

证的研究

羟基脲所致小鼠“阳虚”及补阳药作用的初步研究

中国人民解放军第二军医大学长海医院中医科 刘福春 李菊仙 丁光霞 朱德增

在中医基础理论研究中,模拟中医临床中的某些证候,制造各种动物模型,是研究工作中的一个重要环节。早在60年代就有人用氢化可的松制造“阳虚”动物模型⁽¹⁾,但是关于“阳虚”动物模型的制造方法仍是个值得探索的问题。我们以前发现“阳虚”动物的虚损表现与核酸代谢,特别是与脱氧核糖核酸(DNA)代谢低下有关⁽²⁾。为此,我们试用影响核酸代谢比较明显的羟基脲制造“阳虚”动物模型,并观察补阳药对其的影响。

分组和给药方法

选体重为22~28克昆明种雄性小白鼠,按用药剂量不同随机分为五组,并设正常组以资对照。将羟基脲(济南制药厂产品)研细粉配成混悬液,其浓度分别为5、10、15、20、30毫克/毫升,每天分别取上述药液0.5毫升/只,用胃管分别喂饲各组动物,经7~15天不等,以出现“阳虚”症状为度。正常对照组喂等量生理盐水。

动物造型研究

1. 动物外观及死亡率:15、10、7.5、5毫克羟基脲各组分别于第7、8、13、15天左右出现体重减轻、弓背踉跄、活动迟缓、体毛枯疏甚至成片状脱毛、尾巴发凉、眼睁不开等症状。各组内动物出现症状时间略有差异,5毫克组有30%动物未出现上述症状,2.5毫克组一直未出现上述症状。而正常对照组体重增加,体毛光滑,反应灵活。

在造型过程中各组动物均有死亡,正常对照组死亡率为6/71只(8.4%),2.5、5、7.5、10、15毫克组死亡率分别为2/30只(6.6%)、5/29只(17.2%)、20/88只(22.7%)、20/52只(38.4%)、16/26只(61.6%),表明死亡率增高是由于羟基脲剂量增大所致。

2. 体重变化:表1示,除2.5毫克组动物外,其

表1 各组动物体重(克)变化情况

组别	鼠数	给药前 均值	给药后 均值	治疗后-治疗前 均值±标准误
正常对照组	65	23.6	26.5	2.90±0.35
2.5毫克组	28	26.3	27.0	0.70±0.64*
5.0毫克组	24	26.0	25.7	-0.30±0.72*
7.5毫克组	68	23.9	21.9	-2.0±0.38*
10毫克组	32	23.7	19.7	-4.0±0.46*
15毫克组	10	23.9	20.0	-3.9±1.02*

* 与正常对照组比较 $P<0.01$

他各给药组在试验后体重均下降,并随着羟基脲剂量增加而体重递减,可见羟基脲是使体重变化的原因。

3. 耐冻试验和冰水游泳试验:当各组动物出现“阳虚”症状后,每次将给药组与对照组动物同时放入-6℃的冰箱中(每1~2只装一小铁笼),计算其被冻僵时间。2.5毫克组无“阳虚”症状,于第15天后参加耐冻试验等各种检测。另将各组出现“阳虚”症状的小白鼠放入4℃冰水中,计算其在冰水中游泳疲劳死亡时间。游泳时小鼠数目不宜过多,给药组与对照组动物同时入水,用秒表计时。实验结果见表2。随着羟

表2 各组动物耐冻及冰水游泳时间的变化情况

组别	耐冻时间(分) 均值±标准误(鼠数)	冰水游泳时间(秒) 均值±标准误(鼠数)
正常对照组	178±9.9(8)	220±15.8(15)
2.5毫克组	196±10.7(9)	
5.0毫克组	165±13.9(14)	164±14.9(10)*
7.5毫克组	123±9.3(12)*	122±9.3(12)*
10毫克组	85±12.5(16)*	

* 与正常对照组比较 $P<0.01$

基脲剂量的增加,实验动物的耐冻时间和冰水游泳时间均缩短,其中7.5毫克和10毫克组动物的耐冻时间与正常对照组比较,差别显著;5毫克和7.5毫克组动物的冰水游泳时间与正常对照组比较,也均有显

著性差异。

4. 外周全血细胞计数: 测定正常对照组和 5、7.5 毫克组造型前后血红蛋白和白细胞计数。结果表明, 造型前后小鼠血红蛋白均无显著性变化, 造型后白细胞计数略有下降, 但无显著性变化 (资料略)。

“阳虚”动物的研究

从上述各给药组动物出现“阳虚”症状及死亡率考虑, 以 7.5 毫克剂量为最合适。我们以此剂量研究“阳虚”动物的客观指标变化, 结果见表 3。

表 3 “阳虚”组各项指标变化情况

指 标	正常对照组	“阳 虚”组
肛 温(°C)	34±0.10(10)	33±0.98(6)
皮 温(°C)	16±0.10(10)	14±0.6(6)**
肾上腺重(毫克)	2.87±0.12(18)	3.10±0.18(10)
脾 重(毫克)	110±3.63(9)	90.3±3.62(5)*
睾丸重(毫克)	90.5±2.92(18)	69.7±2.14(10)**
17羟(毫克/24小时尿)	0.12±0.01(10)	0.06±0.016(5)*
17酮(毫克/24小时尿)	0.20±0.016(10)	0.012±0.005(5)**

注: 表内数字为均值±标准误(鼠数) * 与正常对照组比较 $P<0.01$; ** 与正常对照组比较 $P<0.001$

1. 肛温、皮温变化: 用 7151 型半导体点温度计 (上海医用仪表厂产品) 探头纳入肛内 0.5 厘米, 测肛温 2 分钟; 在 12°C 室温下, 点温度计探头固定于小鼠尾巴中段, 测皮温 3 分钟。表 3 示“阳虚”组动物与正常对照组者比较, 肛温无显著性变化, 但皮温有显著性降低。

2. 肾上腺、脾脏、睾丸重量变化: 动物造型后剖杀, 精细剥离小鼠肾上腺、脾脏、睾丸, 反复洗净后, 滤纸吸干, 湿组织称重。表 3 示, “阳虚”组动物的脾脏和睾丸重量较正常对照组者均有减低, 经统计学处理, 有显著性差异。

3. 17 羟、17 酮的变化: 造型前后用小鼠代谢笼收集 24 小时小便, 按盐酸苯肼法和间二硝基苯法分别测定 17 羟、17 酮的变化。表 3 示, “阳虚”组动物 17 羟、17 酮较正常对照组者有非常显著性下降。

补阳药对“阳虚”动物的影响

补阳药由淫羊藿和肉苁蓉组成。取淫羊藿和肉苁蓉各 50 克合煎, 煎至浓度为 1 克生药/毫升。将昆明种小鼠随机分为三组: 正常对照组每日每只喂生理盐水 0.75 毫升, “阳虚”组每日每只喂羟基豚 7.5 毫克/0.75 毫升, 补阳药组每日每只喂羟基豚 7.5 毫克/

0.25 毫升, 并喂补阳药合剂 0.5 克/0.5 毫升。均于给药 13 天后进行下列实验。

1. 体重变化及死亡率: 表 4 示, 造型后“阳虚”组动物体重下降, 而补阳药组动物体重明显上升。与正常对照组体重相近。补阳药组与阳虚组比较, 其体重变化有非常显著差异。正常对照组小鼠死亡率为 1/20 只, “阳虚”组为 5/23 只, 补阳药组为 2/21 只。补阳药组较“阳虚”组死亡率为低, 但无显著性差异。

2. 耐冻试验: 表 5 示, “阳虚”组动物耐冻时间明显缩短, 而补阳药组动物耐冻时间明显延长, 甚至超过正常对照组。

表 4 补阳药对“阳虚”动物体重(克)的影响

组 别	鼠 数	造型前 均 值	造型后 均 值	造型后-造型前 均差值±标准误
正常对照组	19	27.0	33.5	6.5±0.94
“阳 虚”组	18	28.1	27.0	-1.1±0.74*
补 阳 药 组	19	27.4	32.8	5.4±1.23 [△]

* 与正常对照组比较 $P<0.01$

[△] 与“阳虚”组比较 $P<0.01$

表 5 补阳药对“阳虚”动物耐冻时间
及肝脾 DNA 合成率的影响

组 别	耐冻时间(分) 均值±标准误(鼠数)	肝脾 DNA 合成率 均值±标准误(鼠数)
正常对照组	172.5±15.5(9)	11560±1980(8)
“阳 虚”组	119.5±6.7(10)**	5600±848(8)*
补 阳 药 组	206.0±12.3(10) [△]	9900±1660(9)

注: DNA 合成率单位为 cpm/毫克·DNA/分。* 与正常对照组比较 $P<0.05$; ** 与正常对照组比较 $P<0.01$; [△] 与“阳虚”组比较 $P<0.01$

3. 对肝、脾 DNA 合成率的影响: 取出现“阳虚”症状小鼠, 腹腔注射氚标记胸腺嘧啶核苷 (³H-TdR) 0.3 毫升 (含 6 微居里, 比活性为 24 居里/毫克分子, 上海原子核研究所供应), 1 小时后处死小鼠, 取出肝、脾, 按改良之 Kay 氏法⁽³⁾提取粗制 DNA, 再用 Marmur 氏法⁽⁴⁾纯化 DNA, 以紫外分光光度法测定 DNA 含量, 用 TRI-CARB 460-CD 型液体闪烁计数器测定并计算每毫克 DNA 的每分钟脉冲值。表 5 示, “阳虚”组动物的肝、脾 DNA 合成率比正常对照组者有显著性降低, 而补阳药组与正常对照组值相接近, 无显著性差异。

讨 论

1. 动物“阳虚”症状的客观指标：阳虚的本质是虚寒，其主要临床症状是怕冷、畏寒喜暖、四肢不温或厥逆、小便清长、脉细、舌淡胖等。动物用羟基脲造型后，出现萎靡、蹇缩、活动迟缓，这是一般虚损的表现，耐冻时间、冰水游泳时间降低，反映动物耐力、耐寒力降低，是怕冷、畏寒的客观反应。皮温降低似与“阳虚生外寒”相符合。其他如 17 羟、17 酮、DNA 合成率降低，也是佐证动物“阳虚”的客观指标。

2. 羟基脲的药理作用与“阳虚”：羟基脲是一种治疗肿瘤的药物，临床服用后有乏力、畏寒、面白、纳呆等副作用，其作用机理是抑制核苷酸还原酶，从而抑制 DNA 的合成⁽¹⁾。由于羟基脲抑制核酸代谢，使脂肪、蛋白质代谢发生相应的改变，产生了一系列的虚损症状，同时从实验中可见，给药组与正常对照组的睾丸重量改变差别非常显著，尿中 17 羟、17 酮明显降低，而肾上腺重量变化不大，说明羟基脲并非直接作用于肾上腺，很可能是抑制睾丸细胞 DNA 合成，致使睾丸功能低下，睾丸激素分泌不足而致 17 羟和 17 酮降低，特别是 17 酮的降低尤为明显，因为雄性动物体内 1/4~1/3 的 17 酮是来自睾丸激素。当然，睾丸激素的减少也是一个产生“阳虚”症状不可忽视的因素。羟基脲的用量与出现“阳虚”症状有一定的关系，结果表明，2.5 毫克组由于药物剂量小，除体重外各项指标与正常对照组无显著差别。5 毫克组虽然大部分指标有改变，但仍有少数动物没有出现“阳虚”症状，因此可视为临界状态。而其余各组，从阳虚症状、体重变化、耐冻时间、冰水游泳时间、DNA 合成率等看，药物剂量越大，各项指标改变越明显，因此羟基脲的用量在制造“阳虚”模型时是一个重要问题。实验结果显示每日每只 7.5 毫克为适宜剂量。

3. 羟基脲对血细胞的影响不是致虚的原因：羟基脲对骨髓有一定的抑制作用，但是这种模型是否因此导致血虚呢？我们做了部分小白鼠的血红蛋白和白

细胞计数，尽管中医的血虚不单是血象的改变，但毕竟血象的改变，在目前仍是血虚研究不可少的一个依据。实验结果白细胞稍有降低，5 毫克和 7.5 毫克两组试验前后自身对照差别不显著 ($P>0.05$)，血红蛋白基本没有改变。因此可以说造型动物出现的各种“虚证”表现不是羟基脲对血细胞影响的结果，相反白细胞的减少，提示这种致虚作用是由于羟基脲抑制了有核细胞 DNA 合成，而造成全身的虚损状态，这与阳虚病人病期较长、全身各系统功能均处于一种低水平状态的临床表现是相符合的。

4. 补阳药物的作用机理：本实验结果表明，用羟基脲 7.5 毫克/日/只所形成的“阳虚”动物，其主要的“阳虚”指标如耐冻时间、DNA 合成率降低等均可被淫羊藿、肉苁蓉合剂所纠正，从“以药测证”的角度，反证了造型动物确是属“阳虚”状态。羟基脲的作用环节主要是抑制核苷酸还原酶，而此酶的催化反应，主要是将核苷二磷酸还原为脱氧核苷二磷酸，其结果是脱氧核苷酸增加，此过程仅在 DNA 复制期保持一定水平⁽²⁾。由此可以认为淫羊藿、肉苁蓉合剂中可能含有一种激活核苷酸还原酶的生物活性因子，拮抗了羟基脲对核苷酸还原酶的抑制作用，保证了核苷酸还原成脱氧核苷酸，并促进 TdR 参入 DNA，从而促进 DNA 的生物合成。这可能是淫羊藿、肉苁蓉补肾助阳的主要机理之一。

本工作承蒙我校防护教研室吴德林讲师帮助，严运坤副主任技师、王竹梅技师参加部分技术工作，潘文舟医师进行液闪测定，一并致谢。

参 考 文 献

- (1) 邱安望等：中华内科杂志 (11):13, 1963。
- (2) 张家庆等：中医杂志 (3):64, 1982。
- (3) Kay E. et al: J Am Chem Soc 74:1724, 1952。
- (4) Marmur J: Mol Biol 3:208, 1961。
- (5) Adams RLP, et al: J Biol Chem 242:1314, 1967。
- (6) 哈贝尔斯基著、李宗圻译：核酸生物与功能。119 页，上海科学技术出版社，1981。

验方石麻乳剂治疗烧烫伤

安徽省舒城县张母桥乡卫生院 汪 贯 才

配备和使用方法：取块(管)石灰 1000 克，加开水 3000 毫升浸泡备用。需要时取石灰浸液 100 毫升加麻油适量调拌成乳状为度，用消毒羽毛蘸液涂患处，每日 3~4 次。待结痂后停药，如稍发痒痛者可再涂数天。

本方法治疗烧烫伤以皮肤损害在 I~II 度以内效果最佳，且不需配合应用抗菌素等药物；如伤后时间较长或用其它外用药物而伴有感染者，则需配合应用抗菌素。笔者用治 120 例烧烫伤患者，疗效满意。