

实 验 研 究

养阴方对家兔实验性弥漫性血管内凝血
防治作用的观察

南京中医学院博士研究生 杨 进

导师: 孟澍江

温病治疗中养阴法占有重要位置, 历来为医家所重视。然而对温病营血分证中阴伤的机理及养阴方的作用, 有关的研究报道甚少。为此, 笔者在制作模拟温病营血分证的家兔实验性弥漫性血管内凝血(DIC)动物模型基础上, 探讨营血分证阴伤的实质, 并从体温、凝血、病理形态和血液流变学等多项指标来观察养阴方药的作用。现将实验初步结果报道如下:

材 料 和 方 法

一、造模方法

取健康日本大耳白家兔(由本院动物房提供)19只, 体重1.8~2.8公斤, 雌(未孕雌兔)雄不拘, 随机分成养阴方组和对照组。

采用美国产大肠杆菌内毒素(E Coli O₁₂, B₈, 以下简称ET), 用生理盐水在无菌条件下配制成每毫升2 μg溶液。实验时按2 μg/公斤体重剂量由兔耳缘静脉缓缓注入, 24小时后按相同剂量和方法重复注射一次。

二、中药制备

养阴方由麦冬、元参、玉竹、石斛各6克组成, 每剂加水150毫升, 煎煮后过滤去渣, 浓缩为20毫升, 药渣再加水100毫升, 煎煮后过滤去渣, 浓缩为

20毫升。二次煎液共40毫升, 每毫升约含生药0.6克。

三、实验方法

养阴方组家兔按10毫升/公斤体重剂量灌胃给药, 每12小时一次, 给药三次。对照组以同样方法用等量温开水灌胃。在首次灌胃后1小时及第三次灌胃后1小时, 两组家兔分别各注射ET一次。在首次灌胃前及第三次灌胃后2小时, 两组家兔分别作心脏采血, 测定有关指标。第二次心脏采血后即以静脉注入空气法处死两组家兔。

四、检测项目

1. 肛温: 以第一次注射ET前1小时和2小时所测肛温的平均值为基础体温。在注射ET后的前4小时内, 每半小时测1次, 以后每小时1次, 连续测24小时, 所测肛温减去基础体温即为体温差。

2. 血液学指标: 心脏取血, 作凝血生化指标、血常规和血液流变学指标测定。

3. 病理形态学观察: 对解剖后的肺、心、肝、脾、肾、脑作大体观察, 并取各脏器组织切片行HE染色, 部分作磷钨酸苏木素(PTAH)染色, 进行光学显微镜观察。选取肺、肾组织按常规操作进行电镜观察。

(接上页)

在中医药抗动脉粥样硬化的实验研究中, 证明若干活血化瘀、软坚散结、补肾益气和通腑化浊方药等有程度不等的减轻实验性动物动脉粥样硬化病变程度的预防或治疗作用, 其设计思路是从粥样斑块是属于中医学中的“瘀阻”“痰阻”“症结”等的范畴出发进行考虑的, 有一定道理。但在进入临床实际应用并加以研究方面, 尚付缺如, 这可能与当前多数中医医疗科研

单位缺乏开展动脉造影技术等设备有关。对其他有关调脂药的临床研究进行分析, 发现一般临床设计都欠严密, 因而报道有效的方药不少, 但重复性不高。另外, 在其机理研究方面, 一般也较表浅, 没有深入到脂蛋白受体等分子水平的研究。

心血管病中医药临床领域中所牵涉到的问题还很多, 如心肌病及心肌炎的防治、心脑血管过程中中药的应用等等, 都是迫切需要探索和研究的课题。

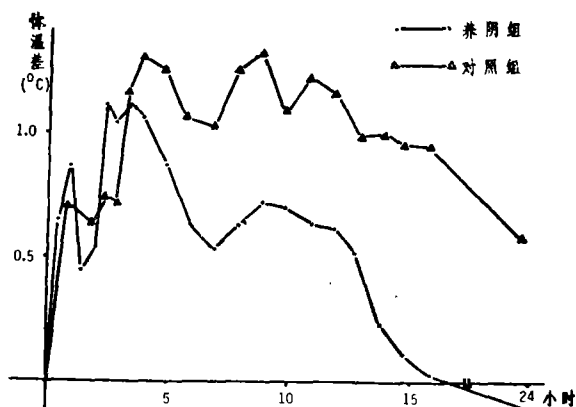
结 果

一、造模动物一般表现

家兔注射 ET 后, 出现耸毛、蹒跚不动、体温上升 (仅少数家兔在注射 ET 后 1.5 小时内 体温低于基础体温), 伴有停止进食、心跳加快、呼吸急促、耳部血管扩张充血等表现。养阴方组在注射 ET 6~8 小时后, 半数家兔开始进食; 对照组仅有 1 只在注射 ET 15 小时后开始进食。在第 2 次注射 ET 后, 以上症状再度出现, 对照组有 3 只发生软瘫。

二、体温变化情况

如图所示, 注射 ET 后 7 小时内, 两组体温温差平均值曲线重叠较多, 计算体温反应指数两组无显著性差异。7 小时后, 两组体温差曲线有较大分离。养阴方组 10 只家兔体温明显下降, 7~16 小时的体温反应指数为 181.5 ± 50.82 (均值 $\pm$ 标准误, 下同), 而对照组 9 只家兔为 403.7 ± 30.63 , 两组体温反应指数有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。



养阴方组、对照组家兔体温温差平均值变化曲线图

三、实验室检测指标

从附表中可以看出, 对照组家兔在注射 ET 后, 血小板显著减少 ($P < 0.05$); 而养阴方组家兔血小板不仅没有下降, 还呈增加趋势, 与对照组比较有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。同时表明, 养阴方对家

附表 两组家兔实验前后部分实验指标的变化

项 目	养 阴 方 组 (10只)			对 照 组 (9只)		
	实验前 均值	实验后 均值	实验后-实验前 均差值 $\pm$ 标准误	实验前 均值	实验后 均值	实验后-实验前 均差值 $\pm$ 标准误
红细胞(万/毫米 ³)	483	383	$-100 \pm 22.47^{**}$	540	412	$-128 \pm 22.89^{**}$
白细胞(千/毫米 ³)	5.88	2.32	$-3.56 \pm 0.64^{**}$	7.20	4.30	$-2.90 \pm 0.72^{**}$
血小板(万/毫米 ³)	9.90	14.66	4.76 ± 2.50	11.87	6.69	$-5.18 \pm 2.20^{*}$
凝血酶原时间(秒)	10.8	10.9	0.1 ± 0.66	11.7	13.0	1.3 ± 1.18
白陶土部分凝血活酶生成时间(秒)	23.4	10.6	$17.2 \pm 5.76^{*}$	27.9	59.6	$31.7 \pm 7.34^{**}$
纤维蛋白原定量(毫克%)	209.30	252.86	43.56 ± 23.98	253.5	224.2	-29.3 ± 48.08
血沉(毫米/小时)	0.95	15.20	$14.25 \pm 5.99^{*}$	1.78	5.34	$3.56 \pm 1.53^{*}$
高切率全血粘度(比)	3.75	2.75	-1.00 ± 0.46	3.37	2.91	$-0.46 \pm 0.15^{*}$
低切率全血粘度(比)	3.99	3.64	-0.35 ± 0.28	5.56	3.15	$-2.41 \pm 0.91^{*}$
血浆粘度(比)	1.45	1.66	$0.21 \pm 0.08^{*}$	1.55	1.57	0.02 ± 0.04
红细胞压积(%)	37.25	28.60	$-8.65 \pm 1.13^{**}$	36.33	28.33	$-8.00 \pm 1.16^{**}$

* 自身前后比较 $P < 0.05$; ** 自身前后比较 $P < 0.01$

兔注射 ET 后红细胞、白细胞的减少没有防治作用。两组家兔注射 ET 后, 白陶土部分凝血活酶生成时间延长, 血沉加快, 自身前后比较均有显著性差异, 其中前者指标的延长程度养阴方组较对照组为小。对照组家兔注射 ET 后, 纤维蛋白原含量减少, 而养阴方组家兔则增加。对照组家兔在注射 ET 后, 全血粘度不论高切率比值还是低切率比值均有显著下降。养阴方组家兔的全血粘度则无显著改变, 而血浆粘度却见显著上升 ($P < 0.05$)。

四、大体标本观察

实验家兔处死后解剖所见, 对照组肺脏都有大片淤血和灶状出血点; 肝脏、脾脏郁血, 呈暗紫色; 肾脏肿胀、淤血, 肾包膜剥离容易。养阴方组除少数家兔肺脏表面有轻微小块淤血外, 其余脏器外观均无明显异常。

五、病理切片观察

在光镜下观察, 对照组肾脏肾小球毛细血管丛明显淤血, 肾曲小管上皮水肿, 间质毛细血管和小血管淤血、出血, 有炎性浸润, 肺脏肺泡腔出血, 有炎性细胞浸润、渗出, 肺泡壁增厚, 有炎性细胞浸润, 毛

细血管和小血管淤血、出血,脾脏红髓脾窦淤血明显,白髓毛细血管、小血管淤血,有炎性浸润;肝脏汇管区明显淤血,有炎性细胞浸润,肝窦中央静脉淤血,肝细胞浊肿,出现脂肪变,有点状坏死,枯否氏细胞增生;心脏心肌纤维变性,肌原纤维、横纹消失,心肌间质毛细血管、小血管淤血;脑神经细胞肿胀、变性坏死,轮廓模糊,毛细血管、小血管淤血。以上脏器毛细血管中都广泛分布有微血栓,提示该组动物处于DIC状态。养阴方组各脏器的病理变化不显著,仅部分家兔出现肾小球内细胞数稍增多,毛细血管和小血管有轻度淤血。

在电镜下观察,对照组肺脏肺泡壁毛细血管腔内有微血栓和红细胞淤积,毛细血管扩张,高度淤血,内皮细胞肿胀,胞质有空泡,肺泡壁增宽变厚,内有成纤维细胞及胶原纤维增多、出血、水肿,巨噬细胞及尘细胞、中性白细胞增多,细胞内溶酶体较多,肺泡上皮细胞内线粒体肿胀,内质网有轻重不等的扩张,胞质内空泡增多,细胞内嗜碱性板层小体较多,大多为空泡状,在肺泡塌陷处更集中;肾脏肾小球毛细血管基底膜增厚,内皮细胞肿胀或破坏,血管腔内挤满红细胞呈高度淤血,血浆淤滞明显,纤维蛋白沉积,有血小板粘附聚集、颗粒释放的典型微血栓结构,近侧肾曲小管上皮细胞肿胀,线粒体肿胀中间变空,嵴变短、减少或消失,内质网扩张,核蛋白体脱落,自噬泡增多。养阴方组肺、肾的病理改变轻微,肺脏肺泡腔压缩,中无渗出物,肾小球上皮基膜基本正常。

讨 论

一、关于家兔实验性DIC模型与温病营血分证

从静脉注射ET造成家兔DIC模型,国内外已开展多年。我们通过反复实验,认为使用ET的剂量、次数、时间不同,所造成的模型在各种指标上会出现很大的差异。本实验方法采取24小时后重复注射一次,此时家兔表现为低凝低粘特点的DIC,同时还具有发热、血小板计数显著减少、出血倾向明显、有一定的瘀血和脏器组织损害显著等表现,以上表现与临床温病营血分证的临床表现和实验室检查结果有相似之处。

二、关于养阴方药物的选择

本实验所用的养阴方中选用了性味甘寒的麦冬、玉竹、元参、石斛等滋养津液的药物。其选择依据之一是孟澍江教授近五十年来治疗温病营血分证使用养阴药物的独到经验;依据之二是通过古代温病学家

治疗营血分证病案中养阴药物的统计分析,上述几味药的使用频率较高。实验结果表明,在营阴、血液已有明显耗损的营血分证中,投用甘寒滋养津液的药物,确有较好的治疗作用。这提示了在营血分证治疗中,“救阴不在血,而在津与汗”有重要的指导意义。

三、关于养阴方对家兔实验性DIC的防治作用

本实验的结果表明,养阴方对注射ET所造成的实验性DIC有明显的阻断作用,能显著减轻实验动物的发热程度,缩短发热时间,改善凝血机制,减轻组织损伤,从而起到了保护脏器的作用,这与传统温病学理论中所说的养阴药物可以“沃焦救焚”、“以养阴之品为退热之用”等是颇为吻合的。养阴方对家兔实验性DIC的防治作用至少有以下几方面:一是养阴药物不仅防止了血小板的显著减少,还可能促进血小板的生成;二是改善凝血机制,避免了低凝状态,从而减轻了出血倾向;三是减轻了组织细胞的损害。

四、关于养阴方作用的全面评价

本实验证实了养阴方在防治家兔实验性DIC方面有良好的作用,但也提示了其作用有局限性。如养阴方虽能显著减轻造模家兔的发热程度,缩短发热时间,明显降低注射ET后的体温反应指数,但对体温差曲线以及7小时内的体温反应指数无明显改变,提示其不能完全制止发热,似无直接退热作用,而可能是通过减轻组织损伤、减少致热原产生等间接作用而缩短了发热时间。同时,养阴方也不能显著减轻造模家兔注射ET后红细胞、白细胞的下降。而我们的另一实验表明,养阴方中加入凉血、活血药物后,造模动物白细胞就不发生显著下降,显示了配伍后的作用。此外,实验结果还表明,养阴方能避免实验动物在注射ET后所引起的全血粘度(包括高切和低切)明显下降,并使血浆粘度显著上升。养阴方对血液粘度的这一作用似可从一个侧面来说明传统关于养阴药物性质滋润粘着论述的实质。这一结果也提示了,养阴药物可能在低凝低粘病理阶段更为适用,可以较好地发挥提高血凝机制和血粘度的作用,但在高凝高粘病理阶段则有加重血液淤滞、增强瘀血倾向的可能。我们曾在另一实验中,将养阴方与活血药物配伍,没有出现增加血液粘度的作用。以上结果提示,养阴并不是治疗营血分证的唯一方法,不能代替清热凉血、活血散瘀等治法,而将养阴法配合凉血、活血等其他治法是十分必要的。

本文实验指导老师有申冬珠、曹一鸣、许长照。参加本实验的还有俞晶华、陆跃明、朱宏、王九林、王耿等同志,特此致谢!