

基础理论研究

模拟中医气虚动物模型的研究

辽宁中医学院生化教研室 周梦圣 李秋莲

内容提要:作者根据中医经典理论、临床所见和历代医家的论述,控制饲料量(100克/公斤体重/日)制成模拟气虚小鼠模型,基本与中医气虚证一致。以四君子汤治疗气虚小鼠模型具有明显促进肝脏和胸腺恢复功能作用,对正常小鼠则无效。

模拟复制中医气虚动物模型是运用现代科学方法研究中医“气”的必要手段,也是探索“气”的实质和阐明中草药作用机理的重要途径。目前国内外气虚动物模型很少,虽有人做了一定的工作,但其资料根据、控制饲料量、动物虚损程度以及症候出现时间等问题未作深入交待。为了验证其可靠性,我们复制了小白鼠模拟气虚的模型,对以上问题作了较深入的探讨和研究。

材料和方法

一、模拟气虚小鼠的选择和处理

选择同一品系的雄性健康小白鼠25只,体重16~20克(日龄在30天左右)。编号称重,随机分成五组,每组5只,单笼饲养,饲料为固定配方的小白鼠精饲料。每组喂食的饲料量依次为250、150、100、50和30克/公斤体重/日。每只每日另辅食白菜2克。每天上午称重添食,清理残留食物和粪便,观察并记录小鼠一般状态及症候出现的变化。至实验第21天,将各组动物同时做耐寒试验,于实验第22天做游泳试验后,将动物全部处死,取出大部分脏器称重。

二、观察四君子汤疗效的小鼠选择和处理

选择与上述实验条件相同的雄性小白鼠120只,分成三批进行实验,每批分为实验组与对照组二个组。

第一批实验:实验组和对照组各15只鼠。每日喂以控制量饲料(100克/公斤体重,下同)者为实验组(造模动物组);每日喂以足量饲料者为对照组(正常动物组)。

第二批实验:实验组和对照组各30只鼠,两组均每日分别喂以控制量饲料7天,先造成模拟中医气虚动物模型。第8天后,两组均恢复给予足量饲料,每日灌服四君子汤0.5毫升者为实验组(造模动物给药

组);每日灌服同容积水者为对照组(造模动物对照组)。

第三批实验:实验组和对照组各15只鼠,两组均每日分别喂以足量饲料,每日灌服四君子汤0.5毫升者为实验组(正常动物给药组),每日灌服同容积水者为对照组(正常动物对照组)。

第一批和第三批小鼠于实验第8天取尾血涂片,第二批小鼠于实验第15天取尾血涂片,涂片后即将动物处死,分别取出其胸腺和肝脏称重,并测定其核酸含量。

三、四君子汤的制备和测定方法

将人参、白术、茯苓、炙甘草各50克,加水1000毫升,常规煎煮成100%水煎剂,冷藏备用。

血涂片用酯酶标记法染色,油镜下计数200个淋巴细胞,计算T淋巴细胞在总淋巴细胞中所占的百分比。核酸测定采用地衣酚和二苯胺法。

实验结果

一、模拟气虚小鼠的实验结果

1. 进食情况:进食量为每日250克/公斤体重组的动物,每日剩余少许饲料;进食量为每日150克/公斤体重组的动物,有时剩少许;其他各组动物,每日饲料全部吃完。

2. 生存日期:进食量为每日30克/公斤体重组的动物,在实验第9天死亡3只,第15天全部死亡;其他各组动物,在实验第21天以前无一死亡。

3. 体重变化:进食量为每日250克/公斤体重组的动物,在实验开始后3天内体重稍下降,而后逐日上升,至第22天平均体重比实验前增加9.8克;进食量为每日150克/公斤体重组的动物,3天内体重有所下降,此后逐渐恢复,至第10天超过实验前水平,第

22天平均体重比实验前增加2.8克;进食量为每日100克/公斤体重组的动物,7天内体重逐日下降,至第8天开始上升。第12天恢复到第3天水平,此后趋于平稳状态(波动在1克上下,下同);进食量为每日50克/公斤体重组的动物,体重在9天内逐日下降,下降至比实验前少6克左右,此后趋于平稳状态;进食量为每日30克/公斤体重组的动物,体重逐日下降,直至死亡。

4. 一般状态:进食量为每日250克和150克/公斤体重组小鼠,从群居生活到个体生活的开始2天,活跃程度稍有下降,但2天后就恢复正常,皮毛始终光滑、润泽、温暖,日渐长大,动作灵活,尾巴呈粉红色,摆动自如,每日粪便约1.5克左右。进食量为每日100克/公斤体重组动物,在实验开始的1~2天内精神不振,以后异常活跃,急切寻食,第7天后比较安静,第15天后精神不振。毛枯槁、竖立、脱落,尾绀、稍凉、角化。进食量为每日50克/公斤体重组动物与以上每日进食100克/公斤体重组动物相似,但症状的出现较后一组为早。进食量为每日30克/公斤体重组动物,在实验的第1~2天即见精神萎靡、懒动,接着出现鼠尾发黄,皮毛无光泽、竖立,缩肩拱背,行动迟缓,匍匐爬行。实验第9天后逐日死亡。

5. 耐寒试验:实验第21天进行耐寒试验。在这以前,进食量每日30克/公斤体重组动物已全部死亡。将另四组动物共置于一4℃环境中1.5小时,每日进食50克/公斤体重组动物,有2只死亡,3只处于濒死状态,经20℃保温2小时恢复;每日进食100克/公斤体重组动物,呈寒战状,缩作一团,置室温中很快恢

复;每日进食250克、150克/公斤体重组动物均无异常反应。

6. 游泳试验:实验第22天,在4℃水中进行游泳试验,测定小鼠体力强弱。进食量每日250、150、100、50克/公斤体重组动物,其开始泳动至下沉于水时间依次缩短,分别为 720 ± 20 、 609 ± 58 、 490 ± 25 、 351 ± 72 秒。

表1 各组小鼠主要脏器的平均重量
(毫克)的比较

主要脏器	每日每公斤体重进食量			
	250克组	150克组	100克组	50克组
心	140	130	127	120
肝	1080	870	723	700
脾	105	58	50	46
肺	290	193	200	190
肾及肾上腺	388	273	233	120
胸腺	90	40	27	20
甲状腺	220	130	126	140
睾丸	210	165	170	110
腹腔脂肪	650	310	14	—

7. 主要脏器的平均重量:进行游泳试验后,全部动物立即取出主要脏器称重,发现各脏器的萎缩程度与控制进食饲料量的递减成正比关系(表1)。如以脏器重量系数(脏器克数/100克体重)分析,发现小鼠胸腺、肾及肾上腺的重量系数随动物进食饲料量的递减而依次下降,特别是胸腺重量系数的下降尤为明显。

二、四君子汤对模拟“气虚”模型动物的影响(表2)

表2 四君子汤对模拟“气虚”模型动物的各项指标的影响(均值±标准误)

项 目	第一批实验		第二批实验		第三批实验	
	正常动物组 (对照组 n=15)	造模动物组 (实验组 n=15)	造模动物对照组 (对照组 n=30)	造模动物给药组 (实验组 n=30)	正常动物对照组 (对照组 n=15)	正常动物给药组 (实验组 n=15)
实验前体重(g)	18.3±0.3	18.4±0.3	18.2±0.1	18.2±0.1	18.0±0.2	18.0±0.2
处死前体重(g)	20.1±0.4	15.5±0.4***	17.5±0.3	17.5±0.2	19.5±0.3	19.7±0.3
胸腺重(mg)	56±2.0	7±0.3***	12.6±1.1	16.1±2.5	43±4.0	46±5.0
胸腺重量系数	0.26±0.03	0.05±0.002***	0.07±0.01	0.09±0.02	0.22±0.02	0.22±0.02
肝脏重(g)	1.09±0.04	0.75±0.03***	0.97±0.03	1.06±0.02*	1.02±0.02	1.04±0.03
肝脏重量系数	5.38±0.11	4.62±0.09***	5.10±0.11	5.67±0.11***	5.23±0.08	5.32±0.07
胸腺RNA(g%)	1.60±0.05	0.66±0.02***	1.04±0.02	1.22±0.06**	1.54±0.05	1.59±0.06
胸腺DNA(g%)	4.42±0.14	1.80±0.04***	2.85±0.05	3.31±0.11***	4.15±0.15	4.23±0.16
胸腺RNA/DNA	0.36±0.04	0.37±0.01	0.37±0.03	0.37±0.07	0.37±0.01	0.38±0.01
肝脏RNA(g%)	1.43±0.04	0.97±0.04***	1.32±0.10	1.30±0.09	1.44±0.02	1.46±0.01
肝脏DNA(g%)	0.49±0.02	0.72±0.03***	0.52±0.04	0.49±0.03	0.54±0.04	0.54±0.01
肝脏RNA/DNA	3.00±0.17	1.37±0.19***	2.55±0.15	2.74±0.19	2.66±0.07	2.70±0.06
T细胞(%)	74±2.07	47±3.61***	59±0.91	68±0.91***	67±1.81	65±2.07

与同批对照组动物比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

1. 对体重、胸腺重和肝脏重量的影响: 如表2所示, 进食控制量饲料的造模组小鼠与进食足量饲料的正常组小鼠相比较, 造模小鼠的体重、胸腺重和肝重均见非常显著下降 (均为 $P < 0.001$), 其中胸腺重和肝重的下降幅度比体重的下降幅度更为显著。造模小鼠的胸腺重量系数和肝脏重量系数也相应非常显著下降 (均为 $P < 0.001$)。四君子汤对造模小鼠的胸腺重和肝重均有促进恢复的作用, 对肝重的恢复较为显著, 与给水对照组比较, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2. 对胸腺、肝脏的核酸含量和T淋巴细胞(%)的影响: 如表2所示, 与正常小鼠比较, 造模小鼠胸腺和肝脏中的RNA含量均有非常明显下降 (均为 $P < 0.001$); DNA含量在胸腺中明显下降 ($P < 0.001$), 在肝脏中则明显升高 ($P < 0.001$)。由于造模动物组胸腺中RNA和DNA含量均显著下降, 故其胸腺RNA/DNA比值与正常动物对照组比较无显著差异。造模动物组肝脏中DNA含量升高, RNA含量下降, 故其肝脏RNA/DNA比值与正常动物对照组比较仍有非常显著性差异 ($P < 0.001$)。造模动物组的T淋巴细胞(%)较正常动物组明显降低, 经统计学处理两组有非常显著性差异 ($P < 0.001$)。四君子汤对造模小鼠胸腺RNA、DNA含量和T淋巴细胞(%)均有显著的提高作用 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$); 对造模小鼠肝中RNA和DNA含量则无明显改变。四君子汤对正常小鼠的体重、胸腺重、肝重、胸腺和肝脏的核酸含量以及T淋巴细胞数等均无明显影响。

讨 论

目前国内有人提出模拟气虚动物模型可用寒冷刺激、强迫运动、多次放血、大黄泄泻、减少食量等方法制成。气的含义广泛, 其来源、生成、分布和功能不同, 以及气与血、神、津液等的密切关系, 以上诸法均不失为复制气虚证动物模型的可循之径, 而其中控制饲料的方法最为简便易行。正如《灵枢·玉版篇》说: “人之所受气者, 谷也”; 《灵枢·五味篇》说: “谷不入半日则气衰, 一日则气少矣”。可见用控制饲料即减少食量来复制气虚动物模型是符合中医理论的。

我们的实验结果证明: 减少食量到一定程度后, 经过一定时间就会出现体重下降、精神萎靡、皮毛枯槁易脱落、尾巴发黄无光泽、四肢无力、耐寒能力下降、游泳时间缩短等虚弱症状。经解剖各脏器均呈明显萎缩, 尤以胸腺、脾、肝、肾及肾上腺等为甚。但以脏器重/体重的比值计算, 控制饲料时间愈长, 各脏器比值反而有上升趋势, 这说明控制饲料时间较长时,

动物的体脂减少量比脏器实质的萎缩更甚。其中唯有胸腺, 随着控制饲料时间的延长, 其比值仍持续明显下降, 可见胸腺对食量减少是非常敏感的, 并有明显的相关性。胸腺是机体的免疫中枢器官, 它担负着T淋巴细胞的发育、成熟、分化等作用, 与机体免疫功能密切相关。大量临床资料证明, 气虚患者绝大部分均有免疫功能低下现象。肝脏是人体内最重要的代谢器官, 它几乎参与体内的一切代谢过程, 是物质代谢中枢。肝细胞萎缩首先是肝糖原的大量耗竭, 致使萎缩肝细胞的单位重量、DNA含量反而明显升高, 从而影响各种代谢功能, 这可能就是导致气虚的本质。

我们的实验结果还表明: 中医补气经典方——四君子汤, 对造模动物萎缩的胸腺和肝脏均有促进恢复的作用; 实验组的胸腺DNA和RNA含量均比对照组显著增加, 外周血T淋巴细胞也显著增加。这些均可说明在四君子汤影响下增殖胸腺细胞作用显著加强。肝脏的核酸含量在以上两组间无明显差异, 但肝重却增长显著。这很可能是恢复已耗竭的肝糖原贮存。已知肝糖原能保护肝细胞免受损害, 并对维持微粒体酶的活性和肝细胞其他酶活性有着重要意义。可见补气作用是促进了胸腺免疫功能和肝脏的代谢功能。目前对四君子汤促进胸腺免疫功能和肝脏的代谢功能的机理, 虽然尚难肯定, 但根据本实验给药和给水两组摄食量相同, 可以初步认为其机理并非系由于四君子汤促进了小鼠的食欲所致。我们的实验还证明, 四君子汤对正常小鼠作用并不显著, 这完全符合中医“衰者补之, 损者益之”的原则。

根据本文的实验结果, 我们认为用控制饲料量来复制模拟气虚动物模型是可行的。饲料量以控制在100克/公斤体重/日为宜。

《中医杂志》英文版征稿启事

为促进中医药走向世界, 满足国外读者的需求, 《中医杂志》英文版将增加科普栏目, 特征求有关针灸、按摩、气功、民间疗法、中医学史、中医学与哲学、中医心理学、养生学等方面的科普性稿件。要求注重传统性、知识性、实用性及可读性, 文字浅显易懂, 字数限5千字以内。来稿如被选用, 3个月内通知作者, 未接到本刊通知者稿件可自行处理, 不退稿。来稿请寄: 北京市东直门内北新仓18号《中医杂志》英文版编辑部, 邮政编码: 100700。