

证的研究

大鼠醋酸性胃溃疡和脾虚证证病结合
模型的病理研究

中国中医研究院基础理论研究所

陈小野 吕爱平 苏祖训 邹世洁 向丽华 窦志良 李 昆 蔡洪斌 陈 辉

证病结合模型,就是依据现代中医临床辨证和辨病相结合的特点,在同一动物体上同时复制疾病和证候,形成“××(证)型××病模型”。这一方法在中医临床和中医基础研究之间架起了桥梁,使临床病理、药理能得到直接、准确的阐明,为中医动物模型研究注入活力,同时也为中西医理论结合开辟了一条直接的途径^{〔1,2〕}。本文具体地实践了上述观点,用大鼠复制了脾虚型胃溃疡模型,并设同病异证组、有病无证组、有证无病组及各治疗组作为对照,研究其病理学变化。现报告如下:

材料和方法

一、动物

Wistar 雄性大鼠,平均体重 177 ± 29 克。

二、病、证造模和治疗方法

1. 胃溃疡造模方法:采用醋酸法造模^{〔3〕}。动物禁食 24 小时后,戊巴比妥钠腹腔麻醉,在剑突下做一 2 cm 纵向切口,暴露胃前壁,在胃窦近胃体处浆膜下注射 20% 冰醋酸 0.05 ml/只,注射毕按压针孔,防止醋酸流出。还纳胃体,缝合腹壁。常规抗感染 3 天。

2. 脾虚证造模方法:脾虚证造模采用本所已鉴定的耗气破气加饥饱失常法^{〔4〕}。取厚朴、枳实、大黄,以 3:3:2 比例制成 100% 煎剂,按每只大鼠每 2 天 4 ml 量灌胃,同时隔日喂饲料。共 30 天。

3. 肝郁证造模方法:根据怒伤肝,久则郁原理,用钳子钳夹大鼠尾部,使之保持激怒、争斗状态,每天 45 分钟,同时每周腹侧皮下注射 0.1% 肾上腺素一次,每次 0.2 ml。

4. 健脾治疗方法:采用加味四君子汤治疗。将炙黄芪、党参、炒白术、茯苓、炙甘草,按 2:2:2:2:1 比例制成 100% 煎剂,每只大鼠每 2 天灌胃 4 ml。非治疗组以同量自来水灌胃。共 30 天。

三、分组

全部大鼠随机分为 10 组,每组各给予不同的处理方法。各组的总实验期均统一规定为 30 天。(1)对照组:8 只大鼠,正常饲养 30 天;(2)胃溃疡组(简称溃疡组):10 只大鼠,正常饲养 9 天后行胃溃疡造模,继续饲养 21 天;(3)胃溃疡加健脾治疗组(简称溃疡治疗组):10 只大鼠,胃溃疡造模同溃疡组,在实验期 30 天内给予健脾治疗;(4)脾气虚组(简称脾虚组):8 只大鼠,脾虚造模 30 天;(5)脾气虚加健脾治疗组(简称脾虚治疗组):8 只大鼠,脾虚造模同脾虚组,在脾虚造模同时给予健脾治疗;(6)肝气郁组(简称肝郁组):8 只大鼠,肝郁造模 30 天;(7)胃溃疡加脾气虚组(简称溃疡脾虚组):12 只大鼠,脾虚造模 30 天,在造型第 10 天行胃溃疡造模;(8)胃溃疡加脾气虚加健脾治疗组(简称溃疡脾虚治疗组):12 只大鼠,造模方法同溃疡脾虚组,在实验期同时给予健脾治疗;(9)胃溃疡加肝气郁组(简称溃疡肝郁组):10 只大鼠,肝郁造模 30 天,在肝郁造模的第 10 天行胃溃疡造模;(10)胃溃疡加肝气郁加健脾治疗组(简称溃疡肝郁治疗组):11 只大鼠,造模方法同溃疡肝郁组,在实验期同时给予健脾治疗。

四、病理学观察

1. 胃粘膜面、浆膜面观察和粘连指数、溃疡指数计算:实验结束后,禁食 24 小时,颈椎脱臼处死大鼠,剖腹,暴露全胃,结扎幽门和贲门,向胃腔内注入 1% 中性甲醛 5 ml,摘下全胃,浸于 1% 中性甲醛内 10 分钟,沿胃大弯剪开胃壁,冲洗后摊于滤纸上,用解剖显微镜观察粘膜面和浆膜面的色泽和血管状况。对胃溃疡造模动物在解剖显微镜下测量浆膜面粘连及粘膜面溃疡的直径和横径,依刘良改良 Okabe 法^{〔5〕}分别计算其粘连指数和溃疡指数。

2. 组织病理观察和粘膜固有层修复率计算:溃疡大鼠取其溃疡部位组织,非溃疡大鼠取胃同一部位

组织, 石蜡包埋切片, HE 染色, 行光镜观察并计算其粘膜固有层修复率^{*}。肝郁组及对照组动物取右侧肾上腺称重并行组织学观察。

结 果

一、动物外观

脾虚各组动物见稀便、纳呆、消瘦、蹇缩、耳尾色白、毛无光泽等。肝郁各组动物见易怒撕咬。脾虚各治疗组外观有明显改善, 其他各治疗组与相应非治疗组未见明显差别。

二、造模后的死亡动物数

动物造模后共死亡大鼠 6 只, 其中溃疡脾虚组死亡 4 只, 溃疡脾虚治疗组和溃疡肝郁治疗组各死亡 1 只。

三、体重

实验前各组动物重量基本一致。实验后对照组 8 只鼠的体重平均为 343.3 ± 8.6 克(均值 $\pm$ 标准误, 下同)。

实验后溃疡组 10 只鼠的平均体重为 306.6 ± 8.55 克, 明显低于对照组($P < 0.01$), 经加味四君子汤健脾治疗后, 溃疡治疗组 10 只鼠的平均体重增加至 337.6 ± 17.7 克, 与对照组已无显著性差别($P > 0.05$)。

实验后脾虚组 8 只鼠的平均体重为 192.1 ± 11.9 克, 显著低于对照组($P < 0.01$), 经健脾治疗后, 脾虚治疗组 8 只鼠的平均体重已增加至 243.1 ± 12.9

克, 较脾虚组有明显增加($P < 0.05$), 但仍明显低于对照组($P < 0.01$)。

实验后溃疡脾虚组 8 只鼠的平均体重为 248.8 ± 11.7 克, 明显低于对照组($P < 0.01$), 虽经健脾治疗, 体重仍无明显变化。

实验后肝郁组 8 只鼠的平均体重为 344.3 ± 5.2 克, 溃疡肝郁组 10 只鼠为 330.7 ± 8.1 克, 溃疡肝郁治疗组 10 只鼠为 346.6 ± 10.2 克。以上各组体重与对照组比较均无显著性差别($P > 0.05$)。

四、胃粘膜面和浆膜面的观察

肝郁组、溃疡肝郁组、溃疡肝郁治疗组动物胃浆膜面血管均粗大淤血, 胃粘膜面淤血, 色红。对照组胃粘膜面色红。溃疡治疗组、脾虚治疗组、溃疡脾虚治疗组胃粘膜面色红, 而各相应非治疗组则色淡。

五、粘连指数、溃疡指数和粘膜固有层修复率

附表表示, 实验后溃疡脾虚治疗组粘连指数较溃疡脾虚组有明显降低($P < 0.01$), 溃疡脾虚治疗组和溃疡肝郁治疗组的粘膜固有层修复率均较相应造模组有显著升高($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。其余各相应组间各指标均无显著性变化($P > 0.05$)。

六、肾上腺重量

实验后对照组 8 只鼠的肾上腺重量为 0.03 ± 0.003 克; 肝郁组 8 只鼠为 0.038 ± 0.002 克, 较对照组有显著性增加($P < 0.05$)。

七、胃和肾上腺组织病理观察

1. 对照组: 胃粘膜各层形态正常, 偶见粘膜下层

附表 实验后各组粘连指数、溃疡指数、修复指数的统计

项 目	溃疡组 (10只)	溃疡治疗组 (10只)	溃疡脾虚组 (8只)	溃疡脾虚治疗组 (11只)	溃疡肝郁组 (10只)	溃疡肝郁治疗组 (10只)
粘连指数	6.38 ± 1.02	4.17 ± 0.61	8.67 ± 1.26	$4.00 \pm 0.49^{**}$	6.00 ± 0.65	6.43 ± 0.71
溃疡指数	3.13 ± 0.52	3.00 ± 0.56	4.17 ± 0.85	3.55 ± 0.41	3.33 ± 0.39	4.86 ± 0.68
修复率	0.74 ± 0.08	0.77 ± 0.07	0.43 ± 0.13	$0.72 \pm 0.04^{*}$	0.60 ± 0.05	$0.83 \pm 0.05^{**}$

注: (1)表中数据为均值 $\pm$ 标准误; (2)与相应造模组比较: $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$

少量淋巴细胞、浆细胞浸润。肾上腺皮质各层未见脱脂及增生。

2. 溃疡组: 胃壁各层均受破坏, 形成穿透性溃疡。从正常部位至溃疡边缘, 粘膜固有层从底部起逐渐消失, 被复上皮逐渐向下延伸形成腺样结构, 并呈单层向溃疡面生长。溃疡底部各层所见, 渗出层由中性白细胞和纤维素组成, 坏死层见无结构红染物质, 肉芽组织层由纤维母细胞、纤维细胞、胶原纤维、毛细血管及各种炎细胞组成。近深部见胶原纤维增多、

透明样变、血管闭锁、淋巴细胞相对增多等, 具有向疤痕组织过渡的特征。粘连层浆膜面见粘连的肝、胰、大网膜等组织。

3. 溃疡治疗组: 与溃疡组相比, 被复上皮生长较为旺盛, 坏死组织减少, 肉芽组织中纤维母细胞增多, 新生毛细血管增多且有趋向性, 管壁较幼稚, 中性粒细胞相对增多。

* 粘膜固有层修复率 = 新生固有层长度 / 粘膜肌层受损伤长度

4. 脾虚组:与对照组相比,胃粘膜固有层底部及粘膜下层血管扩张,管壁增厚,有较多炎细胞浸润,以中性粒细胞为主。粘膜肌层出现增生。

5. 脾虚治疗组:胃粘膜表现同对照组。

6. 肝郁组:与对照组相比,胃粘膜被复上皮细胞及腺上皮细胞增大,胞浆饱满,腺体挺直有僵硬感。肾上腺皮质束状带明显脱脂,束状带及网状带明显增生。

7. 溃疡脾虚组:与溃疡组相比,被复上皮增生明显减弱,极少见单层生长,新生被复上皮中有多处小坏死灶,坏死层较厚,肉芽组织中纤维细胞增多,纤维母细胞明显减少,纤维组织结构紊乱。毛细血管极少,且无趋向性。炎细胞明显增多。

8. 溃疡脾虚治疗组:与溃疡脾虚组相比,被复上皮生长良好,新生上皮内未见坏死。坏死层较薄,肉芽组织中纤维母细胞增多,纤维细胞减少,毛细血管明显增多,有趋向性,管壁较幼稚,炎细胞减少。

9. 溃疡肝郁组:与溃疡组相比,被复上皮生长旺盛,单层生长普遍。肉芽组织中纤维母细胞和胶原纤维均明显增多。毛细血管扩张,增多,管壁成熟度高,并有较多闭锁、玻璃样变,淋巴滤泡增多。

10. 溃疡肝郁治疗组:与溃疡肝郁组相比,被复上皮生长更为迅速,但新生上皮内可见坏死,其他相同。

讨 论

一、造模及治疗方法选择依据

胃溃疡造模方法为Okabe于1969年所建立⁽⁶⁾,比其他模型更接近于临床实际,病程较长更能满足中药治疗需要。脾气虚造模方法系采用耗气破气和饥饱失节新思路,具有避免单纯泻下、延长造模期和多因素致脾虚等优点⁽⁴⁾。

“凡郁皆肝病也”,长期情志暴怒或郁结是导致肝气郁结的基本原因。金益强发现,肝郁患者尿3-甲氧-4-羟基苯乙醇硫酸酯盐(MHPG-SO₄)减少,支持肝郁证的情感发病观点⁽⁷⁾。因此,建立肝郁证动物模型也必须从情感因素着手。比较心理学的研究表明,动物也有丰富的低级情感活动,国内外已有的几种肝郁模型(艾叶、胸胁苦满、CCl₄等模型),均忽略了情感因素。本实验用夹尾使动物长期保持激怒状态,达到“怒伤肝”“久则郁”的效果;同时每周注射一次肾上腺素,能模拟激怒状态⁽⁸⁾,强化夹尾效果。

二、实验结果的探讨

本实验溃疡造型获得成功。溃疡的基本机理是在醋酸消化胃壁全层的基础上继以胃液对溃疡粘膜面的消化,所以,溃疡粘膜面是组织学的观察重点。加味

四君子汤能改善胃粘膜一般状况,促进溃疡愈合,减少坏死,促使肉芽组织保持活力,说明该方有一定的非(证候)特异性促溃疡愈合作用,与类似实验的结果一致⁽⁹⁾。与对照组相比,脾虚组在外观、体重均呈虚象,胃粘膜组织炎症明显。加味四君子汤方证相符,有效地改善了上述病变。由于上述病及证的病理基础,所以溃疡脾虚组与溃疡组相比,也出现各种虚证表现,死亡率增加,全身营养不良致使胃壁营养障碍,进而使胃粘膜防御、修复能力下降,肉芽组织活力明显减弱,溃疡迟迟不愈。加味四君子汤在部分指标上显示出明显疗效。加味四君子汤用于溃疡组和溃疡脾虚动物均有疗效,但后者更为显著,改善指标更多,幅度更大。因为方证更为相符。

肝郁组与对照组比较,从全身状态、胃和肾上腺病理上看,均处于应激状态,与脾虚证显著不同,与临床肝郁证相符。溃疡肝郁组出现与溃疡组、溃疡脾虚组不同的病理变化。一方面应激状态下糖皮质激素分泌增多,使胃酸增多,胃粘膜抵抗力下降;另一方面,部分实验证明应激状态下或与肝郁犯胃有关的胃热证状态下胃粘膜损伤缓解,血供增加^(10,11),从而有利于胃壁损伤的修复。由于这种复杂的双向作用,与溃疡组相比,溃疡肝郁组在溃疡愈合上没有明显差异。肉芽组织生长旺盛,但表现为一种瘀血、加速成熟、加速老化的肉芽组织,与溃疡脾虚治疗组的肉芽组织改善趋势截然不同。溃疡肝郁治疗组各指标综合评价,与溃疡肝郁组无显著区别,说明方证不符难以产生疗效。

临床研究表明,肝郁患者胃酸分泌增多,脾虚患者胃酸分泌减少,血清蛋白低于正常等均与本实验符合⁽¹²⁾,本实验能较好地解释临床胃病患者脾虚气滞型重于脾虚型,后者又重于肝郁型的规律^(13,14)。脾虚型胃溃疡模型是成功的,以此模型为中心相关各组病理表现及其相互关系,具体体现了中医“同病异证”“同病异治”的原理。同时,实验结果也表明,证病结合动物模型研究能提供比单纯证或单纯病模型更多的信息。

本实验得到了王安民、王淑兰老师热情指导,谨表感谢。

参 考 文 献

- (1) 吕爱平,等.论疾病模型证候化.医学与哲学1989,(3):25.
- (2) 陈小野,等.从大鼠脾虚型胃溃疡模型看证病结合在脾虚动物实验中的意义,待发表.
- (3) 郭鹂.人类疾病的动物模型(一).第一版.北京:人民卫生出版社,1982:271.

- (4) 王淑兰, 等. 马属动物“脾气虚”证的实验研究. 中医杂志 1990; (3): 49.
- (5) 刘良, 等. 大鼠束缚水浸应激性胃溃疡模型的实验控制. 中国药理学通报 1988; (4): 246.
- (6) Okabe, et al. A Method for experimental, penetrating gastric and duodenal ulcers in rats. Digestive diseases 1971; 16(3): 277.
- (7) 顾永华. 肝郁证实质及动物模型研究进展. 中西医结合杂志 1989; (9): 575.
- (8) 张松青, 等. 肾上腺素加冷刺激对大鼠红细胞膜的影响, “血瘀”模型红细胞膜特性初探. 中西医结合杂志 1987; (8): 380.
- (9) 危北海, 等. 健脾益气方药的临床疗效观察和实验研究. 内部资料, 1989.
- (10) Derelenko M J et al. Influence of prednisolone on ethanol-induced gastric injury in the rat. Dig Dis Sci 1982; 27: 149.
- (11) 侯灿. “八纲”病理生理学基础初步探讨. 中医杂志 1964; (12): 32.
- (12) 劳绍贤. 脾虚证候现代研究概况. 新中医 1985; (9): 49.
- (13) 郭庆, 等. 脾胃虚弱及脾胃不和型胃病胃粘膜病变的比较观察. 中西医结合杂志 1985; (1): 23.
- (14) 张桂珍, 等. 纤维胃镜活体探讨脾虚不同证型在病理形态学上的差别. 中医药学报 1987; (4): 41.

• 中医药信息 •

• 山东省威海市中医院新近建成并开诊营运。威海市委市政府十分重视振兴中医工作, 在财政十分困难的情况下, 从1988年到1990年先后筹集资金400余万元, 规划占地100余亩, 于1990年底建成6580平方米的门诊大楼, 并设病床100余张。医院建在风光秀丽的威海市内, 中医药和中西医结合人材调配力量较强。

• 国家中医药管理局最近公布了1990年度中医药科技进步奖, 其中一等奖5项, 二等奖16项, 三等奖25项。这次获奖的项目, 在治疗急重症方面取得可喜成绩。中国中医研究院骨伤科研究所的“四种固定方法对兔胫骨折愈合生物适应性的实验研究”, 阐明了“动静结合”治疗骨折的原理, 提出以小夹板的局部活动度对骨折愈合最为有利。该院针灸研究所的“针刺对失血性和创伤性休克作用机理的实验研究”, 以针刺“人中”对失血性休克和创伤性休克机理进行了系统的实验研究, 阐明了“人中”穴位治疗疾病的机理。该院中药研究所的“桂枝汤功能的实验研究”, 遵循《伤寒论》所述方义, 运用现代实验药理学、病毒学等多学科手段对桂枝汤的主方和配伍原理等进行了分析, 具有创新性。在中药及制剂技术研究方面, 中国药品生物检定所的“进口药材质量标准制定与检验方法研究”成绩突出, 他们在认真总结传统中药材鉴别经验的基础上, 对33种进口药材制定了质控标准, 并被国家批准为对外鉴定进口药材合同条款和到货检验的法定依据。陕西中医药研究院“应用电子计算机整理中医古籍的研究”, 实现了古籍通检编制工作的自动化。

• 国家中医药管理局最近在北京召开了外宾联谊会, 向外国驻华人员介绍中医、宣传中医。目前, 我国已与世界上近百个国家和地区建立了中医药医疗、

科研、学术交流等合作关系, 中药出口已扩大到120个国家和地区。参加联谊会的100个国家的130多名外交官和国际组织驻华代表参观了中医研究院、北京中医学院和同仁堂制药厂, 观看了外国留学生表演的有中医特色的文艺节目。世界卫生组织副总干事阿卜杜勒·莫门盛赞中国是发展传统医药最成功的典范。

• 国家中医药管理局等三单位在人民大会堂举行报告会, 欢迎中国烧伤创疡中心赴泰国医疗队归来。9月24日泰国首都曼谷发生一起液化石油气爆炸事故, 当场死亡数十人, 另有30多人被烧伤。应泰国政府邀请, 中国烧伤创疡中心徐荣祥教授、李文东医生赴泰, 采用中药“湿润烧伤膏”及“烧伤湿润暴露疗法”进行治疗, 二周内, 病人全部康复, 泰国国王普密蓬·阿杜德称赞中国医生用最好的技术, 取得了最好的疗效。

• 以长白山特有中药研制而成的治疗尿毒症新药“尿毒灵”, 被专家们誉为“中药治疗急症的一大突破”。长春中医学院附属制药厂根据尿毒症病人昏迷及肾排泄功能不良等特点, 用大黄等中药研制成复方灌肠剂, 通过直肠门静脉吸收药物有效成份, 并从肠道排出体内毒物从而减轻肾脏负担, 经过临床验证, 显效率达39%, 总有效率为87.7%, 一般灌肠3天即可见效, 且无任何毒副作用。

• 中华全国中医学会肾病专业委员会第六届学术交流会议于1990年11月14日~18日在安徽旌德召开, 出席会议的有来自全国各省市自治区的代表240余人, 收到学术论文200余篇。代表中既有来自大专院校及科研单位、富有科研成果的专家教授, 也有长期在基层医疗单位, 从事临床工作而积累了丰富的临床经验的临床医师; 论文中既有继承发掘中医宝贵的传统经验治疗疑难病证而取得良好疗效的文章, 也有将现代最新科技手段运用于中医临床从而提高临床诊疗水平的报告。会议学术气氛浓厚, 讨论热烈。