

## • 实验研究 •

## 凉血化瘀方对家兔 DIC 高凝期的作用观察

南京中医学院

赵智强 曹一鸣 许长照 王九林 陆耀鸣 俞晶华 朱 宏 王 耿

**内容提要** 本实验在建立 DIC 高凝期模型的基础上, 选用凝血、纤溶、血液流变、球结膜微循环、病理形态学及动物病死率等指标, 探讨中医凉血化瘀药作用原理。实验结果表明: 凉血药与活血化瘀药配伍, 对大肠杆菌内毒素诱导家兔 DIC 高凝期有预防作用, 对高凝期上述各指标均表现有不同程度的改善, 提示其主要作用环节在于改善高凝期这一时相的病理变化。

国内对凉血化瘀法的研究已有开展<sup>(1,2)</sup>, 但从传统方剂配伍探讨防治 DIC 尚未见报道, 凉血化瘀配伍法对治疗 DIC 这一病理过程作用的基本环节尚有待阐明。本文试图以 DIC 高凝期动物模型来观察感染所致的 DIC 与中医血热挟瘀证的关系, 并通过有关药物对家兔高凝期的预防作用, 从凝血、纤溶、血液流变、球结膜微循环、病理形态学及动物病死率等指标来探讨其配伍机理。

## 材料与方法

## 一、动物模型的制作

1. 动物: 日本大耳白家兔, 体重1.5~3kg, 雌雄不拘(雌性未孕)。
2. 大肠杆菌内毒素: E·Coli O<sub>111</sub>B<sub>4</sub> 内毒素(长春生物制品研究所制备)。
3. 造模方法: 按宋善俊等所述一次注射内毒素法<sup>(3)</sup>, 略有改进。即经兔耳缘静脉一次注入大肠杆菌内毒素(75μg/kg) 1小时后, 家兔出现高热、厌食、气急、神萎等症状, 经血液学、病理切片检查, 均符合 DIC 病理改变, 4小时后, 处死解剖, 内脏(肺、肾、肝等)可见显著瘀血和出血等病变。

## 二、实验观察

1. 药物制备: 凉血复方由生地 20g, 玄参 15g, 栀子 15g, 侧柏叶 15g, 水牛角 10g 组成; 凉血化瘀复方由上方加丹参 30g, 赤芍 20g, 红花 15g 组成, 两方分别煎煮后过滤去渣, 浓缩滤液, 使每剂煎出液在 140ml 左右(凉血方约含生药 0.54g/ml; 凉血化瘀方约含生药 1g/ml)。

2. 分组及实验方法: 取家兔 37 只, 随机分成对照组 13 只, 凉血组 12 只, 凉血化瘀组 12 只。凉血组和凉

血化瘀组每只家兔每次按 10ml/kg 量灌胃给药(对照组家兔不给药), 每 8 小时灌胃 1 次, 连续 3 次, 第 3 次灌胃 1.5 小时后, 各组家兔均经耳缘静脉注入大肠杆菌内毒素(75μg/kg)。

每只家兔于灌药前及注入内毒素 1.5 小时后自心脏采血测定有关指标, 并于注内毒素 4~8 小时后静脉注入空气处死, 作大体解剖及病理切片观察。

## 3. 检测项目

(1) 血液学指标: 红细胞压积、白陶土部分凝血活酶时间、血浆复钙时间、凝血酶原时间、纤维蛋白原定量、优球蛋白溶解时间。

(2) 微循环: 对照、凉血、凉血化瘀 3 组各另取家兔 3 只, 灌药前及注内毒素 30 分钟后观察左眼外眦部球结膜微循环<sup>(4)</sup>。

(3) 大体解剖: 分别观察心、肝、肺、脾、肾的瘀血、出血、肿胀情况。

(4) 病理切片: 取各脏器组织, 切片作 HE 染色后镜检。

(5) 动物死亡情况: 观察各组动物在注入内毒素后 2 小时 30 分钟内的死亡只数。

## 结 果

一、各组家兔凝血指标变化情况: 见表 1。

表 1 表明: 对照组家兔在注射内毒素后, 部分凝血活酶时间和血浆复钙时间缩短, 纤维蛋白原含量增高, 自身前后比较均有显著性差异, 提示对照组动物正处在 DIC 高凝期。而凉血组这三项指标虽也有类似的改变, 但无显著性差异, 说明凉血药物对 DIC 的发生可能有一定的阻抑作用, 但不明显。而凉血化瘀组自身前后比较仅部分凝血活酶时间有显著性差异,

表1 各组家兔凝血指标的比较 (M±SD)

|               | 白陶土部分凝血活酶时间<br>(s) |                               |                     | 凝血酶原时间<br>(s)  |                |       | 血浆复钙时间<br>(s)   |                              |                   | 纤维蛋白原定量<br>(mg/dl) |                                |                     |
|---------------|--------------------|-------------------------------|---------------------|----------------|----------------|-------|-----------------|------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------------------|---------------------|
|               | 药前                 | 药后                            | 差值                  | 药前             | 药后             | 差值    | 药前              | 药后                           | 差值                | 药前                 | 药后                             | 差值                  |
| 对照组<br>n=12   | 38.17<br>±13.73    | 22.63 <sup>△△</sup><br>±10.03 | -15.54              | 9.08<br>±1.83  | 8.25<br>±2.45  | -0.83 | 67.88<br>±14.67 | 44.50 <sup>△</sup><br>±24.50 | -23.38            | 237.13<br>±64.16   | 336.63 <sup>△</sup><br>±143.08 | 99.49               |
| 凉血组<br>n=12   | 28.21<br>±6.44     | 32.33<br>±13.68               | 4.13                | 9.83<br>±1.59  | 9.58<br>±2.07  | -0.25 | 71.17<br>±29.04 | 66.75<br>±20.10              | -4.42             | 239.92<br>±119.89  | 267.13<br>±90.93               | 36.21               |
| 凉血化瘀组<br>n=12 | 26.96<br>±7.96     | 37.50 <sup>△</sup><br>±14.00  | 10.54 <sup>**</sup> | 11.08<br>±2.19 | 10.42<br>±2.91 | -0.67 | 69.50<br>±27.70 | 71.00<br>±12.25              | 1.50 <sup>*</sup> | 315.58<br>±117.41  | 257.13<br>±184.78              | -58.46 <sup>*</sup> |

注：自身前后比较：△P<0.05，△△P<0.01；与对照组比较：\*P<0.05，\*\*P<0.01。各组优球蛋白溶解时间无变化，故未列入。

表2 各组家兔血液流变学指标比较 (M±SD)

| 组别    | 全血粘度 |           |           |       |    |           | 红细胞压积                   |       |    |            |                         |       |
|-------|------|-----------|-----------|-------|----|-----------|-------------------------|-------|----|------------|-------------------------|-------|
|       | n    | 药前        | 药后        | 差值    | n  | 药前        | 药后                      | 差值    | n  | 药前         | 药后                      | 差值    |
| 对照组   | 13   | 3.34±0.49 | 2.95±0.73 | -0.39 | 9  | 4.23±0.88 | 3.42±0.75               | -0.81 | 13 | 32.96±5.29 | 31.15±5.04              | -1.81 |
| 凉血组   | 12   | 3.14±0.58 | 2.92±0.40 | -0.22 | 10 | 3.54±1.28 | 2.85±0.39               | -0.69 | 12 | 32.42±5.12 | 30.71±4.21              | -1.71 |
| 凉血化瘀组 | 12   | 3.17±0.39 | 3.04±0.63 | -0.13 | 10 | 3.81±0.69 | 3.15±0.69 <sup>△△</sup> | -0.66 | 12 | 32.67±2.99 | 30.25±4.73 <sup>△</sup> | -2.42 |

注：自身前后比较：△P<0.05，△△P<0.01

但其它三项指标差值与对照组比较均有显著性差异，说明凉血药配伍活血化瘀药进行防治后，能有效地改善DIC高凝期的病理变化，较单纯用凉血药更利于阻止DIC的发生。

二、各组家兔血液流变学指标变化情况：见表2。

表2表明：各组家兔第二次取血所测血液流变学指标均呈下降趋势，对照组全血粘度低切变比值前后自身比较有显著性差异，而凉血化瘀组除全血粘度（低切变比值）前后有非常显著性差异外，红细胞压积亦有显著性差异，提示凉血药配伍活血化瘀药后，对该病理状态下的红细胞压积和全血粘度有一定的降低作用，单用凉血药这种改变不明显。

三、对微循环的影响

1. 微血管形态：对照组与凉血组常可见异形微血管，如扭曲等，尤以对照组为明显，而凉血化瘀组则少见。

2. 微血管管径：对照组、凉血组微动脉管径在注入内毒素后30分钟内有收缩，部分血管隐没，而凉血化瘀组反见轻度扩张；对照组微静脉也呈轻度收缩，而凉血组、凉血化瘀组均显扩张。30分钟后，各组家兔球结膜微动、静脉管径普遍扩张，见表3。

3. 血液流态及血细胞凝集：对照组、凉血组可见

表3 各组家兔球结膜微动、静脉管径比较  
(灌药前及注入内毒素后30分钟)

| 组别    | 微动脉管径(μm) |      |      | 微静脉管径(μm) |      |      |
|-------|-----------|------|------|-----------|------|------|
|       | 药前        | 药后   | 差值   | 药前        | 药后   | 差值   |
| 对照组   | 16.2      | 10.2 | -6.0 | 11.2      | 10.8 | -0.4 |
| 凉血组   | 14.8      | 14.1 | -0.7 | 9.8       | 10.1 | +0.3 |
| 凉血化瘀组 | 15.9      | 16.2 | +0.3 | 10.2      | 12.4 | +2.2 |

注：+：扩张，-：收缩，每组n=2

血流变慢，有时呈粒流或虚线流，血细胞呈轻、中度聚集，如泥沙状，对照组偶可见大小不等的聚块，而凉血化瘀组仅见部分区域血流缓慢，无粒流，也未见明显血细胞聚集。

4. 微血管周围状态：对照组、凉血组大部分微血管周围有渗出，轮廓模糊不清，对照组还可见少数血细胞渗出，而凉血化瘀组血管较清晰，无血细胞渗出。

四、大体解剖：内脏瘀血、出血、肿胀等病理改变，凉血化瘀组远较对照组及凉血组为轻，尤以肺、肾病变差异更为明显，而各组间脾脏的大体所见差异不显。

五、病理切片观察

1. 对照组：各病变脏器组织多为中、高度瘀血，

有纤维蛋白和纤维素——白细胞性微血栓形成。组织明显炎性细胞浸润，浆液及血细胞渗出较多，并可见出血灶，细胞变性水肿明显，甚或有点状及灶状坏死。

2. 凉血组：病变组织高、中、轻度瘀血不等，微血栓少见，其病理改变除组织瘀血和血栓较对照组为轻外，余基本相似。

3. 凉血化瘀组：病变组织大部分呈轻度瘀血，中度少见，部分脏器组织接近正常，微血栓及出血灶偶见，浆液及血细胞渗出较轻，细胞水肿变性大多呈轻度，未见点状坏死。

六、各组动物病死情况：对照组 13 只家兔中，病死 5 只；凉血组 12 只家兔中，病死 3 只，与对照组比较，无显著性差异；而凉血化瘀组 12 只家兔中无一死亡，与对照组比较，有显著性差异( $P < 0.05$ )。

## 讨 论

### 一、对动物模型的认识

实验动物在注射内毒素后，即出现发热、出血，凝血指标异常和微循环障碍，且病理切片见微血栓，根据血分证主要表现<sup>(6)</sup>及血瘀证诊断试行标准<sup>(6)</sup>，该模型所显示的证候是：热燔血分，血脉瘀滞，是凉血化瘀方治疗的适应证。而从现代医学角度来看，该模型则符合 DIC 高凝期的病理变化<sup>(7)</sup>。

为此，笔者认为：中医的热燔血分，血脉瘀滞证候与现代医学中感染所致的 DIC 病理变化有着极为密切的联系，因为 DIC 时出现的发热、出血(瘀斑)等表现恰是中医血热挟瘀证的主要辨证依据。所以，似可这样认为：判断 DIC 轻重及转归的指标，也可以作为衡量中医药治疗血热挟瘀证疗效的重要参考依据之一。

### 二、关于凉血化瘀方作用机理的探讨

1. DIC 是一前因后果的病理过程，又是导致休克的重要原因。因此，改善高凝期这一病理环节，对中止 DIC 的进一步发展和防止休克的发生有着重要意义。实验结果表明：大肠杆菌内毒素能使部分凝血活酶时间和血浆复钙时间缩短，使纤维蛋白原含量升高，血细胞聚集和微血栓形成，使机体出现急性 DIC 高凝

期的病变，凉血药能在一定程度上缓解这一病变，而凉血药与活血化瘀药配伍运用，则能有效地改善这一病理变化。

各组家兔病死情况进一步表明：降低高凝期血液的凝固性，阻断 DIC 的发展和改善微循环，可能是该配伍法预防休克发生和促使动物恢复健康的重要机理。

2. 全血粘度、红细胞压积、纤维蛋白原定量是血液流变学指标。在 DIC 早期，机体处于应急状态，故纤维蛋白原含量增高，同时由于渗出增多，致使血液浓缩，粘滞性升高，血流减慢，组织血液灌流量更趋不足，局部缺氧和酸中毒加重，微小动脉损伤、变性，使血小板粘附、聚集于损伤的血管内皮下结构，导致进一步释放促凝物质而加重凝血，使病情恶化。

血液流变学指标变化结果表明：凉血药与活血化瘀药按传统方法配伍运用后，能在一定程度上降低纤维蛋白原含量，降低全血粘度及红细胞压积，这对提高血液的流动性、改善 DIC 时机体血液的浓、粘、凝、聚状态以及增加组织的血液灌流等无疑是有益的，而单用凉血药这种作用则不明显。

(本文承申冬珠副教授指导，谨谢)

## 参 考 文 献

1. 孙孝洪. 清营凉血方药的研究近况. 辽宁中医杂志 1982; 2: 47, 3: 31, 5: 45.
2. 朱广仁, 等. 凉血化瘀法的现代临床应用和实验研究. 中西医结合杂志 1985; 5(5): 314.
3. 宋善俊, 等. 播散性血管内凝血的实验研究 I 家兔 DIC 模型的建立. 中华血液学杂志 1980; 1(4): 199.
4. 上海第一医学院病理生理教研组微循环研究组. 丹参治疗微循环障碍的实验研究. 中华内科杂志 1977; 2(4): 207.
5. 南京中医学院主编. 温病学. 上海: 上海科技出版社, 1979: 11.
6. 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 2.
7. 朱益栋主编. 弥散性血管内凝血. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 174.

## 简 讯

经北京市卫生局批准,由北京市城建总公司门诊部和城建一公司门诊部联合组建的北京市城建中西医专家门诊部,于 1988 年 2 月 26 日正式成立。北京中医学院刘渡舟教授任门诊部名誉主任,马志才、康云峰主治医师任主任。聘请了本市和外省市一些著名教授、专家应诊。主要针对心脏病、肾病、肝病、关节炎、消化道疾病、呼吸道

疾病、神经及精神疾病、更年期综合征、不孕症、小儿疾病、皮肤病等慢性病、疑难重症进行诊治,同时提供技术咨询。门诊部实行全周门诊,开设夜诊,设有床位 60 张。地址:北京市海淀区动物园北大柳树北村 24 号(动物园东乘 16 路汽车到大柳树北站下车)。

(马志才)

## **Clinical Observation and Experimental Study of Gossypol in Treatment of Dysfunctional Menorrhagia, Endometriosis and Fibromyoma of Uterus**

Ye Xueqing(叶雪清), et al

*Dept. of Obstet and Gynec, Xijing Hospital, 4th Military Medical College, Xi'an*

A total of 192 cases of dysfunctional menorrhagia, endometriosis and fibromyoma of uterus were treated with gossypol (20mg/day) for 3 weeks to 3 months or more with satisfactory results, the markedly effective rates were 91.5%, 90.3% and 79.5% respectively. 142 cases (74%) became amenorrheic, and the incidental rate varies with the accumulative amount of gossypol. Menstruation resumed after a period of 3~13 months of amenorrhea in 78 cases. Permanent amenorrhea resulted in 64 menopausal patients, and 10 of them have remained to be amenorrheic for over 5 years and enjoyed good health. 400~1200 mg gossypol were given to 14 cases of dysfunctional menorrhagia (anovulatory type) with the result of the menstruation normalized with ovulation, suggesting a proper and smaller accumulative dosage might produce menstruation regulatory and/or ovulation stimulating effects. Further observation is necessary. Results of the present study showed that immediate and longterm effects displayed in the following order: dysfunctional menorrhagia, endometriosis and uterine fibromyoma, the longterm result of the latter was unsatisfactory. However, the use of gossypol for premenopausal fibroids of smaller size might bring beneficial therapeutic results. No persistent adverse side-effects have been noted during treatment.

Animal experiments were carried out to explore the mechanism with following findings: (1) Rats receiving gossypol with accumulative dosis of 7 mg in a significant drop of Leucine-enkephalin and a marked increase of  $\beta$ -endorphin in the hypothalamus; plasma FSH and LH increased significantly with no change for the  $E_2$  and PRL. (2) Large dosis of 40~48 mg gossypol caused marked atrophic changes of both the ovaries and the uteri of rats. The suppressive effect on the hypothalamus-pituitary-gonadal axis appeared to vary directly with the dosage of drug administered. Acidophils of the anterior pituitary lessened or even disappeared completely while that of the basophils increased both in number and size resembling that of the so-called "postmenopausal cells". Plasma  $E_2$  diminished markedly and PRL was hardly detectable, suggesting that gossypol might be a valuable drug in treating the medium hyperprolactinemia. (3) Spontaneous remission of the above changes took place sooner or later following cessation of therapy. (4) No histological change was observed in the vital organs after medication.

(Original article on page 216)

## **Observation on Effect of Liangxue-Huayu(凉血化瘀) Prescription on High Coagulation Phase of DIC in Rabbits**

Zhao Zhiqiang(赵智强), Cao Yiming(曹一鸣), et al

*Nanjing College of TCM, Nanjing*

The model of high coagulation phase of DIC in rabbit was established in our laboratory. It was used to study the relationship between "blood heat with stasis" syndrome and high coagulation phase of DIC, and the mechanism of liangxue-huayu (LXHY, cooling blood and relieving stasis) therapy. The results indicated that the "heat flaming in blood portion" syndrome and the "stagnation of blood channel" syndrome in TCM were closely related with the pathologic changes in DIC caused by the infection. The preventive effect of LXHY prescription for high coagulation phase of DIC caused by *E. Coli* endotoxin in rabbits was proved. The results of examining blood coagulation, hemorrheology and conjunctiva microcirculation showed that the pathologic changes of the therapeutic group could be alleviated, which suggested that the protective effect of LXHY therapy was related to the action of improving coagulation, microcirculation and blood viscosity of affected rabbits. Thus the pathologic process might be abated and blocked, the blood flow in some viscera increased and the shock would be prevented.

(Original article on page 218)

## **Effect of *Duchesnea indica* on Extracorporeal Esophageal Cancer Cells**

Zhang Zhongxing(张中兴), Bo Xiansheng(薄献生)

*Institute for Prevention and Treatment of Esophageal Cancer, Lin County, Henan Province*

The purpose of present study was to investigate the effect of *Duchesnea indica* on human esophageal cancer cell line (Eca-109). At the concentration of 10 mg, 15 mg/ml, the growth of the cells