

围绝经期综合征中医肝郁分级与 舌苔脱落细胞凋亡的相关性

梁文娜¹ 李灿东^{*} 高碧珍² 李红³ 廖凌虹¹ 沈建英¹

(1. 福建中医药大学中医证研究基地, 福建省福州市闽侯上街华佗路1号, 350108

2. 福建中医药大学中西医结合学院; 3. 福建省立医院中医科)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30772697)

* 通讯作者: fjzylcd@126.com, 13305000196

摘要 目的 探讨围绝经期综合征中医肝郁分级与舌苔脱落细胞凋亡基因的相关性。方法 选取50例健康妇女作为对照组, 150例围绝经期综合征患者作为观察组, 采用证素辨证进行中医肝郁病理分级, 巴氏染色观察舌苔脱落细胞的成熟指数(MI)、成熟价值(MV), 流式细胞仪检测细胞凋亡指数, 免疫组化检测舌苔脱落细胞凋亡基因Fas、Bax、Bcl-2的阳性率。结果 观察组肝郁积分明显高于对照组($P < 0.01$); 观察组肝郁分级分布与对照组有明显差异($P < 0.01$)。肝郁分级与舌苔脱落细胞MI的中层细胞数量、凋亡指数、Fas阳性率、Bax阳性率呈正相关($P < 0.01$), 与舌苔脱落细胞MI的表层细胞数量、舌苔脱落细胞MV、Bcl-2阳性率呈负相关($P < 0.01$)。结论 肝郁是围绝经期综合征的核心病机之一, 肝郁分级与舌苔脱落细胞的成熟度、凋亡指数及凋亡调控基因相关。

关键词 围绝经期综合征; 肝郁分级; 舌苔脱落细胞; 凋亡指数; 凋亡基因

Correlation between TCM Liver Depression Grade and Tongue Exfoliated Cell Apoptosis in Perimenopausal Syndrome

LIANG Wenna¹, LI Candong¹, GAO Bizhen², LI Hong³, LIAO Linghong¹, SHEN Jianying¹

(1. Research Base of TCM Syndromes, Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou 350108; 2. College of Integrated Chinese and Western Medicine; 3. Department of Chinese Medicine, Fujian Provincial Hospital)

ABSTRACT Objective To study the correlation between TCM liver depression grade and apoptotic regulatory genes of tongue exfoliated cells in perimenopausal syndrome. **Methods** Fifty healthy women were enrolled into the control group and 150 cases of perimenopausal syndrome attributed to the observed group. The patients were diagnosed with the syndrome-element differentiation for liver depression grading. Tongue exfoliated cell maturation index (MI) and maturation value (MV) were examined by Papanicolaou staining, apoptosis index was detected through flow cytometer, and positive rate of apoptotic regulatory genes Fas, Bax, and Bcl-2 of tongue exfoliated cells were investigated via immunohistochemistry. **Results** The liver depression score of the observed group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.01$). The distribution of liver depression of the observed group was significantly different from that of the control group ($P < 0.01$). Liver depression was positively correlated with the amount of middle layer cells of MI of tongue exfoliated cells, tongue exfoliated apoptosis index, and the positive rate of Fas and Bax of tongue exfoliated cells ($P < 0.01$); while it was negatively correlated with the amount of surface layer cells of MI of tongue exfoliated cells, MV of tongue exfoliated cells, and the positive rate of Bcl-2 of tongue exfoliated cells ($P < 0.01$). **Conclusion** Liver depression is one of the core pathogenesis in perimenopausal syndrome. Degree of liver depression is correlated with maturity, apoptosis index, and apoptotic regulatory genes of tongue exfoliated cells.

Key Words perimenopausal syndrome; grade of liver depression; tongue exfoliated cells; apoptosis index; apoptotic genes

围绝经期综合征(perimenopausal syndrome)是妇女从中年过渡至老年的特殊生理时期常见的疾病,属于中医“脏躁”、“郁证”、“绝经前后诸症”等范畴,以肝郁为主要病机,舌诊是中医独具特色的诊断方法之一,也是辨证论治的重要依据,本研究收集2008年7月~2009年11月围绝经期综合征患者与健康对照者进行临床观察,现报告如下。

1 资料

1.1 诊断标准

参照《妇产科学》^[1]:①40~55岁妇女;②临床表现为月经紊乱3个月以上或闭经3个月~12个月者;③出现不同程度的临床症状,如潮热出汗、易激动等,症状评分标准的制定采用改良Kupperman法^[2],总积分>6分,诊断为围绝经期综合征。

1.2 纳入标准

符合围绝经期综合征诊断标准者;未过经、孕

激素替代治疗者;签署知情同意书

1.3 排除标准

原因不明的阴道不规则出血未治愈者;精神病患者;合并心脑血管、肝、肾、造血系统等严重疾病者;乳腺肿瘤、一侧卵巢切除、卵巢器质性病变、卵巢功能早衰者。

1.4 一般资料

收集 2008年 7月~ 2009年 11月在福建省立医院中医科住院及门诊的围绝经期综合征患者(观察组) 150例,平均年龄(46.32± 5.26)岁,平均病程(7.35± 4.28)个月。另选福建省立医院健康体检中心的健康女性(对照组) 50例,平均年龄(48.18± 6.53)岁,月经周期规律,改良 Kupperman法总分≤ 6分。两组受试者年龄差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

2 方法

2.1 四诊资料收集

采用改良 Kupperman法与证素辨证量表相结合,制定统一的科研调查问卷,问卷内容包括望诊(神、色、形态、舌质、舌苔)、闻诊(听声音、闻气味)、问诊(一般资料、刻下症如潮热、汗出、急躁易怒、失眠等、既往史)、切诊(脉诊、按诊)。观察对象由统一培训的专业人员收集资料,建立档案。

2.2 临床研究观察指标

肝郁分级:参照《证素辨证学》^[3]中“600种常见症状的辨证意义”,将观察对象的临床表现中属于肝郁要素的贡献度进行累积相加,求出贡献度之和,作为肝郁证素积分。积分< 70,归为 0级,表明无肝郁病理改变;70≤ 积分< 100,归为 1级,表明存在轻度

肝郁病理改变;100≤ 积分< 150,归为 2级,表明存在中度肝郁病理改变;积分≥ 150,归为 3级,表明存在重度肝郁病理改变^[4]。

2.3 舌苔脱落细胞检测

在进行临床四诊资料收集后,刮取观察对象的舌苔脱落细胞,分别采用巴氏染色观察舌苔脱落细胞的成熟指数(MI)、成熟价值(MV)(南京建成生物有限公司),流式细胞仪检测舌苔脱落细胞的凋亡指数(美国 Becton Dickinson公司),免疫组化检测舌苔脱落细胞的凋亡基因 Fas、Bax、Bcl-2的阳性率(武汉博士德生物工程有限公司)。

2.4 安全性指标

观察前分别检查血、尿、便常规,肝、肾功能,心电图,妇科及乳腺彩超。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0统计软件,计量资料采用均数± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两因素之间的相关性用等级相关(Spearman法)分析;计数资料的组间比较采用卡方检验。

3 结果

3.1 两组受试者肝郁分级情况

表 1示,观察组患者肝郁积分明显高于对照组($P<0.01$);观察组患者肝郁分级分布情况以 1、2、3级为主,对照组受试者均为 0级,两组差异有统计学意义($P<0.01$)。

3.2 对照组及不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞 MI、MV 的比较

表 2图 1示,肝郁分级与舌苔脱落细胞 M

表 1 两组受试者肝郁分级情况

组别	例数	肝郁积分(分)	肝郁分级 例(%)			
			0级	1级	2级	3级
对照组	50	35.28± 11.79	50(10.00)	0	0	0
观察组	150	114.03± 44.37	22(14.67)	43(28.67)	59(39.33)	26(17.33)

注:与对照组比较,* $P<0.01$

表 2 对照组及不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞 MI、MV 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MI			MV
		底层	中层	表层	
对照组	50	0	40.44± 3.75	59.56± 3.75	79.78± 1.88
肝郁 0级	22	0	42.27± 4.00	57.9± 3.79	79.05± 3.18
肝郁 1级	43	0	45.47± 4.52	54.98± 4.94	77.7± 2.97
肝郁 2级	59	0	48.37± 4.88	51.59± 5.05	75.78± 2.69
肝郁 3级	26	0	49.62± 4.36	50.54± 4.22	75.35± 2.15

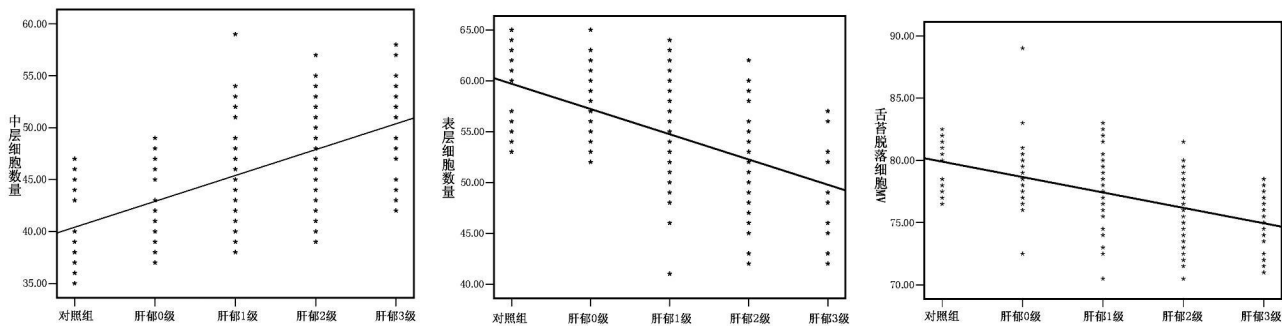


图 1 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞 MI MV 的关系图

表 3 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞凋亡指数的比较 (% , $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	舌苔脱落细胞周期分布			细胞凋亡指数
		G ₀ /G ₁	G ₂ /M	S	
对照组	50	91.58± 1.36	3.05± 0.97	5.37± 1.30	15.62± 1.65
肝郁 0级	22	90.8± 2.64	3.66± 0.71	5.08± 1.32	16.92± 1.54
肝郁 1级	43	91.10± 2.45	3.08± 0.83	5.89± 1.40	18.78± 2.34
肝郁 2级	59	90.90± 1.57	3.03± 0.89	6.09± 1.47	20.03± 2.89
肝郁 3级	26	91.99± 2.05	3.16± 1.19	5.18± 1.58	21.73± 2.48

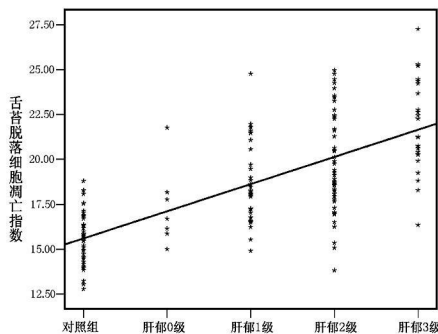


图 2 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞凋亡指数的关系图

表 4 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞

组别	例数	Fas Bax Bcl-2的比较 (% , $\bar{x}\pm s$)		
		Fas	Bax	Bcl-2
对照组	50	27.79± 2.16	28.17± 2.78	34.5± 3.64
肝郁 0级	22	28.02± 3.65	29.6± 2.51	33.78± 3.41
肝郁 1级	43	31.25± 2.40	31.50± 2.24	32.36± 4.24
肝郁 2级	59	32.2± 4.21	31.55± 2.89	30.55± 4.29
肝郁 3级	26	33.74± 4.24	32.50± 2.74	28.84± 2.49

中层细胞数量呈正相关 ($R= 0.622, P= 0.000$),与舌苔脱落细胞 MI 的表层细胞数量呈负相关 ($R= - 0.610, P= 0.000$),与舌苔脱落细胞 MV 呈负相关 ($R= - 0.556, P= 0.000$).

3.3 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞凋亡指数的比较

表 3 图 2 示,肝郁分级与舌苔脱落细胞凋亡指数呈正相关 ($R= 0.674, P= 0.000$),与舌苔脱落细胞 G₀ /G₁ 期、G₂ /M 期、S 期无明显相关性。

3.4 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞 Fas Bax Bcl-2 的比较

表 4 图 3 示,肝郁分级与舌苔脱落细胞中 Fas 的阳性率呈正相关 ($R= 0.539, P= 0.000$),与舌苔脱落细胞中 Bax 的阳性率呈正相关 ($R= 0.492, P= 0.000$),与舌苔脱落细胞中 Bcl-2 的阳性率呈负相关 ($R= - 0.456, P= 0.000$).

4 讨论

围绝经期综合征是机体内多脏功能紊乱的综合体现,虚实夹杂,病情复杂,传统的辨证难以兼顾各种兼夹证,而证素辨证则以临床症状为基础,其各种证名均由各证素互相组合而成,抓住各证素的临床表现、证候属性,并根据症状积分及贡献度,可以依次计算病位和病性的积分,能全面把握病理变化,为临床的诊疗提供科学的依据^[5]。围绝经期女性情绪波动,五志过极,终致肝阴不足。肝主疏泄,喜条达,恶抑郁,肝体失于柔养,疏泄失常,肝失条达,产生肝气郁结或升泄太过的病理表现,肝郁则气盛,气盛则化火,火性趋于炎上,肝气上逆,而致烦躁易怒、头痛、目眩^[6-7];肝体阴而用阳,阴血充足则能柔润养肝,肝阴不足,肝阳上亢,而致失眠、眩晕、头痛;肝肾同源,肾水亏少,肝阴虚损,而致腰膝酸软、烦热、失眠多梦,则情志抑郁、烦躁易怒,故肝郁是围绝经期综合征患者中医证候的主要体现之一^[8]。

本研究采用证素积分方法,从肝郁病理角度深入分析围绝经期综合征的中医病理特点,结果显示

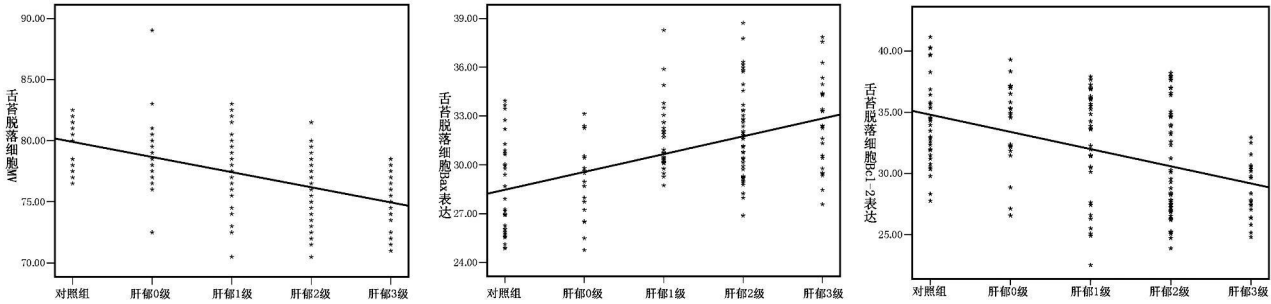


图 3 对照组与不同肝郁分级患者舌苔脱落细胞 Fas Bax Bcl-2的关系图

围绝经期综合征患者肝郁证素积分均大于 70 分,明显高于对照组,提示肝郁是引发围绝经期临床表现的重要病理环节,肝郁可致机体的阴阳失衡、气血失调,引发脏腑功能的紊乱,从而出现一系列临床症状和体征。

肝主疏泄,调理一身的气机,也包括了脾胃之气的升降。肝在中医里五行属木,脾在中医里五行属土,木乘土,影响脾胃的运化功能,从而引起舌苔变化。舌苔是一层分布均匀苔状物,平铺于舌体表面,由脾胃之气上蒸,胃津上潮,凝聚于舌面而成。舌象的形成是机体整体功能的局部体现,并受机体内生理、病理反应的影响,而脱落细胞学检查作为探讨舌象形成机制和舌诊现代研究的主要方法之一^[9]。舌苔脱落细胞 MI MV 检查可作为辨别不同舌象的辅助诊断依据之一,MI MV 变化也可作为中医舌诊的组成部分,为辨证及探讨舌象形成的机制提供理论依据^[10-11]。舌苔脱落细胞 MI MV 的改变与舌质、舌苔的变化严重程度存在一定的内在联系,不同舌质与舌苔中舌苔脱落细胞 MI MV 有明显差别,并且随着病情的加重,舌象改变越明显,舌苔脱落细胞 MI MV 的差别就越明显^[12-13]。本研究结果显示,肝郁分级与舌苔脱落细胞 MI 的中层细胞数量呈正相关,与舌苔脱落细胞 MI 的表层细胞数量呈负相关,与舌苔脱落细胞 MV 呈负相关,表明舌苔脱落细胞 MI MV 变化与肝郁病理变化密切相关。

肝郁则气盛,气盛则化火,火性炎上,上蒸于舌面,引起舌黏膜上皮细胞的新陈代谢加快,凋亡增加,导致舌苔变化。舌上皮细胞的增殖与分化、凋亡处于相对平衡状态,舌苔表现为薄苔;当舌上皮细胞的凋亡占优势,细胞分化相对占劣势时,舌苔变厚,反之为剥苔。舌苔上皮细胞的凋亡受内外环境多种因素调控,其中 Fas Bax Bcl-2 在舌苔上皮细胞的凋亡过程中发挥重要作用^[14]。Fas 启动舌苔脱落细

胞的凋亡程序,Bcl-2 抑制凋亡,Bax 促进凋亡,二者之间的比例调控细胞凋亡的过程^[15-16]。本研究结果显示,舌苔脱落细胞在增殖、分化的同时,存在着细胞的凋亡,肝郁分级与舌苔脱落细胞凋亡指数及 Fas Bax 的阳性率呈正相关,与舌苔脱落细胞中 Bcl-2 的阳性率呈负相关,表明舌苔脱落细胞的凋亡随着肝郁病理改变加重而增加,提示肝郁可能是影响舌苔脱落细胞凋亡及舌象形成的重要调控因素之一。

参考文献

[1] 乐杰.妇产科学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2004:350-351.

[2] 丰有吉.妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,2002:343.

[3] 朱文锋.证素辨证学[M].北京:人民卫生出版社,2008:36-77.

[4] 李灿东,高碧珍,黄熙理,等.不孕症肝郁病理与性腺轴功能变化的相关性研究[J].上海中医药大学学报,2005,19(3):36-38.

[5] 梁文娜,李灿东,李西海.围绝经期综合征证素规律的临床研究[J].福建中医学院学报,2009,19(6):3-5.

[6] 汪瑜,黄可佳.从肝肾论治围绝经期综合征 36 例[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(10):126-127.

[7] 梁文娜,李灿东,李西海.疏肝补肾法治疗围绝经期综合征的临床研究[J].光明中医,2009,24(8):1421-1422.

[8] 梁文娜,林雪娟,李灿东.从肝郁论治围绝经期综合征舌象变化机制的初步探讨[J].中华中医药学刊,2009,27(12):2517-2519.

[9] 李灿东,高碧珍,兰启防,等.不孕症患者证与舌象及舌印片的对照观察[J].中国医药学报,2004,19(12):739-741.

[10] 李灿东,高碧珍,兰启防,等.原发性不孕症舌印片与阴道脱落细胞的对照观察[J].福建中医学院学报,2004,14(2):3-6.

[11] 李灿东,兰启防,高碧珍,等.不同舌象舌印片脱落细胞成熟指数与成熟价值的观察[J].湖南中医学院学报,2002,22(1):7-9.

(下转第 864 页)

无统计学意义 ($P > 0.05$), 两组均可明显降低 TG、LDL-C 和升高 HDL-C ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 两组治疗后比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 同时治疗组还可降低 TG ($P < 0.05$), 对照组降低 TG 作用不明显 ($P > 0.05$).

3.3 不良反应

两组患者在服药期间均未发现明显不良反应, 血压、心率、心电图等无明显变化, 两组肝、肾功能及血、尿、便常规均在正常范围。

4 讨论

血脂异常属于中医“肥人”、“痰浊”、“眩晕”、“胸痹”等范畴。中医认为, 血脂异常的病位在心、肝、脾、肾, 与气、血、痰、瘀密切相关^[5]。《石室秘录》曰: “肥人多痰及气虚也, 虚则气不能运, 故痰生之。”痰浊是血脂异常整个病程的基本病因, “脾为生痰之源”, 痰之产生多责之于脾虚失运, 聚湿为痰, 痰浊留注血脉, 脉络壅塞不通而生血瘀, 痰瘀互结, 胶着脉道, 往往导致心脑血管疾病的发生。

袁肇凯教授多年临证发现血脂异常患者以痰瘀互结证居多, 病机多以气虚为本, 痰凝、瘀阻为标, 治疗必须抓住一个中心即气虚, 两个要素即痰浊和瘀血, 拟定益气化痰、通脉祛瘀之治法从而使标本兼顾。养心通脉片由人参、丹参、桂枝、枳实、泽泻等药组成, 在治疗上着重于益气、化痰、活血, 以推动气血的运行, 使虚补、痰化、瘀行, 恢复血运正常状态, 正如薛立斋所言“使血气俱盛, 何痰之有”。

养心通脉片中人参缓中补虚, 健脾以绝生痰之源; 枳实破气除痞, 化痰消积; 泽泻利水渗湿协脾胃以祛痰湿; 丹参善入血分, 活血化瘀而通畅血脉; 桂枝温阳止痛, 化气行水。诸药协同, 共奏益气化痰、通脉祛瘀之功。现代药理学研究发现^[6-8], 人参能调节体内胆固醇的代谢; 丹参中水溶性丹参素不但能抑

制细胞内源性胆固醇的合成, 而且能清除氧自由基, 防止脂蛋白氧化; 泽泻能降低血清 TC 和 LDL-C, 且具有抗血小板聚集、抗血栓形成及增强纤溶酶活性等作用, 从而可促进血清 HDL-C 水平升高; 枳实与桂枝均可促进胃肠蠕动, 促进脂质的吸收及转运, 从而达到全面的调脂作用。

养心通脉片功在益气化痰、通脉祛瘀, 而对照组绞股蓝总甙片的功效为养心健脾、益气和血、除痰化瘀, 两者的功效基本一致, 故两者对血脂异常患者的治疗具有良好的可比性, 疗效分析说明两者均有有效的调脂作用, 对血脂疗效作用基本无差别, 养心通脉片能有效治疗血脂异常, 益气化痰、通脉祛瘀法治疗脂质代谢紊乱疗效确切。

参考文献

- [1] 李鹏, 李勇, 郭志刚. 中国人群血脂流行病学研究 25 年回顾与展望 [J]. 心血管病进展, 2007, 28(5): 776-780.
- [2] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(5): 390-419.
- [3] 袁肇凯, 王天芳. 中医诊断学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 177-185.
- [4] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 85-89.
- [5] 张学智. 血脂异常中医诊疗标准 (初稿) [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(8): 716-719.
- [6] 沈映君. 中药药理学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 31, 90, 106, 128, 160.
- [7] 许继文, 付春梅. 丹参的药理作用研究进展 [J]. 医学综述, 2006, 12(23): 1467-1469.
- [8] 黄珍, 刘咏松. 泽泻降血脂药理作用及物质基础研究进展 [J]. 山西中医学院学报, 2008, 9(5): 55-56.

(收稿日期: 2010-11-01; 修回日期: 2011-01-16)

[编辑: 叶 晨]

(上接第 847 页)

- [12] 梁文娜, 李红, 李灿东, 等. 柴胡疏肝散加减治疗围绝经期综合征舌象变化临床 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(2): 201-203.
- [13] 吴正治, 李明, 张盛薇, 等. 不同舌苔舌上皮细胞的凋亡及相关基因分子机理研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(11): 986-988.
- [14] Yang H, Deng C, Shen S, et al. Expression and significance of Bcl-2, Bax, Fas and caspase-3 in different phases of human hemangioma [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2006, 26(4): 402-404.

- [15] Yuan H, Deng Y, Yuan L, et al. Gynostemma pentaphyllum protects mouse male germ cells against apoptosis caused by zearalenone via Bax and Bcl-2 regulation [J]. Toxicol Mech Methods, 2010, 20(3): 153-158.
- [16] Hasnan J, Yusof MI, Damitri TD, et al. Relationship between apoptotic markers (Bax and Bcl-2) and biochemical markers in type 2 diabetes mellitus [J]. Singapore Med J, 2010, 51(1): 50-55.

(收稿日期: 2010-08-24; 修回日期: 2010-12-27)

[编辑: 邓 媛]