

21 世纪高等医学院校教材
(供中医、中西医结合专业研究生、本科生用)

中医诊断实验方法学

袁肇凯 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书以实验方法为纲,系统地阐述与中医诊断有关的实验研究的理论、技能及应用。本书内容除绪言外,共4章,内容包括:中医诊法实验研究方法、中医辨证实验研究方法、中医诊断动物实验方法、中医病证量化诊断方法等。本书目的是加强学生传统中医诊法和辨证辨病的知识,改善学生的知识结构,开拓科研思路,提高实验技能。在编写方面,本书涵盖中医诊断学不同层次的研究内容,包括整体的、器官的、细胞的和分子水平的实验研究方法;针对中医教学、科研、临床所需,突出中医诊断的特色。在应用资料的介绍方面,有述有评。宽视野、高起点、新资料、重应用是本书编写的特点。

本书可供全国高等中医院校中西医结合、中医、针灸推拿、药学及相关专业的研究生和本科生学习使用,亦可作为中医、中西医结合临床医师知识更新和继续教育的实用教材。

本书为湖南省教育厅推荐使用的研究生教材。

图书在版编目(CIP)数据

中医诊断实验方法学/袁肇凯 主编. —北京:科学出版社,
2003.8

(21世纪高等医学院校教材)

ISBN 7-03-011969-X

I. 中… II. 袁… III. 中医诊断学-实验方法-医学院
校-教材 IV. R241-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 072191 号

责任编辑:郭海燕 曹丽英/责任校对:陈丽珠

责任印制:刘士平/封面设计:卢秋红

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003年8月第一版 开本:850×1168 1/16

2003年8月第一次印刷 印张:25 1/2

印数:1—3 000 字数:557 000

定价:42.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

《中医诊断实验方法学》编委会

主 编 袁肇凯

主 审 朱文锋

副主编 王永宏 顾 星

编 委 (按姓氏笔画为序)

毛以林 卢芳国 田 松 刘旺华

朱文锋 孙贵香 李绍芝 张 波

张秋雁 周小青 胡志希 唐金强

黄献平 黄碧群 谢梦洲

编写说明

开展中医诊断实验教学,是改革教学方法,丰富和更新教学内容,提高中医诊断教学质量的一个重要环节。通过实验课学习,不仅要加强研究生、本科生传统中医诊法和辨证辨病的知识,同时也应改善学生的知识结构,开拓科研思路,提高实验技能。这里所介绍的中医诊断实验方法,都是从国内外及本学科的科研中较为成熟、与中医诊断学科联系较密切的内容移植而来。《中医诊断实验方法学》则是为开设中医诊断实验教学而编写的。本教材是在原湖南中医学院《中医实验诊断方法》的基础上,结合研究生、本科生实验教学和多期全国高等中医院校中医诊断师资班教学的经验体会,并吸取了兄弟院校教材的长处后,由湖南中医学院中医诊断学国家重点学科成员为主编写而成。

本教材的编写以硕士研究生教学为目标,同时考虑本科生的教学需要,以实验方法为纲,较系统地阐述与中医诊断有关的实验研究的理论、技能及应用。宽视野、高起点、新资料、重应用是本书编写的特点。

在取材方面,以本学科已应用的实验方法为主,适当精选了部分进展较快或观念较新并与中医诊断有联系的实验研究方法和分析方法,同时较为全面地介绍多年来中医诊断实验研究所取得的成就,包括近几年来与中医诊断临床密切相关的新理论、新知识、新方法。

在编写方面,坚持科学性、先进性和实用性原则。即所选的实验方法应尽可能是在临床或科研中得到应用,并能反映中医病证诊断特征的实验方法;尽可能涵盖中医诊断学不同层次的研究内容,包括整体的、器官的、细胞的和分子水平的实验研究方法;面向中医教学、科研、临床所需,突出中医诊断的特色。

在应用资料的介绍方面,做到有述有评,对于其中疑难问题或有争议的问题亦应予以陈述,使研究生从中了解中医诊断实验研究的趋势,寻找科研课题,从而有所发现。

本书各节的编写分别为:绪言(袁肇凯);微循环观测(胡志希),舌苔脱落细胞学检测、光电血管容积图检测(袁肇凯),中医脉图检测分析(袁肇凯、孙贵香),生物机能实验系统的应用(顾星、刘旺华);超声诊断(黄碧群),生物化学分析方法(黄献平),酶免疫学方法(卢芳国),细胞培养(谢梦洲、李绍芝),基因检测(张波、毛以林),计算机数字图像分析(王永宏、唐金强);四诊的动物模型(刘旺华),证候动物模型(田松);病证计量诊断(周小青、张秋雁),计算机辨证(朱文锋)。并请中华中医药学会中医诊断专业委员会主任委员、全国中医诊断学教学研究会理事长朱文锋教授担任本书主审。

在教学安排上,微循环观测、舌苔脱落细胞学检测、光电血管容积图检测、中医脉图检测分析、生物功能实验系统的应用和计算机辨证等章节可同时作为本科生中医诊断实验教学的内容。

《中医诊断实验方法学实验指导》是本门课程的技能训练指导教材。

本书可供中医、中西医结合、针灸推拿及相关专业的研究生和本科生教学使用,亦可作为中医、中西医结合临床医师知识更新和继续教育的实用教材。

本书为湖南省教育厅推荐使用的研究生教材。

《中医诊断实验方法学》编委会

2003年7月

目 录

编写说明

| | |
|-----------------------------|------------|
| 绪言 | 1 |
| 第一节 中医诊断实验方法学的研究内容 | 1 |
| 第二节 中医诊断实验方法学的学科特点 | 1 |
| 第三节 中医诊断实验方法学的学术地位 | 2 |
| 第四节 中医诊断实验研究的概况 | 3 |
| 第五节 中医诊断实验研究的展望 | 7 |
| 第一章 中医诊法实验研究方法 | 10 |
| 第一节 微循环观测 | 10 |
| 一、微循环的基本知识 | 10 |
| 二、微循环的检测方法 | 18 |
| 三、微循环观察在中医学中的应用研究 | 32 |
| 第二节 舌苔脱落细胞学检测 | 41 |
| 一、脱落细胞学的基本知识 | 41 |
| 二、舌苔脱落细胞的检验技术 | 45 |
| 三、舌苔脱落细胞检测在中医学中的应用研究 | 53 |
| 第三节 光电血管容积图检测 | 62 |
| 一、光电血管容积图的基本知识 | 62 |
| 二、光电血管容积图的检测技术 | 64 |
| 三、光电血管容积图检测在中医学中的应用研究 | 71 |
| 第四节 中医脉图检测分析 | 77 |
| 一、脉图的基本知识 | 77 |
| 二、常见脉象的脉图特征 | 92 |
| 三、脉图检测分析技术 | 115 |
| 四、脉图检测在中医学中的应用研究 | 119 |
| 第五节 生物机能实验系统的应用 | 124 |
| 一、生物机能实验系统简介 | 125 |
| 二、生物机能检测系统的操作示例 | 148 |
| 三、生物机能检测在中医学中的应用研究 | 155 |
| 第二章 中医辨证实验研究方法 | 160 |
| 第一节 超声诊断 | 160 |
| 一、超声诊断的基本知识 | 160 |
| 二、超声检测技术 | 164 |

| | |
|----------------------------------|-----|
| 三、超声检查在中医学中的应用 | 171 |
| 第二节 生物化学分析方法 | 174 |
| 一、生化实验和技术的基本知识 | 174 |
| 二、生物化学检验方法 | 179 |
| 三、生化检测在中医学中的应用研究 | 199 |
| 附 生化检验中实验器具的处理和各种洗涤液的配制及应用 | 202 |
| 第三节 酶免疫学方法 | 208 |
| 一、酶免疫学的基本知识 | 208 |
| 二、有关物质的酶免疫学测定 | 214 |
| 三、酶免疫检测在中医学中的应用研究 | 227 |
| 第四节 细胞培养 | 230 |
| 一、细胞培养的基本知识 | 230 |
| 二、细胞培养技术 | 241 |
| 三、细胞培养技术在中医学中的应用研究 | 247 |
| 第五节 基因检测 | 251 |
| 一、基因检测的基本知识 | 252 |
| 二、基因检测的基本技术 | 269 |
| 附 苯酚的平衡及使用 | 271 |
| 三、分子生物学技术在中医学中的应用 | 286 |
| 附 基因检测中计算机有关网络的应用介绍 | 292 |
| 第六节 计算机数字图像分析 | 295 |
| 一、图像分析的基本知识 | 295 |
| 二、图像处理与分析技术 | 309 |
| 三、图像分析在中医学中的运用 | 314 |
| 第三章 中医诊断动物实验方法 | 317 |
| 第一节 四诊的动物模型 | 317 |
| 一、四诊动物模型研究的概况 | 317 |
| 二、四诊动物模型复制的方法 | 331 |
| 第二节 证候动物模型 | 337 |
| 一、证候动物模型研究的概况 | 337 |
| 二、证候动物模型复制的方法 | 341 |
| 第四章 中医病证量化诊断方法 | 361 |
| 第一节 病证计量诊断 | 361 |
| 一、计量诊断的概念与意义 | 361 |
| 二、病证计量诊断的常用方法 | 362 |
| 三、计量诊断在中医学中的应用研究 | 373 |
| 第二节 计算机辨证 | 383 |

| | |
|------------------------|-----|
| 一、计算机辨证研究的概况 | 383 |
| 二、中医计算机辅助诊疗系统的研制 | 384 |
| 三、计算机辨证软件介绍 | 392 |

绪 言

第一节 中医诊断实验方法学的研究内容

中医诊断实验方法学是系统阐述研究中医诊察疾病、判别证候的现代科学方法和实验手段的一门学科。

中医诊断实验方法学是传统中医诊断学与现代科学技术相结合的产物,是在继承中医基本理论和中医诊断特色的基础上,使中医诊断学对功能现象的描述逐渐向阐明机制的方向过渡,并使传统的中医诊断学从宏观的、定性的经验医学发展成为微观的、定量的现代中医诊断学。因此,中医诊断实验方法学也是中医诊断学的一个重要分支和发展方向。

就学科本身而言,中医诊断实验方法学的研究范围是十分广泛的。凡是与中医诊断学研究有关的内容,几乎都有现代实验研究,但就医学教育来说,不可能也无必要面面俱到。我们根据中医诊断学现代研究的进展,选择了中医诊法实验、中医辨证实验、中医诊断动物实验和中医病证量化诊断等为主要内容,从整体水平、器官水平、细胞水平、分子水平不同层次阐述了实验研究的方法。

在中医诊法实验研究方面,阐述了微循环观测与中医舌诊、甲诊、目诊及相关脏腑的关系,脱落细胞学改变对中医舌苔及辨证的影响,光电血管容积图检测在中医面、舌、甲、脉诊的意义,正常脉象和常见病理脉象的脉图检测分析,生物功能实验检测判断不同病证脏腑功能的特点。在中医辨证实验研究方法上介绍了超声诊断对临床辨证的意义,生物化学分析和酶免疫学方法检测中医证候的微观指标,细胞培养和基因检测研究中医证候本质,对不同病证宏观图像和显微图像的计算机分析。在中医诊断动物实验研究方面,着重论述了四诊动物模型、证候动物模型的复制方法及应用特点。在中医病证量化诊断方面,阐述了病证计量诊断的基本知识和常用研究方法及计算机辨证的临床应用研究。

第二节 中医诊断实验方法学的学科特点

从中医诊断实验方法学的含义可以确定,以中医诊断为研究对象,而研究方法为实验性的是本学科的基本特点。经典的实验是人们为了暴露隐蔽在事物内部的情况,为了比较精确地回答和解决某些科学问题而进行的一种主动模拟或变革研究对象的操作活动。其特点是人们预先计划、控制条件、使用药物和工具而主动引起复制事物的过程,并对其出现的现象进行观察和记录,做出科学的结论。但由于中医诊断学为中医基础与中医临床的一门桥梁学科,因此相对于经典的实验而言,中医诊断实验方法学又有其自身的特点。

1. 临床诊断的实验研究保留疾病现场的自然因素

中医诊断研究的对象主要是具有生命的人体,其“临床实验”与单纯的“临床观察”有所不同。

临床观察是在自然状态条件下考察对象,而临床实验则是在人为地模拟或改变研究对象的状态和在一定条件下考察对象。单纯的临床观察所得的经验往往不能充分证明病证演变的必然规律,因为疾病的表面现象有时并不直接反映病证的实质。而中医诊断的临床实验,如微循环观测、舌苔细胞学检测、血管光电容积图检测、脉图分析等,既要恒定实验检测条件,又常常保留疾病现场的各种自然因素,比较符合实验情况。这种临床实验不仅可以为中医诊断的实际作用做出客观评价,而且可以为病证形成的环节和机制做出初步的揭示。但是也应指出,由于各方面条件有时不易严格控制,因此临床实验不容易精确评定各因素间的相互关系。

2. 分析性实验研究有利于高水平的综合分析

古代中医学对疾病的认识,主要不是解剖病变时人体系统这个“黑箱”,而是通过无数次反复观察这个“黑箱”,对给定的输入信息所出现的效应,通过“输入-输出”的对应关系,推导出人体“黑箱”内变化的规律和特性。这种综合分析法对人体及其疾病一般性质(如八纲辨证、气血津液辨证等机体典型反应状态)的了解掌握,虽比单纯的解剖式研究方法更为正确,但所得的信息仍比较笼统。为了更确切地认识人体,就需在中医整体观念的指导下,结合解剖分析性研究方法,将机体疾病时的反应从结构上、功能上分解为它的各个方面,并逐一加以比较研究,以了解其特殊性。在分析的基础上再进行综合,从而不断加深对人体病证性质的认识。中医诊断的分析性实验研究,如生物化学分析和酶免疫学方法检测中医证候的微观指标,细胞培养和基因检测研究中医证候本质,为这种更高水平的综合提供了条件。

3. 动物实验性诊断研究缩短、简化、复制人体疾病过程

中医诊断的动物实验可将病证的自然过程缩短,撇开次要因素,加快观察研究的速度。例如研究老年性疾病证候演变的规律,若按人体自然过程每代观察数周则需以年计,而在实验室中以大鼠代替,每代观察数周则只要以日计。通过严谨的设计,模拟、复制人类疾病过程或难以直接在人身上研究的过程。许多证候本质研究为了排除其他因素的干扰,或施加某些致病因素,往往需要人工地创造一定的条件,如施用某些造模药物,或实施某些造模手术,这类实验会给人体带来损伤,甚至危及生命,只能在动物体上进行实验。

第三节 中医诊断实验方法学的学术地位

1. 中医诊断实验方法学是中医诊断学的重要分支

中医诊断实验方法学既是在继承传统中医诊断学基础上起步的,又突破了传统中医诊断学直观、直感的局限性,是在向着微观化、客观化的研究进程中逐步发展并日趋成熟而建立起来的。因此,中医诊断实验方法学是中医诊断学的一个重要的分支。

2. 中医诊断实验方法学是沟通传统中医诊断学和现代自然科学的桥梁

中医诊断实验方法学是传统中医诊断学与现代自然科学相结合的产物,它一方面与中医基础理论、中医临床各科都有密切的联系,同时与现代组织胚胎学、病理生理学、生物化学、免疫学、实

验动物学、生物物理学、计算机科学等关系非常密切。多学科的研究方法和最新技术渗透到中医诊断的实验研究之中,使传统的中医诊断学焕发了新的活力。从某种意义上说,中医诊断实验方法学是一门边缘学科,是沟通传统中医诊断学与现代自然科学的桥梁。

3. 中医诊断实验方法学是发展中医诊断学的重要途径

尽管传统的中医诊断学有一定的粗线条的定性、定量,但常受到医生经验的多少及进行诊察的医生本身感觉灵敏度差异的影响;传统中医临诊时大多借助模糊思维,通过对疾病表现的模糊属性的相对稳定度予以估计,对病证做出具有模糊性的判断。由于中医诊断方法存在着较大程度的经验性和模糊性,而借助现代实验技术,引进现代测试仪器和手段,延伸了医生的感官;而引进现代数学原理和计算机技术,使中医诊断在定性、定量诊断方面更加客观化、精确化,将显著地促进中医诊断学的发展。

第四节 中医诊断实验研究的概况

(一) 中医诊法实验研究

1. 望诊

(1) 舌诊

充分利用现代科学技术的新仪器、新方法,使舌诊实现客观化、科学化,减少肉眼直观的误差,如利用荧光分色测定舌色的舌诊仪,利用彩色电视原理观察舌色,利用舌印方法研究舌上乳头,活体显微镜观察舌质,病理切片及刮舌涂片检查,应用血液流变学研究舌诊等,还有运用纤维胃镜、舌血流图、舌下络脉观测等方法。目前,临床对舌脱落细胞酯酶染色、唾液蛋白含量测定、舌蕈状乳头计数、舌尖微循环、舌面 pH 等研究,以及舌象摄影仪、舌体测量器、舌诊比色板、舌色测色仪等舌诊仪的研制,均为中医舌诊提供了有价值的的数据。在国外,也有应用放射自显影技术研究舌上皮代谢情况;应用同位素标记方法测定舌上皮更新率;用 X 线技术显示舌乳头微血管;用微量元素检测方法研究舌苔;用氨基酸测定仪分析舌上皮细胞蛋白质中各种氨基酸的含量等。总之,中医舌诊研究有如下特点:①研究范围较广:正常舌象、病理舌象、形成机制。②有研究深度:细胞、亚细胞、分子水平。③研究方法较先进:临床流行病学调查、细胞化学、PCR 技术、现代诊断方法、计算机技术。目前,尚缺乏能直接反映中医舌诊各种舌质、舌苔、舌唾液、舌生化的特异性指标及精确度高、且为中医所接受的舌诊仪。

(2) 色诊

在对面部肤色分光测定的基础上,研制出标准肤色色标;并应用光栅投影法、光电比色原理、红光热成像技术、断层立体计量法等技术进行不同面色或病证患者的实验和临床研究。国外已用精密仪器测定物体颜色,并已用于人体面色测定,使面色标准化、规范化。

(3) 目诊

国内利用微循环显微镜观察不同病证患者眼球结膜微血管的微循环变化作为辨证的参考依据。国外目诊的研究,主要反映在虹膜上占有一定代表区,当内脏或肢体患病,其信息可反映到相应的代表区,其检查方法是运用眼科裂隙灯或偏振光装置、彩色录像系统等观察虹膜瞳孔区、蜷缩

轮和睫状部的变化。

(4) 耳诊

观察斜形耳垂皱褶诊断冠心病是国内学者研究耳诊较多的课题;应用耳穴染色法观察耳穴变化与疾病的相关性。

(5) 甲诊

应用微循环显微镜观察甲襞血管的排列、开放数量、微血流速、流态及管祥周围的状况,为中医辨证提供依据。

(6) 发诊

运用电镜检测头发的超微结构分析头发与年龄(肾气)的关系;运用原子吸收分光检测头发所含微量元素探讨与中医辨证的关系。

2. 闻诊

(1) 声诊

国内外专家应用声图仪及电子计算机对正常和病理的声音进行分析,如对肺结核阴虚病人语音分析;对肺气虚证、肺阴虚证和实证患者声频的频谱分析,探讨病证诊断的客观声诊指标;利用计算机技术测定喉病患者的噪音参数;应用心音拾音器配合医用数据处理机对健康人和急腹症病人的肠鸣音脉冲幅度、肠管蠕动节律进行了观察。日本专家应用声纹图对中医五脏与声音构型的关系作了相关研究,使传统五声诊断理论得到客观表述。研究表现,应用声图仪分析谐噪比对诊断病证,判别疗效有重要意义。

(2) 嗅诊

嗅诊研究包括对人体嗅觉能力及人体气味研究。在嗅觉能力方面,通过对人体嗅域、阈上和嗅觉享受梯度测定,提示嗅觉能力与肺气虚及鼻腔疾病有关,也与性别、年龄、个体敏感程度,某气味接触多少及心理因素有关。在人体气味方面,国内外主要运用红外光谱法测定呼吸气息成分;直接顶空分析法采样,通过气相色谱-质谱联用分析病人气味的成分;气相-液相色谱定量分析人体气味。结果表明,正常人口腔气味有 200 多种成分,大致分为五大类:脂类、芳香类、氨基酸代谢产物、含硫化合物和卤代物。在临床研究方面,主要集中糖尿病、肝病、肾病、肺癌口腔气味及于胃热口臭成分的分析。

3. 问诊

问诊的主观成分多,医师的经验、问诊的语言、问诊的环境等均可产生不同的影响,问诊一直是四诊研究的重点和难点。电子计算机在医学领域的应用,为问诊的客观化、定量化提供了条件,采用数学模型和人机对话技术,使问诊中模糊的概念逐步量化,各种数学模型相继出现及中医辨证电脑系统的产生是中医问诊客观化的具体应用。如国内专家报道,根据气血阴阳四虚证的症状信息应用 Fuzzy 统计方程,建立隶属函数,进行证型诊断;根据脾虚证的症状贡献率建立隶属函数;在血虚证流行病学调查的基础上设计问诊内容,应用条件 Logistic 回归分析法,建立回归模型公式。日本学者亦有设计“问诊表”,提出对症因子进行分析的报道。由于问诊中存在着许多模糊性、非定量性的症状,所以问诊的客观化、定量化研究难度较大。目前在问诊方面研究的数学模型中,得到公认、易于推广的尚少。

4. 切诊研究

(1) 脉诊

脉诊客观化研究已引起医学和生物医学工程学者的关注。目前主要采用换能的拾振器,其换能的方式有压电晶片式、电磁式、应变电阻式、液态换能式、阻抗式、光电换能式等,国内使用较多的仪器有 BYS-14 型心电图脉象仪(北京)、MX-3 型和 ZM-1 型中医脉象仪(上海)、MX-811 型液态脉象仪(南昌)、DHG-2 型气压电阻脉象仪(大连),上海、天津等地在单头脉象仪的基础上研制出 3MX-1 型三头脉象换能器。MX-Y-A 型三导多探头脉象仪,对于分析寸、关、尺三部脉象的特征更具优越性。随着雷达、声纳系统研究的发展,国内应用多普勒超声和超声心动图,探讨中医脉象也日渐增多,利用超声检测技术检测不同脉象的宽度、血流量、血管弹性、心输出量及血管周围阻力等,使中医脉象研究由波示图进入声像图的领域。对于脉图的分析方法主要有两类,即时域分析法和频谱分析法,而时域分析法又可包括直观形态分析法、速率图分析法、多因素识别法、数学判别分析法和模型推导求解法等。电子计算机的运用大大提高了脉图分析判断的准确性和规范化。经过多年各地工作的积累,目前已初步定型的有平、浮、沉、迟、数、弦、濡、滑、涩、促、结、代等脉图。脉图形成的生理基础研究表明,脉图较好地反映了心血管系统的功能状态。日本、韩国、美国、德国的学者很注重用最新现代科技进行中医脉诊的实验研究,而日本在脉图的临床研究和应用研究方面做了大量工作。

(2) 按诊

国内外多致力于按腹的理论和临床研究。有学者在文献研究的基础上,结合亲身体会,提出按、压、摸、拍、弹等手法,也有应用现代科技实现腹诊手段仪器化的研究,如应用光电腹诊仪探测胃肠含气量,使腹部胀满指标客观化;使用医用热象仪和深部测温计规范腹诊的寒热标准;利用肌电图分析仪测定腹肌紧张度以说明少腹弦急的程度;应用多普勒血流计测定腹部血流状况等。中国中医研究院研制成“中医腹诊仪”包括温度、压力、位移测量,并编制成“腹诊计算机诊疗系统”。中医腹诊经日本学者在实践中发展,形成日本汉方医腹诊;以其“腹证”为主要指征,直接选用固定汉方,形成腹证、类方相对应的腹诊处方方法。并且研制成一种腹诊用“人工指”,靠接触胸腹时产生的血液流变指标来代替手指的触觉,从而指导临床诊断和用药。

(二) 中医辨证实验研究

相对于传统的宏观辨证从整体上分析辨证指标,微观辨证则重在从器官、组织、细胞、分子,甚至是基因水平研究辨证指标,探讨证候本质。其研究主要包括三个方面:

1. 临床实验研究

自从上海华山医院通过对肾阳虚证患者下丘脑-垂体-肾上腺皮质、甲状腺、性腺等三轴功能测定,证明肾阳虚证患者在此三条内分泌轴的不同水平上,均有不同程度的功能紊乱,国内许多学者应用多学科、多指标探讨中医证候本质,发掘了众多的证候微观化的指标。

(1) 八纲辨证

对寒、热、虚、实、阴、阳、表、里各证都进行了单独的病理生理和病理解剖学研究,其中以阴虚

证和阳虚证研究最多,涉及指标有内分泌(如肾上腺皮质激素、甲状腺素、前列腺素、性激素、内分泌腺体形态学等)、血浆环核苷酸、物质能量代谢(如 ATP、 Na^+ 、 K^+ 、儿茶酚胺、ATP 酶、尿 17-DHCS 和红细胞酵解率等)、免疫功能(胎儿甲种球蛋白、淋巴细胞转换、玫瑰花环、补体 C3、IgM、IgG 等)、植物神经功能(体温、脉率、血压、冷加压试验以及某种神经递质及其代谢产物的测定)等各方面。

(2) 脏腑辨证

对五脏六腑各重要证型已基本涉及,并且与辨病相结合研究了各主要疾病(如慢性肝炎、慢性胃炎、慢性支气管炎、肺心病、冠心病、原发性高血压、慢性肾炎、类风湿关节炎、糖尿病、再生障碍性贫血等)的同病异证的实验指标差异。在异病同证中,尤以肾阳虚证和脾气虚证研究最多。对于肾阳虚多从神经、内分泌、免疫、能量代谢、血浆环核苷酸、内耳生物电、微循环、微量元素等着手研究;对于脾气虚证则多从植物神经系统(胃电图、皮肤电冷反应、尿 VMA 等)、消化功能(如血清促胃液素、木糖排泄试验、唾液淀粉酶含量、胰腺淀粉酶分泌功能、胃肠道钡餐透视、空腹胃液分析等)、免疫功能、蛋白质代谢、内分泌(促胃液素、缩胆囊素等)、生物化学(如多巴胺 β 羟化酶、乙酰胆碱酯酶、环磷酸腺苷等)检验进行研究。

(3) 气血津液辨证

对气血诸证的微观指标进行了广泛的研究,其中尤以血瘀证研究最多,不仅涉及微循环、血液流变学、血流动力学、血小板功能、红细胞变形性、cAMP、cGMP、*N*-乙酰神经氨酸、白细胞抗原等多项指标,而且提出了血瘀证的微观辨证指标以及一些新的学说,如血液循环和微循环障碍理论,血栓形成理论,代谢失调理论,体液调节和内分泌紊乱理论、血液流变学异常理论等,是血瘀证涉及的不同病种分类研究的结果。

2. 病证量化诊断研究

随着统计学和电子计算机科学的发展和应用,不少学者将已知的一定数量确诊病证患者的症状、体征和各种检查结果、数据,按照一定的数学模型,经过计算归纳为一定的数学公式。当有待诊断的新病人就诊时,可将患者的症状、体征及检查结果数据代入公式,计算出以概率或数量大小所表示的诊断结果,从而做出患者的病证诊断。其诊断的水平一般相当于高年资临床医生。电子计算机协助医学计量诊断,在我国开始于 20 世纪 60 年代,第一台中医辨证论治模拟电脑程序于 1965 年研制成功,所采用的数学模型基本形式是加权求和,阈值运算。目前国内已有慢性支气管炎、冠心病、肺心病等病种应用数量化方法,逐步判别分析法,初步实现用现代客观指标进行中医八纲辨证、脏腑辨证和气血津液辨证的计量诊断,并且还有应用逐步回归分析法建立的血瘀证计量诊断标准。中医的微观辨证在多数还是单指标分析为主,若要发展成为多指标分析,必然要用计量诊断技术。

计量诊断可集微观、宏观辨证于一体,从而实现微观、宏观辨证的有机结合。国外计量医学近年来发展较快,已成功地对心血管、泌尿、体液、循环、神经、消化、内分泌、呼吸系统等领域的 45 种疾病的计量诊断开展了研究。可以估计,今后医疗信息处理系统的发展将离不开计量医学的发展。

(三) 动物实验研究

中医证型的动物模型始于 1960 年,邝安堃使用过量的皮质激素制成小鼠阳虚证的征象;1964

年上海第二医学院首次用中医证候(气虚、阳虚)做为模型名称。此后伴随着微观辨证研究,中医动物证候模型的研制也逐渐增多,模拟的证候从八纲之阴证、阳证、寒证、热证,脏腑辨证的肾虚、脾虚证开始,逐渐普及于卫气营血、六经等证候,现在已基本涉足于所有辨证领域,而各证型的造模方法也越来越多。例如“血瘀证”的动物模型,大体可分两类造模:

1) 根据血瘀证的病因病机而制作动物模型,主要有:①根据内感忧怒,外感寒邪致血瘀的动物模型;②外伤血瘀证的动物模型;③衰老而气虚失运所致血瘀模型;④气滞血行不畅所致血瘀模型;⑤阴虚火旺,虚火内灼所致血瘀模型;⑥离经之血滞留体内的血瘀模型;⑦血虚或脾虚所致的血瘀证模型。

2) 根据在临床研究发现血瘀证病人的病理生理改变而制作的动物模型,主要有:①全身性微循环障碍与血液流变学改变的血瘀证模型,如静脉注射高分子右旋糖酐所致家兔急性血瘀模型、静注羊水或凝血酶所致血管内凝血的动物模型、全身动脉粥样硬化模型等。②局部血流动力学障碍的血瘀证模型,如局部注射肾上腺素或去甲肾上腺素导致微血管痉挛、血流停止性血瘀模型,结扎冠状动脉或脑动脉造成心肌梗死或脑梗死作为局部血液循环障碍的血瘀证模型,还有血栓血瘀模型、局部炎症性血瘀模型、放射性损伤血瘀模型、肠粘连性血瘀证模型、实验性水肿性血瘀模型、组织增生变性型血瘀证模型等。

第五节 中医诊断实验研究的展望

(一) 中医诊法学研究

(1) 运用现代科技成果,四诊手段不断更新

结合中医诊断理论研制出一批具有中医特色的诊断仪器,如望色仪、舌象仪、脉象仪、闻诊仪、嗅诊仪、腹诊仪等,以延长听觉,拓宽视觉,扩大触觉,使中医四诊更直观、客观,辨证指标既有质又有量,提高中医辨证论治的水平。

(2) 移植现代诊察方法,拓宽微观望诊范围

结合中医脏腑病证的特点,开展“心病辨证与心电图”、“肺病辨证与 X 线”、“肝病辨证与超声”、“脾病辨证与胃液”、“肾病辨证与尿液生化”、“气血津液辨证与血液生化”等系列中医现代望诊研究,逐步建立起心电辨证学、X 线辨证学、超声辨证学、胃液辨证学、尿生化辨证学和血生化辨证学。

(3) 多学科新技术结合,阐明舌象形成机制

以前舌诊的研究工作,主要论证了不同舌质、舌苔的微观现象,今后的研究方向,则是在中医诊断理论的指导下,广泛运用舌色测定、舌组织检查、电镜检查、超声扫描、同位素技术、电味觉测定、遗传因素测定、舌上皮更新率测定、细胞立体计量法、显微分光光度法等现代检测手段,阐明各种舌象形成的机制,建立一门符合中医理论的现代中医舌诊学。

(4) 规范脉象检测技术,探讨脉象客观指标

关于脉象检测技术规范是在学术界对检测技术取得共识的基础上,一是对有关技术问题采用统一标准。如压力脉图检测法,可以对国内所用仪器的性能和规格、测试条件、参量名称、单位和选用的标准进行研讨,求得共识。在脉象的客观指标方面,将在压力搏动以外,获取脉象的各种

信息,如寸口桡动脉的血流速度、流量、管壁的三维运动,脉管与体表间的组织厚度及其特性变化,血液和血管的流变特性等,来探讨脉象的特性及其表达指标。其次是研究各种脉象的共有属性,以达执简驭繁的目的。如探讨“位、数、形、势”的具体物理属性、物质基础,在对属性的检测技术上,可应用彩色多普勒超声显像技术,阻抗频谱分析,血液流变学检测方法等,以研究属性的特征和表达方式。

(5) 探讨病声图参数,建立病证气味数据

在声诊研究方面,将应用声图仪和电子计算机测定中医声诊中各类病理声音属性的各种物理量,从中寻找出共性的和特有的声图表现及声学参数,为中医病证声音的诊断提供客观依据。在嗅诊研究方面,将进一步完善“采样-浓缩-分析”鉴定系统,使之自动化,同时开发和规定人体正常气味与病证气味的参照标准,建立各种病证气味的数据库及人体病证气味学,为临床诊断提供依据。

(二) 中医辨证学研究

(1) 宏观微观相结合,逐步阐明证的实质

以前对中医辨证学研究的认识,大致属于病理生理学诊断,并未阐明证的物质基础。今后对于证的研究,不仅要进行整体的、系统的宏观辨证,也将从器官水平、细胞水平、亚细胞水平、分子水平、基因水平上深入探讨不同证型的微观特征,并且与现代医学及其他学科相互渗透,从而提高研究水平,阐明证的实质。

(2) 从研究人之证,转向研究证之人

由于人是有心理的、有社会属性的高级生物体,其疾病过程中涉及的因素极为复杂,必须综合考虑,全面分析。今后微观辨证研究将在中医基础理论的指导下,从过去研究“人之证”转向研究“证之人”,针对病人的整体功能、结构与代谢改变综合研究,并且借助哲学、天文学、地理学、人类学、心理学、生物学、化学等多学科知识的渗透研究证的本质。

(3) 立足中医,逐步建立证的动物模型

动物模型研究是中医诊断学发展的必然趋势,尽管动物模型不能很精确地反映人类疾病实质,但作为人类的替身,则是中医诊断治疗研究的重要手段。今后中医证型动物模型研究的方向是:①依据中医辨证论治理论复制“证”模;②以整体观念指导复制“证”模;③根据中医病因病机理论,采用多种方法复制“证”模;④用药物反证法检验“证”模。总之,通过对动物模型的研究,使中医诊断理论逐渐深入到多层次的形态学、分子生物学,乃至遗传基因等微观领域,使中医诊断理论具有可重复性,亦可扩展中医理论的内涵,促进中医现代化。

主要参考文献

- 蔡光先.1990.传统中医理论现代研究.长沙:湖南科学技术出版社
陈达理,周立红.1989.中医基础理论现代研究.上海:上海中医药大学出版社
陈可冀,史载祥.1999.实用血瘀证学.北京:人民卫生出版社
陈文杰,田牛,赵国忠等.1987.微循环的理论和应用.北京:人民卫生出版社
陈泽霖,陈梅芳.1982.舌诊研究.第2版.上海:上海科学技术出版社
费兆馥.1991.中国脉诊研究.上海:上海中医药大学出版社

- 傅聪远,牛欣.1993.中医脉象今释.北京:华夏出版社
- 黄秉宪,潘华.1984.计量医学.上海:上海科学技术出版社
- 姜春华.1981.活血化瘀研究.上海:上海科学技术出版社
- 匡调元.1989.中医病理研究.第2版.上海:上海科学技术出版社
- 匡调元.1998.现代中医病理学基础.上海:上海科学普及出版社
- 梁茂新,刘进,洪治平等.1998.中医证研究的困惑与对策.北京:人民卫生出版社
- 苗明三.1997.实验动物和动物实验技术.北京:中国中医药出版社
- 谭德高.1992.中医药工程研究与应用.北京:中国中医药出版社
- 王洪琦,许有玲.1999.中医基础理论研究的现状和未来.北京:军事医学科学出版社
- 王家良.2001.临床流行病学.上海:上海科学技术出版社
- 王明艳,周坤福,徐力.2000.分子生物学与中医药研究.上海:上海中医药大学出版社
- 朱文锋.1999.国家标准应用·中医内科疾病诊疗常规.长沙:湖南科学技术出版社
- 朱文锋.1999.中医诊断学.北京:人民卫生出版社
- 朱愉,多秀瀛.1997.实验动物的疾病模型.天津:天津科技翻译出版公司

第一章 中医诊法实验研究方法

第一节 微循环观测

一、微循环的基本知识

微循环(microcirculation)这一名词是1954年美国举行的第一届世界微循环学术会议上正式确立和使用的,其定义尚未完全统一。一般认为,广义的微循环是直接参与细胞、组织物质交换的体液(血液、淋巴液、组织液)循环动态;而狭义的微循环即指在循环系统中,细动脉(或称微动脉)与细静脉(或称微静脉)之间的微血管血液循环,这是目前实际上能够直接观察到的微循环。微循环是循环系统最基本的结构,是体内各脏器中最小的功能单位(如肝小叶、肾小球、小肠绒毛、肺泡)中的血液循环,也是体内各组织器官内最小的功能-形态单位。微循环的基本功能是向全身各脏器、组织输送养料,送出代谢产物,调节血管内液与组织间液,从而参与细胞、组织的物质交换。

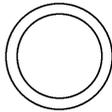
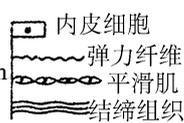
(一) 正常微循环及主要病理变化

1. 正常微循环

(1) 组成与功能

微循环遍布全身各脏器和组织,由于各脏器组织功能不同,各处的微循环结构和组成也不尽相同。典型的微循环由细动脉、毛细血管前括约肌、毛细血管和细静脉四部分组成(表1-1-1,图1-1-1)。它们是一个有机的整体,既精密协调,又合理分工,执行着各自的主要功能。

表 1-1-1 微血管的结构与调节

| 微血管名称 | 管腔大小 | 管壁厚度及结构 | 调节 | |
|----------|--|--|----|-----|
| | | | 神经 | 体液 |
| 微动脉 | 30 μm  | 3~4 μm  内皮细胞 弹力纤维 平滑肌 结缔组织 | ++ | + |
| 毛细血管前括约肌 | 10~12 μm  | 2~3 μm  | - | +++ |
| 毛细血管 | 8~10 μm  | 1 μm  | - | + |
| 微静脉 | 20~50 μm  | 2 μm  内皮细胞 结缔组织 | ± | + |

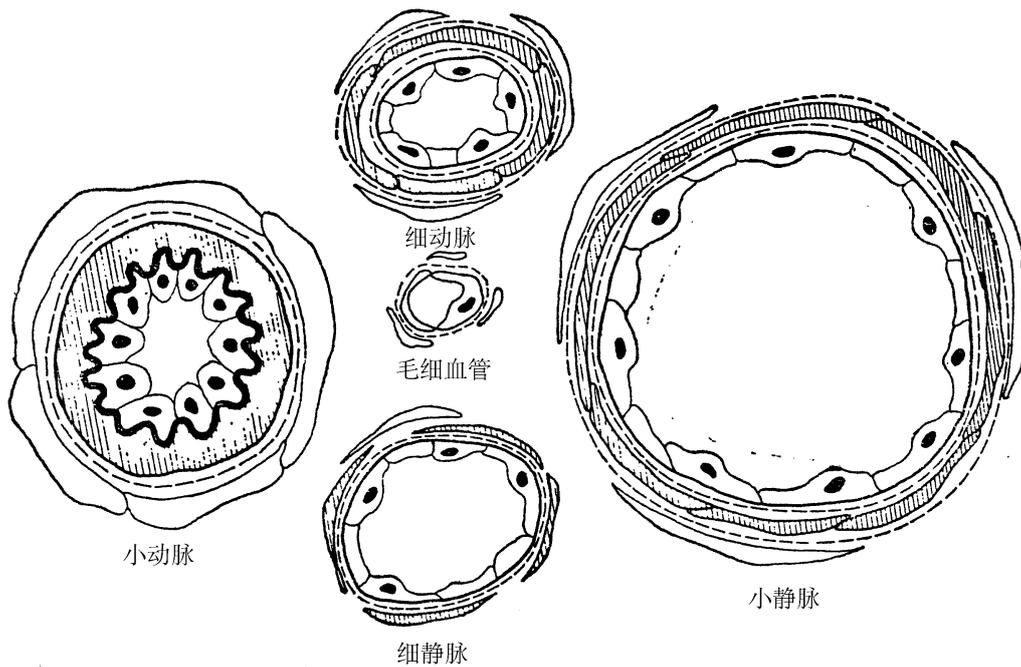


图 1-1-1 微循环结构模式图

1) 细动脉: 是小动脉的分支, 除有内皮细胞、弹力纤维、结缔组织以外, 还有完整的平滑肌, 收缩力较强。细动脉是血液流进微循环的前门, 可节制动脉系统的压力和流速, 调节进入毛细血管的血流量。

2) 毛细血管前括约肌: 是后细动脉的起始部与毛细血管的交接处, 有丰富的环状平滑肌, 调节毛细血管内血液的分布。

3) 毛细血管: 由单层内皮细胞、基膜及外周细胞突起所组成, 无平滑肌, 具有容量大、血管长、分布广、管壁薄等特点。根据走行不同, 毛细血管又可分为三类: ①网状毛细血管, 纤细而联络成网; ②分支毛细血管, 管径细, 运行较直; ③集合毛细血管, 由数个网状毛细血管汇集而成, 走行弯曲, 分支多。毛细血管能调整血液容积, 改变血流方向和通透性, 是脏器组织进行物质交换的主要场所。

4) 细静脉: 由内皮细胞、基膜和一层不典型的平滑肌构成。其管壁较薄, 管径较粗, 能接受毛细血管中的血液, 是微循环血液的“流出道”。

应该指出, 微血管是连续通道, 在观察中要找出各段的截然分界是比较困难的, 确切的区分则有赖于微血管细微结构的观察。

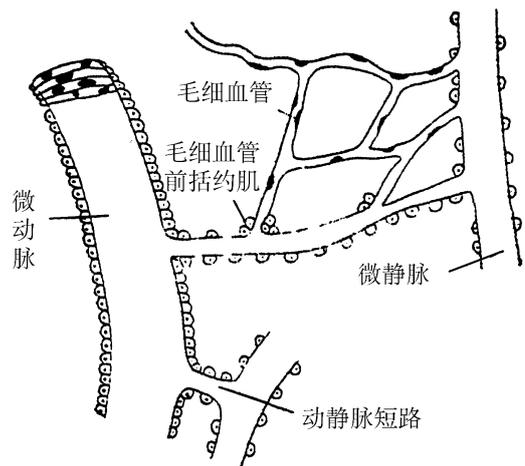


图 1-1-2 微循环的通路

(2) 微循环通路

在微循环中,细动脉、毛细血管和细静脉之间存在着一定的压差,从而保证了不间断的微循环血液流动。一般来说,大多数组织和脏器中微循环血流主要有三条通路(图 1-1-2)。

1) 直路:又称直捷通道,即细动脉→后细动脉→直捷通道→细静脉。该路流量大,速度快,交换少,可减轻毛细血管网的负担。

2) 小路:即细动脉→毛细血管前括约肌→真毛细血管网→细静脉。该路流量小,速度慢,物质交换充分,是一条较完整的通道。

3) 短路:又称动静脉短路,即细动脉→动静脉短路→细静脉。由于动脉血液未流经网状毛细血管,故该路是一条非营养性通道。机体所有脏器、区域都有动静脉短路,在某些病理情况下(如休克时)开放,有利于血流的回流和散热。

(3) 微血管构型

人体各脏器组织微循环的结构和组成虽有上述共性,但由于不同部位具有不同的形态、功能,因此体内各处微血管的构型也并不完全一致。常见的活体微血管构型可以归纳为四种类型(表 1-1-2,图 1-1-3),亦有少量其他形态。

表 1-1-2 常见微血管的构型

| 名称 | 特点 | 部位 | 功能 |
|-----|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| 发夹形 | 整个管祥为毛细血管,由口径较细的输入支、祥顶及口径较粗的输出支组成 | 皮肤(甲襞)、口唇黏膜、齿龈黏膜 | 保证局部的物质交换,适应体温调节 |
| 树枝形 | 由主干微血管发出分支,形成树枝状毛细血管网 | 球结膜、肠系膜、舌乳头、大脑、食道、膀胱、肌肉、肾上腺 | 局部的物质交换,并能代偿毛细血管网的局部病变 |
| 网孔形 | 由毛细血管交叉排列形成网状,或微血管不断分支形成网囊状 | 肝脏、小肠绒毛、肺表面、甲状腺滤泡、骨髓 | 适应物质交换、吸收及分泌功能 |
| 发团形 | 微血管排列成乱发样,或相互缠络成丝球状,或密网形,或珊瑚状 | 肾小球、脾小球、初级淋巴结、次级淋巴结、胰岛 | 适应过滤分泌 |

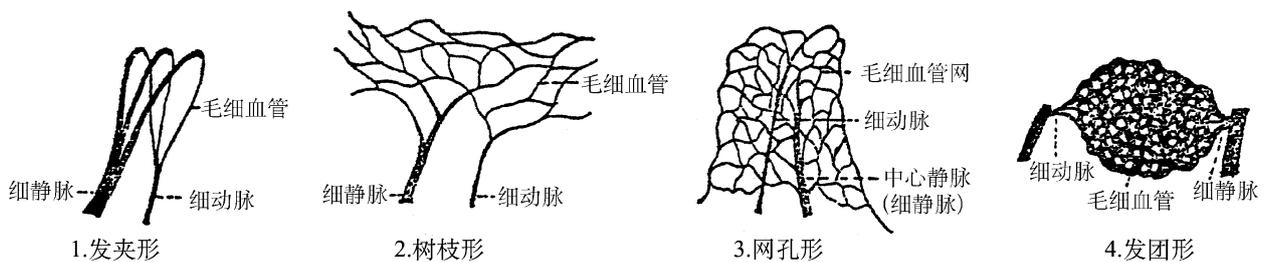


图 1-1-3 微血管的主要构型

应该说明,上述四类构型,并不能概括全身所有微血管的立体构型。即使是同一构型,各脏器之间亦有差别。而同一脏器不同部位,如小肠绒毛和肌层,皮肤乳头层和汗腺周围,其微血管的构型可完全不同。微血管的构型亦可随脏器功能状态不同而有相应的变化。

(4) 微血流速度和流动状态

微循环系统各部位的血流速度是不同的,由于测定方法的差别,各家测量的结果也有所不同。细动脉约为 1.7mm/s,细静脉为 0.9mm/s,毛细血管平均为 0.4mm/s。活体观察表明:细动脉、分支毛细血管、部分网状毛细血管的血流速度是随心动周期而变动,而细静脉及另一部分网状毛细血

管血流速度则比较恒定。

微血流的流速与流态关系十分密切。不同形态、不同口径的微血管,其微血流速度和状态也不尽相同。但是,在正常情况下微循环的血流呈线状或带状,不能看清流动中的血细胞,称为轴流(或层流),而在口径较小的毛细血管中,尤其是在网状毛细血管、集合毛细血管中,微血流速度慢些,呈“填塞流”(图 1-1-4)。微循环上述流速和流态的特点,为组织、细胞的物质交换提供了良好条件。

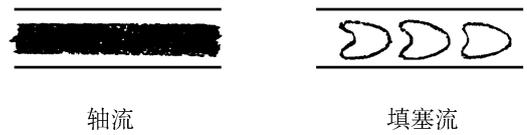


图 1-1-4 正常微血流流态

(5) 微血管周围

在微血管周围,特别是管祥顶部常常有一个边缘较清晰的透亮区,称为管祥周围间隙,在间隙中有少量的体液,其中主要是基质和各种纤维。

(6) 微循环的调节

微血流既受全身性因素影响,又受局部因素的调节,尤以后者更为重要。

1) 全身调节:细动脉及部分细静脉有交感神经纤维,而且受延髓血管运动中枢控制,其余微血管主要是由血液中血管活性物质控制。体内局部产生的物质(包括细胞坏死、分解等)大都具有使毛细血管扩张的作用;而全身性物质(如儿茶酚胺等)大都有收缩作用。正常情况下,由于全身性血管收缩物质的浓度保持相对恒定,所以微循环血管的收缩与扩张主要是由局部的体液性物质通过反馈作用进行调节。

2) 局部调节:它又可分成两类。第一是局部的反馈调节,通过微血管周围的代谢产物,如肥大细胞产生的组胺、缓激肽等物的产生和灭活调节微血流;第二是微血管本身的特殊调节,如毛细血管的开放或关闭、毛细血管内皮细胞向腔内舌状突起,微血管节律运动及动静脉短路开放等皆能调节微血流。

总之,微循环不同于一般血液循环,而具有“二重性”,即在属性上既是循环系统的最末梢部分,又是脏器的重要组成部分;在形态上既具有脉管的共性,又有脏器的特征;在功能上既是循环的通路,又是物质交换的场所;在调节上,既受全身神经、体液的调节,又受局部的调节。

2. 主要病理变化

微循环的主要病理变化表现在微血管祥的形态、微血流流态及管祥周围的变异。

(1) 微血管祥的形态变异(图 1-1-5)



图 1-1-5 微血管祥的形态变异

- 1) 管祥挛缩:由于机械或寒冷刺激及某些病理因素的影响,使细动脉、毛细血管或静脉管径缩小。
- 2) 管祥扩张:多因炎症或其他病理因素致使微血管舒张、扩大、管径增宽,血流及通透性亦发

生变化。

3) 管祥迂曲:微血管走行迂曲,或回旋 360° ,绕成小环,再沿原方向前进。

4) 管祥膨隆:微血管局部呈瘤状膨大,或单侧膨出,或管径缩小、扩大交替,有如串珠状。

5) 管祥萎缩:毛细血管或细静脉明显减少或消失,其分布、结构亦发生改变。常因细动脉血液供应减少,毛细血管内压明显降低,血流减少所致。

(2) 微血流流速、流态改变

1) 微血流流速减慢:细动脉:由线流→线粒流(轻度)→粒线流或粒流(明显);毛细血管:呈粒缓流(轻度)→粒摆流(明显)→血流停滞(严重);细静脉:呈粒线流(轻度)→粒流(明显)→粒缓流或粒摆流(严重)。

2) 红细胞聚集:由于红细胞表面失去光滑,血浆成分改变,血管内壁及周围组织损伤,血流速度改变等,皆可出现红细胞聚集(图 1-1-6)。

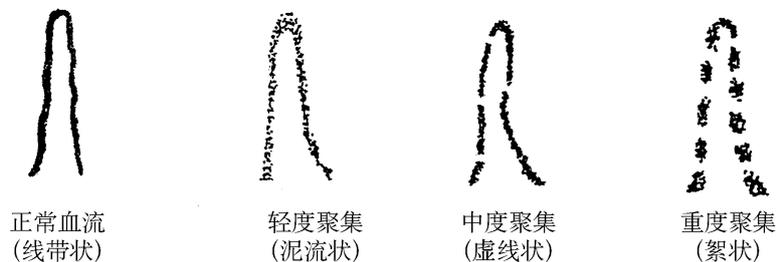


图 1-1-6 红细胞聚集

轻度聚集:血流不成线条状,数个红细胞聚集一起,混杂流动,呈泥沙流状。

中度聚集:出现大小不等红细胞聚集的颗粒,血流中有明显的颗粒感,呈虚线流状,但无红细胞与血浆分离现象。

重度聚集:有较多的红细胞聚集成团,密度大,不规则,与血浆分离,在无色透明的血浆中呈散在红细胞聚集团块流动,呈絮状。

3) 白细胞贴壁:在高倍镜下可见到白细胞的流态发生翻滚、贴壁、游出等由轻到重的连续变化,是组织损伤的早期表现。

4) 微血管血栓:微血管壁内有局部的白色团块黏附,称壁栓;在血流之中出现白色不规则团块漂浮而过,是流动血栓,可阻塞于毛细血管,引起严重的微循环障碍,常因血管内皮损伤或凝血活性增强所致。

(3) 微血管祥周围变化(图 1-1-7)

1) 微血管渗出:指血管内血浆成分过量通透微血管壁,并积存于微血管周围的现象;表现为管祥周围间隙明显扩大,微血管景象、边缘不清、看不清血流,微血管至表皮的距离增大,常伴有微血管口径舒张,血流减慢,多因微血管内皮细胞损伤、通透性增加所致。

2) 微血管出血:指红细胞出现在血管外的病理现象,最常见于毛细血管、细静脉及其汇合部位。常伴有微血管局部舒张、膨大、血流减慢。多因微血管损伤,微血管的血液流变学变化,使红细胞穿过微血管壁。

微循环的病理变化,主要包括上述构形、流速、流态及管祥周围变异等。但这些病理改变往往并非单一出现,而是相互影响,交织出现。有时在同一病人的微循环检测中同时看到多方面的病

理变化,其临床意义则应综合分析判断。

(二) 微循环的研究方法

由于微循环血管的管径细、管壁薄,易受血流动态影响,加之微循环血管大多与脏器的组织细胞有机地结合在一起,不能单独分离,因此,对于微循环的研究较之一般血液循环更为复杂,难度更大。近年来,随着自然科学的发展,国内外逐步建立和改进了许多微循环的研究方法,主要有形态学方法、生化学方法和生理学方法。这些研究方法都各具特点,但也有各自的局限性,而其中生理学方法与中医诊断研究关系比较密切。



图 1-1-7 微血管祥周围变化

1. 形态学方法

形态学方法即研究固定了的微血管形态、结构和周围组织相互关系的方法。最常用的有组织切片或连续切片,以观察微血管的断面形态结构,描绘出微血管的立体分布、走行及相互关系。还可利用透射电镜,认识微血管的微细结构、不同脏器微血管的特点、毛细血管与毛细淋巴管的差别,也有很大的意义;利用扫描电镜观察微血管的塑料铸型标本可获得完整、精细的微血管的立体分布和形态。灌注墨汁和明胶色素充盈微血管,可将周围组织透明,在解剖显微镜下清晰地显示微血管的分布、形态及微血管的相互关系。塑料铸型方法在形成脏器血管系统真实、完整的铸型,使微血管的空间分布、走行、形态、联系及过渡关系都十分清晰,亦可显示微血管内表面的结构。

上述研究微循环形态学的方法,其不足之处在于只能用于死亡或术后离体脏器组织的微血管观察,只能显示微血管壁的形态、分布、走向、构形,而不能观察微血管壁的结构及微血管径、流速、流态的动态变化;目前对于微血管的立体分布、构型,尚缺少定量测量仪器和技术。

2. 生化学方法

生化学方法即分析活体微循环血流在正常或异常时生物化学上的变化规律,从而阐明微循环的调节及病理变化的机制。常用方法如观察 ^{24}Na 、 ^{40}K 放射性减弱消失的速度,以检测局部微血流量;根据 ^{131}I -白蛋白放射性衰减与消失曲线的变化,以了解由组织进入淋巴管,代谢、分解所引起的减少速度;测定局部血管内血液、血浆的黏性、红细胞电泳、血液纤维蛋白原、纤维蛋白溶解活性、胞浆素及某些凝血因子、缓激肽等血管活性物质,以了解微循环状况。此外,测定微血管周围基质、纤维物质组成及生化改变,可进一步了解微循环。

3. 生理学方法

(1) 间接生理方法

通过测量微循环以外的机体变化,以推测局部微循环的变化。如容积脉波描记、组织血流量分析、体表温度测量以及血压、脉搏、呼吸的幅度和频率、皮肤的色泽、神志、意识等,都是研究微循环变化的间接判断方法。

(2) 直接生理方法

借助显微镜,选择人体适当的部位,直接观察活体微循环的形态、分布、微血流速度、流态变

化,以及微血管周围的情况。这是目前研究中医理论运用较多的一种微循环研究方法。由于人体活体微循环观察的部位有一定的限制,国内一般选择人体手指甲襞、眼球结膜、舌尖及口唇黏膜等处作为临床常用的观察部位(表 1-1-3)。

表 1-1-3 常用人体活体微循环观察的部位及形态

| 名称 | 部 位 | 设 备 | 正常形态 |
|------|---------------|------------|------|
| 手指甲襞 | 左手无名指或左足第 4 趾 | 甲襞显微镜 | 发夹形 |
| 眼球结膜 | 左眼鼻侧球结膜 | 裂隙灯或球结膜显微镜 | 网孔形 |
| 舌体舌尖 | 舌尖背部黏膜乳头 | 舌尖微观仪 | 树枝形 |
| 口唇黏膜 | 下唇内面黏膜 | 舌尖微观仪 | 发夹形 |

现在,在活体微循环观察的基础上,国内已研制出许多定性、定量检测的微循环专用仪器设备,大大提高了活体循环观察方法的客观性、科学性。如微循环荧光显微镜,不仅能观察血管分布、血流动态,而且能检测微血管的通透性;微循环电视显微镜可测量、描记微血管管径和血流速度的变化,使微循环观察逐步量化;高速显微摄影则是研究微血流流动过程中血细胞的运动、变形、血管运动性以及渗出、出血等现象的有效方法;微循环计算机图像自动分析系统使微循环检测更为准确、客观和规范,显著提高了微循环的分析质量。

在进行活体微循环观察时,要尽量减少某些干扰因素的影响,如生理性因素:年龄、精神、月经;物理性因素:寒冷、炎热、风、光、湿、燥的气候;化学因素:服药、吸烟;个体差异:生活习性、工作条件、居住环境、病种、职业等等。总之,活体微循环的检测影响因素较多,要获得准确、可靠、能重复的数据,应该注意:①全面认识影响因素(即误差来源);②严格控制条件,将影响因素限制到最小程度,减小误差;③制定正规、切实可行的操作规程并严格遵守;④尽可能固定观察人员,或经共同学习,统一方法,统一指标。

(三) 微循环的观测指标

微循环活体观察的指标可分为微血管形态、微血流动态和微血管周围变化三大类。

1. 微血管形态

(1) 外形

正常时,微血管柔和自然,血管轮廓较清晰。在病理情况下,微血管会出现痉挛、淤张、膨大和扭曲等畸形表现,当有液体从微血管中渗出时,微血管轮廓可模糊不清。

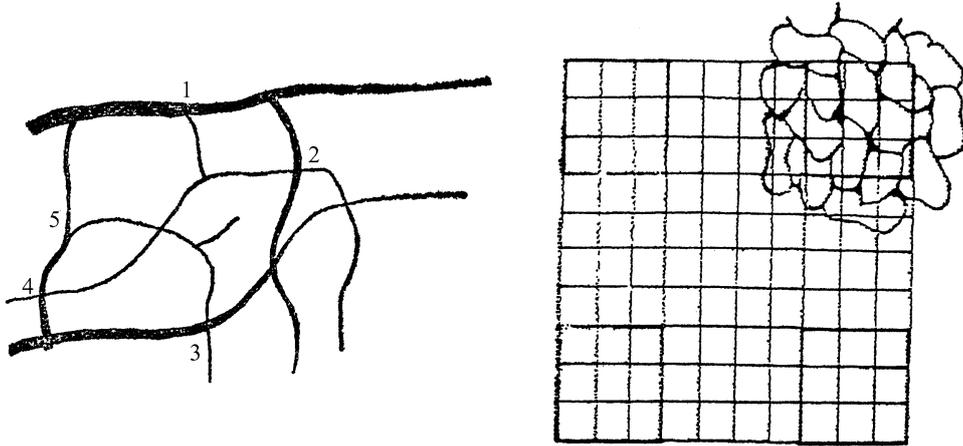
(2) 管径

在普通光学显微镜下,由于不易看清血管管壁和无色透明的血浆边流,因此所测得的微血管口径实际上是流动的血细胞柱,它的宽度略小于血管口径。但如在高倍(400 倍)显微镜下或应用荧光微血管造影技术或采用先进的微血管口径测定仪器,则可看清血浆边流和血细胞轴流以及血管内皮细胞,进而测定真正的微血管口径。在观察中,根据微血管口径变化,可判断微血管扩张和收缩程度。

(3) 毛细血管网交点计数

有两种毛细血管网交点计数方法。

1) 血管围成区域计数法:取面积约 1mm^2 固定区域,其边界由血管围成,计算此区域中毛细血管与边界的交点数,未与边界相交的毛细血管不计算在内。如图 1-1-8a,毛细血管网交点计数为 5.0。此法适用于毛细血管网较稀疏的部位,如眼球结膜和肠系膜等。



a. 血管围成区域计数法(交点计数为5.0)

b. 目镜测微尺域计数法(交点计数为13)

图 1-1-8 毛细血管交点计数示意图

2) 目镜测微尺域计数法:用方格形目镜测微尺在观察部位定出四个边长为 0.15mm 的正方格。观察与这四个方格,即 16 条边相交的毛细血管。如图 1-1-8b,计算相交的毛细血管数,能判断此部位毛细血管开放情况的动态变化。

2. 微血流动态

(1) 血色

微血管中血色在一定程度上反映血液含氧程度,因此可粗略表示血液对组织的供氧情况。正常时,血液呈鲜红色,在病理情况下,因缺氧等因素血液可呈暗红或紫红色;也可因贫血或血液稀释,使血液变成淡红色。

(2) 流态

微血流流态应包括血细胞流态和血浆流态。由于在普通低倍光学显微镜下不易看清血浆流态,因此在一般情况下,微血流流态主要反映微循环中血细胞在血浆中的悬浮状态以及血细胞间的状态。在微循环中,红细胞流态最易观察,其变化最明显,并将它简称为流态。但如应用高倍显微镜、先进的微循环观测仪器或荧光微血管造影技术,则在微动脉和微静脉中能看清血细胞轴流和血浆边流的变化。为了便于判断,可将红细胞流态分为四级:

0 级:为直线状(线粒流)

I 级:为虚线状(粒流)

II 级:为粒状(絮状)

III 级:为瘀滞状,微血管中无红细胞流过现象

在正常情况下,流态往往呈 0 级或 I 级,微动脉和微静脉中轴流和边界流清楚,在边界流中可

见少量白细胞和血小板。在微循环障碍时,流态出现Ⅰ~Ⅲ级,并可见白细胞贴壁翻滚、白色微小血栓、血小板团块和撇流现象,以及微动脉和微静脉中轴流和边界流界限不清楚。

(3) 流速

流速在一定情况下,可反映微循环的灌流状况,主要测定的是红细胞流速。可应用各种测速仪进行测定。如无测速设备,或因血管短小而弯曲无法应用测速仪,则可按照红细胞流态进行定性测定,即分为四种:

快速:为直线状(线粒流)

中速:为虚线状(粒流)

慢速:为粒状(絮状)

停止:为瘀滞状

3. 微血管周围变化

观察微血管周围是否有渗出和出血现象,以反映微血管壁通透性和完整性的变化。

(1) 渗出

正常时微血管壁通透性正常,微血管周围无明显渗出现象,因此微血管轮廓较清晰。在病理情况下,微血管壁通透性可升高,导致血管内液体渗漏到组织间隙,从而使微血管轮廓变得模糊。由于渗出的液体基本上是无色透明的,所以在普通光学显微镜下较难判别,往往要借助荧光微血管造影技术。

(2) 出血

如果微血管的管壁完整性受到破坏,损伤较严重以致引起出血,在微血管周围直接见到红细胞。根据血色素颜色深浅,可推断是新鲜性还是陈旧性出血。一般前者呈鲜红色,而后者呈棕黄色。

上述为微循环的常用指标。但在机体各不同组织和器官中,由于各自的生理生化功能不同,因此微血管构形和微循环表现也会有所区别,从而导致上述观察指标存在一定差异。

二、微循环的检测方法

(一) 人体活体微循环观察

人体微循环观测主要是以显微镜(或微循环观测仪)对体表某些部位进行无创伤性活体观察。目前国内一般选用手指甲襞、眼球结膜及舌尖等处作为常用的观察部位。现根据中国生理科学会病理生理学会第一届微循环专题讨论会拟定的《人体微循环观察的设备、指标及操作方法常规》试用方案,对中医微循环研究中常用的甲襞微循环、舌尖微循环和球结膜微循环做出简介。

1. 人体甲襞微循环观察

(1) 手指甲襞血管分布及血流供应

甲襞是覆盖在指甲根部的皮肤皱折。甲襞表面为覆层鳞状上皮所覆盖,其中皮肤真皮突起形成乳头。手指血管分布和血液供应如图 1-1-9、图 1-1-10 所示。

每个真皮乳头区一般有一支到几支毛细血管,由于毛细血管呈祥状,故称为毛细血管祥。毛细血管祥由较细的输入支、祥顶和较粗的输出支组成,正常状态时大多呈“发夹状”。血流从输入支基部流入,经祥顶,再从输出支基部流出。流入毛细血管输入支的血液主要是由弓状动脉进入,回收输出支流出血液的是乳头下静脉丛。此处血管交错成丛。甲襞微循环检查所能观察到的深度可达到乳头下静脉丛的水平(图 1-1-11)。

甲襞是临床检查微循环的良好部位,其有利条件在于:①甲襞表皮较薄,透光性能好,有利于观察微血管状态和血流动态。②甲襞之下有白色的平滑甲板,有利于与微血管对比。③甲襞微血管走行与表皮略平行,易于观察。④甲襞微血管丰富,对各种刺激的反应比较敏感。⑤手指是机体的暴露部位,容易固定和变换位置,较为符合生理条件。一般选择左手无名指或小手指甲襞作为临床观察的部位。

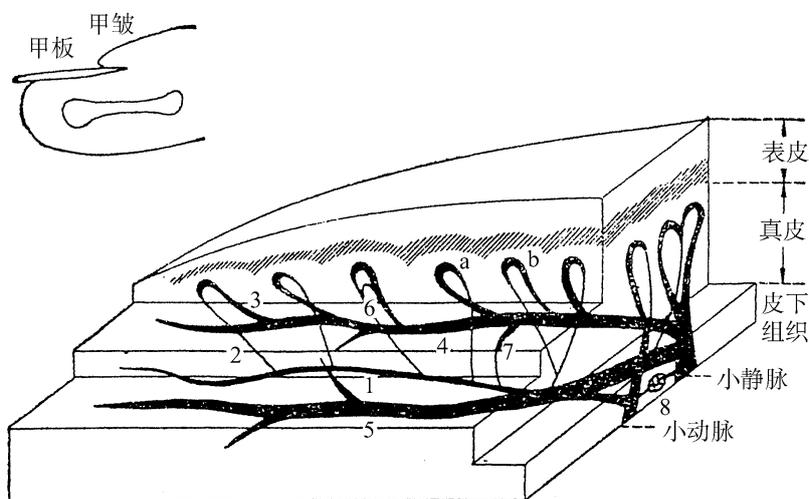


图 1-1-9 甲襞血管分布模式图

1. 细动脉 2. 输入支 3. 输出支 4. 浅层细静脉丛
5. 深层静脉丛 6. 交通支 7. 管状短路支
8. 球状短路支 a. 管祥周围间隙 b. 真皮乳头

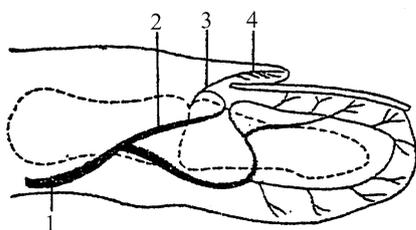


图 1-1-10 手指血流供应

1. 指动脉 2. 指动脉分支
3. 弓状动脉 4. 毛细血管祥

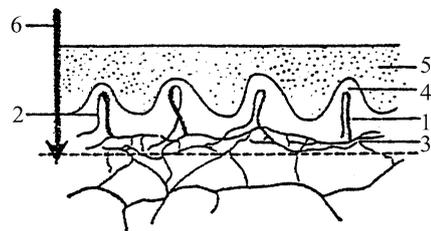


图 1-1-11 甲襞毛细血管所观察的深度

1. 静脉臂 2. 动脉臂
3. 乳头下静脉丛 4. 真皮乳头
5. 鳞状上皮 6. 观察所达深度

(2) 检查设备

1) 显微镜:目前国内设计、制造的甲襞微循环显微镜大多是在体视显微镜的基础上配上适当光源组成。也可用普通生物显微镜代替。甲襞微循环观察都是在低倍率下进行,至少应备有 $8\times$ 物镜、 $10\times$ 物镜和 $5\times$ 目镜、 $10\times$ 目镜各一个,最好采用平场消色差镜头,以减少因手指表面球面差所致的成像模糊,如备有PK摄影镜则更好。

2) 光源:作为微循环检查用的光源要求能看清微血管、微血流和单个红细胞,因此光源应具备3个条件:

A. 强光:由于观察视野的光线是以 45° 角投照之折射光,要使视野清楚,光源强度至少应在5V、40W以上。但光线过强对观察者眼睛刺激太大,且使血管与底色之间反差减弱,也不适宜。

B. 聚光:光源发出之光线应经透镜聚光,在观察甲襞处聚成一点,经调节后射在甲襞局部的光斑直径约0.5cm。

C. 冷光:由于强光大多有热量发散,既会影响观察结果,又可能灼烧观察局部皮肤,因此常在聚光透镜前加上蓝绿色隔热玻璃片或滤色膜。光源经此隔热滤光后,不仅使红细胞血流颜色加深,观察清晰,而且在光源的焦点上放一温度计,20分钟后最大温升不超过 3°C 。此外,高压汞灯也能达到类似要求。如装有落射光源(内光源)的显微镜,则操作更为方便。

3) 目镜测微尺:这是安放在显微镜目镜内的一种测微标尺。固定式测微尺为一块圆形有机玻

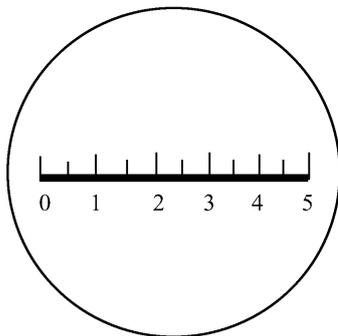


图 1-1-12 目镜测微尺

璃片,直径约15mm(图1-1-12)。在它的上面刻有直线标尺,分成5~10个大格,每一大格又分成10小格,共计为50~100小格。目镜测微尺在使用前必须经过标准的物镜测微器的校正,以求出每1小格刻度的实际长度。使用时将目镜测微尺安放在目镜的光阑上,再插入显微镜的目镜抽管中,即可进行测量。将每1个格的长度乘以所测量物(如毛细血管的长度、宽度)的格数,即为景物的实际长度。目镜测微尺经校正后,该显微镜的目镜、物镜均应固定,如使用不同的显微镜或不同的目镜、物镜进行

观测,则目镜测微尺需重新校正。

4) 手指固定架:甲襞微血管活体观测时,必须固定手指,消除颤动,常常使用石膏、有机玻璃或金属制的手指固定架,以方便观察或摄影。对于手指固定架,一般要求既能固定手指,又不能压迫观察局部的手指血管,手的姿势还应自然、舒适。

5) 观察油:甲襞微血管位于手指甲襞皮肤之下,观察光源是以 45° 角折射,因此观察局部必须涂上观察油,其意义在于:能透明皮肤;帮助光线折射。甲襞处涂油后,使皮肤光滑,当光线折射到此表面时,可消除皮肤凹凸不平而引起的光线漫反射,因而增加其透明度。所有的观察油最好能达到无色、透明、有一定折光能力,其折射率应尽可能与皮肤相近,以免在观察油与皮肤之间形成界面。一般用香柏油、液状石蜡等均可。

若配备有微循环显微镜的摄影装置、显微电视接收装置,或计算机显示、测量系统,则检测更为精确。甲襞微循环观察可在普通室内进行,室温最好控制在 $15\sim 25^\circ\text{C}$ 之间。

(3) 检测指标和方法

1) 毛细血管袢的形态

A. 清晰度

清晰:毛细血管袢轮廓清晰可见。

模糊:毛细血管袢轮廓模糊不清。

消失:甲襞乳头区内无微血管袢。

方法:分类观察计数甲襞第一排管袢中 10 根毛细血管袢的清晰度,并计算百分比。

正常参考值:85%以上微血管袢清晰。

B. 排列

整齐:毛细血管袢排列整齐。

紊乱:毛细血管袢排列不规则,甚至紊乱。

方法:观察甲襞第一排管袢排列状况,每例检查 10 个视野,分类计算百分比。

正常参考值:甲襞均排列整齐。

C. 外形

正常:毛细血管袢外形光滑,呈“发夹状”或“微弯交叉状”。

异常:除上述形状之外的其他管袢形状。

方法:从甲襞第一排某一标志微血管起,连续观察并分类计数 10 根毛细血管袢的外形,求出各类管袢的百分比。

正常参考值:正常人随年龄增长异形管袢的比例有所增多。一般健康人正常管袢应占 80%以上,异常管袢超过 30%才有意义。

D. 数目:即每毫米长度内毛细血管的数目。甲襞微循环检查常直接计数与目镜测微尺刻度线相切的毛细血管数,用“支/mm”表示。

方法:将目镜测微尺的刻度线与甲襞第一排管袢中央部相切,计数目镜测微尺内 1mm 长度中的毛细血管袢数,在不同视野内测三次,取平均值。

测量时需注意(图 1-1-13):①凡测微尺 1mm 内所有管袢均应计入。②以第一排管袢中部 1/2 以上者计入,低于 1/2 者不计入。③计数时不应改变焦距,以免将不同深度的另一排管袢(模糊不清者)计入。如图中第 1、2、3、4、5、7、9 应计入;第 4、8 条模糊不清,第 6 条低于中线,第 10 条不在测微尺度内,均不应计入。本尺度内管袢数应为 6 条。

正常参考值:6~12 支/mm,平均 7 支/mm。

E. 长度:即毛细血管袢的平均长度,用“mm/支”表示。

方法:用目镜测微尺测量自毛细血管袢输入支的基底部到袢顶的全长。每例均测量第一排毛细血管中连续 3 根管袢的长度,再取平均值。

注意事项:①血管袢长短悬殊时,以长支为主者(>6/10 支),则仅测量长支;以短支为主者

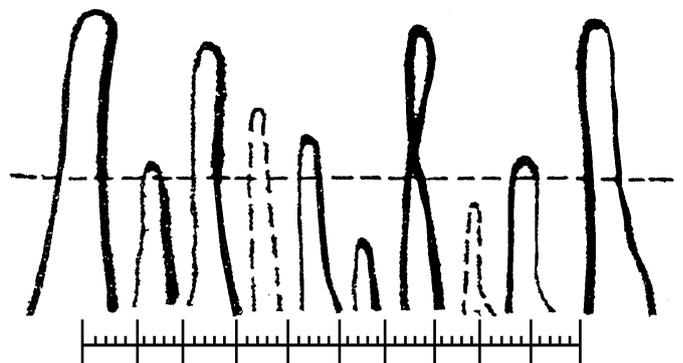


图 1-1-13 管袢计数方法示意图

($>6/10$ 支),则仅测量短支;若长支或短支均 $<6/10$ 支时,则无选择地按序测量。②不同个体甲襞管祥差异较大,但同一人各管祥的长度仍较接近,因此应注意个体自身动态对比。③不同群体之间比较,则应重点比较过长管祥($\geq 0.4\text{mm}$)及过短管祥($\leq 0.1\text{mm}$)出现率的差异则意义更大。

正常参考值:0.11~0.29 mm。

F. 管径:微血管管径应包括外径、内径、管壁厚度和血细胞流柱宽度四类,但一般活体观察中,仅取微血管的最大直径(即外径),以及毛细血管输入支与输出支管径的比例。

方法:本项指标的检测最好采用电视扫描定量仪或激光微循环显微镜、计算机图像分析系统等较精确的定量仪器进行,若不具备亦可采用以下方法粗略测量:

目镜测微尺测量法:放大倍数一般宜在150倍以上。先调整显微镜焦距,使待测血管清晰成像,然后转动已校正的目镜测微尺,使之与血管纵轴垂直,读出横切血管的刻度数,即可求出血管直径。一般每例均测量第一排毛细血管从左至右的连续3~10根管祥中部的管径,再取平均值,以“ μm ”表示。

红细胞通过数测量法:以平行通过管祥中段(输入支及输出支口径)的红细胞数来表示。若血流快而不易辨清时,操作者可用拇指和食指轻压被检查者手指的两侧,使指动脉受压后管祥流速减慢而便于观察,以“某个红细胞”表示。

注意事项:仅测量三条管祥的管径时,若以管祥收缩变细者为主($>6/10$ 支),则依次测量收缩之血管祥;如以管祥增宽者为主($>6/10$ 支),则仅依次测量增宽者;若增宽或变细管祥者均 $<6/10$ 支时,则无选择地依次测量。在测量管祥中部时应避开管祥节段性扩张或收缩处。

正常参考值:输入支直径平均 $9.16\mu\text{m}\pm 0.95\mu\text{m}$ (1~3个红细胞),输出支直径平均 $12.04\mu\text{m}\pm 1.59\mu\text{m}$ (1~5个红细胞,平均2~3个红细胞),输入支/输出支为1:1.3~1.5。

G. 祥顶宽度:即毛细血管祥顶部的宽度,以“mm”表示。

方法:用目镜测微尺测量微血管祥顶在左右两侧切线间的距离。每例均测量第一排毛细血管中依次排列的3支微血管祥顶的宽度,取平均值。测量时注意避开畸形血管。

正常参考值:0.043~0.047mm。

H. 乳头下静脉丛:大多数由细静脉组成,管壁较薄,易于扩张,能容纳较多血液。临床分级为:未见:无明显的乳头下静脉丛可见。

轻度:有细而断续的乳头下静脉丛。

重度:静脉丛粗大、明显,相互连接成网。

方法:观察并分类计数10个视野,求出各类的百分比。

正常参考值:正常人乳头下静脉丛可见度与年龄有关,一般认为儿童较明显,青春期后减少,成年人可见,但不明显,老年人则明显易见。

I. 管壁张力

正常:管祥粗细均匀,走向柔和,管壁光滑。

减弱:管壁呈锯齿状弯曲,或呈麻痹性舒张状态。

增强:管壁呈僵直状。

方法:每例分类计数10根毛细血管祥,求出各类的百分比。

正常参考值:管祥的张力均正常。

2) 毛细血管祥内微血流的状态