

中医实热证的研究及改进设想

官宗华, 宋捷民*

(浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

[摘要] 对中医实热证的造模方法及评价指标进行文献整理及分析。根据 CNKI、万方、维普等数据库检索国内外 31 篇相关文献和课题体会,从实热证的造模方法、评价指标等方面对中医实热证的研究进行论述。结果可知中医实热证的造模方法主要根据“物极必反”原则,选用补气药造模;根据化学因素、客观指标、药物反证为依据复制动物模型造模;根据化学因素、客观指标、药物反证为依据,复制动物模型造模;模拟发生热性病的病因,以细菌、病毒、内毒素等作为致毒材料,通过给动物体内注入大肠埃希菌、巴氏杆菌、肺炎双球菌产生内毒素或直接注入内毒素造模 4 种,评价指标可以从细胞因子、激素分泌、体液免疫等方面进行概括。中医实热证的造模方法及评价指标近年来取得很大的进展,但借鉴西医造模方法为多。为此提出改进设想,从转化医学的角度建立与中医临床密切的中医实热证模型,参考并移用中兽医的诊断技术,尽可能建立中医动物模型望、闻、问、切四诊评价指标与体系。

[关键词] 实热证;造模方法;评价指标

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0349-04

Research and Improvement Ideas of Traditional Chinese Medicine Real Heat Syndrome

GUAN Zong-hua, SONG Jie-min*

(Zhengjiang Traditional Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] According modeling methods and evaluation index of traditional Chinese medicine (TCM) real heat syndrome to literature review and analysis. According to the related literature at home and abroad of and

[收稿日期] 20120508(013)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81073067)

[第一作者] 官宗华, 硕士, 从事中药药性理论和临床应用研究, Tel:13429611269, E-mail:banana_20062210116@yahoo. cn

[通讯作者] * 宋捷民, 教授, 博士生导师, 从事中药药性理论和临床应用研究, Tel:0571-86613631, E-mail:ssc3631@163. com

- [57] Schena F P, Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16 (Suppl 1):S30.
- [58] Pettitt D J, Saad M F, Bennett P H, et al. Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus [J]. Diabetologia, 1990, 33(7):438.
- [59] Moczulski D K, Scott L, Antonellis A, et al. Aldose reductase gene polymorphisms and susceptibility to diabetic nephropathy in Type 1 diabetes mellitus [J]. Diabet Med, 2000, 17(2):111.
- [60] Iyengar S K, Abboud H E, Goddard K A, et al. Genome-wide scans for diabetic nephropathy and albuminuria in multiethnic populations: the family investigation of nephropathy and diabetes (FIND) [J]. Diabetes, 2007, 56(6):1577.
- [61] Gosek K, Moczulski D, Zukowska-Szczechowska E, et al. C-106T polymorphism in promoter of aldose reductase gene is a risk factor for diabetic nephropathy in type 2 diabetes patients with poor glycaemic control [J]. Nephron Exp Nephrol, 2005, 99(3):e63.
- [62] 陈婧, 万毅刚, 卞茸文, 等. 中药延缓糖尿病肾病肾小球硬化的作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(4):525.

[责任编辑 邹晓翠]

subject experience, to discuss TCM real heat syndrome from the modeling methods, evaluation indexes. There are have four modeling methods of TCM real heat syndrome and discuss evaluation index from cytokines, hormone secretion, humoral immune and so on. Although modeling methods and evaluation index of TCM e real heat syndrome has made a lot of progress in recent years, which is referenced Western medicine modeling methods. From the point of science translational medicine establishment TCM real heat syndromes model close to Chinese medicine clinical, to put forward the improvement ideas, reference and diagnostic Chinese veterinarian technology, to established animal model of TCM at four diagnostic methods and evaluation index system as far as possible.

[**Key words**] real heat syndrome; modeling methods; evaluation index

寒热证是中医八纲辨证中的两个重要方面,其中热证更是临床上常见的证型。我国最早的中医理论著作《黄帝内经》对热证的病因进行了描述:“人之伤于寒也,则为病热”。随后《千金方》、《景岳全书》、《医宗金鉴》等均论及到脏腑的热证,如肠道湿热证、肝火犯肺证、肺实热、胃实热等。中医将实热证定义为:因热邪入侵,里热炽盛,或痰瘀,宿食阻滞所致的热性病证。

1 造模方法

1.1 根据“物极必反”原则,选用补气药造模 “气有余便是火”,气化过盛出现火象,会产生伤津耗液的病理损害,表现为实火实热证,因此选用补气药造实热证模型。梁月华等^[1]选用 Wistar 大鼠,首先喂党参、黄芪 1 周,随后皮下注射松节油 2 mL 引起发热,持续 3 日,随后恢复。此种方法克服了单纯用党参或单纯用松节油只引起发热,符合临床实热证病人的表现。徐志伟等^[2]根据梁月华^[3-4]的方法对模型组大鼠灌党参、黄芪水煎剂 2 周,之后灌生理盐水 2 周制成实热证模型。宋建平等^[5]采用附子、干姜、肉桂等补气药物灌胃造成大鼠热盛模型,再给予消炎痛加乙醇腹腔注射使其成为热盛胃出血模型。

1.2 根据化学因素、中医传统病因、客观指标来进行胃溃疡实热证造模 黎敬波等^[6]先用 20% 醋酸微量注射导致胃溃疡,然后给予辣椒汁、白酒混合液灌胃,制成胃实热证模型。柴剑波等^[7]先给予 8% 干辣椒粉的 60% 乙醇混悬液灌服制成胃热模型,之后进行醋酸涂抹手术,建立醋酸涂抹型胃溃疡热证模型。

1.3 根据化学因素、客观指标、药物反证为依据复制动物模型造模 郑小伟^[8]给大鼠静注醋酸铅和 5-羟色胺,同时口服灌脂多糖,进行肠源性内毒素肠热证造模,造模结果与中医肠热腑实证基本吻合。田在善等^[9]用此法制成肠热腑实证动物模型,且大承气汤对肠源性内毒素血症模型大鼠肝、肺、肾损害具有明显的保护作用。

1.4 模拟发生热性病的病因 以细菌、病毒、内毒素等作为致毒材料,通过给动物体内注入大肠埃希菌、巴氏杆菌、肺炎双球菌产生内毒素或直接注入内毒素^[10]造模 陆平成等^[11]用仙台病毒经鼻腔感染小鼠,造成肺热证模型。李建生等^[12]采用气管插管肺炎克雷伯杆菌滴注法建立细菌性肺炎模型,并给予热环境风热刺激制备细菌性肺炎痰热证模型。延自强^[13]用培养 24 h 的 F_{III} 痢疾杆菌制成的生理盐水

混悬液给猕猴灌胃,造出大肠湿热证模型。孙建实等^[14]向小鼠膀胱内注入大肠埃希菌悬液,造出膀胱湿热证动物模型。彭百承等^[15]直接向兔子耳缘静脉注射内毒素使其发热,观察清热解毒剂对其的解热作用。

2 评价指标

2.1 经穴辐射热、pH、氧分压 黎敬波等^[6]在动物给药造模后第 7 天开始检测穴区辐射热、pH、氧分压,发现胃实热证组中脘穴区温度、pH 及氧分压均升高,说明胃实热证大鼠中脘穴区局部组织表现为代谢增强。提示经穴局部的异常改变与脏腑功能状态有关。

2.2 尿儿茶酚胺、环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP) 谢竹藩等^[16]测定尿中儿茶酚胺及 cAMP, cGMP 的排出量,发现不同脏腑的实热证尿中儿茶酚胺, cAMP, cGMP 的排出量均增高,说明这些指标的变化是不同脏腑实热证的共性,体内儿茶酚胺, cAMP, cGMP 水平的升高可能是病证实热属性的部分生化和分子生物学基础,且尿中儿茶酚胺的测定结果提示交感-肾上腺髓质系统功能的增强在实热证的形成中起着重要的作用。贺福元等^[17]在探讨中药四性时指出热证患者大多有交感-肾上腺系统功能偏亢的表现,且基础代谢率则常偏高。

2.3 三碘甲状腺氨酸(T₃)、四碘甲状腺氨酸(T₄)、反三碘甲状腺氨酸(rT₃)、促甲状腺激素(TSH)、游离三碘甲状腺氨酸(FT₃)、游离四碘甲状腺氨酸(FT₄) 徐志伟等^[2]运用放射免疫法测定大鼠血清 T₃, T₄, rT₃, TSH 浓度,发现实热证大鼠血清 T₃, T₄, rT₃ 和 TSH 水平变化与正常对照组比较无统计学差异,但是通过电镜技术观察模型大鼠甲状腺超微结构,发现甲状腺滤泡上皮细胞略呈增生性变化,说明其合成和分泌甲状腺激素的功能有所加强。提示实热证时机体处于亢奋状态。黄俊山等^[18]运用放射免疫计数器检测血中 T₃, T₄, FT₃, FT₄, 发现 T₃, T₄, FT₃, FT₄ 在实热证时数值高,尤其是 T₃ 变化最显著。提示实热证时基础代谢及氧消耗升高。

2.4 睾酮(T)、雌二醇(E₂)、皮质醇(cortisol, COR)、皮质酮(CS)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE) 黄俊山等^[18]运用放射免疫计数器检测血中 T, E₂ 及 COR,发现 T 在实热证为高值;女性 E₂ 在实热证为低值,提示 T 值高为女性形成实热证的因素之一。COR 在实热证处于高值,提示肾上腺皮质激可能是构成实热证的因素

之一。李建生等^[12]采用放射免疫法测定肺炎痰热证大鼠的COR, E, NE,发现肺炎痰热证组的COR, E, NE水平均升高。提示热环境风热刺激可致大鼠中枢兴奋及交感-肾上腺机能活动增加,符合热证模型的表现。程彬彬等^[19]采用酶联免疫法检测血清CS,放射免疫法检测血清ACTH,发现热损伤大鼠CS, ATCH均升高。

2.5 白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子(TNF- α) 田在善等^[20]发现内毒素致肺损伤诱导IL-1, IL-6。山丽梅等^[21]检测血浆中IL-8, IL-2, TNF- α 的含量,发现血浆中IL-8, IL-2, TNF- α 明显增加,符合胃热证变化的特点。毕珺辉等^[22]采用免疫组化法检测大鼠血清中的IL-8, TNF- α 的含量,发现IL-8, TNF- α 均升高,显示成功建立了醋酸涂抹型胃溃疡热证模型, IL-8及TNF- α 可作为临床急性溃疡热证的微观指征。梅雪等^[23]在探讨毒素清对肺炎痰热证大鼠肺组织炎症细胞因子的影响时,发现肺炎痰热的TNF- α , IL-6, IL-10明显升高,从而促使肺炎痰热证的发生发展。余林中等^[24]发现内毒素发热大鼠血浆TNF- α 明显升高,调胃承气汤对TNF- α 的升高有抑制作用。

2.6 一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS) 张洋等^[25]测定大鼠血清NO, NOS含量,发现胃溃疡热证模型大鼠血清NO, NOS明显升高,说明NO在该模型上主要表现为细胞毒作用,体现其炎症介质及强氧化剂的生物学效应。提示血清NO, NOS的升高可以作为幽门结扎型胃溃疡热证的微观指征。李冀等^[26]测定大鼠血清NO含量,发现溃疡热证大鼠血清NO明显升高,可作为应激型溃疡热证的微观指征。

2.7 血小板活化因子(PAF)、血管渗透因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、胃泌素(GAS)、胃动素(MOT) 毕珺辉等^[27]用酶联免疫法检测受试大鼠血清PAF含量,发现PAF在溃疡热证的含量明显升高,热因素增加PAF分泌,可作为急性溃疡热证的微观指征。柴剑波等^[28]采用酶联免疫法检测受试大鼠血清VEGF、胃组织bFGF的含量,发现醋酸涂抹型胃溃疡血清VEGF、胃组织bFGF含量均显著升高,在VEGF上尤以热因素表达明显,提示VEGF可作为临床急性溃疡热证的微观指征。李冀等^[29]采用放射免疫分析法,酶联免疫法分别检测受试大鼠血清GAS, MOT的含量,发现热性胃溃疡GAS, MOT含量明显上升,提示血清GAS, MOT的变化可以揭示胃溃疡热证的本质属性。

2.8 血清免疫球蛋白IgG, IgM, IgA, IgE, 血清循环免疫复合物(CIC), 补体C₃, C₄, CH₅₀ 刘亚梅^[30]采用琼脂单向免疫扩散法检测IgG, IgM, IgA, 采用BA-ELISA法测定IgE, 采用聚乙二醇浊度法测定CIC, 采用琼脂单扩散法补体检测C₃, C₄, 采用试管法检测CH₅₀, 发现实热证患者血清IgM水平升高, IgA水平降低; 补体C₃, C₄, CH₅₀水平均升高。提示实热证患者免疫功能无明显损害, 对病理刺激尚有较好的应答反应, 其正气未衰, 邪气亢盛, 邪正斗争处于激烈阶段, 即所谓“邪气盛则实”。

2.9 肝细胞线粒体、琥珀酸脱氢酶活性 徐志伟等^[2]应用

电镜技术观察模型大鼠肝细胞超微结构, 并结合图像分析技术进行肝细胞线粒体立体形态计量, 根据Loud等^[31]计算方法, 测量数密度(Nv)、体密度(Vv)、面密度(sv)、平均表面积(s)、平均体积(v)、比表面(δ)6个指标及运用紫外分光光度计测定肝细胞线粒体琥珀酸脱氢酶活性。发现在实热证时肝细胞线粒体面密度、体密度、平均表面积、平均体积明显降低, 比表面明显增大, 由于肝细胞过度耗能而衰竭, 因而出现线粒体的固缩; 肝细胞线粒体呼吸链SDH活力升高。

3 改进设想

综上所述, 目前中医实热证造模方法主要有灌喂中药水煎剂和注射致热物质, 从客观指标来说大体符合中医实热证的临床表现, 但是并不能充分体现动物模型与原病证的相似性和典型性。我们在本课题实热证和寒热错杂证造模过程中, 有以下体会和改进设想。

首先, 从转化医学的角度看, 现下动物模型建立和评价指标与中医临床实热证形成的病因存在着很大的差别。如利用病因学说中, 六淫七情及不内外因建模不够, 而借鉴西医造成模方法为多, 如使用醋酸、5-羟色胺、脂多糖、醋酸铅等与中医病证形成无关的因素所造成的模型, 目前除了急热证外, 不少热证模型的建立是漫长的, 需要几个月或1年以上。其研究成果则难以直接转化为和运用于中医临床。所以以理想的中医热证模型必须符合中医的特色, 在中医整体观念及辨证施治思想指导下, 运用脏象学说和病因病理理论, 把人类疾病原型的热性特征在动物身上加以模拟复制而成, 是中医学人体证候的具体再现, 因此病证结合的造模方法是复制中医证候动物模型的必定之路。

其次, 在课题造模中我们深深体会到中医动物模型必须符合中医的特色, 中医通过望、闻、问、切四诊分析疾病, 认为动物与小儿一样, 同为哑科, 以观为主, 所以我们在建立模型时, 参考并移用中兽医的诊断技术, 尽可能建立①舌、唇、卧蚕、排齿微观象、鼻液象、面目象、皮毛象、汗象, 尿与大便象。②闻叫、呼吸、肠音。③按胸腹背诊、点痛诊、测体温、耳温、鼻温、肛温, 切股内动脉或颈总动脉象及探索诊断标准。

对于实热证中不同脏腑之热, 表里之热, 卫气营血之热等的研究很少, 以五脏或六腑热进行系统性的研究则无。需要建立以中医脏腑学说、经络学说、六经学说、三焦学说、卫气营血学说为各自系统的中医动物模型群, 对于中医治病机理研究更符合中医临床。

在实热证评价指标方面, 研究指标虽然很多, 但只能说明一方面的问题, 多种指标的内在联系及如何与整体结合起来观察还有待进一步探究。

[参考文献]

- [1] 梁月华. 寒热本质研究进展[J]. 中医杂志, 1996, 37(12): 747.
- [2] 徐志伟, 陈群, 孙琪, 等. 中医热证实质研究[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(3): 53.
- [3] 梁月华, 王晶, 谢竹藩. 寒凉药与温热药对交感神经

- 肾上腺及代谢机能的影响[J]. 北京医科大学学报, 1987, 19(1): 54.
- [4] 杨鸿志, 梁月华, 任红. 温热药(附子、干姜、肉桂)复方及小复方对交感神经、肾上腺、TSH、LH 等的影响[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(11): 688.
- [5] 宋建平, 崔姗姗, 任周新, 等. 柏叶汤不同配伍对热盛胃出血模型止血作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(4): 44.
- [6] 黎敬波, 葛金文. 胃溃疡胃实寒、实热证模型大鼠经穴辐射热、pH、氧分压的检测研究[J]. 湖南中医学院学报, 1998, 18(3): 56.
- [7] 柴剑波, 李冀, 毕珺辉, 等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对幽门结扎型及醋酸涂抹型胃溃疡寒、热证大鼠模型的药效学比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 134.
- [8] 郑小伟. 腑病证动物模型研究[J]. 浙江中医学院学报, 2000, 24(1): 46.
- [9] 田在善, 李东华, 沈长虹, 等. 大承气汤对肠源性内毒素血症模型大鼠肝、肺、肾损害保护作用的病理学观察[J]. 天津中医, 1998, 15(1): 34.
- [10] 陈小野. 实用中医证候动物模型学[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1993: 285.
- [11] 陆平成, 龚婕宁, 杨进, 等. 仙台病毒小鼠肺热证模型的实验研究[J]. 南京中医药大学学报, 1996, 12(30): 22.
- [12] 李建生, 张艳霞, 周红艳, 等. 细菌性肺炎痰热证模型的建立与评价[J]. 中医杂志, 2009, 50(9): 822.
- [13] 延自强. 菌痢猕猴模型在针灸治病免疫功能研究中的应用[J]. 中国中医基础医学杂志, 1995, 1(4): 43.
- [14] 孙建实, 栗德林, 邱晓彦, 等. 实验性肾盂肾炎动物模型的建立与发病机理及中药治疗的研究[J]. 中医药信息, 1997, 14(1): 45.
- [15] 彭百承, 李萍, 甄丹丹, 等. 清热解毒剂对内毒素所致家兔发热的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5): 166.
- [16] 谢竹藩, 唐子进, 马珩. 从尿中儿茶酚胺及 cAMP、cGMP 的排出量探讨中医寒证、热证的本质[J]. 中西医结合杂志, 1986, 6(11): 651.
- [17] 贺福元, 邓凯文, 罗杰英, 等. 中药四性研究现状与设想[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(8): 72.
- [18] 黄俊山, 白介辰, 黄国良, 等. 从检测血中 FT3、FT4、T、E₂ 及皮质醇等指标探讨寒证热证的本质[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(11): 113.
- [19] 程彬彬, 吕祥, 李柏, 等. 生脉散饮片配伍与组分配伍对热损伤大鼠糖皮质激素受体的作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1): 61.
- [20] 田在善, 沈长虹, 李东华, 等. 大承气汤对内毒素引致肺损伤保护作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(1): 12.
- [21] 山丽梅, 赵艳玲, 孔维军, 等. 大鼠胃热证动物模型的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 30.
- [22] 毕珺辉, 柴剑波, 谢田, 等. 醋酸涂抹型胃溃疡热证模型的建立及大黄黄连泻心汤对其影响的实验研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(10): 131.
- [23] 梅雪, 李建生, 张艳霞. 毒素清对肺炎痰热证大鼠肺组织炎症细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 153.
- [24] 余林中, 黄泳, 吴锐. 调胃承气汤对家兔内毒素温病模型的解热作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(3): 26.
- [25] 张洋, 李冀, 高彦宇, 等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对幽门结扎型胃溃疡寒热证模型大鼠血清 NO、NOS 含量的影响[J]. 中医药信息, 2009, 26(5): 75.
- [26] 李冀, 谢田, 于海, 等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对消炎痛型及水浸应激型胃溃疡寒热证模型大鼠血清 NO 和 ET 含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(8): 1862.
- [27] 毕珺辉, 李冀, 谢田, 等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对四种模型胃溃疡寒热证大鼠血清 PAF 含量的影响[J]. 中医药学报, 2011, 39(2): 51.
- [28] 柴剑波, 赵雪莹, 毕珺辉, 等. 寒、热方剂对醋酸涂抹型胃溃疡寒、热证模型大鼠血清 VEGF、胃组织 bFGF 含量的影响[J]. 中医药信息, 2011, 28(3): 122.
- [29] 李冀, 柴剑波, 李胜志, 等. 寒热方剂对消炎痛型胃溃疡寒、热证模型大鼠血清 GAS、MOT 含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 170.
- [30] 刘亚梅. 热证虚实与体液免疫状态关系的探讨[J]. 广州中医药大学学报, 2004, 21(6): 415.
- [31] Loud A V. Quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells[J]. Cell Biol, 1989, 37: 271.

[责任编辑 邹晓翠]