

证的研究

偏食法塑造大鼠脾气虚证模型研究

成都中医学院 罗光宇 黄秀凤 杨明均 欧芳春 彭 成 肖 颀
李耀光 肖理儒 张晓梅 丁 红 张朝明 张耀飞

近年来,苦寒泻下、饥饱失常、甘肥过度、劳倦伤脾等各类脾气虚证模型已见诸报道^{〔1~6〕}。我们采用新方法,以中医饮食五味偏食损伤脾胃的病因病机学说为指导,参考全国中西医结合虚证和老年病研究专业委员会于1986年制订的关于中医脾虚证的辨证标准^{〔7〕},用偏食法(先食酒,后食醋)建立了Wistar大鼠的脾气虚证动物模型,从血液学、免疫学、组织化学、组织病理学以及超微结构等方面进行观察,试图建立偏食法大鼠脾气虚证模型的生物学特征。

材料与方法

一、材料

1. 动物分组及饲养条件:50日龄Wistar大鼠55只(由四川省防疫站动物房提供),雌雄均有,体重 200 ± 20 克($M\pm SD$)。随机分为四组:模型组、四君子汤反证治疗组(简称反证组)、自然恢复组和正常对照组。除模型组为16只动物外,其他三组均为13只动物。

实验动物观察室为开放式,温度、照明、噪音、换气等条件控制在规定的范围内。动物饲养用B₁-型大白鼠笼架,每天喂饲全价颗粒饲料,每日定时清洁。

2. 四君子汤剂型制备:党参15克,白术10克,茯苓12克,甘草3克。四味药材均经鉴定,按药典(1985年版)制成煎剂,浓度相当于原生药1克/毫升。

3. 其他材料:实验用醋采用保宁醋,500毫升瓶装,四川阆中产,PH 3~5。实验用白酒为市售食用50°白酒(乙醇含量50%,其他成分含量在国家食用酒规定标准范围之内),或用50%医用乙醇。

二、造模方法和分组

实验期间,各组动物均每天喂饲全价颗粒饲料。

1. 模型组:造模时间共10天。实验第1日用50°白酒2毫升灌胃,第2日以后每天用食醋2毫升灌胃。造模后次日即实验第11天处死动物,取样并作各种

检查。

2. 反证组:共观察17天,前10天造模,造模方法同模型组;实验第11天以后,停用食醋,改用四君子汤煎剂,每天2毫升灌胃,共7天。实验第18天处死动物,取样并作各种有关检查。

3. 自然恢复组:共观察17天,前10天造模,造模方法同模型组;实验第11天以后,停用食醋,改用生理盐水2毫升灌胃,共7天。实验第18天处死动物,取样并作各种有关检查。

4. 正常对照组:共观察17天,每天用生理盐水2毫升灌胃。实验第18天处死动物,取样并作各种有关检查。

三、观察内容

实验期间,逐日观察并记录各组动物竖毛、毛色枯槁、拱背、活动减少、倦卧嗜睡、肛门污秽、腹泻等症状和体征,隔日称体重、测体温。实验结束时断头放血,进行常规剖检,除肉眼观察其脏器组织的外形改变外,取血作血液常规及生化检查,并取有关脏器官作组织化学、组织病理学和超微结构等观察。

观察结果

一、大体变化情况

1. 一般状态:造模大鼠从造模第3日起,出现竖毛,被毛逐渐失去光泽而枯槁、拱背、倦卧嗜睡、肛门污秽、腹泻、活动减少、体重减轻、体温下降。正常对照组则未出现上述症状。反证组于停饲食醋后,用四君子汤复健治疗,上述诸项症状和体征逐渐消失,于药后第5日基本恢复正常。自然恢复组于停饲食醋后第7日才基本恢复正常。

2. 体重变化:大鼠于造模后第3日起,体重逐渐下降,第10日下降最为明显,模型组平均下降14克左右;四君子汤反证治疗组及自然恢复组于停饲食醋后,体重逐渐回升,实验结束(即造模后1周)时约上升15克左右。(见表1)

表 1 各组动物体重(克)变化比较(M±SD)

组 别	鼠数	造模前	造模后	造模后1周
模型组	16	205±16.3	191±10.1	—
反证组	13	206±12.8	189±8.6	204±8.9
自然恢复组	13	200±13.9	173±7.5	187±8.5
正常对照组	13	191±17.6	214±19.0	230±17.0

3. 体温变化: 正常对照组动物体温较恒定, 维持在 37℃左右。动物在造模过程中体温有所下降; 停药食醋后, 四君子汤反证治疗组及自然恢复组动物又逐渐回升到 37℃左右。(见表 2)

表 2 各组动物体温(℃)变化比较(M±SD)

组 别	鼠数	造模前	造模后	造模后 1 周
模型组	16	37.4±0.5	35.5±1.2	—
反证组	13	37.1±1.1	36.8±0.5	37.7±1.7
自然恢复组	13	37.6±1.1	35.3±1.1	37.3±0.6
正常对照组	13	37.6±0.5	37.5±1.2	—

4. 动物剖检情况: 模型组动物可见胃肠粘膜水肿或糜烂、点状出血或片状出血, 部分可见大小不一溃疡, 病变部位多见于胃窦和十二指肠粘膜。自然恢复组则较轻, 四君子汤反证治疗组和正常对照组均未见病理变化。

二、化验检查情况

1. 血液常规及生化检查: 取剖检动物血液作白细胞、红细胞、血红蛋白、红细胞平均压积、红细胞平均血红蛋白、红细胞平均血红蛋白浓度、血小板计数、谷丙转氨酶、血尿素氮等检查, 经统计学处理, 各组间差异不显著($P>0.05$)。蛋白电泳分析各组间差异也不显著。(资料略)

2. 血浆 TT₄ 浓度测定: 采用放射免疫方法测定血浆甲状腺素总量(TT₄), 测定结果见表 3。经统计学处理, 模型组血浆 TT₄ 浓度明显低于正常对照组 ($P<0.01$); 反证组与正常对照组间差异不显著 ($P>0.05$); 反证组与模型组间有显著性差异 ($P<0.05$)。结果表明造模动物血浆 TT₄ 浓度降低, 四君子汤对血浆 TT₄ 浓度有恢复正常水平的作用。

3. 红细胞免疫粘附作用测定: 测定动物红细胞 C₃b 受体花环率, 结果见表 3。经统计学处理, 模型组红细胞 C₃b 受体花环率降低, 与正常对照组比较, 差异非常显著 ($P<0.01$); 反证组服用四君子汤后, 动物的红细胞 C₃b 受体花环率升高, 与模型组比较差异显著 ($P<0.05$), 与正常对照组比较差异不显著 ($P>$

表 3 各组动物甲状腺素总量(TT₄)和红细胞 C₃b 受体花环率比较

组 别	甲状腺素总量 (μg/dl)	红细胞 C ₃ b 受体 花环率(%)
模型组	2.60±1.12(16)*	4.07±2.47(7)*
反证组	3.67±1.22(12) ^a	7.00±2.26(6) ^a
自然恢复组	—	6.25±3.06(6)
正常对照组	3.60±0.50(12)	8.10±2.56(10)

注: 表内数字为均值±标准差(鼠数); * 与正常对照组比较 $P<0.01$; ^a 与模型组比较 $P<0.05$

0.05)。结果表明造模动物红细胞免疫功能下降, 经四君子汤治疗后, 脾气虚症状消失, 红细胞免疫功能得到恢复。

4. 各组动物不同组织的琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性变化: 测定实验动物胃、十二指肠、空肠、结肠、肝、胰、舌及骨骼肌等组织的琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性。经统计学处理, 模型组动物各组织的 SDH 活性显著低于正常对照组 ($P<0.05\sim0.01$)。自然恢复组各组织的 SDH 活性虽较模型组有所增强, 但差异均不显著 ($P>0.05$); 而反证组与模型组比较, 上述各组织的 SDH 活性均得到明显增强 ($P<0.05\sim0.01$)。以上结果表明, 四君子汤能提高消化系统等组织的 SDH 活性, 有恢复和加强消化功能的作用。(数据略)

三、组织病理学观察

1. 一般组织学观察: 造模动物以消化系统的损害为最重, 亦波及免疫系统、内分泌系统、生殖系统、神经系统等全身性病理改变。胃粘膜中性[和酸性粘液增多, 粘膜萎缩, 固有层水肿, 炎性细胞浸润。小肠绒毛变性脱落, 肠上皮细胞萎缩, 绒毛间质水肿。肝细胞萎缩, 肝糖原明显减少。胰腺细胞有变性改变。胸腺皮质变薄, 髓质网状上皮细胞内的 PAS 阳性物显著减少。脾脏 T 淋巴细胞区和 B 淋巴细胞区明显缩小。甲状腺滤泡较小, 滤泡上皮细胞为矮立方, 部分为扁平上皮, 滤泡腔内胶质稀少, 染色浅淡。睾丸曲精管内生精细胞层次减少, 精子数量亦显著减少。大脑神经细胞内脂褐素明显增多。服用四君子汤后其病变基本恢复正常。

2. 超微结构观察: 造模动物胃壁细胞中线粒体混浊、嵴消失及空泡化改变。十二指肠吸收细胞微绒毛变短、变细, 排列不整齐, 并出现脱嵴现象, 胞质中细胞器减少, 线粒体嵴断裂或消失。经四君子汤治疗后, 大鼠胃壁细胞和肠吸收细胞超微结构改变均得到恢复。

讨 论

脾气虚证的动物模型复制,多用苦寒泻下法、饥饿失常法、甘肥过度法、劳倦伤脾法,而本实验采用新方法——偏食法。本方法是在中医饮食不节,过食五味易致脾胃受病的理论指导下进行的。我们选用Wistar大鼠为对象,选择易造脾虚的动物某段体重期,在适宜的环境下,先饲酒造成动物脾胃受病,在此基础上,再用醋进一步损伤脾胃。《灵枢·论勇篇》说:“酒者,水谷之精,熟谷之液也,其气慄悍,其入于胃中,则胃胀。”《本草纲目》谓:“酒,天之美禄也,……痛饮则伤神耗血,损胃忘精。”《素问·刺法论》说:“欲令脾实,食无太酸。”《素问·生气通天论》曰:“味过于酸……脾气乃绝。”《灵枢·五味篇》也有“脾病禁酸”之说。我们先用白酒损伤脾胃,破坏动物胃的屏障作用,再用食醋加重病情。实验证明,从食醋第三日起,动物逐渐出现脾气虚证,而四君子汤可使脾气虚证逐渐消失,恢复健康。充分说明用偏食法(先饲酒,后饲醋)建造中医脾气虚证动物模型是成功的,动物不但具有中医证的特征,符合中医病因学说的理论,且可用相应的方药复健以作反证。

脾气健运,水谷精微可以敷布全身,营养五脏六腑、四肢百骸,故《素问·玉机真脏论》说:“五脏者皆禀气于胃,胃者五脏之本也。”脾气虚衰,健运失职,水谷精微不能敷布,必然伤及周身多个脏腑器官。造模动物组织器官的超微结构变化以及免疫学、酶组织化学等的观察结果证实,脾气虚证大鼠模型是以胃肠病损为中心的多系统、多器官损伤。其胃壁细胞线粒体病变、小肠吸收细胞线粒体损伤、微绒毛破坏、SDH活性降低,可能是脾虚不能运化水谷的病理基础。五脏禀气于脾胃,脾胃之气不足,抵抗力下降,很容易导致百病丛生,故《脾胃论》有“胃虚元气不足,诸病所生”之说。从脾虚模型动物中可看到胸腺皮质萎缩、髓质网状上皮细胞内PAS阳性物质减少、脾脏T淋巴细胞和B淋巴细胞区缩小以及红细胞C₃b受体花环率降低等,反映了模型动物的细胞免疫和体液免疫功能均降低。脾为气血生化之源,脾虚运化失职,消化吸收障碍,将导致气血亏虚,物质代谢、能量代谢降低。在本模型中并见甲状腺滤泡萎缩,胶质减少,血浆TT明显降低,提示甲状腺素生成减少,这对机体的产热、糖的吸收、脂肪代谢和细胞线粒体功能等均可产生很大影响⁽⁴⁾。脾为后天之本,脾虚元气不足,能量代谢降低,可促进细胞的衰老过程。动物模型中大脑神经细胞内脂褐素增多,可能是神经细胞衰老、

功能减退的原因。

偏食法制造脾气虚证动物模型,是我们从三种动物(小鼠、大鼠、豚鼠),九种方法中筛选出来的一种新方法。为了建立稳定的动物模型,我们又对偏食法造模重复作了八批实验,动物模型成功率均在90%以上。通过与其他脾气虚证模型的对比研究发现,本模型在研究方法上有所创新,具有中医特色,初步建立了偏食法脾气虚证动物模型的生物学特征。

参 考 文 献

- (1) 危北海. 有关脾虚证的中西医结合研究方法. 中医药学报 1984; (4):2.
- (2) 王玉良. 中医“脾虚”证动物模型实验研究的进展. 辽宁中医杂志 1984; (4):43.
- (3) 北京师范大学生物系消化生理教研组. 中医脾虚证动物模型的造型. 中华医学杂志 1980; (2):83.
- (4) 黄炳山, 等. 饮食失节所致的脾虚动物模型及中药治疗观察. 中西医结合杂志 1983; (5):295.
- (5) 傅湘琦, 等. 过劳和饮食失节塑造大白鼠脾气虚证模型的研究. 云南中医 1986; (5):10.
- (6) 谢仰州, 等. 用过劳和饮食失节塑造大白鼠脾气虚证模型的研究. 中医杂志 1987; (5):57.
- (7) 沈自尹. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志 1986; (10):598.
- (8) 杨中有, 等. 十二指肠溃疡和慢性胃炎患者的甲状腺功能. 中华消化杂志 1983; (4):275.

新书出版消息

中国医学疗法大全 董建华、刘渡舟总编 中医古籍出版社出版, 定价24.60元(含邮费)。

该书是我国首部中医疗法专著, 集古今中医疗法(包括少数民族医学疗法)400种, 内、外、妇、儿、皮肤、五官、骨伤各科齐全。全书41章, 100余万字, 400余幅图。每一疗法详述其具体技术方法、应用要点、适应范围、禁忌症, 并综述其现状和发展趋势。是临床必备的参考书和工具书。欲购者请汇款至北京东直门内北新仓18号中医古籍出版社发行部, 并注明书名及数量。邮政编码100700。

中国医学诊法大全 董建华、刘渡舟总编审, 山东科技出版社出版。

该书由全国40余位教授集体编著, 是我国第一部大型中医诊法学专著, 将上至秦汉, 下至明清及当代的有关中医诊法资料按人体部位为主分类, 更符合临床医生诊断程序, 具有很强的实用性。该书还将运气、气质、体质、气功、特异功能、相术、八卦等学说中涉及诊法的内容收编入书。全书80万字, 每册19.20元(含邮资), 欲购者请将款寄: 河北省滦平县周营子新华书店发行部收。邮政编码: 068253, 款到发书。