

论 坛

微观辨证学与 21 世纪中医学的发展

郭 振 球*

主题词 中医学/发展趋势 微观辨证

微观辨证学是本世纪 50 年代从中国传统医药学中孕育出来的新学科。它应用现代新的科学技术将传统经典辨证提高到细胞、亚细胞乃至分子水平,以阐明疾病证候实质及其传变规律^[1]。近 20 年来,微观辨证学获得了长足的进步。随着现代科学的迅猛发展,微观辨证学必将迎接新的挑战。

1 微观辨证学的概念与方法

根据细胞生物学认为细胞是生物体结构和功能的基本单位的观点,微观辨证学认为,人体阴阳、寒热、虚实证不同层次离不开细胞生命代谢,而细胞生命运动的强弱,很大程度上取决于细胞内各种化学物质的质与量。微观辨证首先应用显微分光光度技术,即通过观察微量化学反应来确定和测量不同证候病人细胞内各种微量和超量化学物质,进而了解其代谢特点及生理病理规律。

随着微观辨证学与分子生物学的结合,微观辨证已从细胞水平进入到分子、基因水平,即从形态、功能、蛋白质水平进行测定观察,发展到基因表达和基因调控层次的观察。另外,随着微观辨证与分子生物学的发展,各种细胞因子、炎症因子、血管活性因子、附着因子和细胞外基质成分的作用日益受到重视。微观辨证不仅在实验研究中需要借助于分子生物学检验技术来检验各种因子,观察其受体及配体彼此间的联系以及宿主本身的变化,同时也需要检测血液及体液中某些细胞因子及可溶性多肽以助诊断。并进一步从基因水平来了解某种成分是否存在或其数量有无变化以作为辨证的佐证。而原位杂交或原位聚合酶链反应技术,则可以更直接地从组织样品中得到信息,以协助更为明确地阐明病机。当然,强调从基因水平探讨疾病证候的重要性,绝不意味着可以忽视传统诊病与辨证方法。相反,只有把分子生物学新技术与传统辨证相结合,才能客观地反映疾病证候的实质和传变规律^[2]。

2 微观辨证学的临床与实践

2.1 微观舌象学:察舌辨证集中反映了中医诊法的特色。舌与脏腑的联系密切,人体病变的寒热、虚实都可反映于舌质与舌苔。采用细胞分光光度法,首次对正常人常见薄白、白厚、薄黄、黄厚、光剥、花剥等病理舌苔进行细胞化学变化的定量分析。研究发现,正常人舌上皮细胞有较旺盛的氧化和合成代谢,尤其以戊糖旁路活跃、酶解和溶解活性较强为显著特点。各种病理舌在细胞化学变化上各有其显著的特点:病理白薄苔乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、核糖核酸(RNA)、巯基(-SH)等各项指标低于正常;白厚苔的特点是葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)、MDH、 α -醋酸萘酯酶(ANAE)活性增强, RNA 和 -SH 含量增高而酸性磷酸酶(ACP)活性相对下降;薄黄苔以 LDH、MDH、G-6-PDH、RNA、-SH 及 ACP 均高于正常为特点;黄厚苔表现为 LDH、G-6-PDH、MDH、ANAE、RNA、-SH 显著增高而 ACP 无明显变化;花剥与光剥的共同的特点是 MDH、G-6-PDH、ANAE 活性减弱、RNA、-SH 含量降低而 LDH、ACP 活性出现病理性亢进,其中光剥苔变化更为明显。细胞化学性质的变化可能是不同病理舌苔形成的主要原因。细胞化学各有关指标对正常和常见病理舌苔的诊断在敏感性、特异性、准确性和可用度方面均具有满意的效果^[3~4]。

2.2 气血微观辨证

2.2.1 气血辨证与免疫系统的关系:采用红细胞膜 C₃b 受体花环(RBC-C₃b)和红细胞免疫物花环(RBC-IC)、T 细胞亚群、ANAE 测定方法。从肝纤维化气虚血瘀证(41 例)、气滞血瘀证(43 例)与正常人(20 例)比较分析看,免疫系统中的淋巴细胞阳性率均有显著性差异。T 细胞亚群 CD₂、CD₄、CD₄/CD₈ 的排列顺序为:气虚血瘀→气滞血瘀→正常组;CD₈ 的排列顺序为:正常组→气滞血瘀→气虚血瘀。两两比较,除 CD₂ 及 CD₈ 在气虚血瘀和气滞血瘀之间差异无显著性外,其余均有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明患者存在着细胞免疫功能的失调。这些免疫指标的改变又与反映胶原合成状态指标的羟脯氨酸(HYP)、Ⅲ型胶原

* 湖南中医学院中医诊断研究所,湖南省长沙市韶山路 119 号(410007)

收稿日期:1999-04-14;修回日期:1999-07-07

前肽(PⅢP)有高度的相关性。说明肝纤维化的形成与机体细胞免疫存在着密切的关系。同时气虚血瘀与气滞血瘀组肝纤维化患者红细胞膜 C₃b 受体活性明显低于正常组。C₃b 与胶原代谢之 HYP 呈负相关。与 CD₂、CD₄、CD₈ 呈正相关,从而促使肝纤维化的形成^[5]。

2.2.2 气血辨证与细胞化学含量关系:运用细胞分光技术,对单个细胞内 ANAE、LDH、碱性磷酸酶(AKP)、ACP、单胺氧化酶(MAO)染色检测,结果提示气虚血瘀证单核细胞 AKP 明显下降;气滞血瘀证单核细胞 ANAE、ACP、红细胞 LDH 和嗜中性粒细胞 AKP 较正常组偏低,但却较气虚组为高,单核细胞 ACP 高于气虚组和正常组。利用这些差异,可将气虚血瘀、气滞血瘀及正常组区别开来^[6]。

2.2.3 气血辨证与脑缺血过氧化损伤的关系:风袭于脑,气结痰凝,瘀阻脑络,为脑梗塞的主要病机,缺血后氧供不足,阻碍氧化磷酸化,ATP 生成减少,影响离子和神经介质通过细胞膜及蛋白的生物合成,同时也破坏钙离子内流及其在细胞内的正常分布。失控的钙离子进入神经原及线粒体,激活具有破坏性的脂肪酶、蛋白酶和核酸内切酶,在钙触发的瀑布反应中,释放具有高度活性的自由基系列,加重缺血性损害。临床发现,凡瘀阻脉络证患者,均有气虚不荣的临床表现,痰凝血滞的兼症,痰、瘀、虚出现于初、中、后不同病期之间,其与自由基——脂质过氧化损害密切相关,痰、虚证之间脂质过氧化损伤和抗脂质过氧化损伤功能有显著差别,表现在各证丙二醛(MDA)均显著增高,而且排成虚证>瘀证>痰证的顺序,差异均有显著性($P<0.01$)。痰证组红细胞过氧化物歧化酶(RBC-SOD)与正常人之间差异无显著性,但瘀证与虚证组则显著递减,且均显著低于痰证组($P<0.01$)。这提示脂质过氧化损伤在脑缺血中以虚证最重,瘀证次之,痰证尚轻。说明瘀阻脑络乃气虚不能运行营血的缘故^[7]。

2.3 五脏病微观辨证

2.3.1 冠状动脉粥样硬化性心脏病:由于“心主血脉”,百骸贯通,故其临床以痰浊、瘀血、气虚 3 证为多见。由痰浊内蕴→瘀血阻络→心气亏虚而成。以 6-酮-前列腺素(6-Keto-PGF_{1α})、血栓素 B₂(TXB₂)为指标发现,痰、瘀、虚证,均与二者平衡失调有关,都表现为 PGF_{1α} 的降低和 TXB₂ 的升高,其中又以瘀血阻络最重,痰浊内蕴最轻,而心气虚介于轻重二证之间。PGF_{1α} 与 TXB₂ 之间的平衡,是内皮血液相容性或内皮细胞与血小板功能平衡的典型反映。当血管内皮细胞损伤,则 PGF_{1α} 合成减少,PGF_{1α} 与 TXB₂ 平衡紊乱^[1,2]。

2.3.2 肝脏病微观辨证学研究:肝纤维化是多种肝病转变成肝硬化及肝癌的中间环节。肝脏气血调节发生紊乱以后,在各种病因如病毒、寄生虫和化学物质等特异性抗原持续侵袭下,肝脏会呈现慢性炎症反应,机体自身肝细胞成分发生结构改变,诱导淋巴细胞产生多种化学介质,即纤维性调节因子。纤维性调节因子是淋巴因子的一种,又可分为原合成促进因子、纤维母细胞趋化因子等亚类。它们作用于纤维母细胞,通过其代谢的影响,完成对胶原合成的调节,导致肝脏胶原沉积,肝纤维化形成。

对肝纤维化气虚血瘀证(41 例)治用益气活血的抗纤 I 方,气滞血瘀证(43 例)治用行滞化瘀的抗纤 II 方,并以西药常规治疗(20 例)作对照,治疗前抗纤 I、II 方组及常规组 RBC-C₃b 活性下降,RBC-IC 增多;治疗后(1 个月)3 组 RBC-C₃b 活性均上升,RBC-IC 减少,尤以抗纤 I、II 方组显著($P<0.01$),抗纤 I 方组 RBC-C₃b 活性显著高于常规治疗组($P<0.01$),余差异无显著性。治疗前 3 组病人淋巴细胞 CD₂、CD₄ 及 CD₄/CD₈ 均不同程度偏低,CD₈ 偏高,治疗后 3 组 T 淋巴细胞比例失调状况得到一定改善,尤以抗纤组为优,抗纤 I、II 方组治疗前后 CD₂、CD₄ 及 CD₄/CD₈ 差异均有显著性($P<0.01$),与常规组比较差异有显著性意义($P<0.01$),抗纤 I 方组的 CD₈ 治疗前后差异亦有显著性($P<0.01$)。治疗前 3 组胶原代谢状态均偏高,治疗后抗纤 I、II 方组 HYP 和 PⅢP 均明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),常规治疗组变化无显著性意义($P>0.05$)。由于肝纤维化气虚血瘀和气滞血瘀患者各有其不同程度的免疫功能失调和胶原状态异常,经抗纤 I、II 方治疗后在肝纤维化得到抑制的同时,红细胞免疫及 T 细胞亚群功能亦得到明显改善,表明益气活血抗纤和行滞化瘀抗纤的机理与其调节免疫功能和胶原代谢有关^[1]。

近年来我们对抗纤 I、II 方对 HepG₂ 人肝癌细胞 P₅₃ 蛋白表达的影响和诱导细胞凋亡的机理进行研究,采用 LSAB 法,取对生长期细胞按 1×10^6 接种于培养瓶中,6 小时后换液。抗纤 II 方(0.5mg/ml、5.0mg/ml),抗纤 I 方(0.1mg/ml、0.5mg/ml),另设 5-Fu (7.5μg/ml)和完全培养液作对照,发现未给药处理的 HepG₂ 细胞株很少有阳性染色,而且染色部位大多分布在细胞浆内。当细胞株用抗纤 I、II 方及 5-Fu 处理 48 小时后,可出现从弱到强比较致密的细胞核染色,且抗纤 I、II 方高浓度 P₅₃ 蛋白表达诱导作用强于低浓度,而抗纤 II 方低浓度 P₅₃ 蛋白表达诱导作用强于高浓度,将近 50% 的细胞出现 P₅₃ 蛋白表达。这表明抗纤

I、II方均能诱导HepG₂P₅₃蛋白表达,且随浓度增高而增强,值得注意的是抗纤II方低浓度即可诱导P₅₃蛋白高表达,体现了诱导HepG₂细胞最强,可能成为中药抗癌新药^[8]。

2.3.3 慢性萎缩性胃炎(CAG)寒热辨证与舌苔脱落细胞结构变化的关系:临床观察56例,其中脾胃虚寒证26例,脾胃郁热证30例。CAG寒证与热证患者舌苔脱落细胞,寒证患者角化细胞水平明显低于热证组($P<0.01$),而角化前细胞水平则明显高于热证组($P<0.01$),但两者全角化和异常角化细胞无明显差异($P<0.05$)。两组中出现异常化细胞,在胃癌病例中的舌苔脱落细胞中也找到小角化上皮细胞,因此CAG是重要的癌前病变,这点可供参考,不作定论。电镜观察5例热证,共50余个细胞,发现热证患者,舌苔脱落细胞中角化前细胞张力微丝增多,成束,如乱发丝状,细胞连接消失,细胞均已破坏,胞核出现颗粒粗大的异染质,而且有大量杆菌存在,寒证舌苔脱落细胞中有角化前细胞连接,还隐约可见细胞器,胞核少见异染质,这表明寒证舌苔患者不完全角化细胞向完全角化细胞过渡的速度相对减慢。此外,热证角化前细胞张力微丝明显增多,如乱发丝状,而且细胞器均已提前消失,提示细胞角化异常,发生了纤维变性,肿瘤细胞中经常出现此类变化^[9]。

2.3.4 肺气虚证与痰湿壅肺证,患者舌苔脱落细胞、痰液检测和细胞化学变化的关系:肺寒气虚证,G-6-PDH、MDH、LDH、ANAE、ACP活性低下,RNA、-SH亦低于正常人,表明其细胞内氧化低落,核酸和蛋白质合成代谢障碍,加之溶酶体亦处于低下状态,细胞生长分化和退化溶解处于低水平的相对平衡,是为肺寒气虚的病机所在。而痰湿壅肺者的特点是:G-6-PDH、MDH、LDH、ANAE活性增强,RNA、-SH含量较高,尤其是G-6-PDH活性显著增强,而ACP活性相对低下,说明其合成和氧化代谢相对增强而分解退化相对缓慢。因此,生长分化较迅速,而角化脱落过程相对延缓,是为痰湿壅肺患者多痰、舌苔白厚腻形成的细胞化学机理^[2]。

2.3.5 慢性肾炎肾阴虚与肾阳虚患者血淋巴细胞及单核细胞的ANAE定性定量分析:结果正常淋巴细胞阳性率为 $65.5\pm 16.8\%$,其中点状颗粒型占 $53.6\pm 6.7\%$,弥散颗粒型占 $11.9\pm 3.4\%$ 。阳虚组依次为 $39.7\pm 7.4\%$ 、 $31.2\pm 5.8\%$ 和 $8.5\pm 2.7\%$ 及 41.8 ± 2.66 ;肾阴虚组依次为 $47.8\pm 7.6\%$ 、 42.4 ± 6.3 、 $5.4\pm 2.2\%$ 和 51.26 ± 2.59 。经统计学处理,肾炎组与正常人、肾阴虚组与肾阳虚组之间均有不同程度的显著

异常。ANAE阳性是T淋巴细胞的一个特异性标志。慢性肾炎肾阴虚、肾阳虚患者T细胞总数、TC及TM的百分率较正常人都有不同程度的降低,说明其细胞免疫状态低下,特别是存在免疫调节的异常,似可作为肾阴虚和肾阳虚的佐证^[10]。

3 微观辨证学的发展方兴未艾

微观辨证学的崛起,带动了病机学、证治学和药理学的研究深化,形成一个以微观辨证学为主体的微观化传统医学学科群。例如老年高血压阴虚阳亢证,从辨证论治来看,应当育阴潜阳、平肝熄风,用潜息宁(天母降压片)治疗。治疗前患者血浆肾素、血栓素B₂及6-酮-前列腺素均升高,经用潜息宁治疗后,在降压的同时,上述指标均随之而显著降低,对肾动脉狭窄高血压大鼠的实验性治疗,亦获得与临床相一致的效果^[1]。

综上所述,微观辨证学运用现代细胞生物学、分子生物学等新技术,将传统辨证方法深入到分子水平的阐明人体气血、脏腑、经络的物质结构、代谢和功能,及其病因、病机、治法方药的特点,目前正向着基因调控、基因表达,基因诊断、修复、治疗与预防方面发展。由于微观辨证学研究的深化,其它如病机、诊法、治则以及方药纵横交错的联合和跨学科研究将成为微观辨证学科群扩展的方向,产生了一系列的以微观辨证学为前驱的学科群。一门比较成熟的学科,一般应有一两个核心的学科,学科群的发展表现为其核心学科向外辐射,不断阔大研究范围,散发出新兴的分枝学科。今后应取最新的高科技方法,从整体和互相联系中去推动微观辨证学发展。

参考文献

- 1 郭振球主编.世界传统医学诊断学·微观辨证学.北京:科学出版社,1998:591.
- 2 郭振球.微观辨证学研究新进展.国内外中医药科技进展.上海:上海科学技术文献出版社,1997:6.
- 3 吴正治,郭振球,谢锦玉.胃脘痛脾虚者舌苔上皮的细胞化学研究.中医杂志,1992,33(2):41.
- 4 吴正治,周小青,郭振球,等.虚寒薄白苔的细胞化学初步研究.中国中西医结合杂志,1993,13(11):649.
- 5 郭振球,杨运高.血吸虫病肝纤维化气血辨证与免疫系统的关系.南京中医药大学学报,1996,12(3):12.
- 6 郭振球.抗纤灵对血吸虫病肝纤维化细胞化学的影响.湖南中医杂志,1995,11(5):6.
- 7 郭振球.缺血性脑血管病微观辨证及其防治.美国中医药研究杂志,1998,1(2):73.
- 8 郭振球.略谈微观辨证学.江苏中医,1999,20(5):3.
- 9 李颖,郭振球.慢性萎缩性胃炎寒热辨证与舌苔脱落细胞结构变化的关系.中西医结合杂志,1989,9(6):343.
- 10 郭振球,吴正治.慢性肾炎患者外周血细胞化学ANAE变化与中医辨证关系的研究.中国中西医结合杂志,1990,10(7):399.