

四逆胶囊对厥逆证模型小鼠肢体温度和心电图的影响

秦 鉴¹ 吴伟康² 金明华¹ 张 瑜¹ 陈树清¹

摘要 目的:探讨厥逆证模型的建立方法,观察四逆胶囊对模型的影响。方法:根据心电图 J 点电压的变化确定“厥逆证”模型造模时垂体后叶素、硝酸甘油的用量和使用时间,观察造模小鼠肢体温度和心电图的变化及四逆胶囊的影响。结果:注射垂体后叶素再注射硝酸甘油,可复制的“厥逆证”模型;四逆胶囊能阻止模型肢体温度的下降、改善心电图缺血改变。结论:本模型与厥逆证有较大的相似性;四逆胶囊对厥逆证模型具有回阳救逆的功效。

主题词 厥逆/中医药疗法 心电图描记术/药物作用 @ 四逆胶囊

Effects of Sini Capsule on Temperature of Limbs and Electrocardiogram in Model Mice of Syndrome of Cold Limbs

Qin Jian¹, Wu Weikang², Jin Minghua¹, et al.

(1. The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080; 2. Institute of Integrated Chinese and Western Medicine, Sun Yat-sen University)

Objective: To probe into the method to establish model of syndrome of cold limbs and observe the effect of Sini Capsule on the model. **Methods:** Dosages and time points of posterior pituitary hormones and nitroglycerin in modeling of syndrome of cold limbs were determined according to changes of voltage of J point in electrocardiogram (ECG), and changes of temperature of limbs and ECG and the effects of Sini capsule in the model were investigated. **Results:** Injection of posterior pituitary hormones followed by injection of nitroglycerin could establish the model of syndrome of cold limbs; Sini capsule could block the decrease of temperature of limbs in the model and improve the ischemic changes of ECG. **Conclusion:** This model is very similar to the syndrome of cold limbs; Sini capsule has the function of recuperating depleted Yang and rescuing the mouse from collapse for the model of syndrome of cold limbs.

Key Words Cold limbs/TCM therapy electrocardiography/drug application @ Sini Capsules

《伤寒论》中的四逆汤是为少阴病厥逆证而设,而现有的研究表明,四逆汤具有对抗实验性心肌缺血的作用^[1],由此我们认为,实验性心肌缺血一再灌注可能与中医的厥逆证密切相关,可用实验性心肌缺血一再灌注来复制“厥逆证”(缺血一再灌注)的模型。我们对上述推论进行了初步研究,现将结果报告如下。

1 材料

普通级昆明种小鼠,体重 22 ± 2 g,雄性,由中山大学实验动物中心提供。垂体后叶素为上海生物化学制药厂产品,批号 981209,内含缩宫素、升压素;硝酸甘油由广州明兴制药厂生产,批号 991004。TM-1310 高精度测温表由杭州温控仪器厂生产, Biolap98 智能型生物信号显示处理系统由中山大学生理学实验中心提供。四逆胶囊委托广东宏远药业有限公司制剂,批号 19981020。该胶囊由四逆汤(熟附子、干姜、甘草)的提取成分制成,每粒重 0.4g。

2 实验方法

2.1 心肌缺血一再灌注模型造模方法的确定:(1)垂体后叶素剂量确定:40 只昆明小鼠分为 5 组,每组 8 只,乌拉坦麻醉、固定。心电图标准 II 导联导线与 Biolap98 智能型生物信号显示处理系统连接。用生理盐水配垂体后叶素,按 5U/kg、10U/kg、20U/kg、40U/kg、80U/kg 腹腔注射。5~10 分钟记录一次心电图 J 点电压、心率,确定可致小鼠心肌明显缺血(J 点升高大于 0.1mV,心率有明显降低)时间达 40 分钟以上的最小垂体后叶素用量为 20U/kg。(2)硝酸甘油剂量确定:40 只昆明小鼠分组、麻醉、固定、心电图连接同上,按 20U/kg 垂体后叶素剂量腹腔注射。30 分钟后,生理盐水稀释硝酸甘油,按 2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg、40mg/kg 腹腔注射。分别记录 0 分钟、30 分钟、40 分钟、50 分钟、60 分钟、80 分钟心电图 J 点的电压、心率,确定可使垂体后叶素所致的心肌缺血在第 40~50 分钟以后完全解除的最小硝酸甘油剂量为 10mg/kg。

2.2 实验分组及处理方法:32 只昆明小鼠分为四逆胶囊组、消心痛组、模型组、正常对照组 4 组。按照体表面积比例将四逆胶囊人体每日剂量换算成小鼠每日用药量 0.0124g/20g。消心痛也按上述方法换算剂量为

基金项目:国家中医药管理局资助项目(89B75),广东省中医药管理局资助项目(522206003)

1 中山大学附属第一医院,广东省广州市中山二路 58 号(510080)

2 中山大学中西医结合研究所

收稿日期:2003-11-04;修回日期:2003-12-22

表 1 不同时间“厥逆证”(缺血一再灌注)小鼠模型肢体温度变化及四逆胶囊对肢温的影响($^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$)

时间	正常对照组(8只)	模型组(8只)	四逆胶囊组(8只)	消心痛组(8只)
0 分钟	27.94 $\pm$ 0.07	28.00 $\pm$ 0.14	27.96 $\pm$ 0.09	28.03 $\pm$ 0.12
5 分钟	27.85 $\pm$ 0.11	27.38 $\pm$ 0.09**	27.79 $\pm$ 0.17 [#]	27.55 $\pm$ 0.11***
10 分钟	27.70 $\pm$ 0.08	26.96 $\pm$ 0.12**	27.58 $\pm$ 0.10 [#]	27.30 $\pm$ 0.16***
40 分钟	27.58 $\pm$ 0.07	26.54 $\pm$ 0.19**	27.45 $\pm$ 0.11 [#]	26.76 $\pm$ 0.11***
50 分钟	27.54 $\pm$ 0.12	27.30 $\pm$ 0.23*	27.75 $\pm$ 0.12 [#]	27.76 $\pm$ 0.05 [#]
60 分钟	27.52 $\pm$ 0.09	27.51 $\pm$ 0.23	27.79 $\pm$ 0.16 [#]	27.83 $\pm$ 0.07 [#]
80 分钟	27.48 $\pm$ 0.10	27.56 $\pm$ 0.23	27.86 $\pm$ 0.11 [#]	27.91 $\pm$ 0.10 [#]

与同时间正常对照组比较, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$; 与同时间模型组比较, # $P < 0.05$, # # $P < 0.01$; 与同时间四逆胶囊组比较, ☆ $P < 0.01$

表 2 不同时间“厥逆证”(缺血一再灌注)模型小鼠心电图 J 点变化及四逆胶囊的影响(mV, $\bar{x} \pm s$)

时间	正常对照组(8只)	模型组(8只)	四逆胶囊组(8只)	消心痛组(8只)
0 分钟	0.200 $\pm$ 0.052	0.208 $\pm$ 0.033	0.216 $\pm$ 0.040	0.203 $\pm$ 0.034
5 分钟	0.201 $\pm$ 0.050	0.255 $\pm$ 0.032*	0.225 $\pm$ 0.029	0.208 $\pm$ 0.024 [#]
10 分钟	0.201 $\pm$ 0.053	0.306 $\pm$ 0.043**	0.231 $\pm$ 0.035 [#]	0.214 $\pm$ 0.034 [#]
20 分钟	0.205 $\pm$ 0.048	0.318 $\pm$ 0.033**	0.238 $\pm$ 0.029 [#]	0.224 $\pm$ 0.031 [#]
30 分钟	0.205 $\pm$ 0.058	0.324 $\pm$ 0.035**	0.254 $\pm$ 0.025* [#]	0.241 $\pm$ 0.024* [#]
40 分钟	0.198 $\pm$ 0.049	0.281 $\pm$ 0.028**	0.229 $\pm$ 0.029 [#]	0.203 $\pm$ 0.039 [#]
50 分钟	0.204 $\pm$ 0.062	0.205 $\pm$ 0.032	0.235 $\pm$ 0.025	0.203 $\pm$ 0.039

与本组 0 分钟比较, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$; 与同时间模型组比较, # $P < 0.01$

0.078mg/20g。四逆胶囊组灌服四逆胶囊,消心痛组灌服消心痛,模型组和正常对照组灌服生理盐水。灌胃量:0.02ml/g,每天 1 次,连续 3 天,最后一次用药后 1 小时开始各项实验。最后一次灌胃后,清醒固定两前—后三肢于鼠板上,将测温表的热电偶头部用医用透气胶布固定在另一后肢足掌上,静置 30 分钟使肢温稳定(环境温度 24~25 $^{\circ}\text{C}$)。最后一次灌胃后 1 小时四逆胶囊组、消心痛组和模型组按 20U/kg 剂量腹腔注射生理盐水稀释的垂体后叶素,30 分钟后,生理盐水稀释硝酸甘油,按 10mg/kg 腹腔注射硝酸甘油。正常对照组注射等体积的生理盐水。分别记录 0 分钟、5 分钟、10 分钟、20 分钟、30 分钟、40 分钟、50 分钟不同时点肢体温度的变化和心电图 J 点的电压。

2.3 统计学方法:计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组计量资料均数差异的比较运用 F 检验,同一受试对象治疗前后计量资料的比较应用配对 t 检验。采用双侧检验,显著性水平 P 值界限为 0.05。各统计资料处理均在 SPSS 8.0 for Windows 中进行。

3 结果

3.1 “厥逆证”(缺血一再灌注)模型肢体温度的变化及四逆胶囊对肢温的影响:结果显示,缺血一再灌注模型从 0 分钟至 40 分钟时,小鼠肢体温度呈进行性下降,下降幅度最高达 1.5 $^{\circ}\text{C}$;50 分钟时,心肌缺血解除,但肢体温度并未因此而完全恢复,仍然与对照组有明显差异。对照组肢体温度也有下降,但下降幅度与模型组相比较存在明显的差异。四逆胶囊可以阻止缺血一

再灌注小鼠肢体温度的下降,即有“回阳救逆”的功效。消心痛小鼠肢体温度与正常对照组相比有非常明显的差异,“回阳救逆”功效较差。结果见表 1。

3.2 “厥逆证”(缺血一再灌注)模型小鼠心电图 J 点的变化及四逆胶囊的影响:结果显示,“厥逆证”(缺血一再灌注)模型小鼠心电图 J 点在 30 分钟时抬升最高,比上述肢体温度下降至最低的时间稍提前;50 分钟时,心肌缺血解除,比上述肢体温度恢复时间提前。四逆胶囊和消心痛均可以明显改善“厥逆证”(缺血一再灌注)心肌缺血所致的心电图 J 点抬高。结果见表 2。

4 讨论

自 1938 年 Milville 首先采用垂体后叶素成功地复制了急性心肌缺血的动物模型之后,该模型一直被应用于筛选抗心肌缺血药物的研究。在该模型的基础上,加用适量的硝酸甘油加速心肌缺血的恢复,加快由心肌缺血向心肌再灌注的转变,类似于临床心绞痛发作时服用药物扩张冠状动脉的过程,该模型的应用范围由单纯的心肌缺血研究有可能扩展到缺血一再灌注研究。

本实验发现缺血一再灌注的小鼠在注射垂体后叶素后数分钟内,随着心电图 J 点的不断抬升,心肌缺血的加重,逐渐出现明显的周围灌注不足,如耳壳发白,尤其是肢体温度呈进行性下降,至 40 分钟时,小鼠肢体温度下降至最低,较初始下降 1.5 $^{\circ}\text{C}$ 。50 分钟时,心电图 J 点回复至实验前水平,心肌的缺血基本解除,恢

复再灌注,但是小鼠肢体的温度仍然与正常对照组存在明显的差异。

以上结果表明,此模型无论在缺血时还是再灌注时,都存在心功能的下降和微循环的障碍。中医将肢体温度的显著下降称为厥逆证,以上结果表明,心肌缺血和再灌注都可以导致厥逆证的出现。就本模型而言,小鼠除肢体温度下降外,还出现勾腰弓背,扎堆取暖,耳壳发白等属于中医阴证、寒证的临床表现,因此本实验缺血一再灌注所表现的症状与中医的厥逆证有较大的相似性,属中医寒厥的范畴,提示应当用温阳散寒救逆的方法,如四逆汤进行治疗。

将本研究中四逆胶囊和消心痛对肢体温度和心电图影响的结果对比分析,我们发现四逆胶囊和消心痛都能够降低缺血一再灌注模型心电图 J 点的抬升,但四逆胶囊可以阻止该模型所致的肢体温度下降,起到“回阳救逆”的功效;消心痛能改善心肌缺血,但对模型小鼠的肢体温度的下降的影响很小。由此可见,四逆胶囊“回阳救逆”的功效是通过包括改善心肌缺血在内的

多重途径来实现的。研究表明,四逆汤可通过扩张冠状动脉、保护缺血心肌、抗自由基损伤^[2,4]等方面改善心功能,通过改善患者血液流变性^[4]、升压^[5]、改善红细胞膜 ATP 酶的活性^[6]使四肢微循环改善,增加四肢尤其是皮肤的血流量。通过这些途径,四逆汤使“厥逆证”(缺血一再灌注)模型小鼠肢体的温度上升,达到回阳救逆的目的。

参考文献

- 1 秦鉴,吴伟康.四逆汤实验研究及临床应用.中国中医急症,1999,8(增刊):115~117.
- 2 吴伟康,侯灿,罗汉川.四逆汤对缺血心肌 NBF、OFR 浓度、SOD 活性及 MDA 含量的影响.中山医科大学学报,1993,14(4):292~294.
- 3 吴伟康,罗汉川,侯灿.四逆汤清除氧自由基及抑制心肌脂质过氧化反应的体外试验.中国中药杂志,1995,20(11):690~694.
- 4 苏建文,吴伟康,林曙光,等.四逆汤对经皮冠状动脉成形术血液流变性的改善作用.中国中西医结合杂志,1997,17(6):345~347.
- 5 陈玉生.中医药国际学术论文集.北京:中国学术出版社,1987:189~190.
- 6 秦鉴,吴伟康,李俊彪,等.四逆汤和消心痛单用或联用治疗冠心病心绞痛的比较研究.中国中医药科技,2001,8(1):6~8.

四物汤加减治疗妇科病 3 例

陈林丽华* 陈小莺*

1 闭经

王某某,女,23 岁。1991 年初因工作紧张劳累而闭经半年有余,延医求治,均不效,求治于余,症见心悸,头晕,纳少,疲乏无力,寐差梦多,大便秘结,舌质暗红,舌边有瘀点,脉沉细无力。证属脾虚湿困,瘀血内阻,冲任不通。治宜健脾化湿,活血调经。方用加减四物汤。处方:当归、丹参、菟藟子、白芍、桃仁、麦芽、茯苓各 15g,酒大黄 10g,熟地黄、枸杞子、牛膝各 20g,红花、陈皮、法半夏、鸡内金各 10g,炙甘草 6g。上方服 18 剂,后以陈夏六君丸(映山药丸系列之一)善后。共服药 2 个月,诸症消失,月经来潮。

按:本例因过劳伤脾,致气虚血少,血行不畅导致闭经。脾失健运,生化无源,故疲乏无力,食少。清阳不升,故头晕。痰饮凌心,则心悸不寐。而舌暗,舌边有瘀点皆因瘀血内阻之征。本方以加减四物汤养血活血调经为主,二陈汤健脾化湿,理气和中为辅,配以鸡内金、麦芽健脾消食,牛膝、菟藟子活血化瘀以调经,大黄祛瘀生新。如是则脾健湿化痰消,气血充实,冲任畅达,故月经来潮。

2 不孕症

李某,女,32 岁。已婚 5 年,闭经 3 年,至今未孕,症见口苦,心烦,便干,肢冷,舌暗,苔薄白,脉细弦而涩。证属肾阳不足,阴寒内盛,血脉瘀阻而为病。治宜温经散寒,活血化瘀。方用加减四物汤。处方:桃仁、当归、酒大黄、白芍 15g,红花、吴茱萸各

5g,熟地黄、牛膝各 20g,炮附子 30g,肉桂 2g,艾叶、水蛭、土鳖虫各 10g,炙甘草 6g,附子先煎 3 小时。上方连服 2 个月,月经来潮。续用养肝补肾之剂和滋肾育胎丸以善后。1 年后怀孕并顺产一男婴。

按:本例患者素体虚弱,先天禀赋不足,肾精亏虚,胞宫寒冷,瘀血内阻,冲任不通,故不孕。治以加减四物汤养血活血调经;附子、肉桂、艾叶、吴茱萸温经散寒;水蛭、土鳖虫、牛膝、酒大黄以加强活血破血、祛瘀生新之功效。使肾气充实、阴寒自消,于是“月事以时下,故有子”。

3 子宫肌瘤

李某某,女,45 岁。月经紊乱无定期,色暗量多,少腹部可扪及包块,后经妇科 B 超证实为 3.2cm×2.5cm 子宫肌瘤。舌暗,苔薄白,脉沉细而涩。证属气血两虚,血脉瘀阻。治宜益气养血,化瘀消症,方用加减四物汤。处方:桃仁、当归、赤芍、浙贝母各 15g,桂枝、鸡内金、大黄各 10g,穿山甲 6g(先煎),麦芽、沙参、茯苓各 20g,太子参 30g,红花、川芎、甘草各 5g。上方连服 2 个月余,同时服用补血大活络丸(映山药丸系列之一)。经 B 超复查,子宫肌瘤已消。

按:子宫肌瘤属中医的“症瘕”范畴。本病之成因,较为复杂。多由正气不足,邪气内侵,或气滞血瘀,聚而为病。本例患者年过六七,正气内虚,气血失和,瘀阻胞宫,变生症瘕。方用加减四物汤加穿山甲、大黄以活血行瘀,散结消症,浙贝母清热散结,太子参、茯苓、炙甘草等益气养血,健脾扶正。纵贯全方,共奏扶正祛邪,活血化瘀,消症散结之功效。

* 香港名医陈映山学术研究中心,香港干诺道西 42-44 号高富大厦 8 楼 803 号

收稿日期:2004-12-02