

基于子午流注理论的唾液时间节律变化研究

刘靖薇¹, 徐贤琦¹, 张仕进¹, 徐福平^{1,2}

1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学博士后科研流动站, 广东 广州 510120

[摘要] 目的: 观察唾液分泌量和成分变化是否具有时间节律, 探讨唾液分泌和成分变化的时间节律是否与中国经典子午流注的时间节律相一致。方法: 随机选取 31 名健康大学生作为研究对象, 每个研究对象均收集 8:30、10:30、11:30 各时间点的唾液, 记录 3 个时间点的心率、pH 值, 测定唾液流率, 以比色法测定唾液淀粉酶 (sAA) 活性、二喹啉甲酸 (BCA) 定量试剂盒检测唾液总蛋白含量。结果: 31 例健康大学生受试者在 8:30 的唾液流率低于 11:30 的唾液流率, 2 个时间点的唾液流率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 8:30、10:30、11:30 三个时间点的 sAA 活性、总蛋白浓度、心率、唾液 pH 值比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。将男、女分开比较, 男、女大学生的唾液总蛋白浓度, 在 8:30 时比较, 男性唾液总蛋白浓度高于女性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 sAA 活性、唾液流率、心率以及唾液 pH 值于 3 个时间点分别比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 唾液的分泌与成分变化与诸多因素相关, 在一定时间内比较, 其差异性不大, 但是否具有昼夜时间节律性, 有待进一步研究。

[关键词] 子午流注; 唾液; 时间节律; 流率; sAA 活性; 总蛋白浓度; pH 值

[中图分类号] R224.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2017) 07-0127-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2017.07.043

Study of Change of Circadian Rhythm of Saliva Secretion Based on Midnight-Noon Ebb-Flow Theory

LIU Jingwei, XU Xianqi, ZHANG Shijin, XU Fuping

Abstract: Objective: To observe whether there is a circadian rhythm in secretion and composition change of saliva, and to discuss whether the circadian rhythm is consistent with the classical China time rhythm of midnight-noon ebb-flow. Methods: Selected 31 healthy college students as the research object, saliva of all of the subjects were collected at 8:30, 10:30 and 11:30; Heart rate and pH value of the three time points were recorded; Salivary flow rate were detected; Serum amyloid A (sAA) activity was detected with colorimetry; Total protein concentration of saliva was detected with quantitative reagent kit of bicinchoninic acid (BCA). Results: Salivary flow rate of the healthy college students at 8:30 was lower than that of 11:30, the difference being significant ($P < 0.05$). Compared sAA activity, total protein concentration, heart rate, PH value of 8:30, 10:30 and 11:30, the differences were not significant ($P > 0.05$). Comparing total protein concentration of saliva of the male and female college students, total protein concentration of saliva of the male was higher than that of the female at 8:30, the difference being significant ($P < 0.05$); Comparing sAA activity, total protein concentration, heart rate, pH value of female and male college students at the three different time point, the difference was not significant ($P > 0.05$). Conclusion: Secretion and composition change of saliva are related to many factors, but the difference is not significant in a certain period of time, but whether there is a circadian rhythm, it needs further study.

Keywords: Midnight-noon ebb-flow; Saliva; Temporal rhythm; Flow rate; Serum amyloid A (sAA) activity; Total protein concentration; pH value

子午流注学说强调时间因素及环境因素对人体生命活动基本节律的影响, 其理论认为, 每一时辰有一经脉生旺, 从寅时

肺经起始, 至丑时肝经终末^①。故依子午流注理论, 巳时(9 点至 11 点)为脾经主旺的时辰, 脾经的气血相对旺盛, 生理功能

[收稿日期] 2016-11-26

[基金项目] 中国博士后科学基金项目(2015M572295); 国家自然科学基金青年基金项目(81503515); 广东省自然科学基金项目(2015A030310255)

[作者简介] 刘靖薇 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医临床与基础。

[通讯作者] 徐福平, E-mail: xufuping163@163.com。

相对活跃。《素问·宣明五气》曰：“脾主涎”，现代相关实验研究也提示，唾液分泌的相关检测指标的变化与脾的功能有一定的关系^[2~4]，提示脾与唾液关系紧密。国外有相关实验研究报道^[4]，人体生理 sAA 浓度具有时间节律的变化。本研究以脾经主旺的时辰为时间段，研究唾液分泌是否也与脾经功能活跃有关。

1 临床资料

1.1 仪器与试剂耗材

① pH 仪(METTLER TOLEDD; FE20)、酶标仪(BIO-RAD Microplate Reader)、冷冻高速离心机(MULTIFU GE XIR; Thermo Scientific)、电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司; 京制 0000024 号)、电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司; DK-8D 型)、电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司; PK-S26 型)、紫外分光光度计(SHIMADZU; UVmin-1240); ②磷酸二氢钠(广州化学试剂厂; 批号: 20090701-1)、氯化钠(天津市大茂化学试剂厂; 批号: 20130903)、氢氧化钠(天津市大茂化学试剂厂; 批号: 20140420)、酒石酸钾钠(天津市大茂化学试剂厂; 批号: 20131115)、二硝基水杨酸(国药集团化学试剂有限公司; 批号: F20110923)、可溶性淀粉(天津市大茂化学试剂厂; 批号: 20140414)、麦芽糖(SIGMA-ALDRICH; Pcode1001555806)、滤纸(杭州特种纸业公司产品; 型号 102)、BCA 定量试剂盒(Cat: CW0014; Lot: 00101504)、10 mL 及 4 mL EP 管、纯水。

1.2 一般资料

从广州中医药大学学生中筛选 31 名健康大学生; 男 17 例, 女 14 例; 年龄 20~34 岁; 平均(21.97±2.86) 岁。

1.3 受试者纳入标准

要求: ①无全身系统性疾病或器质性疾病; ②无涎腺疾病史; ③无龋齿, 测试期间口内无急性慢性炎症灶及无口腔溃疡等; ④无烟酒嗜好。

2 研究方法

2.1 时间标准

子午流注针法采用的时间标准主要有 3 种: 即北京时间、地方平太阳时、真太阳时。①因我国幅员辽阔, 因此, 采用北京时间作为时间标准误差较大, 故本研究采用国内研究推荐的本地时间作为选时标准。换算方法^[5]: 地方平太阳时 = 北京时间 + 4 分钟 × (地方经度 - 120°)。②广州位于东经 113°, 按此公式, 本课题按广州地区脾经主旺即应选在上午 9 时 28 分至 11 时 28 分之间, 脾经主旺之前的胃经主旺即应选上午 7 时 28 分至 9 时 28 分之间, 脾经主旺之后的心经主旺即应选上午 11 时 28 分至 13 时 28 分之间。

2.2 唾液收集方法

在收集之前说明实验目的并征得受试者的同意, 并交代注意事项, 包括: 唾液采集前 1 h 内不能饮酒、喝饮料、抽烟、运动、剧烈情绪波动等。每个受试者均收集同一天内上午 8:30(脾经主旺之前的胃经主旺之时)、10:30(脾经主旺之时)和 11:30(脾经主旺之后的心经主旺之时) 3 个时间点的唾液(在此期间, 需要避免口腔的咀嚼物理刺

激), 3 个时间点依次标记为 A、B 和 C。具体方法为: ①称取 EP 管的质量 m_1 , 并记录。②受试者先漱口, 在一安静房间平坐于椅子上, 上身稍前倾, 头稍低, 口微张, 手持 EP 管, 不说话, 不咀嚼, 使口颌运动系统处于相对静止状态, 使口中唾液自然外流于管内, 唾液采集量约 2 mL, 准确记录持续时间 t_1 。唾液采集结束后称量收集唾液后的 EP 管质量 m_2 。

3 观察指标与统计学方法

3.1 观察指标

各指标检测方法: ①在收集唾液的同时, 记录心率(当副交感神经兴奋时, 引起唾液分泌增加^[6])。心率的快慢在一定程度上可以反映副交感神经的兴奋程度, 故本研究将心率也纳入实验对象进行比较研究); ②计算流率: 流率 = $(m_2 - m_1) / t_1$; ③用 pH 仪测 pH 值; ④将唾液标本在 5000 rpm 转速下, 离心 10 min, 取上清液备用; ⑤通过比色法测得唾液淀粉酶(Salivary alpha-amylase, sAA)活性; ⑥通过二喹啉甲酸(Bicinchoninic Acid, BCA)定量试剂盒检测唾液总蛋白含量。

3.2 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件, 3 组间比较, 采用单因素方差分析, 男女受试者观察数据比较, 采用独立样本 t 检验, 不服从正态分布的资料用秩和检验。

4 研究结果

4.1 不同时间点受试者唾液分泌及成分比较

见表 1。31 例健康大学生受试者在 8:30 的唾液流率低于 11:30 的唾液流率, 两个时间点的唾液流率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。8:30、10:30、11:30 三个时间点的 sAA 活性、总蛋白浓度比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 不同时间点受试者唾液分泌及成分比较($\bar{x} \pm s$)

时间点	<i>n</i>	流率(mL/min)	sAA活性(U/mL)	总蛋白浓度(mg/mL)
8:30(A)	31	0.37±0.23 ^①	362.26±205.65	1.40±0.46
10:30(B)	31	0.46±0.24	491.19±315.63	1.53±0.77
11:30(C)	31	0.54±0.32	479.20±302.30	1.54±0.63

与 C 流率比较, ① $P < 0.05$

4.2 不同时间点受试者心率及 pH 值情况比较

见表 2。31 例健康大学生受试者在 8:30、10:30、11:30 三个时间点的心率及唾液 pH 值分别比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 不同时间点受试者心率及 pH 值情况比较($\bar{x} \pm s$)

时间点	<i>n</i>	心率(次/分)	pH值
8:30(A)	31	77.84±9.83	7.09±0.35
10:30(B)	31	72.87±10.42	7.13±0.33
11:30(C)	31	73.61±9.62	7.18±0.33

4.3 男女受试者不同时间点唾液分泌及成分比较

见表 3。将男、女分开比较, 男、女大学生受试者的唾液总蛋白浓度, 在 8:30 时比较, 男性唾液总蛋白浓度高于女性, 差异有统

计学意义($P < 0.05$); 在 10:30、11:30 时比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。sAA 活性于三个时间点比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 男女受试者不同时间点唾液分泌及成分比较($\bar{x} \pm s$)

项目	sAA活性(U/mL)		总蛋白浓度(mg/mL)	
	男	女	男	女
性别				
时间	17	14	17	14
8:30(A)	396.14±196.15	321.12±216.62	1.55±0.53 ^①	1.21±0.30
10:30(B)	438.08±219.19	555.68±403.24	1.57±0.73	1.47±0.83
11:30(C)	430.93±274.55	537.80±333.72	1.68±0.70	1.38±0.51

与 A 时女大学生的唾液总蛋白浓度比较, ① $P < 0.05$

4.4 男女受试者不同时间点流率、心率及 pH 值情况比较见表 4。男女受试者不同时间点唾液流率、心率以及唾液 pH 值情况比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表4 男女受试者不同时间点流率、心率及 pH 值情况比较($\bar{x} \pm s$)

项目	流率(mL/min)		心率(次/分)		pH	
	男	女	男	女	男	女
性别						
时间	17	14	17	14	17	14
8:30(A)	0.35±0.22	0.40±0.24	77.82±11.66	77.86±7.46	7.10±0.34	7.08±0.37
10:30(B)	0.50±0.27	0.42±0.19	71.71±10.92	74.50±9.95	7.13±0.35	7.13±0.31
11:30(C)	0.51±0.30	0.58±0.36	73.71±10.80	73.50±8.36	7.20±0.40	7.17±0.23

5 讨论

生物有各种时间节律, 包括昼夜时间节律、季节时间节律、年度时间节律等, 其中昼夜节律生物钟是机体内的定时体系, 它使机体行为、生理呈现近似 24 小时的节律^[5]。临床研究中, 唾液的流率和内容成分的浓度具有昼夜时间节律^[7-8]、季节时间节律^[9]。然而, 本研究结果显示, 唾液的分泌及其成分在时间上比较, 差异性不大。故从以下两点考虑:

时间点的选取。巳时(9 点到 11 点)为脾经主旺的时辰, 而本实验选取脾经主旺时辰的前后两个时辰(辰时和午时)进行比较, 在实验中, 考虑到咀嚼对唾液的影响, 所以要排除受试者进食早餐或午餐对此产生的影响, 因此, 选取了 8:30、10:30、11:30 三个时间点。然而 8:30 以及 11:30 距离巳时仅半个小时的时间间隔, 由于时间间隔短, 造成三个时间点的唾液分泌及成分差异仅在 2 处有统计学意义, 见表 1, 表 3。

诸多因素影响。鉴于唾液分泌与诸多因素相关, 包括受试者外在的难以控制的因素的问题。据国内外文献^[4、10、11] 研究报道, 吸烟、酒精、咖啡因、饮食、某些身体疾病、运动、年龄等都会影响唾液分泌与成分。此外, 内在心理因素的

影响也是许多学者在研讨的, 在本次研究中受试者在三个时间点测试的心理紧张程度是不一样的, 第一次收集唾液往往会紧张。从而影响实验结果, 除此之外亦有部分大学生是专门从事脾胃研究的, 故对于唾液的收集轻车熟路, 并不会造成心理负担, 对实验结果的影响不大。

鉴于时间原因和受试者的耐受程度等, 本研究设计上没有完整的十二时辰, 缺乏动态观察, 仍需进一步改进。因此, 唾液分泌及成分变化是否具有时间节律性有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 田德华. 子午流注纳支流治疗脾虚湿盛型女性成人腹型肥胖症的临床观察[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [2] 陈治水, 张丽明, 孙九杰, 等. 158 例脾虚型结肠炎患者唾液 PH 值、淀粉酶及钠钾含量分析[J]. 辽宁中医杂志, 1992(10): 4-5.
- [3] 陈德珍, 魏睦新, 顾宇春, 等. 脾、肾阴虚证病人唾液溶菌酶和唾液流速测定及分析[J]. 江苏中医, 1996, 17(11): 42-43.
- [4] Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary α -amylase in humans and methodological considerations[J]. Psychoneuroendocrinology, 2009, 34(4): 469-485.
- [5] 徐祖元. 哺乳动物昼夜节律生物钟研究进展[J]. 生命科学, 2004, 16(2): 104-108.
- [6] 俞光岩. 颌下腺分泌功能的调控[C]// 中华口腔医学学会口腔颌面外科专业委员会. 第三次全国涎腺疾病学术会议论文汇编. 西安: 出版者不详, 2006: 16-19.
- [7] 杜德顺, 赵玉霞, 肖镜琰, 等. 非刺激性混合唾液流率、 Na^+ 、IgA 水平的生理变化分析[J]. 现代口腔医学杂志, 1989, 3(2): 68-70.
- [8] 赵竹陶, 王松灵, 孙涛. 静态和动态唾液流率生理节律观察[J]. 现代口腔医学杂志, 2001, 15(4): 261-263.
- [9] 吴同玉, 李植延, 陈妍, 等. 中医“脾主四时”与唾液免疫球蛋白相关性的研究[J]. 光明中医, 2008, 23(10): 1423-1424.
- [10] 韩延柏. 不同负荷强度运动对唾液溶菌酶的影响[C]// 中国体育科学学会. 第 3 届中国体育博士高层论坛论文集. 大连: 出版者不详, 2010: 143-145.
- [11] 葛林. 生理性唾液研究及对人工唾液的评价[J]. 临床口腔医学杂志 2008, 24(3): 181-184.

(责任编辑: 刘淑婷)