

论 著

· 实验研究 ·

中医实热证巴马小型猪视网膜
血管血氧饱和度的特征^{*}赵丽峰¹ 肖建强² 路雪婧²

(1. 榆林市中医医院, 陕西 榆林 719000; 2. 成都中医药大学, 四川 成都 610072)

摘要:目的 探讨中医实热证动物模型对眼底视网膜血管血氧饱和度的影响。方法 将 12 只雌雄各半巴马小型猪随机分为实热组和正常组, 实热组给予内毒素以 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (50% 的浓度) 的剂量行右后腿根部外侧肌注 1 次, 正常组不做处理, 待体温升高后, 运用血氧监测仪 (Oxymap) 对两组行视网膜眼底血管图像采集, 应用配套软件分析视网膜血管血氧饱和度。结果 实热模型组造模后动静脉血氧饱和度比值 ($\text{SaO}_2/\text{SvO}_2$) 升高 ($P < 0.05$); 实热模型组造模前后动脉血氧饱和度 (SaO_2) 变化、动静脉血氧饱和度差值 ($\text{SaO}_2-\text{SvO}_2$) 变化、动静脉血氧饱和度比值 ($\text{SaO}_2/\text{SvO}_2$) 变化均高于正常组 ($P < 0.05$)。结论 实热状态下, 巴马小型猪视网膜微循环呈现高耗氧、高代谢的特征。

关键词: 实热证; 巴马小型猪动物模型; 视网膜血管; 血氧饱和度; 变化

中图分类号: R276.7

文献标识码: A

文章编号: 2096-1340(2022)06-0086-05

DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2022.06.017

Characteristics of Retinal Blood Oxygen Saturation in Bama
Miniature Pigs with Excess Heat SyndromeZHAO Lifeng¹ XIAO Jianqiang² LU Xuejing²

(1. Yulin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Yulin 719000, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of the animal model of excess heat syndrome of traditional Chinese medicine (TCM) on the blood oxygen saturation of retinal vessels in the fundus. **Methods** Twelve male and female Bama miniature pigs were randomly divided into two groups: the heat excess group and the normal group. The dose of $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (50% concentration) was injected into the lateral side of the root of the right hind leg once. The normal group did not do any treatment. After the body temperature rose, the images of retinal fundus blood vessels in the two groups were collected by using a blood oxygen monitor (Oxymap). The matching software was used to analyze the blood oxygen saturation of retinal vessels. **Results** The ratio of arterial and venous oxygen saturation ($\text{SaO}_2/\text{SvO}_2$) increased in the real heat model group ($P < 0.05$). The changes of arterial oxygen saturation (SaO_2), arteriovenous oxygen saturation difference ($\text{SaO}_2-\text{SvO}_2$) and arteriovenous oxygen saturation ratio ($\text{SaO}_2/\text{SvO}_2$) in the excess heat model group before and after modeling were higher than those in the normal group ($P < 0.05$). **Conclusion** The retinal microcirculation of Bama miniature pig is characterized by high oxygen consumption and metabolism under the condition of excess heat.

Key words: Excess heat syndrome; Bama miniature pig animal model; Retinal vessels; Blood oxygen saturation; Change

中医证型是中医特有的一种名称。证, 既证候, 是指疾病发展过程中某一阶段的病理属性的

概括, 许多不同的病有相同的证候和病理机理。视网膜血管状态是眼科疾病临床诊断和治疗的重

要依据^[1],同时视网膜是全身唯一可在活体观察血管和神经组织处^[2],是了解疾病的重要窗口,临床中许多疾病与视网膜血管中氧饱和度有着密切关系,如糖尿病视网膜病变^[3]、青光眼^[4]、视网膜分支血管阻塞^[5]、视网膜色素变性^[6]、视网膜血管变化和高血压及其他心血管疾病之间存在必然联系^[7]。本文将中医实热证候模型与眼底视网膜血管血氧饱和度联系起来,是将中医证候模型与现代医学紧密结合的一次创新,通过探讨中医证候模型与视网膜血管血氧饱和度之间的关系,以期中医证候理论体系研究提供全新的思路 and 现代化检测手段。

1 仪器与材料

- 1.1 仪器 Oxymap 视网膜血氧测量仪(冰岛·雷克雅维克)。
- 1.2 试药 硫酸阿托品注射液(批准文号:H3102-1172,上海禾丰制药有限公司);细菌内毒素(批号:15060-0200707,中国药品生物制品检定所);戊巴比妥钠(批号:9902-381,上海哈灵生物有限公司);复方托吡卡胺滴眼液(批准文号:J2011-0007,参天制药有限公司);盐酸丙美卡因滴眼液(批准文号:H2010-3352,s. a. ALCON-COUVREUR n. v 公司)。
- 1.3 实验动物 健康普通级巴马小型猪12头,月龄:2月,体重4~7 kg,平均体重5.5 kg,雌雄各半,双眼外观正常,无外眼疾病,直接对光反射、间接观光反射均存在。由成都达硕实验动物有限公司提供(合格证书编号:0012-825)。

2 方法与结果

2.1 实验分组与给药方法 将12只巴马小型猪用苦味酸编号,雄性猪随机编号为1、3、5、7、9、11,雌性猪随机编号为2、4、6、8、10、12,将1~6号分为正常组,7~12号分为实热证模型组,两组正常喂养7 d(每天定时检测心率、呼吸、肛温、体重),于第7 d进行图像采集,1~12号小型猪在全麻下(腹腔注射3%戊巴比妥钠,40 mg·kg⁻¹,麻醉前12 h禁饮食,不禁水)采集眼底血氧照片和眼底彩照,随后采集血液样本(猪前腔血管采血)送检,于第10 d正常检测两组小型猪基础指标后,实热组给予1 mg·kg⁻¹的内毒素(50%的浓度)行右后腿根部外侧肌注1次^[8],注射内毒素15 min后开始

检测肛温,15 min/次,30 min后肌注阿托品注射液(0.2 mg),50 min后1~12号猪腹腔注射戊巴比妥钠(3%戊巴比妥钠,mg·kg⁻¹,麻醉前12 h禁饮食,不禁水),待动物麻醉后运用血氧监测仪(Oxy-map)采集眼底视网膜图片和眼底彩色照片,视网膜血氧数值应用血氧监测仪(Oxymap)配套软件计算分析。眼底图像采集结束后,立即采集血液样本,检测甲状腺激素T3(三碘甲状腺原氨酸)、T4(四碘甲状腺原氨酸)、C3(补体3)、C4(补体4)、IgG(免疫球蛋白G)、IgM(免疫球蛋白M)、HCT(血细胞压积)、WBC(白细胞计数)、RBC(红细胞计数)。

2.2 统计学方法 采用SPSS21.0统计软件行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行方差齐性检验和正态性检验后,行独立样本t检验和配对样本t检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 认为两组数据有显著统计学意义。

3 结果与结论

3.1 实热证模型验证

3.1.1 心率、呼吸频率、肛温比较 实验过程中,3号和5号小型猪无明显诱因生病而脱失,正常组剩余4只小型猪,实热组剩余6只小型猪。实热模型组造模后心率、呼吸频率、肛温与造模前比较,如表1,实热模型组造模后,心率、呼吸频率高于造模前($P < 0.01$),实热模型组造模后肛温高于造模前($P < 0.05$),差异具有统计学意义。

表1 实热模型组造模前后心率、呼吸频率、
肛温值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	心率 (次·min ⁻¹)	呼吸频率 (次·min ⁻¹)	肛温(℃)
造模前	6	102 ± 12	27 ± 4	38.5 ± 0.36
造模后	6	206 ± 17 **	40 ± 6 **	39.3 ± 0.40 *

注:实热组造模后与造模前比较,** $P < 0.01$,* $P < 0.05$

3.1.2 血液检测指标比较 甲状腺激素T3(三碘甲状腺原氨酸)、T4(四碘甲状腺原氨酸)、补体C3、补体C4、免疫球蛋白IgG、IgM、血细胞压积HCT、白细胞计数WBC、红细胞计数RBC比较,结果如表2、表3,实热组造模后,甲状腺激素T3较造模前降低($P < 0.05$);补体C3、C4较造模前升高($P < 0.01$);血细胞压积HCT较造模前降低($P < 0.01$);白细胞计数WBC较造模前升高($P < 0.05$);T4(四碘甲状腺原氨酸)、免疫球蛋白IgG、

IgM、红细胞计数 RBC 造模前后无明显变化 ($P > 0.05$)。

表 2 实热证模型组造模前后 T3、T4、C3、C4 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	T3 (nmol · L ⁻¹)	T4 (nmol · L ⁻¹)	C3 (g · L ⁻¹)	C4 (g · L ⁻¹)
造模前	6	3.0 ± 0.73	75.9 ± 18.6	0.09 ± 0.01	0.05 ± 0.01
造模后	6	1.8 ± 0.48 *	63.0 ± 19.6	0.13 ± 0.01 **	0.07 ± 0.01 **

注:实热组造模后与造模前比较,** $P < 0.01$,* $P < 0.05$

表 3 实热证模型组造模前后 IgG、IgM、HCT、WBC、RBC 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IgG (g · L ⁻¹)	IgM (g · L ⁻¹)	HCT (%)	WBC (10 ⁹ · L ⁻¹)	RBC (10 ⁹ · L ⁻¹)
造模前	6	2.39 ± 1.25	0.47 ± 0.2	42.8 ± 3.0	16.1 ± 3.7	7.1 ± 0.5
造模后	6	2.66 ± 1.20	0.50 ± 0.10	36.5 ± 1.7 **	26.2 ± 8.5 *	6.8 ± 0.4

注:实热组造模后与造模前比较,** $P < 0.01$,* $P < 0.05$

3.2 眼底视网膜血管血氧饱和度变化 应用 OxymapT1 视网膜血氧仪及配套血样饱和度计算软件进行计算,选取拍摄清晰的眼底照片(图 1、图 2)进行分析,以视盘中心为圆心,直径为 494 的像素画第一个圆,两倍第一个圆直径画第二个圆,分析研究两个圆之间血管血氧饱和度(图 3、图 4)。动脉细一般不分支,直接读取血氧数值,静脉粗,会分为两支,故将静脉两支取平均值作为该支静脉血管血氧数值。

实验中,对小型猪每只眼睛的 3 根大静脉(颞侧 2 根,分为颞上和颞下支,鼻侧 1 根)及伴行的 3

根大动脉血氧值进行分析比较。正常组与实热模型组造模前静脉血氧饱和度(SvO2)、动脉血氧饱和度(SaO2)、动静脉血氧饱和度差值(SaO2-SvO2)、动静脉血氧饱和度比值(SaO2/SvO2)进行比较,如表 4,造模前,两组 SvO2、SaO2、SaO2-SvO2、SaO2/SvO2 四项 ($P > 0.05$),2 组数据造模前没有差别。实热模型组造模前后 SvO2、SaO2、SaO2-SvO2、SaO2/SvO2 进行比较,如表 5,实热模型组造模后,SaO2/SvO2 高于造模前, ($P < 0.05$),有统计学意义,SvO2、SaO2、SaO2-SvO2 与造模前无明显变化 ($P > 0.05$),差异无统计学意义。

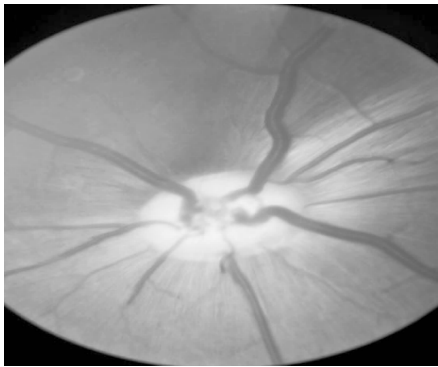


图 1

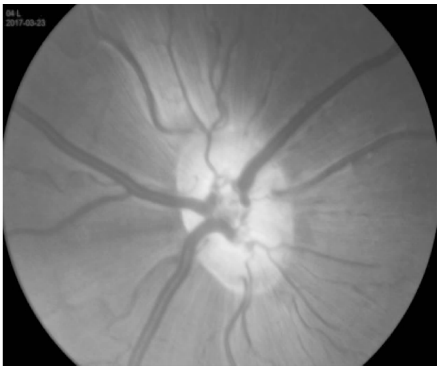


图 2

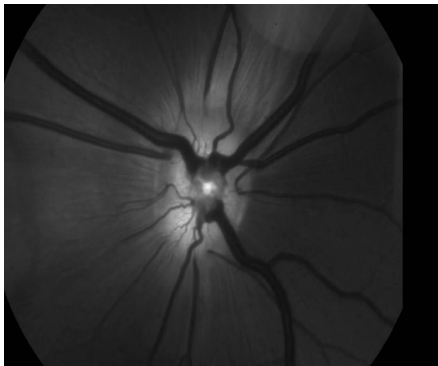


图 3

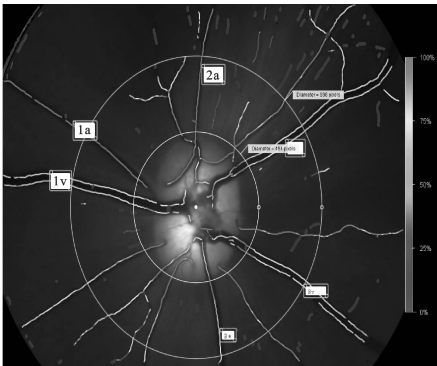


图 4

注:图 1 右眼眼底彩色照相;图 2 左眼眼底彩色照相;图 3 可供分析的眼底血氧图像;图 4 分析的眼底照相,可以直接读取视网膜血管血氧数值

表 4 正常组与实热组造模前血氧饱和度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SvO2 平均值(%)	SaO2 平均值(%)	SaO2-SvO2 平均值(%)	SaO2/SvO2 平均值
正常组	24	71.6 ± 11.4	110.1 ± 13.2	38.4 ± 15.7	1.5 ± 0.3
实热组	36	71.0 ± 10.9	104.6 ± 12.2	33.6 ± 16.2	1.5 ± 0.3

表 5 实热组造模前后血氧饱和度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SvO2 平均值(%)	SaO2 平均值(%)	SaO2-SvO2 平均值(%)	SaO2/SvO2 平均值
造模前	36	71.0 ± 10.9	104.6 ± 12.2	33.6 ± 16.2	1.5 ± 0.3
造模后	36	68.7 ± 13.1	107.0 ± 15.6	36.3 ± 16.3	1.7 ± 0.4 *

注:实热组造模后与造模前比较,* $P < 0.05$

正常组造模前后 SvO2 变化、SaO2 变化、SaO2-SvO2 变化、SaO2/SvO2 变化与实热模型组造模前后变化比较如表 6,实热模型组造模前后 SaO2 变化、SaO2-SvO2 变化、SaO2/SvO2 变化均高于正常

组($P < 0.05$),差异有统计学意义;实热模型组造模前后 SvO2 变化和正常组无差异($P > 0.05$),差异无统计学意义。

表 6 实热组造模前后变化与正常组造模前后血氧饱和度变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SvO2 前后变化(%)	SaO2 前后变化(%)	SaO2-SvO2 前后变化(%)	SaO2/SvO2 前后变化
正常组	24	-0.6 ± 12.9	-5.9 ± 13.1	-5.3 ± 12.5	-0.1 ± 0.3
实热组	36	-3.1 ± 16.1	2.3 ± 16.7 *	4.1 ± 15.2 *	0.1 ± 0.3 *

注:实热组造模前后变化与正常组造模前后变化比较,* $P < 0.05$

3.3 结论 通过对小型猪实热证模型组与正常组眼底视网膜血管血氧饱和度统计分析发现,实热证模型组建立后,SaO2/SvO2 升高;实热证模型组造模前后 SaO2 变化、SaO2-SvO2 变化、SaO2/SvO2 变化均高于正常组。

4 讨论

辨证论治是中医的特征^[9],中医证候动物模型的建立对于中医药研究及评价具有重大意义^[10]。中医实热证为八纲辨证中重要证型之一,《素问·阴阳应象大论》曰:“水火者,阴阳之征兆也。”《景岳全书·传忠录》中提到“寒热者,阴阳之化也”,《类经·疾病类》说:“水火失其和,则为寒热。”所以实热证表现为脏腑阳气亢盛,导致机体机能亢进所表现的一派热像。近些年来,现代中医学者们运用现代医学及统计学等多领域多学科对热证的本质进行了相关探索,主要从药理实验^[11]、肾上腺激素以及其代谢产物^[12]、血液系统及内分泌系统^[13]、神经电生理^[14]、细胞显微结构、经络腧穴^[15]、炎性因子^[16]、细胞信号通道传导^[17]等方面进行多角度、多靶点研究及评价,旨在将中医证候形成一种可以用计算机进行分层统计诊疗模式及标准化证候诊断体系^[18]。复制中医实热证候动物模型方法较多,本文采用内毒素肌肉注射模拟发生热性病的病因^[19]成功建立了巴马小型猪

实热证候模型,模型建立以后,气息粗大,呼吸急促,反应较激烈,饮水次数增加,小便量少,颜黄,体温升高,心率加快,完全符合中医中“阳气亢盛”证候表现,即壮热、大汗、大渴、脉洪大等体征。徐志伟等^[20]通过运用放射免疫法测定大鼠血清 T3、T4 浓度,发现实热证大鼠血清 T3、T4 水平变化与正常对照组比较无统计学差异,但通过电镜技术发现甲状腺滤泡上皮细胞略呈增生性变化,说明高热状态下甲状腺的功能有所加强,此实验结果与徐志伟等的研究结果不尽一致,造模后甲状腺激素 T3 水平降低,而甲状腺激素 T4 水平造模前后无明显变化,提示机体在短暂发热状态下处于应急状态。造模后补体 C3、C4 水平增高,在热性疾病发展过程中,机体免疫系统处于激活状态;机体处于高热时血流加快,血液中 HCT 降低、外源性致热源进入体内,在趋化因子刺激作用下导致外周血液中 WBC 计数升高。内毒素诱导的实热证巴马小型猪模型,该模型稳定性高,便于复制,同时小型猪眼底视网膜与人类较接近,是研究眼底病模型的理想选择。

随着视网膜血管测定技术的不断发展,无创、非侵入式、直接测量手段成为主流,视网膜血管状态是全身唯一可以直接观察的微循环,通过观察眼底血管状态可以了解眼局部及全身微循环的疾

病^[21],视网膜血管血氧的饱和度的变化和许多疾病息息相关。近年来,越来越多的学者采用现代技术与中医辨证的量化结合起来,构建中医证候模型,实现中医证候多维化、量化分析^[22-25],本文应用内毒素肌肉注射诱导实热证动物模型,将中医经典证候模型与现代化无创视网膜血氧检测技术相结合,通过探讨两者之间的关系,以期为中医证候理论体系研究提供全新的思路和客观、准确、无创的现代化检测手段。本研究在成功建立实热证模型的基础上,来探索实热证模型与视网膜血氧饱和度之间的关系。研究发现,实热证模型组造模后 SaO₂/SvO₂ 高于造模前,实热证模型组造模前后 SaO₂ 变化、SaO₂-SvO₂ 变化、SaO₂/SvO₂ 变化均高于正常组 ($P < 0.05$),提示机体处于发热状态下,视网膜耗氧量增加,代谢加快。视网膜是人体中对氧需求量最高的组织,血液中氧浓度的降低易致视网膜组织处于缺氧状态。缺氧的可能机制为全身血液流速加快,携氧能力下降,同时体温的升高,加速视网膜局部的氧化代谢。

小型猪是研究眼底视网膜血管的理想模型,该模型稳定性高、眼底视网膜与人类较接近,然而,本研究仍然存在不足之处,如样本量较少,未进行重复实验等,希望未来有更多研究者来探索中医证候模型与视网膜血氧饱和度之间的关系,以期建立更全面的基于视网膜血氧信息的客观化、量化的中医证候理论体系。

参考文献

- [1] 先永利,戴云,高椿明,等. 双波长视网膜血氧测量系统[J]. 光电工程,2016,43(6):68-74,82.
- [2] 葛坚,王宁利. 眼科学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2015:321-322.
- [3] Hardarson SH, Stefánsson E. Retinal oxygen saturation is altered in diabetic retinopathy[J]. The British Journal of Ophthalmology,2012,96(4):560-563.
- [4] Hammer M, Vilser W, Riemer T, et al. Diabetic patients with retinopathy show increased retinal venous oxygen saturation[J]. Graefes's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht Von Graefes Archiv Fur Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie,2009,247(8):1025-1030.
- [5] 乐毅. 糖尿病性视网膜病变和 Vogt-小柳原田综合征视网膜血管血氧饱和度的研究[D]. 天津:天津医科大学,2016.
- [6] Zong Y, Lin LL, Yi CX, et al. Retinal vessel oxygen saturation and vessel diameter in retinitis pigmentosa at various

- ages[J]. Graefes's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology,2016,254(2):243-252.
- [7] Hardarson SH. Retinal oximetry[D]. Reykjavik: University of Iceland,2013.
- [8] 肖建强. 实热证动物模型小型猪视网膜血管血氧饱和度检测[D]. 成都:成都中医药大学,2017.
- [9] 胡金亮,李建生,余学庆. 中医证候诊断标准研究背景与现状[J]. 河南中医学院学报,2005,20(3):77-79.
- [10] 王楷,侯雨君,宋玮,等. 泄泻中医证候动物模型研究进展[J]. 中国实验动物学报,2021,29(6):823-829.
- [11] 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晌[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):166-167.
- [12] 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):72-75.
- [13] 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 等的影晌[J]. 中国中药杂志,1992,17(11):688-690,704.
- [14] 徐建广,顾玉东. 失神经支配骨骼肌退变组织形态学及电生理实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志,1999,13(4):202-205.
- [15] 谢静涛,黎敬波,周黎华. 肺胃寒热证患者经穴辐射热的检测研究[J]. 中国中医药科技,1997,4(3):139-140.
- [16] 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晌[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):153-156.
- [17] 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):651-654,643.
- [18] 王笑丹,张培彤. 中医证候分层诊断模式及标准初探[J]. 中华中医药杂志,2017,32(3):1209-1213.
- [19] 官宗华,宋捷民. 中医实热证的研究及改进设想[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(22):349-352.
- [20] 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):53-56.
- [21] 张厚松,葛倩敏,邵毅. 视网膜微循环检测技术及其临床应用[J]. 国际眼科杂志,2020,20(11):1898-1901.
- [22] 孙安会,袁肇凯,夏世靖,等. 中医证候系统生物学研究的现状和展望[J]. 中华中医药杂志,2016,31(1):200-204.
- [23] 韩晨霞. 基于线粒体生物合成探讨中枢疲劳的中医证候及生物学机制[D]. 北京:北京中医药大学,2017.
- [24] 黄仲羽,刘凤斌. 基于多维计算机自适应测试的中医证候量化方法学探索[J]. 时珍国医国药,2018,29(1):234-236.
- [25] 孙喜灵,郑秋生,于东林,等. 中医证候理论内蕴的数学逻辑关系研究:兼论“证素”研究的伪命题特征[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2015,17(6):1274-1279.

(修回日期:2022-09-12 编辑:崔春利)