

实验研究

甲状腺机能低下阳虚兔模型的造型研究

广州中医学院实验中心 徐 敏 欧 明 丘和明 张喜澄 张晓晖

临床观察发现, 甲状腺机能低下(以下简称“甲低”)患者中医辨证大多符合阳虚证⁽¹⁾。阳虚患者不但存在机体物质、能量代谢障碍, 约半数患者可检出血中甲状腺激素水平低于正常^(2,3); 且有报道证实, 阳虚患者甲状腺有组织形态学的病理改变⁽¹⁾, 提示甲低是中医阳虚共同的病理基础。本工作采用切除甲状腺的方法, 模拟临床阳虚, 造成甲低兔模型, 并改进观察指标, 对此模型的可靠性进行了系统验证。

材料和方法

一、甲低病理模型的造型

实验用雌性、3月龄纯种新西兰白兔, 体重1.70~2.00公斤。随机分成甲状腺全切除组、阳虚组)、甲状腺全切除后灌服中药组(中药组)、甲状腺假切除组(对照组), 每组8只。在无菌、麻醉条件下将前二组甲状腺组织全部摘除, 对照组在暴露甲状腺后即缝合切口。手术前后检测血清钙含量, 证明甲状旁腺机能未受损伤。

二、证候验证指标的检测

主要依据1986年修订的中医虚证辨证参考标准⁽⁴⁾所列阳虚主证对模型进行验证。

1. 畏寒主证: 术后20天用自制温度行为观测装置⁽⁵⁾对各组动物喜好温度进行定量检测。

2. 肢冷主证: 术前1天及术后20天分别测定各受试兔右后肢外侧足趾第二趾节皮肤温度, 代表肢端温度。同时测定直肠温度, 观察

肢端温度与直肠温度的关系。测前禁食、禁水12小时以上⁽⁶⁾, 检测在空调室内进行, 室温为 $19 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 相对湿度为62~70%。测前兔先在实验室适应半小时, 检测在白天8~13时内完成。为避免兔受刺激引起剧烈活动以及体位对体温的影响, 检测时取仰卧位抱兔法^(7,8)。

测肢端温度用 WMY-91 数字温度计(允差范围 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$, 上海医用仪表厂制造)。先将局部去毛, 温度计探头与皮肤接触的角度和压力用自制木夹固定。当探头触及皮肤的同时开始计时, 每次测定30秒钟, 取下木夹, 待探头温度回降, 数字显示低于 20°C 后再行第二次测定。以连续测定三次其误差在 1°C 内为测定成功, 取均值为代表值。测直肠温度用经校准的人体肛温表(允差范围 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$, 上海医用仪表厂制造)。插入肛内10cm左右⁽⁶⁾, 每次测定3分钟, 以连续检测两次其误差小于 0.1°C 为检测成功, 取均值为代表值。

3. 迟脉主证: 迟脉主要为脉搏频率减慢, 故可以心率定量反映。测时条件与检测体温相同, 待兔进入安祥静息状态用听诊器置胸前连续检测5分钟, 准确记录每分钟心跳次数, 取最慢者作为代表值。

4. 少饮特征: 术后单兔分笼饲养, 每日定时定量加食加水, 次日称量剩余部分, 算出实际食入量。取术后15~20日记录的总饮量计算实验末期各兔单位体重的日平均饮量(ml/kg 体重/日)。

5. 外观表现: 术后每日观测和记录受试兔精神、反应、活动、毛发、呼吸等望诊项目。

三、病理验证指标的检测

主要依据已被临床证实的阳虚理化指标改变,对模型进行验证。

1. 氧耗量:术前1天及术后20天用经改进的装置和方法测定氧耗量⁽⁹⁾,为排除实验过程中体重改变对氧耗量的影响,同时对空腹体重进行测定。

2. 血清甲状腺激素(总 T_4 、总 T_3 , 简称 TT_4 、 TT_3)、皮质醇含量:术前1天及术后20天上午7:30~8:30,分别自每只实验兔耳中动脉取血。血清 TT_4 、 TT_3 含量测定采用第一军医大学提供的双抗体-PEG法放射免疫试剂盒。皮质醇测定采用卫生部上海生物制品研究所提供的固相双抗法放射免疫试剂盒。三组动物参与每批检测时的样本数量相等,每批反应误差关系均小于0.04,批内变异系数均小于5%。

四、中药疗效验证的观察

将熟附子、菟丝子、肉苁蓉、淫羊藿、仙茅、巴戟天、黄芪、熟地、首乌、当归、淮山药11味中药按传统方法煎煮,浓缩至每毫升含1克生药。术后第4天始,中药组兔每天经胃管灌药一次,每次给药量为7 ml/kg 体重(按公式换算此剂量约等于成人临床常用剂量)。其余两组以同法灌服等量冷开水。直至术后20天,通过上述各指标的检测,分析助阳药疗效及对模型可靠性的反证作用。

五、数据处理的统计方法

各组均值的自身前后比较采用 Wilcoxon 法;组间比较采用 Kruskal and Wallis 法。

结果和分析

1. 喜好温度:术后20天对照组自选喜好温度平均为 $21.04 \pm 0.49^\circ\text{C}$ ($M \pm SE$, 下同),与文献报道兔的最适生活环境温度相仿⁽¹⁰⁾。阳虚组为 $34.55 \pm 0.98^\circ\text{C}$, 平均比对照组高 13.51°C ($P < 0.01$),提示其明显畏寒。中药组为 $25.68 \pm 1.03^\circ\text{C}$, 亦较对照组高 ($P < 0.01$),但较阳虚组低 ($P < 0.01$),表明其畏寒程度明显减轻。

2. 肢端温度:表1示,对照组手术前后

表1 术前1天与术后20天各组肢端温度($^\circ\text{C}$)比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	25.66	21.80	3.86 ± 0.24
中药组	8	25.15	23.79	1.35 ± 0.39
对照组	8	25.24	24.94	0.30 ± 0.48

两次测得的肢端温度均值的变异在温度计允差范围内;另两组术后肢端温度明显低于术前 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$),表明存在肢冷证候。阳虚组肢端温度下降显著,与对照组比差异显著 ($P < 0.01$);中药组术后肢温下降较阳虚组少 ($P < 0.01$),而与对照组比较差异不显著 ($P > 0.05$)。

3. 直肠温度:表2示,对照组术后比术前平均下降值仅为 0.07°C ,亦未超出体温计允差范围;阳虚组、中药组术后直肠温度降低 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$);阳虚组下降值与中药组、对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$),中药组虽比对照组下降明显,但其平均下降值仅为阳虚组的46.74%。

表2 术前1天与术后20天各组直肠温度($^\circ\text{C}$)比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	39.43	38.51	0.92 ± 0.11
中药组	8	39.40	38.97	0.43 ± 0.10
对照组	8	39.46	39.39	0.07 ± 0.11

4. 心率:表3示,对照组手术前后两批测定的均值变异甚小;另二组术后较术前心率减慢 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$),脉搏迟缓。中药组较对照组心率明显减慢 ($P < 0.05$),阳虚组心率减慢次数与对照组及中药组比较,均有非

表3 术前1天与术后20天各组心率(次/分)比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	182.30	122.50	59.79 ± 4.33
中药组	8	174.00	148.60	25.39 ± 5.53
对照组	8	178.50	171.30	7.25 ± 4.17

常显著性差异($P<0.01$)。

5. 实验末期饮水量: 对照组为 144.84 ± 16.95 ml/kg 体重/日。阳虚组为 82.21 ± 8.81 ml/kg 体重/日, 约为对照组的 56.76%, 有明显减少($P<0.05$)。中药组饮量为 107.86 ± 14.98 ml/kg 体重/日, 较阳虚组增加($P<0.05$)。

6. 外观望诊: 术后5天阳虚组兔开始出现精神萎靡、反应迟钝、嗜睡懒动、动则气喘、毛发零乱、缺乏光泽等外象, 并日渐加重; 严重时呼吸困难、耳根浮肿。中药组症状较轻。

7. 氧耗量: 表4示, 术前三组氧耗量接近($P>0.05$)。术后对照组变化不大; 阳虚组比术前低约 34.29% ($P<0.01$), 与对照组及中药组相比, 氧耗量降低值有非常显著性差异($P<0.01$), 与文献报道动物甲状腺全切除后其氧耗量可下降约 40% 相近; 中药组亦降低约 19.51% ($P<0.01$), 与对照组比较差异亦有显著性($P<0.05$)。提示阳虚组存在代谢障碍, 中药组服药后有所改善。同时测得三组手术前后空腹体重无显著差异($P>0.05$), 表明术后三组氧耗量的明显差异与体重因素无明显关系。

表4 术前1天与术后20天各组氧耗量
(ml/kg/min) 比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	7.00	4.60	2.41 ± 0.11
中药组	8	6.92	5.57	1.35 ± 0.28
对照组	8	6.45	6.34	0.11 ± 0.16

8. 血清 TT_4 、 TT_3 含量: 表5、6示, 术后20天阳虚组、中药组血清 TT_4 含量较原水平明显下降($P<0.01$); 与对照组比较有非常显著性差异($P<0.01$); 阳虚组 TT_3 亦明显下降($P<0.01$), 而中药组 TT_3 下降不明显。

9. 血清皮质醇含量: 表7示, 阳虚组术后20天血清皮质醇明显减少($P<0.05$), 提示其同时具有肾上腺皮质系统的机能损害; 中药组与术前相比差异不著, 表明中药对肾上腺皮

表5 术前1天与术后20天血清 TT_4 含量
(ng/ml) 比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	256.50	145.38	111.13 ± 17.99
中药组	8	258.50	174.88	83.62 ± 26.02
对照组	8	268.00	264.75	3.25 ± 9.46

表6 术前1天与术后20天血清 TT_3 含量
(ng/ml) 比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	7.99	6.34	1.65 ± 0.35
中药组	8	9.92	9.37	0.55 ± 1.08
对照组	8	8.96	9.64	0.68 ± 0.53

表7 术前1天与术后20天血清皮质醇含量
(μg/dl) 比较

组别	兔数	术前均值	术后均值	均差值±标准误
阳虚组	8	7.24	4.76	2.48 ± 0.91
中药组	8	6.56	5.58	0.98 ± 1.21
对照组	8	6.53	6.93	0.39 ± 1.19

质机能有保护和调节作用。

讨 论

一、关于阳虚动物模型客观指标的评价

综合近年较趋一致的看法, 可从证候特征、病理改变以及助阳疗效反证三方面评价阳虚动物模型。迄今文献中虽已报道了多种阳虚动物模型的造型方法, 但对各种模型尚缺乏系统的验证。在证候模拟方面, 既往多以日测动物出现蹇缩和互相挤靠等现象推断其畏寒, 或以耐冻试验或冰水游泳试验作为畏寒指标⁽¹⁾。前者容易判断错误, 也无法定量描述; 后者虽可定量, 但并不反映动物的喜恶行为, 事实上不能作为判定畏寒的依据⁽⁵⁾。又如靠动物模型直肠温度降低来模拟阳虚肢冷⁽¹⁾, 既与中医的证候概念不同, 也忽略了现代医学对直肠温度与肢端温度有本质差异的认识。直肠温度反映机

体核温,肢端温度则反映壳温。已经证明当直肠温度升高或降低时均有可能出现肢冷^(12,13),显然单凭直肠温度判断肢冷的出现及程度的轻重是不恰当的。此外,对制备模型是否阳虚与其他虚证鉴别具有相当关键的迟脉、口不渴、少饮等证候特征也缺乏较严格的定量验证。在病理指标模拟方面,以多个公认能较好反映临床阳虚病变规律的理化指标对模型进行综合验证的资料很少;而在助阳疗效反证方面,又由于中药常显示双相调节效应,以致单凭中药疗效判断模型的证型受到质疑⁽¹⁴⁾。因此,在开展有关实验研究前,对所选阳虚动物模型的可靠性进行验证是很有必要的。

二、关于证候模拟的探讨

畏寒肢冷是阳虚必备主症。阳虚组兔自选喜好温度高、肢端温度低,确示有畏寒肢冷。其直肠温度、氧耗量、心率亦明显降低,说明这种畏寒喜暖行为与体内代谢障碍、产热不足有关;也说明伴随直肠温度降低出现肢冷证候,才是符合阳虚实质的外在表现,与因其他原因引起核温上升时出现的肢冷有根本区别。

迟脉对阳虚确诊有特殊意义,阳虚一般口不渴而少饮,与阴虚口干思饮能相鉴别,实验表明,阳虚组兔心率减慢,脉搏迟缓,饮水量明显较术前或对照组减少。同时,本工作还观察到阳虚组兔术后一般均出现精神萎靡、反应迟钝、蹒跚懒动、动则气喘、毛发不荣等外观表现;严重时耳根浮肿,也与临床阳虚患者常现面目虚浮类似。对照《中医虚证辨证参考标准》⁽⁴⁾,甲低兔模型的证候表现是符合阳虚辨证的。

三、关于病理模拟的探讨

隋·巢元方《诸病源候论》中以五劳、六极、七伤概括虚劳的病因,形伤即列为七伤之一。近代中医病理学研究证实,临床阳虚患者在组织学上存在垂体、甲状腺等多个内分泌腺较为明确的退行性病变⁽¹⁵⁾。这些都为切除甲状腺造成甲低阳虚动物模型的方法提供了理论和实践依据。一般认为代谢障碍、产热不足是阳虚出现虚寒证候的共同病理基础,其中约50%

患者血中甲状腺激素水平低于正常;实验表明阳虚组兔术后血清TT₄、TT₃含量明显降低,氧耗量、直肠温度、心率亦减少,尽管甲低兔未能代表阳虚病变的全部,但至少已知可以模拟半数以上阳虚证的病变规律。

临床报道肾阳虚者尿17羟值低,半数以上肾上腺储备功能低下⁽¹⁶⁾。下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴功能障碍作为阳虚证又一共同的病理基础亦已得到广泛承认,并且是以皮质素类药物制做经典阳虚模型的理论依据。本工作观察到甲低病理模型血清皮质醇水平降低,即同时存在肾上腺皮质功能损害,进一步肯定了甲低兔模型对临床阳虚证的较好代表性。

一些学者依据中医“久病致虚”的传统观点,提出目前致虚动物的方法病程太短,非慢性过程⁽¹¹⁾。对此我们认为,应按动物自身的生存期与人类作相应的比较。以兔子生存期仅为人类寿命的十分之一计,兔子病程历时20天,已相当人类患病延续6月以上,此期亦不短了。

四、关于疗效反证的探讨

本工作拟定的以温补肾阳为主的中药复方选用熟附子、菟丝子、肉苁蓉、淫羊藿、仙茅、巴戟天、黄芪等药温肾助阳;根据“善补阳者,必于阴中求阳”的原理,又配以熟地黄、何首乌、当归、淮山药等滋阴补血。实验证明中药组兔服药后明显优于阳虚组兔,疗效确凿;这与临床观察到甲低或肾上腺皮质机能低下(阿狄森氏病)患者服用温肾助阳中药后证候缓解、病情改善是一致的。

综上所述,鉴于本工作制做的甲低兔模型既在证候表现上、病理实质上对临床阳虚证具有较好的代表性,从助阳药疗效的反证也提供了支持佐证,我们认为,以这种模型进行阳虚实质和助阳药药理作用的实验研究应该是可靠的。

参考文献

(1) 高亮,等. 阴虚阳虚与甲状腺功能. 陕西中医 1984;

- (2) 朱志勇, 等. 阳痿与血清 T₃、T₄ 含量的关系. 中西医结合杂志 1986; 6(4):245.
- (3) 石刚, 等. 慢性支气管炎肾阳虚、肾阴虚患者甲状腺轴功能的对比研究. 中西医结合杂志 1986; 6(3):160.
- (4) 沈自尹, 等整理. 中医虚证辨证参考标准(1986年修订). 中西医结合杂志 1986; 6(10):598.
- (5) 徐敏, 等. 甲低“阳虚”免模型畏寒主证的定量观测方法. 广州中医学院学报 1988; 5(4):219.
- (6) Matthew JK, et al. Temperature regulation in the exercising rabbit. Am J physiol 1973; 224(1):130.
- (7) French ED. Dexamethasone blocks morphine induced hypothermia in restrained rats. Life Sci 1979; 25(18):1583.
- (8) 覃俊佳, 等. 家兔肛温测量方法的改进. 中国药理学通报 1986; 2(6):56.
- (9) 徐敏, 等. 兔氧耗测定方法的改进及其在阳虚模型研究中的应用. 福建中医药 1989; 20(6):45.
- (10) 钟品仁主编. 哺乳类实验动物. 人民卫生出版社, 1983: 269.
- (11) 张家庆. “阳虚”的临床和实验研究. 中医杂志 1981; 22(10):73.
- (12) Brock L, et al. Observations on peripheral and central temperature with particular reference to the occurrence of vasoconstriction. Br J Surg 1975; 62(8):589.
- (13) Cabanac M, et al. Open loop increase in trunk temperature produced by face cooling in working humans. J Physiol 1979; 289:163.
- (14) 王明辉. 论中医研究方法学的若干问题. 中医杂志 1983; 24(2):68.
- (15) 匡调元著. 中医病理研究. 上海科学技术出版社, 1980: 123.
- (16) 施赛珠, 等. 温补肾阳法临床应用及其研究的进展. 中医杂志 1981; 22(6):73.

“腐毒灵”研制与临床应用

湖北省潜江市王场卫生所 姚泽林

早在两千多年前, 疡医即开始了丹制剂的临床运用。在中医外科学中, 一致认为“丹药”是一种疗效卓著的“拔毒、祛腐”的外用品, 视为囊中至宝。它虽有许多优点, 但也存在不少弊病: (1) 配方 制法各家不同, 影响疗效。(2) 用药后, 患者每觉疼痛。(3) 腐蚀性强, 对人体组织刺激性大, 使用范围狭窄。(4) 丹药是汞的化合物, 长期外用丹药可经创口吸收, 引起汞中毒。笔者为继承整理祖国医学遗产, 扬长避短。几年来, 在民间单方、验方的基础上经过研究、实验、筛选了五味中草药, 经过 292 例临床实践, 疗效显著, 优于红升丹、白降丹, 定名为“腐毒灵”。现报告如下:

一、药物组成及制法

组成: 土槿皮 40 克, 土黄连 30 克, 土大黄 30 克 (蓼科, Rumex madaio Mak), 烟叶 50 克 (茄科, Nicotiana tabacum L), 枯矾 10 克。

制法: 上药除枯矾外, 加水 300 毫升, 用文火煎汁 100 毫升, 过滤, 再加水 200 毫升, 煎汁 50 毫升再过滤去渣, 二次药液浓缩至 15 毫升即成。取浓缩液加枯矾调匀, 置烤箱中令干而成。取药研极细末, 或做成药条或配成 1% 溶液浸泡纱条备用。

二、功能和适应症

功能: 解毒化腐, 消肿止痛, 去腐生肌。

主治: 痈、疽、疔、疖、慢性溃疡、窦道及外伤感染、毒蛇蚊虫咬伤。

三、典型病例

吴××, 男, 23 岁, 1987 年 8 月 15 日就诊。左面额部麻痒疼痛 3 天。体查: 周身不适, 发热 (T 38.9℃), 头胀, 神昏。局部疮形高突, 结有粟米样脓头, 肿硬范围 3×3 厘米, 诊断: 额疔。全身给予抗生素药物治疗, 局部消毒, 用手术刀点破脓头, 轻压出脓液, 插入腐毒灵药捻, 外贴金郁膏。次日复诊, 全身症状消失, 局部肿痛基本消失, 出脓栓一块, 疮口 0.3×0.3 厘米, 疮口肉芽红活, 上生肌散收口。换药三次疮口长平痊愈。

四、讨论与体会

腐毒灵系植物药取代汞制剂, 在疮疡治疗中既能去腐又能拔毒, 既有去腐功能, 又有拔毒生新之效力。具有局部使用无痛苦, 不腐蚀健康组织, 祛腐迅速, 拔毒力强, 消肿快, 患者受药后在 24 小时内能拔尽疮内毒邪腐肉, 克服了长期使用汞制剂导致慢性中毒, 补了“红升白降”之不足, 并扩大了在疮疡中的治疗范围。

方中, 土大黄、土黄连清热解毒, 凉血散瘀; 土槿皮、烟叶清热杀虫, 活血消肿; 枯矾解毒杀虫, 止痒消炎。诸药水煎浓缩, 共奏解毒化腐、消肿止痛、祛腐生肌之效。用于临床, 收到了速效。

通过临床对比观察, 腐毒灵确优于红升、白降丹。原治疗一例背疽患者需 20 天, 用腐毒灵治疗只需 7 天左右。本药取材方便, 工艺简单, 实为一种新型的祛腐拔毒良药。