

中医证候实验动物学研究

顾问 张学文

主编 解建国 何建成 吴宗群

兰州大学出版社

振兴中医科学
提高人类健康

张孝文

九三年六月于咸阳

内 容 提 要

辨证施治是中医认识疾病和治疗疾病的基本法则，是中医学对疾病的一种特殊的研究和处理方法。辨证是论治的前提和基础，辨证的正确与否直接关系到治疗的效果。因此此中以“证”更为重要。应用实验动物科学技术来研究中医证候是近年来兴起的新兴学科，本书全面介绍了此方面的成果和发展水平，是第一部较系统地反映中医证候学的前沿性学科专著。

本书是中医科研的参考资料，可供中医科研人员、研究生、本科生及从事生命科学的人员使用。

前 言

实验动物科学技术是现代科学技术的重要组成部分，是生命科学的基础和条件，是衡量现代生物医学研究水平的重要标志。近代生命科学的每一项重大成果都要应用实验动物。30多年来，我国中医科技工作者，将中医学研究与现代科学密切结合，模拟出了许多具有中医特色的实验用动物模型，开创了从实验角度研究中医生理、病理、证候本质的新局面。从中医发展史看，中医几千年来研究途径几乎全是通过临床观察方法，认识疾病的发生、发展、变化规律及总结有效的防治措施的。医学发展的历史证明：局限于临床观察方法是中医学发展缓慢的原因之一。动物实验是现代医学的常用方法和手段，中医学利用动物实验方法，为预测中药毒副作用，验证和发展中医理论；为中医学理论提供实验科学依据方面；为严格控制中医科研条件，较可靠地证实治疗效果以及缩短研究周期，加快中医发展诸方面，起到了积极的促进作用。中医证候实验动物学是一门独立的、综合性学科，它是融合生物学、动物学、兽医学、医学等科学并引用其它自然科学成就发展起来的新兴学科。

中医学与西医学之理论体系其立足点完全不同。中医辨证不同于西医辨病那样，莫立在机体器官组织和细胞的形态结构的变化基础上的、相对静止的、孤立的研究人体生理、病理，而是根据中医学说的生理、病理观点，在功能态基础上，从临床实践中把各种病理证型加以系统分型，并应用于治疗，它既有中医学术有机体系中的系统的理论基础，又有几千年的临床实践证明卓有

疗效，是一个全新于西方医学模式的学说，其间的许多科学假说需要我们利用现代科学技术来进一步验证。当前，随着科学由“分析时代”向“系统时代”的转变，伴随着系统论、信息论、控制论、耗散结构论、协同论、突变论、模糊数学等边缘学科的建立，使人们予以新的世界观，重新发现和重新认识中医学，正如1987年3月《光明日报》发表的一句断言：“从根本上看，与其说中医学落后于现代科学的发展，不如说现代科学落后于中医学的实践。”此论貌似悖逆，却有着深奥的内涵。《中医系统论》指出：“如果说近代科学与西方传统相一致，那么现代科学与东方传统更合拍。”中医学在长期大量丰富的临床实践和观察中，建立起的一套较完整、系统的宏观科学理论体系，有待于广大中医科技工作者利用现代科技手段去逐一验证，而随着中医证候实验动物学这一新学科的兴起，将会为中医学科研工作及大量科学假说提供更为有利的科学手段，从而为中医学与其它学科的联系及渗透提供了科学的桥梁和通道，正如联邦德国慕尼黑大学东亚问题研究所所长波克特博士所说：“中医学是一种内容最丰富、最有条理、最有效的医学，……中国的学者和科研人员应该觉醒，作出坚定性努力，按照中医学的本来面貌，把它提高到世界医学水平。”实现中医学的现代化以造福整个人类，这是目前人们愈来愈关注的科学问题，著名科学家钱学森教授也曾多次指出：“中医现代化是医学发展的正道，而且最终会引起科学技术体系的改造——科学革命，……这是人类历史上再次出现的跟文艺复兴一样的大事。”

本书的出版是广大中医科技工作者及其他有志于对振兴中医的科研人员，长期不懈努力的结晶，我们只是处于使命感和责任感，为适应目前中医现代化的需要，将这些科研成果整理成册。本书总结和反映了30余年来，我国中医实验动物学的研究成果和发展水平，也是第一部较系统反映中医证候学研究的前沿性学科

专著，并对有关中医动物实验研究的现状及未来加以客观的评估。但是，由于本书为新兴学科，专业跨度大，涉及动物学、生理学、兽医学、生物学、医学等多门学科，加之编著者学识水平有限，仓促成稿，资料归纳不尽完全合理，挂一漏万之处肯定不少，又因篇幅所限，对部分稿件作了一些删节，望原作者能予以谅解！恳祈各界赐教，俾使本书更臻完善。

本书对从事中医科研工作的专业人员有重要参考价值，对其它从事教学、科研及医学临床的广大医务人员和医学院校的医学生及生命科学研究的人员，也不失为一本好的参考书。

编者

1993、7

目 录

第一章 虚证模型·····	(1)
1. 试用睡眠剥夺方法建立心虚证的动物模型·····	(1)
2. 中医脾虚证动物模型的造型·····	(7)
3. 马属动物驹“脾气虚”证的实验研究·····	(14)
4. 脾虚泄泻证动物模型的研究·····	(20)
5. 利血平致动物脾虚模型机制的研究·····	(23)
6. 饮食失节所致的脾虚动物模型及中药治疗观察·····	(28)
7. 偏食法塑造大鼠脾气虚证模型的研究·····	(32)
8. 偏食苦味所致脾气虚证动物模型研究·····	(38)
9. 大鼠脾虚模型的肠道菌群研究·····	(42)
10. 劳倦和饥饱引起的大鼠脾虚证模型的造型及实验 研究·····	(46)
11. 用过劳和饮食失节法塑造大白鼠脾气虚证模型的 研究·····	(52)
12. 脾虚证动物模型的实验研究·····	(55)
13. 大鼠醋酸性胃溃疡和脾虚证证病结合模型的病理 研究·····	(62)
14. 腺嘌呤诱发“肾阳虚”动物模型的研制·····	(70)
15. 甲状腺机能低下阳虚兔模型的造型研究·····	(79)
16. 大剂量皮质激素所致“阳虚”动物模型·····	(89)
17. 不同糖皮质激素所致“阳虚”动物模型的实验 研究·····	(96)

18.血虚动物模型的进一步探讨	(102)
19.形成虚寒证的中枢抑制物研究	(110)
20.虚证动物模型体表冷光信息的研究	(116)
第二章 血瘀证模型	(121)
1.家兔急性血瘀模型的研究	(121)
2.急性血瘀证动物模型初探	(125)
3.“血瘀”动物实验模型的初步研究	(130)
4.大鼠瘀血模型的复制	(136)
5.血瘀病理模型探索	
——衰老血瘀模型观测	(139)
6.血瘀病理模型探索	
——模拟阴虚火旺复制慢性血瘀模型	(145)
7.外伤血瘀证动物模型的研制	(150)
8.热毒血瘀证动物模型的研制	(156)
9.寒凝血瘀证动物模型的研制	(161)
10.血虚血瘀证动物模型的研制	(166)
11.肺气虚血瘀模型的初建	(173)
12.家兔实验性动脉粥样硬化气虚血瘀模型的建立	(176)
13.阳虚血瘀证凝血机制异常动物模型的实验研究	(179)
第三章 温病模型	(184)
1.实验性温病卫、气、营、血证候动物模型复制的研究	(184)
2.建立温病“气营两燔证”动物模型的实验研究	(189)
3.内毒素家兔温病营分证血瘀模型建立的初步研究	(199)
4.大肠杆菌内毒素家兔温病邪入血分之热瘀气脱证模	

型建立的初步研究·····	(205)
5.热厥气脱证动物模型的建立及其动态观察·····	(214)
6.热病伤阴红舌证动物模型的实验研究·····	(219)
7.温疫高热的家兔模型·····	(223)
第四章 痹证模型 ·····	(229)
1.肢体痹证的造模方法·····	(229)
2.痹证动物模型研究	
——风寒湿对家兔关节的影响·····	(232)
3.大鼠实验性痹证·····	(235)
4.实验性小鼠内伤痹证模型的建立·····	(242)
第五章 其它模型 ·····	(246)
1.“阴症”与“阳症”动物模型的初步建立·····	(246)
2.寒证、热证动物模型·····	(249)
3.肝郁证的动物实验研究·····	(250)
附：胸胁苦满证模型·····	(258)
4.肝郁证动物模型·····	(259)
5.湿阻证病理造型的实验研究·····	(259)
6.四种证候模型的微循环研究·····	(263)
附：不育症模型复制方法·····	(269)
附：中医“证”动物模型的评价·····	(270)

第一章 虚证模型

1. 试用睡眠剥夺方法建立心虚证的动物模型

动物剥夺睡眠的小站台法⁽¹⁾，是睡眠研究中的一种常用手段。其方法是：置动物于略高出水面的小平台上，当其困倦进入快速眼动相（REM）睡眠阶段时，就会因肌肉松弛而骤然坠入水中，动物只得重振精神再次爬上站台。这种情形反复发生，便达到了剥夺REM睡眠的效果。倘从中医角度考察这一实验，就会发现它可能包含着一些典型的中医致病因素：REM睡眠是深度睡眠和梦的标志，此时动物神志消失，对因肌肉松弛而落水的事件“不能自知”，“梦”中的突然惊醒便构成了中医称之为“惊”的状态。此外，由于站台窄小，动物只能以固定的姿态伫立台上，久站便构成了“劳”的病因。在这两种致病因素的持续作用下，就会导致相应病证产生。

有关文献报道，睡眠剥夺能够造成动物情绪不稳定，使其兴奋性升高^(2、3)，探究反射增加^(4、5)和学习记忆能力下降^(6、7)；加之频频落水造成的不寐状态，这些正是心虚证在神志方面的表现。由于心主神明统血脉，如果剥夺REM睡眠果真能够造成心虚诸症，那么也必然会产生相应于心虚脉象的心血管功能变化。为此，我们进行了剥夺REM睡眠对大鼠心血管功能影响的实验，以探讨能否用这种方法建立心虚证模型。

材料与方法

一、动物及实验条件：雄性成年大鼠20只，体重200~250g，随机分为睡眠剥夺及对照两组。在实验室自然光照条件下，采用小站台水环境技术剥夺大鼠REM睡眠⁽⁶⁾。据Mendelson的工作，动物体重(W)与站台面积(A)的比值 W/A 需 ≥ 6.4 时，才能得到满意的REM睡眠剥夺；而对照组 $W/A \leq 1.73$ 时方可允许自由睡眠⁽⁸⁾。本实验睡眠剥夺组用小站台直径为4.5cm，大站台直径为13.5cm，符合上述要求。水池上方装有料斗槽及水瓶，实验期间大鼠可自由取食和饮水。分别于24、48、72和96小时测量血压和记录ECG。实验均在下午进行，室温18—27℃。

二、血压测量和ECG记录：实验在恒温小室(35×27×25cm，28±0.5℃)内进行。将大鼠禁锢在有机玻璃筒内，在其胸、背皮肤各固定一带导线别针，作为ECG记录电极。在鼠尾基部套上一个加压器(内经1.0cm，长1.4cm)；在鼠尾中部距加压器约2cm处安放一个光电转换装置。依图1所示构成测压系统。

用光电法测量大鼠血压⁽⁹⁾，用加压器在鼠尾基部加压至150mmHg阻断血循环，然后徐徐减压。此时X—Y记录仪上的压力和血流曲线同时缓慢下降，随后血流曲线又骤然回升。与曲线拐点对应的压力值即为鼠尾基部的动脉压，每次结果均为3次连续测量的平均值。待大鼠安静后，将ECG记录在GF—555型磁带记录仪上，连续10分钟，然后将动物放回原处。

三、心率测量及心率变异功率谱的分析：将磁带记录的大鼠ECG整形后，用一台通用计数器(E323A型)，计数平均心率。然后经T—V转换装置⁽¹⁰⁾，把相邻R波的时间间隔转换成连续的电压幅度变化，送入7T08型信号分析仪，作1024点功率谱分析。计算机采样间隔50ms，频率分辨率0.02Hz。

实验结果

一、睡眠剥夺对血压(收缩压)的影响：两组动物血压平均

值的比较见图2,可以看出REM睡眠剥夺24小时后血压即明显降低($P<0.001$);其降低程度随睡眠剥夺时间的增加而愈甚,至剥夺96小时,平均血压由基线水平 $121.02\pm 8.60\text{mmHg}$ 下降到 $73.9\pm 14.67\text{mmHg}$,仅为睡眠剥夺前的60%。而在大台上的对照组动物则血压稳定,表明水环境慢性应激条件并不引起血压的明显改变。

二、睡眠剥夺对平均心率的影响:两组动物的平均心率比较见图3,可以看出REM睡眠剥夺48和72小时能引起动物平均心率自基线水平 405.20 ± 32.11 次/分,明显加快至 445.20 ± 26.76 次/分($P<0.005$)和 469.40 ± 30.56 次/分($P<0.001$),但剥夺96小时其平均心率又回降到剥夺前心率的波动范围。表明心率调节系统的功能随睡眠剥夺时间而变化。对照组动物的平均心率未见明显改变。

三、睡眠剥夺对心率变异功率谱的影响:根据大鼠心率变异功率谱的特点⁽¹¹⁾,将所得功率谱数值分为低频($0.02-1.16\text{Hz}$)和低频($1.16-2.33\text{Hz}$)两部分。由附表结果可以看出,REM睡眠剥夺能使低频段的平均功率显著增加($P<0.05$),其增加程度随剥夺时间延长而愈大;而对照组在整个剥夺过程中未见明显变化。

讨 论

心悸是一种主观感觉,经常伴有心动过速和其它形式的心律不齐,而脉象“细弱”,多数意味着血压偏低⁽¹²⁾。因此,剥夺睡眠造成的大鼠心率加快和血压降低,是与中医所称的心悸和脉象“细弱”的症状相一致的。心率变异信号的平均功率与其均方差有着相同的数学含义,心率变异功率谱的低频段增大,意味着出现了缓慢节律的不规则变化。由此可见,REM睡眠剥夺造成的这几项心血管功能的变化,正是“心悸”和脉象“细数”,“细弱”在心率和血压指标上的反映。考虑到REM睡眠剥夺还

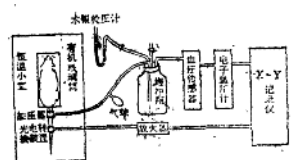


图1 大鼠血压记录装置示意图

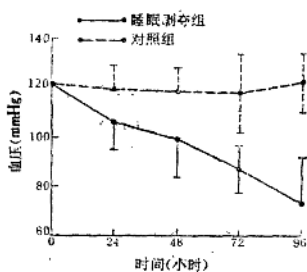


图2 两组动物血压(收缩压)的比较

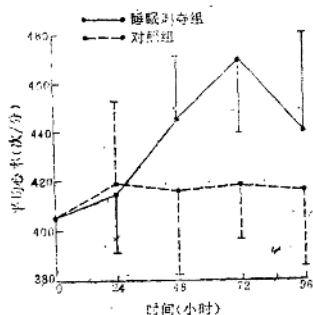


图3 两组动物平均心率变化的比较

附表 REM睡眠剥夺对心率变异功率谱的影响 ($M \pm SD$)

	频率范围 (Hz)	平均功率(相对值)				
		基线水平	24小时	48小时	72小时	96小时
睡眠剥夺组	0.02~1.15	11.12±7.39	19.24±11.18*	23.59±13.28**	25.10±18.81*	27.51±31.81*
对照组			13.71±10.18	14.47±8.68	16.01±10.01	12.15±7.26
睡眠剥夺组	1.16~2.33	3.84±7.88	2.17±4.04	5.63±12.69	2.03±4.82	0.62±1.02
对照组			2.13±5.43	2.47±3.29	0.64±0.89	2.76±3.25

与基线水平相比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

可造成情绪不稳,探究反射增加,记忆障碍等神志方面的影响,可以认为,用REM睡眠剥夺方法能够在大鼠身上复制出心虚证的动物模型。

实验表明:睡眠剥夺造成心血管系统的反应,随着睡眠剥夺时间的增加而呈现出不同趋势的变化。这一结果体现了“证”的动态性质,反应出心虚证的产生、发展和转归的规律。睡眠剥夺的最初阶段,心率逐渐加快而血压则逐渐下降。这样便构成了“细数”的脉象,按辨证标准可考虑表现为心阴虚证。睡眠剥夺到96小时,心率转而下降到剥夺前的波动范围。不再有“数”脉的体征。但此时血压则进一步下降到剥夺前水平的60%,出现了“细弱”的脉象,心率变异功率谱的低频段也增加到最大值,调节品质进一步变劣。按辨证标准可考虑为心气虚或气阴两虚偏气虚证。这样,人们可用控制睡眠剥夺时间的方法,选择性地制造所需的动物模型。

本研究结果表明,用睡眠剥夺方法建立的心虚证动物模型,比单纯使用药物或手术的方法,更符合中医“证”的概念;同时也表明,中医独特的病因学说是具有科学依据的,是能够作为实验中医学的基础的。

参 考 文 献

- (1) Jouvét M. The states of sleep. *Scientific American* 1967; 216: 82.
- (2) Cohen HB. Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of “paradoxical” phase. *Science* 1965; 150: 1318.
- (3) 李德明,等. 睡眠剥夺时大鼠电休克阈值的变化. *心理学报* 1982; (1): 11.
- (4) Hicks RA, et al. REM sleep deprivation emotionality in female rats. *Bulletin of psychonomic*

Society 1981; 17(5): 244.

- (5) Moore JD. et al. REM sleep deprivation increases preference for novelty in rats. *Physiology and Behavior* 1979; 23(5): 975.
- (6) 李德明, 等. 快速眼动相 (REM) 睡眠剥夺对大鼠记忆巩固的影响. *心理学报* 1981; (2): 226.
- (7) 邵道生, 等. REM睡眠剥夺对大白鼠灯光回避辨别条件反射学习的影响. *神经系统疾病进展* 1980; (3): 68.
- (8) Mendlson W, et al. The flower pot technique of REM sleep deprivation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 1974; 2: 553.
- (9) 张国雄. 大鼠光电血压测量和记录方法. *药学通报* 1981; 16(5): 265.
- (10) 孙福立, 等. 气功锻炼对呼吸引起的窦性心律的影响. 人体特异功能的研究 1983; 1(2): 63.
- (11) 孙福立, 等. 老年大鼠心率变异的分析. *老年学杂志* 1985; 3(1): 7.
- (12) 陈可冀. 关于临床从“证”入手研究中医理论的问题. *中西医结合杂志* 1981; 1(1): 39.

(孙福立、李德明)

2. 中医脾虚证动物模型的造型

运用现代科学方法, 研究中医基本理论, 是我国医学科学发展的一个方面。我们利用中药大黄水浸煎剂造成动物“脾虚”, 并根据“虚者补之”的理论, 再用中药“四君子汤”使“脾虚”动物逐步复健, 以进一步论证此动物模型为虚证型。

材料与方法

本实验动物用昆明品系雄性小白鼠324只, 分10批进行实验。

动物体重18~20克，日龄为25日左右。饲料用中国医学科学院劳动卫生劳动保护研究所小白鼠饲料配方，并辅以大麦芽。实验动物编号称重后，先分成两大组，即造型组（大黄组）与对照组。造型组胃饲大黄水浸煎剂，每日喂一次，每次1 ml（每ml含生药相当1克）。对照组不喂药，而喂1毫升自来水。造型组及对照组皆每日称体重，并观察其体征，粪便。用ST—1型数字体温计，按田嶋嘉雄方法⁽¹⁾测其肛温。大黄组于喂药后第9天随机取部分动物以颈推脱臼处死。取肝脏、十二指肠、结肠、肾上腺等分别固定、印片、或制备匀浆，进行生理、生化、组织化学及细胞学观察；未处死的动物，于喂药后8天在其“脾虚”形成后，随机取其中的部分动物，在第9天停喂大黄而开始喂“四君子汤”（内含人参、白术、茯苓、甘草各等份），每日1毫升（每毫升含生药相当于1克），其余的脾虚动物，在停喂大黄后，每日喂水1毫升，使其自然恢复。于第16天将两组动物全部处死，同上取组织，以探讨其虚证的实质。第9批动物中的12只动物在-3℃低温环境下进行了耐寒冷冻实验。第10批动物造型过程中进行了录相记录。

结果

（一）大黄造成的脾虚动物：

1. 体重减轻：喂药后8天，对照组动物体重由第1天的 19.37 ± 0.30 (2.09) 克上升至 20.74 ± 0.44 (3.07) 克；大黄组动物体重则由 19.33 ± 0.26 (1.84) 克下降至 18.18 ± 0.38 (2.64) 克，第9天下降至 17.22 ± 0.45 (2.93) 克，两组比较有明显差异（表1）。

2. 溏便、脱肛：大黄组动物第2、3天起开始溏泄，持续至第8、9天，并多伴有脱肛现象。

3. 纳呆、腹胀、消瘦：大黄组动物第2天开始即厌食。到第7、8天腹胀，有的胃滞，有的空胃充满胀气。加之溏泄，随即