- (1) 孙爱华,等.从感觉神经性聋患者血清铁变化探讨中医“肾”与耳的关系.中医杂志 1982; 23:546.
- (2) 孙爱华.中西医结合治疗感觉神经性聋初步报告—附108例疗效分析.中医杂志 1981; 22:355.
- (3) 孙爱华,等.中药耳聋方治疗突发性聋的初步研究—附152例疗效对比分析.中医杂志 1984; 25:43.
- (4) Sun Ai-Hua, et al. A scanning electron microscopic study of cochlear changes in iron-deficient rats Acta Otolaryngol (Stockh) 1987; 104:211.
- (5) 沈自尹,等.中医虚证辨证参考标准.中西医结合杂志 1986; (6):598.
- (6) 武内忠男,ほか.新酵素組織化学.初版,東京,朝倉書店,1980:101.
- (7) 孙爱华,等.大鼠耳蜗表面标本制备技术.中华耳鼻咽喉科杂志 1988; 23:90.
- (8) 孙爱华,等.缺铁对听毛细胞损伤的实验研究.上海医学 1987; (10):344.
- (9) 姜春华,等.祖国医学有关“肾”的历代文献综述,肾的研究.第2版,上海:上海科学技术出版社,1981:1~18.
- (10) 莫启忠,等.中医“肾”和耳联系的物质基础的探讨—³H-醛固酮在豚鼠耳蜗和其他组织中的分布.中医杂志 1982; 23:549.
- (11) 刘鲁明,等.试从钙磷代谢角度探讨肾虚耳鸣的物质基础—56例肾虚患者临床观察.中西医结合杂志 1986; (6):538.

单味生大黄粉对慢性便秘的疗效观察

江西光华塑料厂医院 苏孝斌

笔者运用单味生大黄粉治疗慢性功能性便秘57例,取得了满意的近远期疗效,现介绍如下。

一、临床资料:本组57例,均为每周大便数少于2次者,其中男45例,女12例,年龄最大73岁,最小13岁,平均45岁;病程最短1年,最长30年,平均9年,57例中除9例有痔疮外,余均未发现肠道器质性病变。本组均经用其他泻药如果导片、麻仁丸、番泻叶等治疗4周无效。

二、治疗方法及结果:用单味生大黄粉3~6克,每晚睡前用温水送服。2~4周为1疗程。其中药量以

每日可无困难排便一次为准。

本组57例均达到服药24小时内出现排便且无困难,停药后2周大便次数较前增多(每周排便5次为标准)或服药后每周大便超过3次,便型为正常软便。

57例中有47例1年随访,其中疗效巩固者37例。

本组中9例合并痔疮者经1年随访,便秘已纠正,痔疮未再复发且症状有所减轻。

本组中有4例便秘史超过25年者,经用生大黄粉每日6克治疗4周后,3例获得长期效果,1例近期有效。随访3个月,便秘重新出现。