

家兔急性血瘀模型的研究

浙江医科大学附属二院中医研究室

鲍 军 洪允祥 楼建国 张 华 李 灵

浙江医科大学病理学教研室 俞秋棠 朱善济

内容提要 本文用改良高分子葡聚糖法研制家兔急性血瘀模型,实验与对照兔在外形、内脏外观及病理切片、血凝、纤溶、血小板数等均有显著差异 ($P < 0.05 \sim 0.001$),符合全国血瘀证诊断标准,重复性好,动物无一死亡。本模型为血瘀理论及临床提供了重要的研究手段。

随着活血化瘀研究工作的深入开展,血瘀动物模型的研制很为必要。根据我室既往研究,认识到血液高凝状态、微循环障碍与中医血瘀有密切关系,为此采用改良的高分子葡聚糖法造成家兔血瘀病变,结果尚属满意,今报道如下。

材料和方法

材料: 白色短毛健康家兔 122 只,雌雄不拘,90 只为实验兔 (平均重 2.5 kg),32 只为对照兔 (平均重 2.4 kg);兔脑粉 (上海生物药厂产品);10% 高分子葡聚糖 (分子量 50 万,瑞典产)。

方法: 实验兔自耳静脉注入含有兔脑粉的 10% 高分子葡聚糖 (兔脑粉按 30mg/kg 计,高分子葡聚糖按 20ml/kg 计,以下简称注药),平均在 5.5 分注射完毕。对照兔自兔耳静脉注入相等剂量的生理盐水 (注入时间同上)。

两组兔均在注药前及注药 (对照兔注生理盐水) 后即刻、1、2、3、6、12 及 24 小时采血测定血凝、纤溶和血小板数 (为了避免采血过多所致误差,每组各兔前后采血各一次),包括抗凝血酶 III (AT III),凝血酶中和法;凝血酶原时间 (PT);白陶土部分凝血活酶时间 (KPTT);纤维蛋白原 (Fbg),双缩脲法;纤维蛋白裂解产物 (FDP);葡萄球菌聚集法。部份兔还做了红细胞计数、血气分析和血小板形态扫描电镜观察,在注药 (对照兔注生理盐水) 后即刻至 24 小时期间内,有 69 只家兔 (实验兔 54 只,对照 15 只) 空气栓塞处死,死后解剖对肺、心、肝、肾、肾上腺等进行肉眼及病理学检查,并动态观察各兔外观变化。

观察结果

一、血凝、纤溶及血小板数的动态变化: 两组结果均见表 1。

六项指标中,白陶土部份凝血活酶时间、凝血酶原时间分别反映了内、外凝血系统动态;纤维蛋白原是凝血第一因子,血小板是凝血过程中主要参加者,并释放多种促凝因子,均代表了凝血指标;抗凝血酶 III 是抗凝血系统中的重要成份,占全部抗凝血酶活性的 67%,故常以此估价抗凝血系统的动态。此外,纤维蛋白裂解产物既反映了纤溶,其本身也有抗凝血酶作用 (被称为抗凝血酶 VI)。

如表所示,实验兔注药后血小板数迅即明显下降,持续 6 小时,其余四项指标中,除凝血酶原不够敏感外,抗凝血酶 III 明显缩短、白陶土部份凝血活酶时间明显延长,纤维蛋白原明显降低,均在注药后即刻开始,持续到 12 小时统计学尚有明显差异 ($P < 0.05 \sim 0.001$)。提示实验兔在注药后因高凝状态而导致凝血因子及抗凝血因子的消耗,注药后 2 小时出现继发性纤溶变化,到 6 小时尚有统计差异,与我们肉眼观察到在注药后兔萎靡不振、耳色紫蓝 (持续约 1 小时),解剖后兔肺、肾、肝、肾上腺、心外观多呈瘀紫,并有明显出血点,尤以肺、肾、肝为明显 (自注药后即刻至 12 小时,部分兔 24 小时尚有变化),与上述改变一致。提示实验兔发生全身性微循环障碍,血液瘀滞,同时因高凝状态后而发生继发性出血。

对照兔未见上述变化。

二、病理改变: 对照兔未有明显变化。实验兔有如下改变。

1. 肺组织切片见肺泡中隔毛细血管扩张瘀血及灶性出血,并可见巨核细胞栓塞,肺动脉系血管和毛细血管有较多的血栓形成,以注药后即刻和 1、2、3 小时为明显,又以肺膜下为多见。Mallory 磷钨酸苏木素染色,在肺、肾、肝血管内可见颗粒状、细丝状、索条状及片块灶,注药后 6 小时仅见个别肌性动脉有血栓形成,24 小时未见有血栓,与血凝检查基本一

表 1 实验及对照兔血凝、纤溶及血小板数变化

	ATⅢ(S) (3分钟法)	ATⅢ(S) (6分钟法)	KPTT(S)	PT(S)	Fbg(mg%)	FDP(μ g/ml)	BPC(万/mm ³)
注前 (14)	43.71 $\pm$ 7.66	109.50 $\pm$ 28.05	33.36 $\pm$ 4.80	9.73 $\pm$ 1.58(12)	337.79 $\pm$ 148.65	2.44 $\pm$ 2.81	32.31 $\pm$ 5.96(10)
(11)	43.00 $\pm$ 3.97	122.80 $\pm$ 27.98	33.90 $\pm$ 4.26(12)	8.50 $\pm$ 1.32(12)	359.20 $\pm$ 124.80	2.30 $\pm$ 2.11	36.51 $\pm$ 7.53
注后 即刻	26.43 $\pm$ 5.29***	58.93 $\pm$ 18.09***	42.93 $\pm$ 7.37***	9.33 $\pm$ 2.61	177.93 $\pm$ 90.55***	2.21 $\pm$ 1.71	11.58 $\pm$ 3.57***
	44.10 $\pm$ 2.02	120.00 $\pm$ 27.08	33.80 $\pm$ 5.34	8.70 $\pm$ 1.20	302.60 $\pm$ 131.43	2.30 $\pm$ 1.97	35.17 $\pm$ 11.33
注前 (10)	41.50 $\pm$ 7.79	111.80 $\pm$ 29.59	33.38 $\pm$ 6.59	9.17 $\pm$ 1.08(9)	314.10 $\pm$ 105.68	2.46 $\pm$ 1.93	28.75 $\pm$ 6.73(8)
(6)	41.32 $\pm$ 5.43	118.67 $\pm$ 18.03(3)	30.83 $\pm$ 4.04	8.00 $\pm$ 0.16	330.83 $\pm$ 86.45	2.67 $\pm$ 1.63	32.30 $\pm$ 5.50
注后 2h	28.50 $\pm$ 5.20***	57.45 $\pm$ 16.96***	39.63 $\pm$ 8.75*	9.94 $\pm$ 1.60	189.00 $\pm$ 52.49**	4.59 $\pm$ 2.04*	15.35 $\pm$ 5.04***
	40.50 $\pm$ 5.17	119.33 $\pm$ 27.79	31.25 $\pm$ 6.25	8.12 $\pm$ 0.59	287.50 $\pm$ 104.19	3.67 $\pm$ 0.81	24.38 $\pm$ 3.23
注前 (22)	40.62 $\pm$ 7.84(21)	101.90 $\pm$ 18.39(21)	31.03 $\pm$ 5.84	10.54 $\pm$ 5.09(11)	324.23 $\pm$ 97.55	1.82 $\pm$ 2.12	33.95 $\pm$ 4.93(8)
(3)	44.33 $\pm$ 2.52	120.00 $\pm$ 34.70	31.75 $\pm$ 5.45	7.58 $\pm$ 1.38	296.33 $\pm$ 20.01	3.17 $\pm$ 2.32	38.05 $\pm$ 3.46
注后 6h	34.43 $\pm$ 9.44**	77.00 $\pm$ 24.66**	35.56 $\pm$ 7.20**	11.45 $\pm$ 6.32	185.27 $\pm$ 94.96**	4.40 $\pm$ 2.50*	18.34 $\pm$ 4.94**
	45.67 $\pm$ 3.21	113.67 $\pm$ 31.09	30.92 $\pm$ 6.57	7.92 $\pm$ 0.38	246.00 $\pm$ 13.11	5.04 $\pm$ 2.88	37.90 $\pm$ 3.39
注前 (6)	43.33 $\pm$ 6.38	125.83 $\pm$ 34.41	32.50 $\pm$ 4.84	8.21 $\pm$ 0.40	300.33 $\pm$ 39.61	2.24 $\pm$ 1.68(7)	28.45 $\pm$ 8.53
(2)	42.00 $\pm$ 1.41	121.50 $\pm$ 3.54	28.50 $\pm$ 0.71	8.12 $\pm$ 0.18	468.00 $\pm$ 203.68	0.50 $\pm$ 0.71	33.60 $\pm$ 7.79
注后 12h	36.17 $\pm$ 5.35**	82.67 $\pm$ 19.47**	35.58 $\pm$ 4.06**	8.42 $\pm$ 0.30	249.17 $\pm$ 45.47*	2.24 $\pm$ 1.98	21.83 $\pm$ 4.26
	41.50 $\pm$ 2.12	126.00 $\pm$ 7.07	28.00 $\pm$ 0	8.25 $\pm$ 0	396.00 $\pm$ 67.88	2.50 $\pm$ 2.12	36.85 $\pm$ 6.85

注：表内数据为M $\pm$ SD，上行为实验组，下行为对照组，()兔数

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001, t检验

致。

2. 肺及肺外脏器(肝、肾、心等)有多少不等的灶性出血，而以肺为多见，此可能与肺微循环内有较多的微血栓形成、大量凝血因子被消耗而发生的短暂的消耗性出血有关，此外与药物首先进入肺循环以及肺组织疏松而富于血管等因素有关。

3. 肺血管特别是肺动脉系血管血栓形成及红细胞大量破坏(曾做4只兔红细胞数，注药前平均为469.3万/mm³，注药后即刻均值为311万/mm³)，血液凝结而形成崩解性血栓，纤维素性和混合血栓为常见，以肺肌性动脉为多见，其次为透明血栓，发生于肺毛细血管和微小血管为多见。

4. 肺外脏器血栓在注药后即刻、1小时为明显。连续切片可见血管扩张、血流停滞和血栓形成的过程。肝窦扩张，其间红细胞凝集、崩解而成索条状、放射样结构，肝静脉不同程度郁血。肾小球毛细血管扩张，可见透明血栓，间质血管扩张、瘀血，纤维蛋白团块。心肌血管扩张、血流停滞、红细胞崩解性血栓，以心内膜下为多见。

三、血气分析：在注药(对照兔注生理盐水)前及注后即刻，采兔耳动脉血，在血气分析仪(美国实验

仪器公司出品，型号1303)中作血气分析，结果见表2。实验兔氧分压和血氧饱和度注药后均有降低，显示不同程度的缺氧。但统计处理差异不明显，可能与例数不多有关。

四、血小板形态扫描电镜观察：注药(对照兔注生理盐水)前及注后即刻采血(实验兔2只，对照兔1只，注射器硅化处理)，2.5%戊二醛固定，系列脱水，临界点干燥，在扫描电镜(日本日立公司出品，型号S-450)下观察，注前血小板呈圆盘形，偶见伪足形成，小部份呈松散聚集，注生理盐水后相同。而注药后兔血小板大多崩解为碎片，未崩解的血小板呈多个紧密聚集，伪足明显增多，说明在凝血酶等促发下，血小板由聚集、肿胀、崩解而破坏的过程。

讨 论

中医认为血瘀的病理是没有生理活性的血停留在经脉内而妨碍了正常气血的流通。如《灵枢》提出“恶气当泻不泻、衄(凝血之意)以留止……。”《说文解字》对瘀的解释是：“瘀，积血也……。”日本有地滋认为“瘀血”是性质发生改变的非生理性血液，可沉着于各种组织内，而致血液运行受阻，产生肺、肝、脾、肾

表2 两组兔注药前后血气分析

	注前后	观 察 项 目									M±SD
		pH	PCO ₂ mmHg	PO ₂ mmHg	BEECF mEq/L	BE mEq/L	HCO ₃ mEq/L	TCO ₂ mEq/L	SB mEq/L	SO ₂ %	
实验兔 (7)	注前	7.39±0.029	30.37±6.12	94.27±29.53	6.14±4.92	4.31±4.03	18.94±4.56	19.87±4.73	21.63±3.16	95.94±4.11	
	注后	7.40±0.034	33.30±4.66	74.07±28.25	4.19±2.22	2.61±1.81	20.79±2.15	21.79±2.27	22.70±1.37	88.49±14.34	
对照兔 (5)	注前	7.42±0.047	27.54±2.55	87.74±14.70	6.92±1.98	4.56±1.96	17.82±1.41	18.70±1.42	21.32±1.55	96.46±2.48	
	注后	7.38±0.038	25.36±5.89	94.54±32.21	9.68±3.77	7.02±3.20	15.50±3.56	16.26±3.71	19.36±2.47	93.84±9.76	

注: ()为兔数, PCO₂ 二氧化碳分压 PO₂ 氧分压 BEECF 细胞外液碱储备 BE 剩余碱 HCO₃ 碳酸氢根
TCO₂ 二氧化碳总量 SB 标准碳酸氢盐 SO₂ 血氧饱和度
经t检验 PO₂ 实验兔前后相比 P<0.1 对照兔前后相比 P<0.5
SO₂ 同上 P<0.2 同上 P>0.5

等脏器出血性梗塞或脑、肺栓塞,在血液学变化方面,有血液粘度亢进、纤维蛋白原增加,凝血酶原试验异常,氧分压低下等^①。血瘀病因很多,其中快速形成的血瘀大多系外来病邪所致,如《重订通俗伤寒论》说“惟蓄血(即瘀血)由外邪搏击,如六淫时疫及犬咬蛇伤等因,皆能骤然蓄聚。”

本模型依据:(1)兔二耳瘀紫;(2)兔肺、肾、肝等外观瘀紫及出血;(3)兔肺、肾、肝、心、肾上腺病理切片有血栓形成、血流瘀滞和出血;(4)兔血呈高凝状态后凝血因子消耗及继发纤溶变化,符合全国血瘀证诊断标准^②。

本模型在注药后即刻出现上述变化,脏器切片病变可持续3~6小时,而血液学变化及脏器外观瘀紫则可持续12~24小时,因而可认为是一种急性血瘀动物模型。国内仅史氏用高分子葡聚糖法造成以微循环障碍为主要病变及脑组织光镜病理改变的慢性血瘀模型^③。

本模型的病理改变最明显的是肺,其次是肾、肝等。近年来已证明肺具有解聚血中微聚物的功能,如果肺的这种功能受损,将导致肺本身及全身器官系统的严重障碍^④。这也许是肺病变最为明显的又一机

理,同时,可能由于肺的这一功能,使肺外脏器病变相对较轻。

本模型材料来源容易,方法简便易行,血凝、纤溶、血小板及病理改变很明显,重复性好,且实验动物不因注药而死亡,在一般实验室均可以做,可用来筛选高效的活血化瘀中草药及进一步研究血瘀动物的免疫、生化、细胞超微结构及核酸等指标以作为探讨血瘀本质之用。本模型为良好的急性血瘀动物模型,如进一步改变给药方法(如小剂量多次注射),是否能使血瘀病变延长,则对筛选活血化瘀药物可能更为有益,有待进一步研究。

参 考 文 献

1. 史载祥译。中国和日本医学文献中的瘀血(三)。国外医学中医中药分册1985; 7(5):18.
2. 中国中西医结合研究会第一次全国活血化瘀学术会议订。血瘀证诊断试行标准。中西医结合杂志1983; 3(3):封二.
3. 史荫锦,等。“血瘀”动物实验模型的初步研究。中医杂志1982; 23(8):64.
4. 罗正曜,等。实验性败血症休克发生机制的研究——肺对血中微聚物的清除作用在败血症休克中的意义。湖南医学院学报1983; 8(1):1.

中 成 药——血 脂 宁

血脂宁是天津达仁堂制药厂研制并生产的中成药新产品。选用具有降压、强心、扩张血管、降低胆固醇、防治动脉硬化作用的北山楂,并重用能升发清阳、散瘀保精、清肺养肝、除妄热、平气血的荷叶;还组配了具有平肝明目、清热散风、通便降脂作用的多种生药,以达到降低血脂、软化血管的目的。此药对降低人体血液中胆固醇等脂类物质的含量,防治动

脉粥样硬化,增强体质,都具有一定的作用。本药内用口服,每日2次,每次2丸(每丸重9g),一个月为一疗程。血脂宁经临床观察200例,总有效率为89%,高脂血症患者服用一个阶段后,胆固醇、甘油三脂普遍能降到正常指标,自觉症状良好,无副作用与不良反应。

天津市药材公司情报室 (赵玉华)

Experimental Research on Yin-Yang of TCM (V)
Effect of *Aconitum Carmichaeli* and *Cinnamomum Cassia* on Hypertensive Rats
Induced by Adrenal Regeneration

Kuang Ankun (邝安堃), Gu Deguan (顾德官), et al
Shanghai Institute of Hypertension, Shanghai

The experiment showed that *Aconitum carmichaeli* and *Cinnamomum cassia* markedly reduced the blood pressure ($P < 0.01$) and urinary aldosterone (UA, $P < 0.001$) in the hypertensive rats induced by adrenal regeneration. The level of L-enkephalin (LEK) in brain tissue was lower in the hypertensive rats than in the normal rats, while the *Cinnamomum cassia* obviously increased it ($P < 0.001$). The electron microscopy of aortic intima in rats showed that endothelial cells and subendothelial layer of the lesion caused by hypertension were improved by using these two medicinal herbs. These Yang tonifying drugs might cure hypertensive rats induced by adrenal regeneration, it suggested that this animal model possibly belongs to the Yang deficiency model of TCM, also supported the hypothesis that the Yin or Yang tonifying drug may exert allopathic effect on the Yin or Yang deficiency model of hypertensive rats, which conforms to the theory of TCM. Hence, the right choice of drug can cure Yin or Yang deficiency both in man or animal models, as shown in this and our preceding papers. (Original article on page 353)

Experimental Study on Acute Blood Stasis Model in Rabbits

Bao Jun (鲍军), et al
Research Laboratory of TCM, Second Affiliated Hospital of
Zhejiang Medical College, Hangzhou

Based on the close relationship between hypercoagulation and blood stasis, the author devised the acute blood stasis model of rabbit by injecting dextran of high molecular weight mixed with thrombin into the vein of rabbit's ear. ATIII, KPTT, PT, Fbg, FDP were tested constantly as observing criteria. The change of these indices caused by injection is statistically significant ($P < 0.05 \sim 0.001$).

The rabbit became inactive after injection and cyanosis appear in the rabbit's ears, blood stasis and hemorrhage could be seen in the lungs, liver, kidneys and other internal organs of rabbits. Thrombosis and congestion could be observed under the light microscopy. The platelet counts decreased and the majority of platelets broke into fragments, the pseudopodia formation and dense aggregation occurred in a minor part of platelets under the scanning electron microscopy. PO₂ and SO₂ lowered as well.

All the changes described above appeared immediately after injection and persisted for 6~12 hours and is corresponding with the diagnostic criteria of blood stasis set by the Specialized Committee of Promoting the Blood Circulation and Relieving the Stasis. So it could be taken as an acute blood stasis model.

This model is recommendable for the following advantages: The material is easy to get, the method is simple, and the experimental animal does not die from injection. (Original article on page 357)

Influence of the Zhibao Sanbian Pill (至宝三鞭丸) on Immunological Function in Mice

Wang Long (王 龙), Dong Zaizhen (董再珍), Zheng Baocan (郑宝灿), et al
Department of Biology, Shandong University, Jinan

The experimental results indicated that: (1) The Zhibao Sanbian Pill (20% solution) markedly promoted phagocytosis of the peritoneal macrophage of mice when it was administered into stomach at a dose of 0.5 ml/mouse per day for 6 days. (2) When the said dose was administered into stomach for 11 days, it could promote antibody-forming cells to produce specific antibody markedly. (3) The phagocytosis of peritoneal macrophage of mice would be suppressed when hydrocortisone was intramuscularly injected at a dose of 0.25 mg/mouse per day for 7 days, but the suppressing effect could be counteracted when the Zhibao Sanbian Pill was used at the same time.

It is thus possible to assume that the Zhibao Sanbian Pill might be a good immunopotentiator, and could be used widely in the prevention and treatment of tumors and other diseases.

(Original article on page 360)