

•综述•

血瘀证动物模型的研究概况

梁爱华¹, 杨洪军¹, 刘建勋²

(1 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2 中国中医研究院西苑医院, 北京 100091)

摘要: 已研制的血瘀证动物模型达几十种, 对其中部分血瘀证动物模型研究情况作一介绍。根据血瘀证形成的病理生理基础, 神经精神因素、环境因素、虚弱体质、外伤、微生物感染及其毒素入侵、免疫调节失常、物理及化学刺激等均可在动物体内诱导不同程度的血瘀证。

关键词: 血瘀证; 动物模型; 血瘀

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9903(2003)02-0055-04

A general Situation of the Researches on Blood Stasis Syndrome Animal Models

LIANG Ai-hua¹, YANG Hong-jun¹, LIU Jian-xun²

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China

2. Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China)

Abstract: Several decades of blood stasis syndrome animal models have been reported. This article gives a brief introduction of the parts of those animal models. Based on the pathophysiologic basis for forming the blood stasis syndrome, neuropsychic and environmental factors, weakness constitution, trauma, microorganism infection or toxin invasion, immune disorder and physics and chemical stimulations can induce different extent of blood stasis syndrome in animals.

Key words: blood stasis syndrome; animal model; blood stasis

祖国医学中所谓的“血瘀”是指人体内血脉不畅, 血行迟缓涩滞, 血液壅阻血脉或离经停积等。血瘀证是临床上最常见的证候之一, 血瘀证及活血化瘀疗法是近代中西医结合研究中最活跃的领域之一。近20年来, 随着现代医学知识的融入以及现代科学技术在中医药学上的广泛应用, 该领域取得的成果尤为丰硕, 其中作为实验研究中重要工具的动物模型的研制也取得很大的进展, 从而使得血瘀学说和活血化瘀疗法得到不断完善, 血瘀证本质也逐步揭示。到目前为止, 已研制的血瘀证动物模型达几十种, 本文就其中部分血瘀证动物模型研究情况作一介绍。

1 神经精神因素有关的血瘀证模型

中医认为:“气为血帅”, 气行则血行, 气止则血止。由于肝主疏泄, 调畅气机。如果肝气郁结, 气机阻滞, 则血行不畅, 而致血瘀。中医所谓的“肝郁”是指由于高级神经活动紊乱而表现的证候群, 其主要病因是情志异常。情志异常可引起机体调控功能失调, 内环境失平衡, 气血失和, 而致经脉瘀阻。在气滞的病理过程中存在交感神经系统调控异常, 血液中儿茶酚胺升高。七情中的忧怒为血瘀常见病因之一, 根据人类暴怒时机体分泌大量肾上腺素的特点, 给大鼠注射以大剂量的肾上腺素以模拟暴怒时的神经精神变化, 或者同时加

以冰水浸泡模拟寒邪, 使神经精神因素加寒邪共同作用于机体。结果肾上腺素单独或肾上腺素加寒冷刺激均可引起血瘀证表现, 血液流变学结果表明血液呈高粘、高浓、高凝状态; 还可见异常红细胞增多和红细胞膜功能异常等。两种因素复合处理的血瘀表现分别较单独肾上腺素或寒冷刺激单因素处理者明显^[1]。但无论是单因素还是复合因素在停止作用后其形成的血瘀持续时间短暂, 与临床血瘀证尚有一定的差距。

采用电针反复刺激家兔, 使家兔产生疼痛、恐惧和激惹等情志反应, 可使家兔处于交感神经亢进状态, 血中的去甲肾上腺素含量增高; 出现微循环障碍, 血浆和全血粘度以及血浆蛋白原均增高, 组织形态学呈现脑膜、肺、胃粘膜及舌等水肿、小血管瘀血以及出血和血栓形成等血瘀证表现。但在这种模型上, 动物显示一定的适应性, 在一定的时间内由刺激造成的血去甲肾上腺素增高和血液流变学的变化随刺激次数的增多和时间延长趋于恢复正常^[2]。此外还有人设计特殊的模具佩戴于大鼠颈部, 使大鼠因理毛、搔痒等动作受阻而受激惹; 或采用钳夹大鼠尾部使同笼动物相互打斗等方法, 造成大鼠交感神经系统兴奋, 以诱导气滞血瘀模型。

2 环境因素有关的血瘀证模型

六淫因素也是引起血瘀的最常见病因。寒邪作用于血脉, 使血脉收缩拘挛, 血管径变细, 导致血液灌流减少, 血行缓慢不畅而成瘀血。将大鼠持续饲养于人工风、寒环境中,

先出现风寒表证,随之出现微循环障碍,血压上升,血液粘度增高,红细胞聚集性和变形能力变化等,采用祛风活血药可使上述变化改善^[3]。用-25℃~-20℃冰袋使家兔后肢局部冷冻1.5h后再用45℃水复温5min,可诱导寒凝血瘀证模型,主要表现有局部血流量减少,瘀血、坏死和血栓形成,肢体局部和全身微循环障碍,血液流变学指标恶化等;病理学特征呈多脏器组织高度瘀血、微血栓形成以及细胞变性、出血、灶状出血等血瘀证变化^[4,5],将大鼠或家兔置于低温冰柜-15℃环境中持续受冻数小时,直至出现明显的阳衰症状。阳虚则寒,并多伴气虚,气虚则无力推动血液运行,另外,寒致血液凝滞,因此这种模型即由于寒,又因阳衰、气虚共同造成血瘀。见血小板数明显减少,血浆纤维蛋白原含量明显降低,凝血酶原时间、凝血酶时间和白陶土凝血活酶时间延长等,这些变化代表了血瘀形成过程中消耗大量血小板和凝血因子后造成的血液低凝状态^[6]。

3 与体质有关的血瘀证模型

各类虚弱体质包括阴虚、气虚、血虚、阳虚等均可进一步导致血瘀。祖国医学对于各种虚症与血瘀的关系均有论述,如:凡人之中气犹如源泉也,盛则流畅,少则壅滞,虚则无有不滞者。阳虚则寒,寒则血凝。阴虚则热,热则血稠,稠则不行等。

祖国医学认为“老年多瘀”,随年龄增长血流变呈粘、浓、凝、聚变化。老年大鼠血液粘度明显增高,纤维蛋白原含量增高,红细胞变形能力降低,聚集率增高,易于形成血栓,表明老年大鼠具有血瘀证体质^[7]。皮质激素可使肝细胞线粒体膜的单胺氧化酶活性下降,从而使儿茶酚胺降解减少,致机体内儿茶酚胺堆积,能量代谢增强,从而造成阴虚火旺。给老年或年轻大鼠长期肌肉注射皮质激素可在诱导阴虚火旺的基础上产生血瘀证,以血液流变学改变、高脂血症、红细胞免疫以及机体细胞免疫功能明显降低为主要改变^[8,9]。采用强迫游泳劳损法使大鼠处于应激状态,造成大鼠体力衰弱,极度劳倦,而致气虚,并从而导致血瘀,这种模型被认为是气虚血瘀证^[10]。老年大鼠皮肤受伤后,在长期使用阿霉素的情况下形成慢性伤口,导致体重增长降低,毛发生长迟缓、伤口愈合延迟等脾虚之证。由于正气不足,气血亏损,气虚帅血无力,加之TXB₂/6-K-PGF1α失平衡,因此血管舒缩功能异常,脉道不利,血流涩滞,故致血瘀,亦为气虚血瘀型^[11]。给动物持续性静脉滴注去甲肾上腺素,由于心跳频速,可致心脏扩大,变软,收缩无力,心包积液,心力衰竭,表现为血瘀水积征象,亦属气虚血瘀型^[12]。在家兔饥饿的基础上,加以心得安灌胃和高分子右旋糖酐注射,可致少动倦卧,心尖搏动减弱,心率缓慢等类似气虚症状,同时血液呈高粘特性,符合气虚血瘀证^[13]。家兔经股动脉大量失血后,可致血虚体质,由于血液容量急速减少,同时伴有应激反应,可造成血液粘、浓、聚改变,主要脏器均可见微小血栓形成^[14]。

4 与免疫有关的血瘀证模型

现代研究表明,免疫功能的异常可导致血管内皮细胞损伤,继之可诱发血管舒缩因子比例失平衡和凝血机制失调,

是造成微循环障碍的内在原因之一。采用多次反复静脉注射去甲肾上腺素(0.1g/L, 2ml/kg, 每日一次,连续三周)和间断静脉注射牛血清白蛋白(造型的第1、11天各注射一次)的复合造模方法制备的家兔血瘀证模型,除了造成血液粘度增高,红细胞和血小板聚集性增加等血液流变学改变以及明显的微循环障碍外,还伴有红细胞免疫异常, TXB₂与6-k-PGF_{1α}平衡失调等血液变化;组织形态学观察可见主动脉、肾脏细小动脉内皮细胞损伤和肾小球基底膜增生和免疫复合物沉积^[15,16]。血管内皮细胞功能紊乱,血浆内皮素(ET)含量明显增高,6-酮PGF_{1α}(PGI₂的稳定代谢产物)含量和纤溶酶原激活物(tPA)活性降低,纤溶酶原激活物抑制剂(PAI)活性增强^[17]。这种血瘀证模型表现为慢性发展趋势。

4 外伤因素致血瘀模型

各种外伤如跌打损伤、烫、烧伤、刀伤、挫伤、虫兽咬伤等均可能造成血脉损伤,血液外溢于脉管之外,离经之血停积、淤滞,或血脉不畅,血流受阻,而致血瘀。根据上述病机制备了不同动物的外伤血瘀证模型。

廖福龙等用特制的定量化重力击伤器造成大鼠后肢非骨折性击伤,局部明显瘀血。观察到伤后1h内,血液呈现高凝状态,凝血时间缩短,血小板聚集增高。但伤后3h后转而呈现出低凝状态,并持续较长时间。但该模型的血液粘度及红细胞比容等无明显变化。该模型反映出血瘀发展具有明显的时相性,先出现短期的高凝状态,接着由于血瘀后启动凝血系统,造成凝血因子的消耗,从而转入低凝状态^[18]。用杠杆压力器使家兔后肢肌肉压伤致局部肌肉肿胀,血流受阻,股动脉血流量降低,血液流变学指标呈高粘、高凝变化;可出现全身微循环障碍,这些血瘀证指标存在一定的变化^[19]。

5 微生物感染或毒素致血瘀模型

温热病过程中,热盛易伤津耗液,使血液粘稠;热毒灼伤脉络,诱导瘀血和血栓形成,迫血妄行,离经之血形成瘀血。热毒血瘀证模型制造方法较多,包括采用不同种类的细菌,或采用不同剂量细菌内毒素诱导的血瘀证^[20-27]。

采用活细菌包括大肠杆菌、巴氏杆菌、绿脓杆菌以及其它细菌等注射入家兔体内,可迅速造成全身微循环障碍,诱导DIC发生,属祖国医学的热毒血瘀范畴。这种模型迅速表现出由于败血症继发广泛的血管内凝血而导致的血小板计数和聚集率显著下降、凝血功能异常,同时由于全身性炎症反应而诱导TXB₂/6-Keto-PGF1α比例失调等变化;脏器组织包括肺、肝、肾、脾脏、脑、心脏等呈现局灶性瘀血、出血,毛细血管高度扩张以及广泛的微血栓形成等病理变化。采用细菌内毒素也可诱导家兔DIC形成,其诱导的微循环障碍、凝血功能和血液流变学异常以及主要脏器广泛微血栓形成为特征的血瘀证表现与细菌诱导者相似。

6 物理和化学因素致血瘀模型

用⁶⁰Co照射家兔,可造成球结膜毛细血管通透性明显增高,血流缓慢,微血管明显扩张等微循环障碍^[28]。另有报道,采用直流电刺激仪,刺激左冠状动脉前降支使形成血栓,或

行冠状动脉接扎阻断局部血流。由于局部血流受阻,组织缺氧,引起微小血管收缩,同时内皮细胞受损伤并被激活,释放出相应的炎性因子,从而激活凝血系统和血小板等,引起血瘀性病理变化^[29]。给家兔行皮管成形术后4~6周,用激光照射皮管内长入的微血管,引起以渗血和出血为主的微循环障碍,造成“离经之血”的局部血瘀模型,其微血管管径、毛细血管密度以及血流速度的变化以及病理检查和超微观察结果均表明血瘀的存在^[30]。

给家兔静脉注射10%的高分子右旋糖酐(分子量大于20万)生理盐水溶液,可造成急性血瘀证。观察到眼球结膜微血流减慢,毛细血管通透性增高和血栓形成,血细胞聚集性增高等改变。高分子右旋糖酐产生的红细胞聚集导致组织的血流灌注明显减少,引起严重的组织缺氧是发生血瘀的原因。该模型的微循环障碍出现很快,注药过程中就已经发生,24~36h达高峰,大多数动物于72h内由于急性血管栓塞而死亡^[31]。

给大鼠注射凝血因子或凝血因子激活剂也可诱导急性血瘀证模型^[23~34]。静脉滴注凝血酶,同时皮下注射 ϵ -氨基己酸,可迅速激活凝血系统,造成凝血因子、纤维蛋白原和血小板大量消耗,血浆TXB₂、 ϵ -Ket α -PGF1 α 增高,病理检查可见多脏器微血栓形成,但主要发生在肾脏的肾小球。该模型所用的凝血酶可激活凝血系统,合并使用的 ϵ -氨基己酸可抑制内皮网状系统对激活的凝血因子的清除,从而辅助凝血酶造成体内血栓形成。给家兔静脉注射含有兔脑粉的10%高分子葡聚糖,注药后迅速因高凝状态而导致凝血因子及抗凝血因子的消耗,并很快继发纤溶变化;血气分析呈缺氧性变化。大体观察和病理学检查可见主要脏器如肺、肝、肾、心等瘀紫、出血和血栓形成,扫描电镜检查显示血小板有聚集、肿胀、崩解及破坏的过程。

增高血脂浓度,因血液粘稠可致血瘀证。家兔被长期喂饲以高胆固醇和猪油的饲料,出现纳差、便溏、少动、皮毛欠光泽等类气虚表现,同时血胆固醇和甘油三酯明显增高,血液粘稠,红细胞变形能力降低,滤过指数增高。主动脉内形成明显的粥样斑块,病理检查可见内膜平滑肌细胞增生,泡沫样细胞大量出现,胶原纤维排列紊乱等^[35]。这种血瘀与临床痰浊血瘀有相似之处。

此外,还有动物肠系膜局部滴加麻黄素或肾上腺素造成的局部微循环障碍的血瘀证;用放射线照射引起的骨髓损伤性血瘀证;使动物骨折造成的局部或全身性血瘀;颈动脉血栓形成;肾血管性高血压血瘀模型等报道。

7 结语

临床血瘀证不是一个孤立的证候,常常与其它证候如气滞、气虚、痰阻、寒凝等夹杂并存,往往气滞、气虚、痰阻、寒凝等是因,血瘀是果。目前部分动物血瘀证模型是根据血瘀发生的病因来设计的。属于肝气疏泄异常,气血不合所致的气滞血瘀在临床上占有相当大的比例。由于情志因素长期作用,致使机体发生交感神经系统调节失常和功能紊乱,从而导致血液、心血管系统从功能性变化至器质性病变转变。人

们试图采用故意激惹的方法使动物的神经活动产生紊乱而诱发这种气滞血瘀模型。但由于动物对很多刺激的适应性很强,情志反应长消迅速,激惹造成的血瘀持续时间较短,随刺激时间延长动物呈现一定的耐受现象。到目前为止,在动物体内模拟气滞血瘀仍是一个难题。根据临床气滞血瘀证的发病特点,应该将多因素致病的慢性血瘀证模型研究作为今后的研究重点。

各种类型的血瘀证虽然均表现出不同程度的微循环障碍,但由于血瘀兼证的不同,各模型中所表现出动物的血液理化特性有一定差异。从目前所制备热毒血瘀模型看,由于常常使用了大量的细菌感染或采用了大量细菌毒素的入侵,热盛伤津耗液而引起血液粘稠的过程即血液高凝过程非常短暂,很快就转入因DIC造成大量血小板和凝血因子消耗后而致的凝血功能异常、纤溶亢进和出血阶段,因此,常常能测到的血液理化改变及其流变学特性是以低凝、低聚为主。而其它不少血瘀证模型如肾上腺素+冰水浴致血瘀、阴虚血瘀、外伤血瘀等可观察到相对明显和持续时间较长的血液呈高凝、高粘以及高聚过程;高脂血瘀阻血瘀则以血液粘稠度高为主要特点。这与临床上不同的血瘀证类型也具有不同血液理化特性表现是吻合的。因此,动物模型上所表现的血瘀证客观指标应该随血瘀证所处的不同发展阶段而呈现相应的变化,搞清这些变化的规律对于制备更加符合临床特性的血瘀证模型以及正确使用不同类型的血瘀证模型具有实际意义。

血瘀证是以微循环障碍为基本病理生理基础的一类证候,引起微循环障碍的原因涉及血液细胞流变学、血浆成分、血管功能与结构改变等多方面。在血液细胞流变学方面,以往动物模型研究中多关注于红细胞和血小板的生物特性(流动性、变形性、聚集性等)与血瘀证的相关性,但是对白细胞在血瘀证发生中的作用研究却很少。白细胞虽然在血液中的总数较红细胞和血小板少,但它广泛参与免疫调节、组织缺氧、损伤和修复、以及炎症和休克等过程。在某些病理性刺激下,毛细血管灌注压降低或毛细血管管径变小,以及在血管活性因子或粘附因子参与下,可促使白细胞在毛细血管粘附甚至嵌塞,从而引起微循环障碍和组织缺氧,继而激活更多的因子以及自由基释放参与血瘀证过程的形成,从某种程度上起着放大效应,因此白细胞在血瘀证形成中的重要作用不可忽视。

参考文献:

- [1] 毛腾敏,林建和“血瘀”病理模型探索(一)[J].北京医科大学学报,1985,17(4):246-248.
- [2] 卢振初,周淑英,罗宇慧.疼痛所致家兔“血瘀证”模型研究[J].南京中医学院学报,1991,7(3):149-150.
- [3] 杨士友,孙备,裴月梅.风寒表证和寒凝血瘀证动物模型研究[J].中国中医基础医学杂志,1997,3(1):54-56.
- [4] 倪瑾,张珊珊,夏友群.寒凝血瘀证与血液流变学观察意义[J].辽宁中医杂志,1996,23(12):568-569.

- [5] 张珊珊,倪瑾,吴昱莉,等.寒凝血瘀证动物模型的研制[J].南京中医学院学报,1992,8(1):21-22.
- [6] 郑小伟,李巍.阳虚血瘀证凝血机制异常动物模型的实验研究[J].吉林中医药,1993,(3):39-40.
- [7] 马治中,杨明,和岚,等.老年大鼠血液流变学参数的变化[J].北京医科大学学报,1996,28(6):450-451.
- [8] 何光明,孙景波.大鼠瘀血模型的复制[J].山西医药杂志,1989,18(6):362-363,骆永珍,高永翔,白华.
- [9] 马治中,杨明,和岚,等.血瘀病理模型探索(三)[J].北京医科大学学报,1991,23(4):287-289.
- [10] 张红宇,高菊珍,张晓华.补阳还五汤对气虚血瘀证大鼠血液流变学的影响[J].云南中医学院学报,2000,23(3):10-11.
- [11] 李萍,杨丽彩,徐宝婴.气虚血瘀大鼠慢性伤口模型的研究——阿霉素对大鼠伤口的影响[J].中国中医基础医学杂志,1998,4(6):57-59.
- [12] 曹雪滨,李培建,黄河玲,等.兔气虚血瘀型心力衰竭模型的建立[J].实验动物科学与管理,1999,16(3):10-12.
- [13] 闫润红,王世民,闫志芳.不同黄芪剂量的补阳还五汤对“气虚血瘀”家兔血粘度的影响[J].中药药理与临床,1999,15(1):7-9.
- [14] 常复蓉,王殿俊,刘效浩,等.血虚血瘀证动物模型的研制[J].南京中医学院学报,1992,8(1):23-25.
- [15] 赖世隆,王奇,谭芬来,等.“血瘀证”动物模型的实验研究[J].中药药理与临床药理,1991,2(2):32-36.
- [16] 王奇,郑忠,梁伟雄,等.兔血瘀证模型的组织形态学观察[J].中国中西医结合杂志,1993,基础理论研究特辑.306-308.
- [17] 王奇,陈云波,梁伟雄,等.血瘀证兔模型血管内皮细胞内分泌功能变化及血府逐瘀汤作用的影响[J].中国中医基础医学杂志,1998,4(6):31-34.
- [18] 廖福龙,李文,丁忠,等.外伤致血瘀的大鼠模型[J].中西医结合杂志,1989,基础理论研究特集:31-33.
- [19] 华兴邦,庄康,孙晓进,等.外伤血瘀证动物模型的研制[J].南京中医学院学报,1992,8(1):16-18.
- [20] 戴春福,孟澍江.内毒素性家兔温病营分证血瘀模型建立的初步研究[J].福建中医药,1990,21(6):40-41.
- [21] 宋善俊,等.播散性血管内凝血的实验研究[J].中华血液学杂志,1980,(4):199.
- [22] 吴永平.家兔DIC实验研究——一种较适合于教学、科研的实验模型[J].同济医科大学学报,1985(5):381.
- [23] 赵智强,曹一鸣,许长照,等.凉血化瘀方对家兔DIC高凝期的作用观察[J].中西医结合杂志,1988,8(4):218-220.
- [24] 金妙文,沈洪,汪红.凉血化瘀方对瘀热型血证模型家兔血栓素B2和 α -酮-前列腺素F1a的影响[J].中药药理与临床,1995,(5):10-12.
- [25] 许长照,曹一鸣,杨进,等.热毒血瘀证动物模型的病理形态学基础[J].江苏中医,1989,(2):31-33.
- [26] 廖福龙,李文,温瑞兴,等.血瘀证动物模型的研究[J].山西医药杂志,1988,17(2):81-83.
- [27] 王殿俊,刘小浩,金辉,等.热毒血瘀证动物模型研制[J].南京中医学院学报,1992,8(1):18-21.
- [28] 王洪复,陈永明,袁龙宝,等.芪甲丹注射液对丙线照射家兔微循环障碍的改善作用[J].中西医结合杂志,1985,5(5):295-296.
- [29] 田鹤村,张成英,陈前芬,等.却血再灌注损伤的保护作用[J].中国循环杂志,1994,9(11):680.
- [30] 李凤文,冀向东,黄琳,等.家兔皮管局部血瘀模型的完善及其特异性观察[J].医学研究通讯,1991,20(8):15-18.
- [31] 金惠铭,陈达信,阎友珍,等.静脉注射高分子右旋糖酐复制家兔急性微循环障碍模型的实验研究[J].中国急救医学,1982,2(3):37-41.
- [32] 孙去病,田鹤,孙素莲,等.大白鼠注射凝血酶和 α -氨基己酸所致的DIC[J].中华血液学杂志,1981,2(5):316.
- [33] 常爱敏,李次芬,李振甲,等.急性弥漫性血管内凝血形成对血小板功能、丙二醛、血栓素B2、 α -Ketor-PGF1 α 动态变化的实验研究[J].中华血液学杂志,1987,8(7):410-413.
- [34] 鲍军,洪允祥,楼建国,等.家兔急性血瘀模型研究[J].中西医结合杂志,1986,6(6):357-359.
- [35] 高明,崔尚志,周群.家兔实验性动脉粥样硬化气虚血瘀模型的建立[J].辽宁中医杂志,1990,(1):39-41