

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.09.017

基于望诊的急性胃肠道辐射伤大鼠模型 中医证候演变规律

冯剑, 窦永起*, 王毓国, 徐冉, 秦丽, 许成勇

(解放军总医院全军中医研究所, 北京市海淀区复兴路 28 号, 100853)

摘要 目的 通过观察实验动物活体、器官和组织动态变化, 总结急性胃肠道辐射伤的中医证候学特点及演变规律。方法 将 90 只 SD 雄性大鼠随机分为模型组 80 只和对照组 10 只。模型组采用⁶⁰Co- γ 射线单次全身照射, 对照组不予照射, 观察大鼠全身状况, 并分别于照射后第 1、4、7、10、14 天肉眼及显微镜观察胃肠道及组织形态变化。结果 照射后初期 (0~2 天), 模型组出现躁动、多饮、目赤等现象, 小肠黏膜轻度充血水肿; 早期 (3~6 天), 体质量下降, 水样便, 小肠黏膜充血水肿明显、多发出血灶及糜烂坏死; 中期 (7~12 天), 经过短暂恢复后体质量继续下降、拒食、大量死亡, 胃肠腔内淤积紫黑色黏液, 黏膜下层微血管闭塞; 后期或恢复初期 (13 天后), 蜷缩少动、毛发干枯、爪甲苍白, 肠组织固有层间质纤维增加。对照组活体、胃肠及黏膜组织观察均无异常。结论 急性胃肠道辐射损伤, 初期属热毒内盛、气血两燔证, 早期为热灼血肉、元气耗伤、脾阳不振证, 中期为元气虚损、真阴耗伤、瘀毒互结证, 后期为肝肾亏耗、气血两虚、血络瘀阻证。

关键词 急性胃肠道辐射伤; 核辐射损伤; 急性放射病; 中医证候学; 望诊

目前放射病防治的困难迫切需要研究开发新的有效防护救治方法。研究表明, 中草药具有较好的抗辐射前景^[1]。近年来中医药在重大传染病防治等领域的突出作用和独特优势提示可从这一独特资源中寻找办法。但由于临床研究受多重局限, 目前核辐射损伤的临床研究文献相对较少, 动物研究也多局限在中药化学成分的抗辐射作用研究方面, 不足以体现中医药辨证施治的优势和潜力。对辐射损伤病因病机和演变规律认识的缺乏, 是中医学研究的短板, 故借鉴现代医学方法、利用动物实验开展中医学基础理论研究显得十分必要而迫切。本研究采用中医学理论和方法, 利用动物实验, 从动物活体并深入体内和组织微观层面, 通过动态观察和分析初步总结急性胃肠道辐射伤的中医证候特点及演变规律。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级 SD 雄性大鼠 90 只, 2 月龄, 体质

量 (200 ± 20) g, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK-(军) 2012-0004。

1.2 主要试剂及仪器

苏木色精, 国药集团化学试剂有限公司 (批号: 517-28-2); 伊红, 水溶, 国药集团化学试剂有限公司 (批号: 17372-87-1)。日本奥林巴斯 CX23 生物显微镜。

1.3 造模方法

辐射源为军事医学科学院放射与辐射医学研究所提供的⁶⁰Co- γ 射线源。采用随机数字表法将大鼠分为模型组 80 只和对照组 10 只。模型组采用单次全身照射, 源皮距为 3 m, 照射剂量为 11 Gy, 剂量率为 87.72 cGy/min。照射前 8 h 禁食, 照射时将大鼠固定于照射盒内, 对照组经同样处理但不照射。

1.4 取材及标本处理

模型组分别在照射后第 1、4、7、10 天按照随机数字表抽取 10 只大鼠, 麻醉后腹主动脉抽血处死, 解剖, 肉眼观察各脏器情况后, 取出食管、胃、小肠及大肠, 观察浆膜、黏膜及剖切面情况, 然后置于 10% 甲醛溶液中固定 24 h, 常规石蜡包

基金项目: 全军后勤科研计划 (AWS14C014)

* 通讯作者: dyqi_301@yeah.net

埋,连续 4 μm 石蜡切片,苏木精-伊红 (HE) 染色。第 14 天将对照组大鼠及模型组剩余存活大鼠以上述方法处死取材并标本处理。本实验按照动物伦理学要求,尽量减少动物使用量,及时清洁饲养笼,保证充足的活动空间及食水、睡眠,控制取材频率及损伤。实验结束后全部动物经麻醉处死,密封消毒后冷冻存放,统一焚烧处理。

1.5 观察指标及方法

1) 大鼠一般情况:包括进食及饮水量、活动量、毛发、球结膜、大便并检测体质量;2) 全胃肠道管壁、管腔外观及切面观察;3) 全胃肠道切片 HE 染色,光镜下观察黏膜变化。

2 结果

2.1 大鼠死亡情况

对照组无死亡。模型组于照射后第 3 天死亡 3 只,第 4 天 4 只,第 5 天 2 只,第 6~8 天无死亡,第 9 天 6 只,第 10 天 5 只,第 11 天 3 只,第 12 天 2 只,第 13 天 3 只,第 14 天 2 只;随机处死累计 40 只,剩余存活 10 只。

2.2 各组大鼠活体情况观察

对照组:大鼠体质量近于均匀增加、食欲好,毛发光泽、活跃、大便如常。

模型组:照射后第 0~2 天,大鼠出现躁动、争饮,鼻周及眼周红赤、呼吸急促、大便干硬等现象;第 3~6 天,进食及饮水减少,体质量日均下降约 10 g,口唇及鼻周有血迹,活动迟缓,水样便,毛发不洁无光泽,肛周潮湿、皮色嫩红,并有 2 只眼底出血,3 只大便带血,死亡 9 只;第 7~8 天,活动略增,腹泻减轻,体质量回升,肛周皮毛变干燥;第 9~12 天,蜷缩少动,活动迟缓,体重下降,少食水或拒食水,死亡 16 只;第 13~14 天,虚喘无力,蜷缩少动,体重渐恢复,毛发枯脱,爪甲苍白,死亡 5 只。

2.3 各组大鼠胃肠道肉眼观察

对照组:大鼠全胃肠表面光滑、质软、弹性好、颜色呈淡红色,腔内及剖面外观无异常。

模型组死亡大鼠:3~5 天死亡大鼠小肠黏膜大面积溃烂穿孔,考虑死亡与肠穿孔有关;9~13 天死亡大鼠肠腔积血,肝、肺大片淤血,考虑死亡与出血有关。

模型组存活大鼠处死后:照射后第 1 天,小肠黏膜轻度充血变红,余无明显变化;第 4 天,食管、大肠及直肠黏膜轻度充血水肿,小肠黏膜充血

水肿较明显,可见单发或多发出血灶伴糜烂坏死;第 7 天,小肠黏膜出现较广泛坏死、肠腔积血及溃疡糜烂,大肠黏膜轻度糜烂、偶见出血,食管充血水肿明显;第 10 天,小肠黏膜坏死、溃疡减轻,食管、结直肠充血减轻,胃肠内淤积紫黑色黏液;第 14 天,各段胃肠组织变薄,颜色偏淡且易断裂,胃皱襞柔软性差。

2.4 各组大鼠胃肠道黏膜组织镜下观察

对照组:大鼠胃肠道黏膜上皮完整,形态结构良好,无炎性细胞浸润及溃疡形成。

模型组:照射后第 1 天,部分空肠绒毛萎缩,上皮细胞少量脱落,腺窝上皮坏死崩解,肠绒毛浅层小血管扩张;第 4 天,空肠黏膜出现空泡样变性,畸形细胞形成,萎缩短秃的绒毛浅层小血管扩张充血伴出血,结肠及直肠黏膜上皮细胞局部脱落;第 7 天,空肠黏膜上皮坏死剥脱,炎症细胞浸润,黏膜单发或多发出血灶伴糜烂、坏死,结肠直肠黏膜轻度出血伴糜烂坏死;第 10 天,空肠黏膜绒毛高度渐恢复,腺体结构相对完整,肠黏膜下层微血管变细,可见微血管闭塞;第 14 天,空肠黏膜上皮完整,腺体结构基本恢复正常,肠组织固有层间质纤维增加。各时间点胃黏膜病理改变不明显。

3 讨论

目前对急性放射病的中医病因病机认识尚未统一^[1]。如张蓉等^[2]认为辐射致病与毒邪致病无异,其病机是毒火炽盛,直中脏腑;石鹏展等^[3]认为辐射伤与火邪致病耗气伤阴相符;王磊等^[4]认为辐射伤不同于毒邪、火邪致病特点,将电离辐射命名为电离毒。可以看出,由于临床缺乏全面、深入、动态的观察,对于急性胃肠道辐射伤的证候特点及演变规律难有系统而准确的认识,这也对阐明其病因病机和防治方法造成困难。

本研究团队曾运用动物实验方法进行了放射性肺损伤的中医证候特点及演变规律研究^[5-7]。本实验借鉴以往经验,通过动态观察和分析发现:1) 照射后初期 (0~2 天),动物出现躁动、多饮、喘促等现象,属热毒侵犯气分所致;同期出现眼周及鼻周红赤、小肠黏膜充血,说明热毒已犯营分,所以初期当属热毒内盛、气营两燔证。有研究报告,核辐射患者很快发病,中度以上损伤出现发热、口渴明显、皮肤斑片状出血,舌质红绛而少津有瘀斑,脉数,也呈现热毒内盛、气血两燔特征^[8]。2) 早期 (3~6 天),大鼠出现活动减少、水样血

便、体质量下降明显,肠黏膜充血水肿、出血糜烂坏死,一方面呈现热毒炽盛、迫血妄行及灼伤脏腑之证,另一方面又出现元气大伤、脾阳不振、中气下陷之象,故此期当为热灼血肉、元气耗伤、脾阳不振之证。余长林等^[8]报道辐射损伤后患者出现乏力、头晕、恶心呕吐、腹痛腹泻,潜血阳性,尸检显示肠黏膜坏死、肺及肾上腺出血,这与热灼血肉、元气耗伤、脾阳不振证相符。3) 中期(7~12 天),大鼠短期内腹泻停止,现代医学定义为“假愈期”,实乃正气受到突发重挫之后短时来复的结果,但终因热毒未去,深入下焦,耗伤真阴,元气进一步耗损,致病情再度恶化,出现淡漠拒食、体质量下降,甚至大量死亡;解剖发现有出血及淤血,肠黏膜微血管闭塞,乃热盛动血、瘀热互结之征。综合判断此期当属元气虚损、真阴耗伤、瘀毒互结之证。另有实验研究表明,此期造血系统损伤、骨髓增生受抑制^[10],符合肾精受损、精血不能化生的特点。4) 后期(13~14 天),大鼠毛发干枯易脱,爪甲苍白,虚喘无力,体重趋于稳定;胃肠组织变薄、颜色变淡略暗,质软而易断裂,固有层间质纤维增加,符合肝肾亏耗、气血两虚、血络瘀阻证的特点。此期之后死亡减少,渐趋稳定,进入缓慢恢复期,故也可称为“恢复初期”。朱德增等^[11]发现此期患者体力改善、面色萎黄、疲劳倦怠,舌紫暗胖大,脉沉细,与肝肾亏耗、气血两虚、血络瘀阻证相符。

传统中医学司外揣内的诊断方法有其局限性,加之核辐射损伤的临床报导很少,研究受到很多局限,现代医学动物实验的实证方法值得借鉴。通过动物实验,观察活体,并深入体内和微观层面,延伸望诊,进行系统和动态的观察,再运用中医学的认识和分析方法,从而深化认识该病的病变特征、证候特点,更有助于分析其病因病机和证候演变规律。本研究结果证明,这种方法是可行的、有效的,可以作为急性胃肠道辐射伤中医药防治研究的

重要手段,而更需强调的,一是要充分运用中医学望诊的理论和方法,二是要注重对活体和动态的观察,这两点是研究中医证候所必须遵循的。

本实验结果表明,利用动物实验,运用中医学的认识方法,从活体、并深入体内和微观层面延伸望诊,进行系统和动态的观察,可以作为急性辐射损伤中医学研究的重要手段。但利用动物实验,通过观察动物症状变化揭示中医证候学演变规律也有其局限性存在。

参考文献

- [1] 高月,马增春. 辐射损伤防治药物发展历史与展望 [J]. 辐射防护通讯, 2009, 29(5): 30-35.
- [2] 高明泽,徐文慧,王天琪,等. 急性辐射损伤的中医病因学探讨 [J]. 中医杂志, 2016, 57(6): 454-457.
- [3] 张蓉,石鹏展,杨云霜,等. 从肾阴亏虚探讨核辐射损伤的中医病因病机 [J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(3): 40-42.
- [4] 石鹏展,张蓉,杨云霜,等. 关于核辐射与中医火邪致病的理论探讨 [J]. 陕西中医, 2013, 34(9): 1196-1197.
- [5] 王磊,王安,胡素敏. 试论急性辐射损伤的中医学病因: 电离毒 [J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(1): 27-30.
- [6] 窦永起,杨明会,林明雄,等. 放射性肺损伤中医证候学特点及其演变规律的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(6): 706-708.
- [7] 窦永起,杨明会,林明雄,等. 早期应用凉血活血中药对大鼠放射性肺损伤中医证候学演变的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(5): 42-45.
- [8] 冯全生. 从温病论治急性放射损伤 [J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(5): 402-403.
- [9] 余长林,乔建辉,罗卫东,等. 一例肠型急性放射病的临床报告 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2007, 27(1): 11-16.
- [10] 金飞,陈乾,焦平. 葡多酚对(60)Co- γ 射线照射小鼠造血系统的辐射损伤修复作用 [J]. 解放军药学报, 2016, 32(4): 335-337.
- [11] 朱德增,陈连起. 5 例急性放射病辨治经验 [J]. 安徽中医学院学报, 2001, 20(1): 29-30.

Evolution Rule of Chinese Medicine Syndromes in Acute Gastrointestinal Radiation Injury Rat Model Based on Inspection

FENG Jian, DOU Yongqi, WANG Yuguo, XU Ran, QIN Li, XU Chengyong

(National Institute of Traditional Chinese Medicine, Chinese PLA General Hospital, Beijing, 100853)

ABSTRACT Objective To summarize the characteristics of Chinese medicine syndromes and evolution rule of acute gastrointestinal radiation injury by observing the dynamic changes of living animals, organs and tissues in experimental animals. **Methods** Ninety SD male rats were randomly divided into model group ($n = 80$) and control

group ($n = 10$). The model group was irradiated with a single dose of ^{60}Co - γ radiation and the control group was not irradiated. The general condition of the rats was observed. The changes of gastrointestinal tract and histomorphology were observed with the naked eye and the microscope at 1, 4, 7, 10, and 14 days after irradiation. **Results** In the initial post-irradiation period (0 to 2 days), the model group showed signs of restlessness, excessive drinking, and red eyes. The small intestine mucosa was slightly congested and with edema. In the early stage (3 to 6 days), body weight decreased with watery stools, and small intestine mucosal was with obvious congestion and edema, as well as multiple bleeding, erosion and necrosis. In the middle stage (7 to 12 days), after a brief recovery, body weight continued to decline, and unwilling to eat, with massive death. Purple-black mucus was deposited in the gastrointestinal cavity, and submucosal microvascular was occluded. In late or early recovery stage (13 days later), the rats were cowered with less activity, dry hair, pale paws, and increased interstitial fibers in the intestine. The control group had no abnormalities in living body, gastrointestinal and mucosal tissues. **Conclusion** Acute radiation damage of gastrointestinal tract is internal exuberance of heat toxin, blazing of both Qi and blood syndrome in the initial stage; heat burning flesh and blood, Yuan Qi consumption and damage, and devitalization of spleen Yang syndrome in the early stage; Yuan Qi deficiency and damage, true Yin consumption and damage, binding of blood stasis and toxin syndrome in the middle stage; and the liver and kidney depletion and consumption, Qi and blood deficiency, blood stasis and collateral obstruction syndrome in the late stage.

Keywords acute gastrointestinal radiation injury; nuclear radiation injury; acute radiation sickness; Chinese medicine syndrome; inspection

(收稿日期: 2017-09-04; 修回日期: 2018-01-11)

编辑: 崔京艳

第 37 次全国特色医疗名医暨第二届中医世家经验交流会通知

本次会议由中国民间中医药研究开发协会特色医疗分会、北京聚医杰医药科学研究院联合主办, 定于 2018 年 6 月 11-14 日在山东省济南市召开。会议主题是: 弘扬中医药特色医疗, 发挥中医世家优势。欢迎各级中医特色医疗名医和世家名医及乡村中医、民间中医参会。

一、会议内容

1. 学习《中医药法》的主要亮点及民间中医参加中医医术确有专长人员考核医师资格有关政策解读和报考重点内容培训; 2. 特邀有关专家作中医药特色医疗治疗常见病及疑难病的学术讲座及培训; 3. 交流中医世家临床经验及传承优势; 4. 会议代表作经验交流; 5. 表彰特色医疗研究优秀论文及中医世家优秀人才。

二、会议时间

6 月 10 日全天为会议报到时间, 11 日—12 日为会议时间, 13-14 日为参观考察时间, 15 日返程。每位代表需提前交报名费 300 元, 会务、资料及培训费 1500 元报到时交, 会期食宿参观统一安排, 费用自理。

三、征文要求

1. 征集中医各科特色疗法治疗各种疑难病常见病的经验; 2. 中医世家传承经验介绍及临床经验总结。稿件需打印, 并附 200 字左右作者简介, 邮寄或发电子信箱 (13366005273@163.com) 均可。

四、报名方式

请在 6 月 1 日以前将参会报名费、交流论文 (无论文者也可报名)、个人技术简介、二寸登记像片 4 张用快递寄北京市 100036-98 信箱济南会议会务组叶续宗收, 邮编: 100036。信封上注明“济南会议”报名。或加微信报名 (微信号 j570405), 联系电话: 010-83210238、18511329528、18515917952。