

# 建立中医寒哮动物模型初探<sup>※</sup>

● 余建玮 薛汉荣<sup>▲</sup> 付向春 程光宇

**摘要** 目的:探索建立符合中医寒哮临床发病特点的动物模型。方法:清洁级健康雄性SD大鼠50只随机分为正常对照组(A组)、西医对照组(B组)、中医模型1组(C组)、中医模型2组(D组)和中医模型3组(E组),每组10只。观测各组大鼠体重、肛温、舌像、哮喘发作症状变化。结果:(1)模型组大鼠均见明显消瘦,体重增长缓慢,比正常组和西医对照组B组体重降低,与正常组A组相比有显著性差异( $P < 0.01$ ),尤以C组,体重降低最明显,与中医模型D组、中医模型E组、西医对照组B组比较均有显著差异( $P < 0.01$ );(2)各组大鼠肛温实验前与实验后自身配对t检验无统计学意义;(3)模型组大鼠都表现出了明显的哮喘的症状和寒哮证寒的特点。结论:通过观测模型组大鼠的症状和体征,表明体重、舌像可能为寒哮动物模型的主要评价指标。

**关键词** 中医 寒哮 动物模型

## 1 材料与方方法

**1.1 实验动物** 清洁级健康雄性SD大鼠50只,体重140g~190g,购于江西中医学院实验动物中心。[质量合格证:JZDW2007-226]

**1.2 实验试剂与仪器** (1)实验试剂:卵白蛋白(OVA, Sigma公司),氢氧化铝胶生理盐水稀释液100ml/瓶(黑龙江生物制品一厂),0.9%氯化钠注射液500ml/瓶(安徽丰原药业股份有限公司无为药厂),2%戊巴比妥钠溶液,大鼠IL-4 ELISA试剂盒(购自深圳晶美生物工程有限公司),大鼠IFN- $\gamma$  ELISA试剂盒(购自深圳晶美生物工程有限公司),地塞米松磷酸钠注射液1ml/支;(2)主要仪器:402型超

声雾化器(上海鱼跃医疗设备有限公司),电子天平(PG503-S,梅特勒公司)显微镜(CK40,日本OLYMPUS),离心机(J-2, BECKMAN公司),酶标阅读仪(BIO-RAD550, USA),计算机图像分析系统(南京长信信息系统公司),索尼数码相机(F828, 800万像素)。

**1.3 实验动物分组方法** 将50只SD大鼠随机分为5组,每组10只,即:(1)A组:正常对照组,给予生理盐水腹腔注射、诱喘;(2)B组:西医对照组,腹腔注射抗原液致敏,卵蛋白雾化吸入诱喘;(3)C组:中医模型1组,腹腔注射抗原液致敏,以冷风诱喘;(4)D组:中医模型2组,腹腔注射抗原液致敏,卵蛋白雾化吸入诱喘,平喘后第7d,以冷风诱喘;(5)E组:中医模型3组,腹腔注射抗原液致敏,卵蛋白雾化吸入诱喘,平喘后第14d,以冷风诱喘。

**1.4 造模方法** (1)哮喘西医疾病模型的制作:参照文献<sup>[1-3]</sup>方法并加以改进,建立SD大鼠哮喘模型。第1d分别予B、C、D、E各组大鼠腹腔内注射抗原液1ml(每毫升含卵清白蛋白100mg+氢氧化铝100mg)使其致敏,至第8d重复注射1次加强,正常组A组以生理盐水代替抗原液腹腔注射。2w后激发哮喘时,分别把B、D、E各组大鼠置于自制半密闭鼠笼中,雾

**※基金项目** 国家自然科学基金资助项目(No:30560188);江西省自然科学基金资助项目(No:2008gzy0010)

**▲通讯作者** 薛汉荣,男,医学博士,教授,硕士研究生导师,国家中医药管理局重点学科带头人,中国中西医结合呼吸病专业委员会常务委员,中华中医药学会内科分会肺系病学术委员会常务委员,世界中医药学会联合会呼吸病专业委员会常务理事。研究方向:肺系病的临床与实验研究。E-mail: xuehanrong99@163.com, Tel: (0791)6362625

• 作者单位 江西中医学院呼吸病研究所(330006)

化吸入1%卵清白蛋白生理盐水40min。A组以生理盐水代替卵蛋白雾化吸入,每日定时激发1次,连续4d。(2)哮喘中医证候模型的建立:在预实验研究及风寒表证动物模型<sup>[4]</sup>的基础上,依据中医寒哮证,痰伏于肺为发病的宿根,外感风寒是哮喘发作的主要诱因等理论建立证候(寒哮证)模型。方法如下:①风寒因素的建立方法:将C、D、E组大鼠置于气温为0±4℃的环境中,给予空调强力冷风吹袭,持续时间40min,每日2次。②中医模型1组(C组):于致敏后第4d给予冷风吹袭连续14d;③中医模型2组(D组):于1%卵清白蛋白生理盐水雾化吸入诱喘的第4d,诱喘后立即予地塞米松1mg/kg腹腔注射以平喘,平喘后第7d开始予冷风吹袭诱喘,连续10d;④中医模型2组(E组):于1%卵清白蛋白生理盐水雾化吸入诱喘的第4d,诱喘后立即予地塞米松1mg/kg腹腔注射以平喘,平喘后第14d开始予冷风吹袭诱喘,连续10d。

**1.5 指标检测** (1)体重检测:观察并记录各组大鼠实验第一天的体重及实验结束时的体重,计算两次体重的差值。(2)肛温观测:于实验前及解剖动物前一天,把各组动物都放置于室内(平均温度25℃),经过2h后,通过医用体温计测大鼠肛温,每次维持3min后记录体温,待五组大鼠全部测完之后,重新再测一次体温,取二者平均值记录肛温变化。(3)哮喘症状观察(4)舌象观察:实验前后用乙醚吸入法麻醉大鼠后,以舌钳将大鼠舌头拉出观察,并用数码相机在相同角度和光线下拍摄。

**1.6 数据统计** 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均数比较采用方差分析和q检验, $P < 0.05$ 认为差异有显著性,所有统计学分析和数据处理均在SPSS13.0统计软件上进行。

## 2 结果

**2.1 体重变化** 分别记录各组大鼠实验第一天及实验结束时的体重,计算两次体重的差值,进行组间比较,模型组大鼠均见明显消瘦,体重增长缓慢,比正常组和西医对照组B组体重降低,与正常组A组相比有显著性差异( $P < 0.01$ ),尤以C组,体重降低最明显,与中医模型D组、中医模型E组、西医对照组B组比较均有显著差异( $P < 0.01$ )(见表1)。

表1 大鼠体重变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	体重差值(g)
A组	10	258.00 ± 15.44
B组	10	236.70 ± 15.90*
C组	10	175.66 ± 13.62 <sup>▲■</sup>
D组	10	211.60 ± 22.05 <sup>△□◆</sup>
E组	10	203.20 ± 32.46 <sup>▲■◆</sup>

注:与A组相比 $\Delta P < 0.01$ ;与A组相比 $\star P < 0.05$ ;与B组相比有显著差异 $\blacksquare P < 0.01$ ;与B组相比 $\square P < 0.05$ ;与C组相比 $\blacklozenge P < 0.01$ 。

**2.2 肛温变化** 各组大鼠肛温实验前与实验后自身配对t检验无统计学意义,提示造模因素对大鼠体温可能无明显的影响(见表2)。

表2 大鼠实验前后肛温变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	实验前肛温(℃)	实验后肛温(℃)
A组	10	38.40 ± 0.23	38.22 ± 0.50
B组	10	38.44 ± 0.26	38.56 ± 0.44
C组	10	38.54 ± 0.25	38.84 ± 0.36
D组	10	38.43 ± 0.19	38.74 ± 0.13
E组	10	38.35 ± 0.30	38.68 ± 0.19

注:各组实验前与实验后肛温比较无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 哮喘体征观察** A组(正常组):始终无症状。中医模型组:C组于施加证的刺激后第4d开始出现恶寒,扎堆少动,四肢不温。7d后弓背毛松,鼻涕渐多,唇周发白,反应不灵敏,毛发零乱,无光泽。9d后精神不振,11d开始激发哮喘;13d、14d诱喘时,两鼠可闻及明显的哮鸣音。D、E组于施加证的刺激后第2d开始见弓背毛松,扎堆,蜷伏少动,四肢不温,4d后见鼻涕增多,口唇发白,反应迟钝,步态不稳,毛发凌乱无光泽,大便变稀,8d后开始激发哮喘。以上各组从冷风诱喘至结束后2h内观察:见呼吸困难,腹式呼吸明显,恶寒,弓背毛松,精神不振,嗜卧少动,以上症状随冷风诱喘结束时间延长而减轻。C组出现的哮喘症状较D组、E组明显,且在冷风诱喘第15、16d有两鼠可闻及哮鸣音。

B组(西医对照组):较模型组症状轻。雾化时可见呼吸困难,腹式呼吸明显,精神不振,嗜卧少动,反应不灵敏,随着雾化的结束时间的延长而减轻。

**2.4 舌象变化** A组(正常组):实验前后无明显变

化,均见舌质淡红润泽。B组(西医对照组):实验后较实验前舌质偏红。中医模型组:C组实验后较实验前,舌质暗,少津;D组、E组实验后较实验前舌质略红,苔白。

### 3 讨论

寒哮模型的评价指标的选择十分重要,应尽量选择客观、有特异性、便于观察的症状体征作为主要观察指标,其它可作为辅助指标。

**3.1 体征评价** 我国传统医学的证型分类主要是根据临床上对病人外在表现的观察,以“有诸于内,形之于外”的理论推测人体内部的生理变化,因此本实验将实验大鼠的外在表现观察作为评价该模型的主要指标。

**3.2 哮喘症状** 本实验中各模型组大鼠都表现出了明显的哮喘病的症状和寒哮证寒的特点,因此可以认为各模型组符合寒哮的典型症状表现,但是相较于D组和E组而言,C组在哮喘发作的典型症状和寒证的表现上又更为明显,甚至在冷风诱喘第15、16d出现明显的喘促,可闻及哮鸣音,跌扑等症状。在实验设计中,D组和E组是卵蛋白致敏诱喘又平喘后才接触的风寒因素,而C组最早接触风寒因素,在致敏的第4d即开始。在C组大鼠由于腹腔注射卵蛋白产生全身性免疫紊乱期间,即在形成中医“伏痰”之根期间,我们加入了风寒的因素,根据中医理论,风寒外束,肺失宣发不能布散津液,津液凝聚,痰浊内生。感邪日久,肺气亏虚,子盗母气,脾虚不能运化精微,积湿成痰,上贮于肺。这里所产生的痰,究其本因,是因寒而生,或者说在“宿痰”产生的过程中有寒的因素在里面,故与D组、E组大鼠的“伏痰”相比,C组大鼠的“伏痰”可以再明确性到寒性“伏痰”。中医理论认

为,哮喘发作是由于“伏痰”遇寒引触,痰随气升,气因痰阻,相互搏结,壅塞气道,肺管挛急狭窄,通畅不利,肺气宣降失常,引动停积之痰。因此,我们通过施加冷风刺激来诱喘,在各模型组大鼠由于外感风寒束表,致肺气失于宣发,卫气被遏,不能顾护肌表而产生一系列风寒表证之象的同时,C组大鼠则因内有“寒痰”之根,又再次感受风寒之邪,可谓之“两寒相加”。这在C组部分大鼠的舌呈现寒凝血瘀之象,也可见一斑。

综上,无论从符合中医寒哮病因病机理论,还是具备更典型的寒哮发作症状来说,C组都是成功的寒哮大鼠模型。

**3.3 体重** 造模后,模型组大鼠比正常组、西医对照组,明显见体形消瘦,毛发凌乱无光泽。根据中医理论,肺主皮毛,脾主肌肉。外感风寒肺失宣发,肺病日久,子盗母气,脾亦虚,不能运化传输津液和水谷精微,营养肢体和毛发,故见大鼠消瘦,体重增长缓慢,毛发凌乱无光泽等。此外,C组感受风寒之邪更早,故对于体重的影响较D组、E组明显。同时考虑C组大鼠冷风诱喘时间较长,亦有寒邪伤及脾肾之阳可能,故对于冷风诱喘的周期设计,还有待进一步探讨。

### 参考文献

- [1]王 妍,金先桥.支气管哮喘实验模型的研究进展[J].国际呼吸杂志,2006,26(1):70-72.
- [2]刘传合,薛全福,陈育智.支气管哮喘动物模型的研究状况[J].中华结核和呼吸杂志,2000,23(11):647-649.
- [3]陈 黎.哮喘动物型制作的进展[J].泸州医学院学报,2000,25(2):173-175.
- [4]邹移海,徐志伟,苏钢强.实验动物学[M].北京:科学出版社,2004:67

## 医林趣闻

### 名医与匾额

民国年间,上海某富商患病,群医束手,以为不治。独有一位中医认为可救,处方数剂,竟告痊愈。富商很感激,出千元求章太炎先生为题一匾,借重以扬其名。太炎手书四字,曰“第三扁鹊”。富商大惑不解,请教于他人,都认为“第三扁鹊”显含贬义,可能是“第二扁鹊”笔误。富商婉求太炎改写,章氏大发脾气,说:“所书无误,医之誉,无过于此者。彼果为名医,必知其义。”且补署落款“章炳麟”(太炎之名),以坚其信。富商不得已,将书法制匾奉送。医者收到后,喜出望外,高悬于厅堂。原来《史记》中的扁鹊,姓秦名越人,《史记正义》引《黄帝八十一难序》云:“秦越人与轩辕时扁鹊相类,仍号之为扁鹊”,已经是“第二扁鹊”了,故誉某医为“第三扁鹊”并没有错。章太炎满腹经纶,焉能不知此等学问。

此是一段趣话,借此谈谈有关名医与匾额的故事。

匾,或称匾额,是为题有颂扬或命名内容文字的横额,一般挂在厅堂或门亭上,是中国传统文化中颇具特色的一种形式。说起来,匾额与名医常常有着不解之缘。医生治好了病,尤其是大病重病,患者为表谢意,最隆重者莫过于送一块金字牌匾了,古来如此。“妙手回春”、“悬壶济世”、“杏林春暖”等等匾额……