

实验研究

马属动物驴“脾气虚”证的实验研究

中国中医研究院基础理论研究所 王淑兰 王安民 杨畔农

在“证”的实验研究中,实验动物的选择、怎样接近于人体,实验方法怎样接近于中医研究,一直是中医药科研界共同关心的问题。对脾虚证候的研究,一般采用大鼠造模,但对这种造模动物的临床表现是否为脾气虚证多有争议。有的学者曾提出借助中兽医的优势,利用大型动物制做中医“证”的模型设想。我所脾虚证候发生机理课题组,于1987年至1988年初,在北京农业大学中兽医系于船教授的热情指导下,以驴为造模动物,先后进行了两批脾气虚证的实验研究,并以加味四君子汤进行治疗反证。现将实验结果报告如下。

材料和方法

一、实验动物和分组

实验动物为马属动物驴,雄性,内蒙古种,年龄2~4岁,其中2.5~3.5岁占75%。实验分四组。

1. 正常对照组(简称正常组):正常饲养,隔日用温开水2600毫升灌胃,连续6周。

2. 脾虚造模组(简称造模组):造模中药由厚朴、枳实、大黄,依次按3:3:2比例制成散剂,每次剂量为1.5克/公斤体重,用开水800毫升浸泡10分钟后,稀释至2600毫升,隔日灌胃一次。在每次灌胃的当日禁食,次日足量喂饲。连续6周。本组动物于造模成功后分下列两组分别观察恢复情况。

3. 中药治疗恢复组(简称中药治疗组):动物造模成功后,恢复正常饲养,隔日用中药加味四君子汤灌胃一次。加味四君子汤用炙黄芪、党参、炒白术、茯苓、炙甘草,依次按2:2:2:2:1比例制成散剂,每次剂量为1.5克/公斤体重,水煎30分钟,稀释至2600毫升,隔日灌胃一次,延续6周。

4. 自然恢复组:动物造模成功后,恢复正常饲养,隔日用温开水2600毫升灌胃一次,连续6周。

二、脾气虚证辨证评分标准

根据中兽医对脾气虚的辨证标准,确定以食欲不振(食量减少)、消瘦(肚腹变深)、疲乏无力(挽力、

四肢力和尾力下降)、溏软便(大便粗糙或稀软便)、毛发不荣(毛色粗乱无华)、体重下降、舌质胖淡(口色变淡)、脉虚(沉细无力)等八项检查指标为实验动物脾气虚的辨证标准,每项指标按0(无虚象)、1(虚象轻)、2(虚象重)三级评分,每两周辨证评分一次。除体重、食量单独比较外,其余六项指标总分达10分以上时,即可诊断为脾气虚证。本文列入造模组的动物,全为造模成功,符合上述诊断标准者。

实验结果

一、各组的脾气虚证评分比较

造模动物普遍消瘦,体重显著下降,口色变淡,肚腹变深,毛色粗乱,挽力、四肢力、尾力下降,大便溏软或不成形,食量普遍减少。各组脾气虚证总分相比较,造模组显著高于正常组,中药治疗组显著低于自然恢复组(见表1)。

表1 各组脾气虚证总分比较

组别	第一批实验	第二批实验
正常对照组	2.60±0.99(5)	2.25±0.25(2)
脾虚造模组	11.04±0.56(12)*	12.38±0.26(12)*
自然恢复组	8.00±1.06(5)*	7.63±0.66(5)*
中药治疗组	3.30±0.99(5) [△]	2.75±0.60(5) [△]

注:表内数字为均值±标准误(动物数);*与正常对照组比较 $P<0.01$;[△]与自然恢复组比较 $P<0.01$

二、各组的体重及重要脏器重量比较

合并统计两批实验结果,正常组7头驴,平均体重为92公斤;造模组24头驴,造模前平均体重为82.4公斤,造模后仅63公斤;自然恢复组12头驴和中药治疗组12头驴,实验结束时,平均体重由造模后的平均63公斤分别增加到71.5公斤和89公斤,中药治疗组的增重大于自然恢复组。各组实验驴的重要脏器重量,经每组各解剖2头动物的观察,亦存在与上述类似情况(见表2)。

表 2 各组动物重要脏器平均重量(克)比较

组 别	胸腺	脾脏	肝脏	心脏	肾脏	肺脏	肾上腺
正常对照组	100	262	1486	549	286	1283	8.8
脾虚造模组	33	144	805	350	184	1213	9.3
自然恢复组	47	191	1105	402	226	1100	7.4
中药治疗组	75	253	1445	556	278	989	9.4

三、各组的胃肠粘膜、肝胆小管、骨骼肌和心脏的形态学和组织化学的改变比较

我们对脾虚模型动物的胃、肠进行超微结构的观察,发现脾虚驴的十二指肠粘膜,低倍扫描可见粘膜表面突出的微绒毛,其顶端上皮有面积大小不等的破损甚至脱落。透射电镜下可见微绒毛纵断面呈膨大或缩小,微绒毛表面的细胞衣结构大部消失;横断面显示微绒毛粗细不等,直径小于正常。停止造模6周后,两组动物的胃、肠道粘膜均有所恢复,其中中药治疗组已基本恢复常态,而自然恢复组则恢复缓慢。

表 3 各组血清微量元素含量比较

组 别	Cu(μg/dl)		Zn(μg/dl)		Fe(μg/dl)	
	第一批	第二批	第一批	第二批	第一批	第二批
正常对照组	109.6±5.8	114.0±4.7	81.4±6.1	102.29±5.0	102.6±8.77	109.0±2.89
脾虚造模组	110.2±3.2	120.7±3.8	69.7±3.9	76.5±6.8	71.66±3.84	86.69±10.01
自然恢复组	115.8±4.5	114.0±2.2	79.6±2.96	87.2±6.6	83.83±7.66	68.38±10.13
中药治疗组	109.2±6.6	116.0±3.58	84.2±2.8	94.6±5.5	84.57±7.20	108.4±18.95

注: (1)两批各组动物数同表1; (2)表内数字为均值±标准误, 表4同

血清锌和铁含量降低, 将影响有关酶的活性。脾虚驴血清中亮氨酸氨肽酶(LAP)活性显著降低, 活动范围由13.96~10.63 IU/L降至10.84~6.16 IU/L ($P<0.01$), 而中药治疗组上升幅度(15.94~7.115 IU/L)较自然恢复组(10.5~7.896 IU/L)高。

五、各组的免疫功能改变比较

本课题就脾虚驴的细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫功能, 进行了较系统的观察。

表4示, 在细胞免疫功能中脾虚驴的胸腺、脾脏、肠系膜淋巴结的淋巴细胞增殖均明显低于正常组($P<0.001$)。中药治疗组的增殖幅度大于自然恢复组。外周血的淋巴细胞增殖, 造模组较正常组明显降低, 但在中药治疗组和自然恢复组间则无明显差异。E—玫瑰花环形成试验, 正常组7头驴, 平均为40.4±2.94% (均值±标准误, 下同); 造模组24头驴, 平均为22.2±1.09%, 两组比较有显著性差异($P<0.001$); 中药治疗组和自然恢复组间差异不显著。上述结果显示, 脾

肝及胆小管的ATP酶活性, 造模组无反应, 正常组呈强反应, 中药治疗组呈弱反应。说明脾虚时动物ATP酶活性降低。经补脾中药加味四君子汤治疗后, ATP酶虽有上升, 但未能达到正常动物水平。此外, 造模动物的骨骼肌糖原含量和ATP酶的活性均较正常组明显降低 ($P<0.05$)。造模动物的骨骼肌和心肌在透射电镜下观察均显示线粒体肿胀、膜结构破坏、线粒体嵴部分消失、糖原颗粒明显减少; 经用补脾中药治疗后, 其在形态学和组织化学方面的正常化程度均优于自然恢复组。

四、各组的血清微量元素含量和血清亮氨酸氨肽酶活性影响的比较

脾虚驴显示锌、铁含量降低, 而血清铜各组均无明显变化, 因而使铜/锌比值升高。经补脾中药加味四君子汤治疗后, 血清锌、铁值上升, 铜/锌比值接近正常, 中药治疗组的恢复正常程度较自然恢复组为优(见表3)。

表 4 各组驴免疫器官淋巴细胞增殖试验比较

组 别	驴数	胸 腺 ($\times 10^{-2}$ cpm)	脾 脏 ($\times 10^{-2}$ cpm)	淋巴结 ($\times 10^{-2}$ cpm)
正常对照组	7	463.6±14.6	652.4±13.31	465.1±14.47
脾虚造模组	24	39.65±0.66	60.93±3.02	63.8±2.44
自然恢复组	10	103.8±0.33	70.65±0.5	83.97±0.47
中药治疗组	10	98.42±0.45	146.7±1.01	215.1±3.1

虚驴的细胞免疫功能显著降低。

在体液免疫方面, 脾虚驴的血清IgG平均含量(2.81±0.218 mg%, $n=24$), 明显低于正常驴(4.025±0.275 mg%, $n=7$), 两组比较差异显著($P<0.01$); 脾虚驴组中药治疗后IgG明显增高。唾液分泌型IgA含量造模组有上升趋势, 与正常组比较无统计学意义。中药治疗组及自然恢复组均下降, 接近正常水平。说明脾虚驴体液免疫功能降低, 而局部可能有代偿性增高免疫反应。

非特异性免疫功能选择了溶酶体酶、溶菌酶等指

标。结果发现 β -葡萄糖醛酸苷酶(β -G)模型组($n=24$)含量明显下降,由造模前的 14.30 ± 2.29 U下降至 2.93 ± 2.15 U($P<0.001$)。停止造模后, β -G含量中药治疗组和自然恢复组均有所上升,其中前者(13.25 ± 2.23 , $n=10$)较后者(10.53 ± 1.19 , $n=10$)的增加幅度大。酸性磷酸酶(ACP)含量不如 β -G明显。血清溶菌酶含量也显示造模组含量(218 ± 45 mg/L, $n=24$)低于正常组(355 ± 16 mg/L, $n=7$),造模停止后中药治疗组(308 ± 10 mg/L, $n=10$)的增高趋势优于自然恢复组(268 ± 25 mg/L, $n=10$)。

讨 论

过去,我们曾对中医学和中兽医学进行过较全面的比较,发现两者有同源的理论,在辨证立法、处方遣药等方面也颇多一致,在目前常用的中草药中,两者互相通用的高达97.4%。为此,我们选用马属动物驴为动物模型,采用药伤加饥饿失常双重造模方法,借助中兽医对“脾气虚”驴的辨证,以加味四君子汤为治疗反证,对中医“脾气虚”证进行了较系统的研究。此外,我们还同时做了大白鼠平行实验,两者在宏观和微观上均取得了较为一致的结果。在互补互证的基础上,正在进一步向小动物模型过渡,提高了对小动物脾气虚模型判断的可信度,为今后向小动物造模过渡奠定了基础。

本实验初期,我们使用大剂苦寒泻下的大承气汤造模,动物陆续死亡,幸存者均气阴两伤。以后改为小承气汤,即在原方中去芒硝,仍以大黄为主药,造模动物泄泻仍甚严重,出现气阴两伤者仍甚多见。通过上述教训,我们改用破气苦降的厚朴三物汤加饮

食失节法制作中医“证”的模型,终获成功。厚朴三物汤以厚朴、枳实为主药,意在破气;辅以大黄,非攻苦泻,意在逆“脾主升清”之性。在药伤同时,结合中医病因学,以饮食失节、饥饱失常多因素复合造模,延长造模时间,变急性实验为慢性实验,造模成功后并采用健脾益气药为治疗反证,取得了相应疗效。说明使用本法制做中医“脾气虚”的动物模型是成功的。

本研究发现,血清锌和铁含量降低,将影响有关酶的活性。血清亮氨酸氨酶活性降低,提示以必需氨基酸为代表的蛋白代谢效率降低。

脾气虚时能量代谢、酶活性和蛋白代谢低下,其对肌肉和胃肠粘膜的功能影响将特别突出,表现为骨骼肌和心肌线粒体形状改变,ATP酶活性低下,糖原减少,而胃肠道粘膜上皮的修复再生能力的下降,包括微绒毛粗细不等和顶端上皮脱落,这既标志能量物质代谢降低,它又反过来影响营养物质的消化吸收,构成了互为因果的病理循环。

胸腺、脾和淋巴结这些中枢和外周免疫器官的重量下降及其对淋巴细胞的分化增殖能力的降低等,无疑均与能量和物质代谢及酶活性等基础有关,从而在蛋白合成方面,包括免疫球蛋白以及溶菌酶、溶酶体酶的含量和活性降低等,都可视为由能量和物质代谢的非特异性因素所致。

消除致病因素,恢复正常饮食规律,使饮食有节,起居有常,再佐以健脾益气方药,可以使体内固有的代谢调节机制正常化,恢复内环境的自稳态。通过脾气虚证的研究,进一步认识“脾为后天之本”的更丰富的内容,它是属于中医基础理论研究的一个重要组成部分。

· 中医药信息 ·

★国家科委最近公布了1989年度国家级科技进步奖励项目,4项中医药科技成果获奖。获得二等奖的项目是“西洋参大面积农田栽培技术的研究”,获得三等奖的项目是“推按运经仪治疗胆囊结石410例研究”、“熟大黄炮制新工艺及临床应用的开发研究”以及“怀牛膝多倍体及单体育种试验研究”。自1985年开始,国家设立国家级科技进步奖以来,全国中医药行业已有24项科技成果荣膺此奖。

★邯郸市中医院与河北省医学科学院协作的脑血管病研究组研制的“语言散”,以牛黄、麝香、胆星、天竺黄、水蛭、三七、僵蚕等12味中药组成,自1987

年1月至1989年7月用于治疗中风语言障碍患者152例,基本治愈率达52.63%,总有效率91.45%,这一课题已通过河北省中医管理局和邯郸市科委的鉴定。

★外敷中华普陀膏并内服中药治疗原发性肝癌,镇痛有效率为96%,平均延长生存时间为十个半月。这项成果是山东省立医院王德龙在山东中医学院周凤梧教授指导下,经长期研究和临床验证,最近通过鉴定。王德龙根据“通则不痛,痛则不通”的理论,采用血竭、鳖甲等十余味中药,加工成“中华普陀膏”,贴敷于肝区,通过皮肤吸收,达到软坚散结、活血化瘀、改善微循环、祛病镇痛的作用。为增加疗效,加服中药,以增强机体的免疫力,通过70例病人临床观察,镇痛和延长生存时间,优于其他疗法。