

证的研究

形成虚寒证的中枢抑制物研究*

北京医科大学基础医学院中西医结合研究室 梁月华 王传社

内容提要: 本文重点研究虚寒证大鼠中枢抑制物对甲状腺释放激素(TSH)和多巴胺- β -羟化酶(D β H)活性的影响。用虚寒证鼠脑各提取物经腹腔分别注入大鼠后, 取血测定, 证明有一类物质使鼠血清 TSH 含量下降、D β H 活性降低, 该提取物与垂体细胞和鼠血清孵育后也使 TSH 的释放和 D β H 活性降低, 证明虚寒证鼠脑内确实含有某种抑制物参预虚寒证的形成。此外, 用单味中药知母或石膏与知母所制成的虚寒证动物改进模型, 与由知母、石膏、黄柏、龙胆草所制成的原虚寒证动物模型相比较, 它们在临床表现和各项有关指标的检验上, 均相一致。

虚寒证的人和老鼠均表现为交感神经——肾上腺系统机能降低, 代谢功能受抑制^(1,2), 中枢抑制活动占优势⁽³⁾。据推测, 形成虚寒证的重要机制在中枢, 即中枢内可能有某种物质影响或抑制有关神经——内分泌系统机能, 因而产生虚寒证象。本工作用虚寒证大鼠脑进行提取, 以促甲状腺释放激素(TSH)和多巴胺- β -羟化酶(D β H)活性为指标, 探讨有关中枢抑制物质, 并改进虚寒证动物模型。

材料与方法

一、实验动物及分组

健康雌性大鼠, 体重 180~220 克, 随机分为二组: 对照组喂以生理盐水; 给药组分别喂以寒 1 方、寒 2 方及寒 3 方。寒 1 方由知母、石膏、龙胆草、黄柏(1.5:2:1.2:1)制成 100%煎剂; 寒 2 方由知母、石膏(1.5:2)制成 100%煎剂; 寒 3 方为 50%的知母煎剂。各给药组每日喂中药煎液 4 毫升, 一次灌胃, 共用药三周。

二、观察指标和方法

1. 心率和动情周期测定方法: 参阅文献⁽⁴⁾。

2. D β H 活性测定: 参考 Toshiharu Nagatsu⁽⁵⁾方法稍加改进。

3. 虚寒证大鼠的脑内物提取: 用寒 1 方制成虚寒证大鼠。将大鼠砍头后, 立即取脑, 置于 -20℃ 冰箱内保存。全脑去皮层及小脑后, 研磨, 用 0.25 N HCl、2 N 乙酸提取。再用 Sephadex G-100、G-25 层析, 收集后, 每个峰浓缩后置于 -20℃ 保存。

4. 垂体细胞培养: 新鲜雄性大鼠垂体, 用胰蛋白酶消化分散后, 用 199 培养液稀释成每毫升为 5~6 万细胞的混悬液。取以上混悬液 2 ml, 加入脑提取物 200 μ l (OD=0.5~0.7, pH=6~7), 在 37℃ 下孵育 4 小时后离心, 分别测定培养液及细胞内 TSH 含量。

5. TSH 酶免疫荧光测定: 药盒由上海儿科研究所供应, 根据抗原、抗体竞争法⁽⁶⁾进行测定。

实验结果

一、虚寒证动物模型的改进

用上述三个寒药方分别制成虚寒证大鼠模型, 分组测定并观察下列指标的变化。

1. 心率变化: 结果见表 1。寒 1 方组用药后心率逐渐减慢, 给药后第二周、第三周与给药前相比较均有统计学意义 ($P < 0.01$); 寒 2 方和寒 3 方组对大鼠心率的减慢作用与寒 1 方组一致, 给药后第二周、第三周的心率, 与给药前相比, 亦均见明显减慢 ($P < 0.01$)。

2. 动情周期变化: 各组动物于给药前后每日均进行阴道涂片。寒 1 方组 20 只大鼠, 在给药后第二周, 其动情周期平均为 5.2 ± 0.27 日, 与对照组 20 只大鼠的 4.4 ± 0.21 日相比明显延长 ($P < 0.05$)。如表 1 所示, 寒 3 方组大鼠在给药后的第一、二、三周, 其动情周期均值均比给药前延长, 与对照组相比亦均明显延长 ($P < 0.01$); 而寒 2 方组大鼠在给药后第三周, 其动情周期

* 国家自然科学基金资助项目

表 1 各寒药方对大鼠心率和动情周期影响的比较(M±SD)

测定时间	心 率 (次/分)				动情周期 (日)		
	对照组(18)	寒1方组(17)	寒2方组(18)	寒3方组(10)	对照组(20)	寒2方组(14)	寒3方组(10)
给 药 前	472±6.24	479±10.6	456±10.5	480±10.7	4.4±0.19	4.6±0.50	4.5±0.14
给药后一周	468±4.80	476±7.1	460±9.8	471±12.0	4.4±0.16	4.4±0.14	5.3±0.31 [△]
给药后二周	464±6.40	463±11.4*	430±9.4*	456±6.8*	4.3±0.15	4.1±0.23	5.7±0.50 [△]
给药后三周	461±24.1	449±10.1*	421±8.2*	420±17.5*	4.2±0.15	4.8±0.24 [△]	5.0±0.34 [△]

注: 各组后括弧内数字为动物数; * 与给药前相比 $P<0.01$; [△] 与对照组相比 $P<0.01$

也较给药前延长,与对照组相比也有统计学意义($P<0.01$)。说明寒2方和寒3方对延长大鼠动情周期的作用与寒1方者一致,特别是单味知母的寒3方,其延长大鼠动情周期的作用尤为显著。

3. 肾上腺D β H活性变化: 将每只被测大鼠的二个肾上腺同时研磨成1ml溶液,分别测定其D β H活性。测定结果: 对照组16只鼠、寒1方组14只鼠、寒2方组18只鼠和寒3方组9只鼠的D β H活性分别为 6.56 ± 1.36 (M±SD,下同)、 2.95 ± 0.91 、 2.46 ± 0.28 和 2.47 ± 0.53 nmol/2个/h。结果表明: 寒1方、寒2方和寒3方均能使肾上腺D β H活性降低,与对照组相比均有统计学意义($P<0.01$)。说明寒2方和寒3方降低肾上腺D β H活性的效果与寒1方者一致,且略有加强。

4. 血清及垂体内TSH变化: 已证明寒1方可使大鼠耗氧量低下⁽²⁾,代谢功能降低。本实验测定各组大鼠的血清和垂体内TSH含量,其结果见表2。测定结果表明: 寒1方、寒2方和寒3方组的血清TSH含量均降低,其中寒2方和寒3方组的降低尤为明显,与当时的对照二组比较均有统计学意义(均为 $P<0.01$);三个寒药方组的垂体内TSH含量均高于各自的对照组。说明这三个寒药方均有抑制TSH释放的作用。

表 2 各组血清、垂体内TSH含量变化(M±SD)

组 别	血清中 TSH 含量 (μU/ml)	垂体内 TSH 含量 (μU/ml)
对照一组	22.20±4.20(7)	30.75±5.52(7)
寒1方组	18.80±3.82(7)	47.14±8.02(7) [△]
对照二组	16.66±1.80(18)	19.28±1.41(15)
寒2方组	10.06±1.61(20)*	23.24±0.72(11)*
寒3方组	10.98±2.31(10)*	20.09±1.44(13)

注: 括弧内数字是被测动物数;

[△] 与对照一组比较 $P<0.01$;

* 与对照二组比较 $P<0.01$

二、脑内提取物的研究

1. 离体研究:

(1) 脑内各提取物对血清D β H活性的影响: 用200μl脑内各提取物与同一血清孵育后测定D β H活性。原血清内D β H活性为47.46μmol/L/h,加入虚寒证鼠脑提取物后,血清酶下降者有三部分,分别为21.09、36.91、10.54μmol/L/h。最后部分(10.54μmol/L/h)为乙酸提取物用Sephedex G-25分离的第二个峰部分,简称为2-2(G-25)。对照组脑提取物的2-2(G-25)部分也使血清D β H活性降低,数值为21.09μmol/L/h。

(2) 脑内各提取物对垂体细胞TSH释放的影响: 将垂体细胞混悬液2ml与虚寒证鼠脑提取物200μl孵育4小时后,分别测定垂体细胞及培养液内TSH含量。结果表明: 垂体细胞内TSH含量为40μU/2ml,培养液内TSH含量为22μU/2ml,约释放TSH 35.4%。在同一条件下,脑内提取物有二部分使TSH释放减少,分别为30%、27.2%。后者(27.2%)为2-2(G-25)部分。对照组2-2(G-25)部分对TSH的释放影响不大。

2. 整体所究: 将脑内各提取物和生理盐水各2ml分别注入雄性大鼠腹腔后,经5小时、24小时分别取血测定D β H活性及TSH含量。

(1) 脑内提取物对血清D β H活性影响: 以腹腔注射生理盐水的大鼠作对照,注射盐水前大鼠的血清D β H活性为34.2μmol/L/h,注射盐水后第5、24小时分别为79、24μmol/L/h,出现升高和下降的波动。注入脑内各提取物后,只有2-2(G-25)部分使血清D β H活性持续降低,注射前为34.2μmol/L/h,注射后第5、24小时分别为3.4、3.7μmol/L/h。对照组2-2(G-25)部分则不使酶活性降低。

(2) 脑提取物对血清TSH的影响: 对照组注射生理盐水前血清内TSH为14μU/ml,注射后第5小时为16μU/ml。注入鼠脑提取物后,有两部分使血

清 TSH 下降,一为自 $11 \mu\text{U/ml}$ 下降到 $7 \mu\text{U/ml}$, 另一为 2-2(G-25)部分,使 TSH 自 $8 \mu\text{U/ml}$ 下降到零。对照组的 2-2(G-25)部分未能使 TSH 水平降低。

综合以上结果可以看出, 对照组与虚寒证鼠脑提取物均有许多部分影响 TSH 和 D β H 活性, 但其中虚寒证鼠脑提取物 2-2(G-25)部分在离体和整体实验中均能抑制 TSH 释放和降低 D β H 活性, 可以认为该部分内含有中枢性抑制物质。

讨 论

虚寒证的形成是个复杂的机理, 根据已经研究的工作证明, 它既有周缘器官和多个系统机能水平的变化, 也有反应性的变化, 因而考虑虚寒证大鼠中枢内可能有某类抑制物影响中枢机能, 从而改变整体机能状态。本实验对虚寒证大鼠脑内提取物的研究证明, 中枢内确实含有某类物质, 在离体或整体实验中均能抑制 TSH 释放以及 D β H 活性。它可能是虚寒证大鼠代谢功能低下、交感神经—肾上腺系统机能活动降低的中枢因素。至于该物质是一个或是多个物质的综合作用, 尚有待进一步在提取、纯化研究中证实。对照组脑内提取物的不同分离部分在离体实验中也有对 TSH 和 D β H 活性抑制的物质, 但在整体实验研究中抑制作

用不太显著。推测正常鼠脑内该物质含量较少, 故不易测得, 也可能是正常鼠脑内不存在此物; 而虚寒证鼠脑内该物质含量增多, 故能测得, 这可能是用寒凉药后或其他原因在鼠脑内形成了一种新物质。这些均有待于今后工作中进一步研究证实。

虚寒证动物模型已试制多种, 其中以知母、黄柏、石膏和龙胆草组成的复方(寒 1 方)最好。本工作的进一步分析证明, 知母和石膏(寒 2 方)或单味知母(寒 3 方)均可使心率减慢、动情周期延长、肾上腺 D β H 活性降低、垂体 TSH 释放减少, 这些与寒 1 方有同样效果, 故可选用两方之一作为新的虚寒证动物模型用药。由于其药量减少, 有利于进一步研究。

参 考 文 献

- (1) 梁月华等. 中医寒热本质初步研究. 中华医学杂志 1979; 59(12):705.
- (2) 梁月华等. 寒凉药与温热药对交感神经肾上腺及代谢机能的影响. 北京医科大学学报 1987; 19(1):53.
- (3) 梁月华等. 电刺激对寒证、热证动物痛阈及惊厥阈值的影响. 中医杂志 1982; 23(11):68.
- (4) Toshiharu Nagatsu. Photometric assay Dopamine- β -hydroxylase activity in human blood. Clinica chemistry 1972; 18(9):980.
- (5) 陈瑞冠等. 促甲状腺激素酶免疫荧光法的建立及其临床应用. 中国免疫学杂志 1986; 2(3):162.

退翳良方治愈蚕食性角膜溃疡 1 例

安徽省祁门县安凌区医院 邹 交 平

退翳良方是安徽中医学院附属医院刘益群老中医的经验方, 基本药物有: 蝉衣、蛇蜕、青葙子、木贼草、凤凰衣、密蒙花、潼白蒺藜, 对角膜病颇有疗效。笔者于学习期间见刘师治疗一例左眼蚕食性角膜溃疡, 获得满意疗效。特加整理, 公诸同好。

黄××, 男, 54 岁, 于 1987 年 2 月 10 日就诊。左眼剧痛, 伴畏光流泪, 视力减退一年, 诊断为: “左眼蚕食性角膜溃疡”。曾用过环磷酰胺、左旋咪唑、维生素类等药, 角膜溃疡面曾行过冷冻术、割烙术、烙灼烧灼术、角膜新生血管烧灼术等, 局部滴用抗病毒眼药水、1% 环磷酰胺眼液等。共治疗三个月, 病情反复, 缠绵不愈。现患者左眼视力眼前手动, 自觉疼痛畏光流泪。左眼睑无明显红肿, 结膜充血呈淡红色, 角膜中央表面呈呵气样混浊, 角膜鼻侧及上方灰

白色浸润混浊, 周边部有新生血管伸入, 颞侧角膜溃疡面凹陷, 与角膜中央有明显浅沟状灰白色溃疡浸润缘, 2% 荧光素钠染色着色, 前房存在, 右眼睑无红肿, 结膜(一), 角膜透明, 纳差不寐, 全身乏力, 舌淡苔腻, 脉细弦。此黑暗翳障, 气阴两亏, 邪浊稽留。治当退翳明目, 兼益气阴。拟退翳良方加减: 蝉衣 6 克, 蛇蜕 6 克, 木贼草 6 克, 党参 10 克, 黄芪 10 克, 云茯苓 10 克, 枸杞 10 克, 生地 10 克, 桑椹子 10 克, 潼白蒺藜各 10 克, 每日一剂。服十剂后, 左眼视力: 0.02, 疼痛消失, 角膜中央呵气状消失, 周边溃疡愈合, 凹陷消失, 与角膜中央平复, 2% 荧光素钠染色(一)。又服五剂后, 视力同前, 左眼无疼痛, 结膜(一), 角膜呈轻度灰白色混浊, 2% 荧光素钠(一), 基本治愈。