

证 的 研 究

风湿寒性关节痛实验模型及病理学研究

上海市中医药研究院骨伤科研究所

王绪辉 朱显华 周恩元 赵敏辉
闵熙敬 郑效文 施 杞 沈培芝

风湿寒性关节痛是人体感受 风寒湿邪后引起以肌肉、关节疼痛为主的疾病,在我国不同地区其发病率在13.19~77.96%之间。在80年代初被认为是风湿类疾病,并被中国中西医结合风湿类疾病专业委员会所确认。西医对此病无专门论述,视风寒湿为疾病的诱发因素,临床统称为良性关节痛予以对症治疗。本病属祖国医学外感痹证范畴,早在《内经》中已详细阐明了本病的发病机制,历代医家积累了治疗本病的丰富经验,形成了一套完整的理论体系,但至今仍缺乏现代研究和论证。为此,我们通过模拟自然风寒湿环境,用组织形态、生理、生物物理等研究手段和方法,建立了外感痹证——风湿寒性关节痛实验模型,取得了造模后各项观测结果,并与临床风湿寒性关节痛患者取材检测比较,得到一致结果。经自拟“外感痹片”和“风湿寒痛片”药效学验证,本项造模实验的成功为外感痹证病机和治疗研究提供了良好的模型。

一、造模方法

取健康雄性家兔,体重 2.5 ± 0.5 kg。将实验家兔在恒温 18°C 环境中单笼饲养3周,剪去家兔造模部位(双下肢膝关节至踝)的兔毛。在自制恒温恒湿造模箱的冰架上放置冰块。将家兔造模部位(双下肢)放入造模箱内,扣上弹簧扣,固定脚的位置。接通喷雾水源、风扇和半导体湿度温度计电源,调节造模箱内环境至刺激要求强度。我们规定温度为 $7 \pm 3^{\circ}\text{C}$,相对湿度为100%,风力为6级,间断重复刺激16小时。造风寒模型时关闭喷雾水源,造湿寒模型时关掉风扇,对照组不予以风寒湿刺激。

二、观察方法

动物造模后即刻、24小时、3天、7天、14天和21天六个观察时间分别作下列项目观测,

1. 皮温和大体结构的观测:用WMZ-03温度指示仪测量造模部位皮肤温度变化,并用低倍解剖显微镜作造模部位表皮摄影记录。

2. 组织一般结构的观测:取造模部位的全层皮肤、肌肉组织用缓冲福尔马林固定,常规石蜡包埋切

片,分别作HE、AB PAS、Van-Gieson氏胶原纤维、Weigert氏弹力纤维、Cromori氏网状纤维、硫堇粘液和硫堇肥大细胞染色,然后作光镜半定量观察记录。

3. 组织超微结构的观测:取造模部位小块皮肤、肌肉、外周神经和小静脉,滴上低温2%戊二醛固定液,迅速修整为 1mm^3 的小块组织,按电镜要求进行固定、脱水、切片、染色后置透射电镜下观察。

4. 神经潜速率和诱发M波的测定:在恒温 18°C 的屏蔽环境中,采用JD-II型肌电图机,用表面电极在定量和调量诱发刺激下,对造模动物单位距离的胫神经和腓肠肌进行胫神经潜速率和诱发腓肠肌最大双相波测定,其结果储存后经KDS-I型生理数据处理机作迭加处理,得出“M”波图象,计算其潜速率、潜伏期、极化顶点时程、M波振幅和M波全时程,再经微机作统计处理。

5. 组织水分含量、形变和pH值的检测:取造模部位承山穴为测定点,测定其形变,测定皮肤、肌肉、神经组织水分含量和pH值。形变采用压电法检测,组织水分含量采用干燥恒重法检测,组织pH值采用组织匀浆(稀释液为pH7的蒸馏水,比例为1:4)电极法检测。

6. 组织cAMP含量测定:取造模部位承山穴的皮肤、肌肉、神经和静脉组织,用 0°C 生理盐水洗净血液,滤纸吸干,用空气阻尼天平称取50mg左右组织,放入预冷的1N过氯酸2ml中,在冰浴下匀浆,用蛋白竞争结合法测定。

7. 血液微观流变特性的检测:取造模动物静脉血于肝素抗凝管内,采用XN-2型自动电子计时粘度计、正方形玻管细胞电泳仪、 $2.8 \times 100\text{mm}$ 血球压积管和FMZ-2型泳点渗透压计,在恒温 30°C 环境中,分别检测全血粘度比、血浆粘度比、红细胞电泳时间、血球压积、血沉和血浆渗透压。

同时检测血清胆固醇、甘油三酯、 β -脂蛋白和纤维蛋白原含量。

三、观测结果

以下为每种模型每个观察时间, 取12只动物重复2次的实验结果。

1. 组织一般结构观测:

微血管: 造模过程中微血管表现出收缩、扩张、再收缩、再扩张的变化过程, 此过程与皮肤温度变化有相关性。造模后毛细血管开放数目增多($P<0.05$), 呈充血态。

组织厚度: 以高倍视野计数, 风寒湿侵袭初期组织厚度增加, 后期减少, 在21天观察区间内, 风寒湿模型组织厚度变量方程为 $y=3.530-0.123x+0.003x^2$ ($P<0.05$); 风寒模型组织厚度变量方程为 $y=3.443-0.046x-0.001x^2$ ($P<0.05$); 湿寒模型组织厚度变化无显著差异($P>0.05$)。

炎细胞浸润: 风寒湿、风寒、湿寒刺激后, 皮肤和肌肉组织都出现灶性炎细胞浸润。整个观察区间未见粘液染色阳性表现, 胶原纤维、网状纤维和弹力纤维均无显著变化。

2. 组织超微结构观测:

皮肤: 初期部分毛细血管内皮细胞收缩, 红细胞、血小板着边, 红细胞局流消失, 相互聚集, 接着出现血浆蛋白、炎细胞、红细胞及血小板渗出, 渗出的血小板在胶原纤维处聚集, 释放颗粒。后期浸润的中性粒细胞颗粒增多, 呈脱颗粒状态。巨噬细胞吞噬能力增强, 部分坏死细胞被消除。整个观察区间未见皮肤结构细胞、纤维成分及附件的病理变化。

肌肉: 初期有灶性肌丝紊乱, 肌带模糊, 肌浆网扩张。后期肌浆出现少量空泡, 灶性肌丝紊乱和松散显著, 并见到肌节缺血收缩现象。

神经: 初期无鞘神经轴突内线粒体和有鞘神经的许旺氏细胞内质网出现空泡, 髓鞘灶性板层分离, 郎飞氏结呈现鞘膜不连续现象。后期内质网空泡消失, 分离膨胀的髓鞘被巨噬细胞吞噬, 并见到轴突芽长出。

小静脉: 初期小静脉内皮细胞收缩, 炎细胞附壁, 呈壁立态。后期小静脉周围有少量炎细胞浸润。

3. 胫神经-腓肠肌潜速率测定: 风寒湿模型表现为先加快, 7天时复初, 后下降, 至21天再加快, 变量方程为 $y=18.56+1.77x-0.31x^2+0.01x^3$; 风寒模型表现为缓慢加快至14天达顶点, 21天降至正常, 变量方程为 $y=19.19+0.46x-0.03x^2$ 。两模型组与对照组比较均有显著差异($P<0.05$); 湿寒组与对照组比较无显著变化($P>0.05$)。

4. 诱发腓肠肌M波的潜伏期变化: 随造模时间延长, 风寒湿模型诱发M波的潜伏期变化为缓慢地逐渐缩短, 变量方程为 $y=0.82+0.01x-0.08x^2$; 而湿寒

模型为缓慢地延长, 变量方程为 $y=0.91-0.004x-0.00001x^2$; 风寒模型为先延长后缩短, 变量方程为 $y=0.83+0.02x-0.001x^2$ 。三模型组各与对照组比较均有非常显著差异($P<0.01$)。

5. 组织水分含量检测: 湿寒模型的肌肉水分无显著变化, 风寒湿和风寒模型均有显著变化($P<0.05$), 变化趋势均为造模后组织水分含量增多, 以后逐渐减少, 变化幅度风寒模型大于风寒湿模型。

6. 组织pH值测定: 三模型组与对照组比较均有显著差异($P<0.05\sim0.01$), 变化趋势均为pH值缓慢地持续下降, 至第21天达最低点。血液的pH值造模前后无变化。

7. 组织形变观察: 造模后三模型组均表现为初期的组织弹性下降, 与对照组比较有显著差异($P<0.05$)。

8. 组织cAMP含量: 湿寒模型组神经、皮肤、肌肉中cAMP含量均先增多后减少, 其变化幅度为神经>皮肤>肌肉, 风寒模型组亦呈相同变化趋势, 只是变化幅度静脉>神经>肌肉; 风寒湿模型组静脉cAMP含量先下降再上升, 但顶点仍未达到正常水平, 神经中cAMP含量呈缓慢增多趋势。三组的上述变化与对照组比较均有显著差异($P<0.05$), 并且各模型组间亦有显著差异($P<0.05$)。

9. 血液微观流变特性: 三模型组的血球压积和血浆的白蛋白、球蛋白、总蛋白、甘油三酯、胆固醇和 β -脂蛋白含量与对照组间均无显著差异。血浆渗透压呈先上升, 后下降, 再上升的变化趋势; 红细胞电泳时间、全血粘度、血浆粘度、纤维蛋白含量均呈先快速增加, 后缓慢下降的趋势。血沉先明显加快, 后缓慢复常。三模型组的这些指标变化与对照组比较均有明显差异($P<0.05$)。

四、讨论

根据祖国医学“风寒湿三气杂至, 合而为痹”的理论, 痹证的病因为风寒湿邪。关节痛的发病调查和实验结果表明, 风寒湿确为导致肢体痹证的病因。

痹证发生过程中出现“寒气客于脉外则脉寒, 寒则痛蜷, 缩蜷则脉络急”“客于经络之中则血泣, 血泣不行, 不行则卫气从之而不通, 壅遏而不得行”“客于分肉之间, 迫切而为沫, 沫得寒则聚”等变化。从实验结果来看, 机体感受风寒湿刺激后, 主要表现为微循环障碍和渗出性炎症。在造模过程中, 肢体微血管出现两度缩舒变化, 根据Lewis和Weaterterey White对冷伤的研究提示, 这种变化开始为肾上腺素能神经兴奋使微血管收缩, 经轴突反射, 胆碱能神经

兴奋,使局部微血管又扩张,以加快血流和微循环的血量,感受风寒湿的肢体血液经下丘脑引起一时性全身微血管收缩,最终微血管再度扩张呈充血态。这种神经体液变化的结果产生限制散热和局部复温的效应。

造模后,动物组织病理学上表现为毛细血管内皮细胞收缩,红细胞、血小板着边,红细胞相聚成串,血流消失,白细胞附壁并伸出伪足侵入周围组织,血小板渗出并在胶原纤维处聚集。根据现代病理学理论,血小板渗出聚集可促进磷脂酸水解,引起微血管和血小板相应变化,其释放的低分子阳离子蛋白可促进多核白细胞的浸润,而致密颗粒和小颗粒释放,使局部5-羟色胺、纤维蛋白原、钾离子、通透因子、趋化因子含量增高,引起血管通透性增强,其结果是组织液代谢失衡,并造成能量代谢障碍。在肌肉组织表现为肌束间距加宽,肌浆网扩张,肌丝紊乱松散,肌线飘动模糊及肌带收缩。神经组织中许旺氏细胞内质网和无鞘神经线粒体出现空泡,髓鞘灶性膨胀、分离,郎飞氏结鞘膜不连续。肌肉组织水肿导致组织厚度增加,形变能力下降;能量代谢障碍造成组织pH值下降,cAMP含量减少。对组织功能的影响表现为神经-肌肉传导能力下降,肌肉收缩能力减弱,这与神经、肌肉电生理观测结果一致。

痹证的病因是虚体与风寒湿邪相结合,病机是血泣不行,卫气从之而不通。在实验模型中表现为风寒湿刺激后出现血液流变学改变,如全血粘度、血浆粘度增高,纤维蛋白原含量增多,红细胞电泳时间延长。这些改变使血流阻力增加,微循环血流变慢,这是导

致微循环障碍的一个原因;另外,血液流变学的改变可能还是肢体久痹传变为脏腑痹证的病理基础,因为血液粘度增加对微循环的影响是全身性的。

感受风寒湿刺激后,除微循环障碍外,还表现出组织的非特异性炎症,实验中所见主要是炎细胞渗出,侵入皮肤肌肉组织中呈局灶性炎症反应。炎细胞的浸润在早期以中性粒细胞为主,后期是淋巴细胞,符合一般炎症过程。这主要是微循环障碍造成血管通透性增加,血小板凝集释放炎症趋化因子的结果。值得特别指出的是,在电镜观察中发现有巨噬细胞吞噬松散髓鞘的现象。因为髓鞘具有组织自身抗原性,被巨噬细胞吞噬后有可能激发淋巴细胞致敏,产生自身抗体。

风寒湿刺激造成痹证后,气滞不煦,血泣不濡,津液涩渗而表现出的关节疼痛、重着麻木、屈伸不利等症状,通过造模观测得到了相应的现代病理基础。关节疼痛在初期以神经血管炎症、致痛介质释放为主,后期则以组织中 H^+ 增多为主;重着、屈伸不利是由组织水肿、形变能力下降、神经-肌肉传导能力下降,肌组织能量代谢障碍、肌肉收缩能力减弱造成的,麻木的病理基础是神经组织代谢障碍和髓鞘变性。另外,中医对痹证辨证时重视“风胜者为行痹,寒胜者为痛痹,湿胜者为着痹”这一理论,在实验中确实发现,风寒湿、风寒、湿寒三模型组在病理学变化上或多或少有一定的差异。

本实验证实了自然的风寒湿是痹证的原因,并观测论述了致痹的现代病理过程。

中药外洗治疗皲裂性湿疹12例

陕西省府谷县卫生学校 韦永先

二年多来,笔者应用陕西省中医药研究院附院皮肤科李景霞医师治疗胼胝的外用方,配合去炎松尿素霜治疗皲裂性湿疹12例,全部治愈,现介绍于下。

临床资料:男7例,女5例;年龄15~40岁,病程6月~10年,其中3~5年者8例。皮损分布:分布于双足双手者3例,双手者4例,双足者2例,单手者3例;皮损表现皮肤变厚粗糙、干燥裂隙,其中有10例曾经多种治疗效果欠佳,一般有轻度瘙痒及疼痛。

方药及用法:外洗方:王不留行20~30克,红花10~15克,明矾10~15克,透骨草20~30克。每日一剂,水煎两遍混匀,先熏后浸泡,每次20~30分

钟,第二次浸泡时将原药液加温即可。然后外涂去炎松尿素霜。

治疗结果:一般用药4~5剂,皮肤显著变软,7~10剂后皮肤完全恢复正常,仅有1例用药15剂后才治愈。未见副作用。

典型病例:张××,男,18岁,农民,于1988年4月10日就诊。自述两手虎口处发痒、疼痛四年,干活时疼痛加重并时有鲜血流出,曾经多种治疗效果欠佳。双手大鱼际及虎口处有对称发生的儿掌大之皮肤增厚粗糙,有多条裂口,拟诊为“皲裂形湿疹”。用上述方法治疗五天后皮肤变软,裂隙变浅,继用原方治疗五天告愈,一年后随访未见复发。