

莪红片对急性血瘀证模型大鼠血液流变学及血栓形成相关指标的影响^Δ

郝少君^{1*}, 谢国旗², 李重先³, 李 军¹, 刘晓斌^{4#}, 李文俊¹, 张正臣¹ (1.解放军第371医院药械科, 河南新乡 453000; 2.解放军第371医院神经内科, 河南新乡 453000; 3.解放军第371医院护理部, 河南新乡 453000; 4.解放军第371医院医务处, 河南新乡 453000)

中图分类号 R364.1⁺5; R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)18-2488-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.18.10

摘要 目的:观察莪红片对急性血瘀证模型大鼠血液流变学及血栓形成相关指标的影响。方法:将72只雄性SD大鼠随机分为空白组、模型组、脑心通胶囊组(0.8 g/kg)和莪红片低、中、高剂量组(0.375、0.75、1.5 g/kg),每组12只。各给药组大鼠均灌胃相应药物,空白组和模型组大鼠灌胃等容生理盐水,每天1次,连续7 d。除空白组外,其余各组大鼠均于末次给药1 h后皮下注射盐酸肾上腺素(0.06 mg/kg),2 h后用冷水刺激3 min,并于2 h后再次皮下注射同等剂量的盐酸肾上腺素以复制急性血瘀证模型。禁食、不禁水20 h后,观察各组大鼠行为,并检测其全血黏度(高、中、低切)和血清血栓素B₂(TXB₂)、6-酮-前列腺素F_{1a}(6-k-PGF_{1a})含量。结果:空白组大鼠饮食正常,精神和活动状态良好;模型组大鼠出现食欲不振、精神萎靡、活动减少等症状,其全血黏度(高、中、低切)和血清TXB₂含量均较空白组显著升高,6-k-PGF_{1a}含量较空白组显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$);各给药组大鼠上述症状均有不同程度改善,且脑心通胶囊组和莪红片中、高剂量组大鼠全血黏度(高、中、低切)和血清TXB₂含量均较模型组显著降低,6-k-PGF_{1a}含量均较模型组显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:莪红片可一定程度地降低全血黏度、改善血瘀症状,这种作用可能与其下调血清TXB₂、上调6-k-PGF_{1a}含量有关。

关键词 莪红片;大鼠;急性血瘀证模型;全血黏度;血栓素B₂;6-酮-前列腺素F_{1a}

- 展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(7): 902-906.
- [2] 许建中, 解志杰, 杨物鹏, 等. 生长因子(IGF-I、TGF- β 1和BMP-2)对兔关节软骨细胞体外增殖的作用[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(5): 540-543.
- [3] LAFONT JE, TALMA S, HOPFGARTEN C, et al. Hypoxia promotes the differentiated human articular chondrocyte phenotype through SOX9-dependent and -independent pathways[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(8): 4778-4786.
- [4] AMARILIO R, VUKOV SV, SHARIR A, et al. HIF1- α regulation of SOX9 is necessary to maintain differentiation of hypoxic prechondrogenic cells during early skeletogenesis[J]. *Development*, 2007, 134(21): 3917-3923.
- [5] 刘剑刚, 谢雁鸣, 邓文龙. 骨碎补总黄酮抗炎作用的实验研究[J]. 中国天然药物, 2004, 2(4): 232-234.
- [6] 周荣魁, 陈昌红, 李贺, 等. 口服骨碎补总黄酮治疗膝关节炎患者的临床观察[J]. 中国医药导报, 2011, 8(2): 77-78.
- [7] 韦积华, 罗群强, 陈载霞, 等. 微骨折技术联合骨碎补总黄酮对实验性兔膝关节软骨损伤的修复作用[J]. 中国地
- 方病防治杂志, 2017, 12(10): 67-69.
- [8] 方斌, 刘文刚, 赵自明, 等. 参麦注射液关节内注射治疗家兔膝关节炎的实验研究[J]. 风湿病与关节炎, 2013, 2(8): 27-30.
- [9] PALEOLOG EM. The vasculature in rheumatoid arthritis: cause or consequence?[J]. *Int J Exp Pathol*, 2009, 90(3): 249-261.
- [10] MAPP PI, AVERY PS, MCWILLIAMS DF, et al. Angiogenesis in two animal models of osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008, 16(1): 61-69.
- [11] PFANDER D, KÖRTJE D, ZIMMERMANN R, et al. Vascular endothelial growth factor in articular cartilage of healthy and osteoarthritic human knee joints[J]. *Ann Rheum Dis*, 2001, 60(11): 1070-1073.
- [12] 宋亚琼, 周播江. 低氧诱导因子-1在调控骨骼肌缺氧时能量代谢发生适应性变化的机制研究进展[J]. 解剖学报, 2017, 48(2): 236-240.
- [13] CRAMER T, YAMANISHI, Y, CLAUSEN BE, et al. HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation[J]. *Cell*, 2003, 112(5): 645-657.
- [14] 蔡佳宇, 常文静, 商玮, 等. 姜黄素对佐剂性关节炎模型大鼠HIF-1 α 、VEGF及VEGFR表达的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2015, 39(3): 285-287.

^Δ基金项目:河南省科技发展计划项目(No.豫科计[2013]25号-132102310408);新乡市科技攻关计划项目(No.新科计[2017]22号-CXGG17025)

*主任药师。研究方向:中药制剂、药理学。电话:0373-3541018。E-mail:haosj371@sohu.com

#通信作者:主任医师,硕士。研究方向:心脑血管疾病防治及基础。电话:0373-5081371-549506。E-mail:xxwqh@163.com

(收稿日期:2018-03-08 修回日期:2018-07-11)

(编辑:张元媛)

Effects of Ehong Tablets on Hemorheology and Related Indexes of Thrombosis in Acute Blood Stasis Model Rats

HAO Shaojun¹, XIE Guoqi², LI Chongxian³, LI Jun¹, LIU Xiaobin⁴, LI Wenjun¹, ZHANG Zhengchen¹ (1. Dept. of Pharmacy Equipment, No. 371 Hospital of PLA, Henan Xinxiang 453000, China; 2. Dept. of Neurology, No. 371 Hospital of PLA, Henan Xinxiang 453000, China; 3. Dept. of Nursing, No. 371 Hospital of PLA, Henan Xinxiang 453000, China; 4. Dept. of Medical Affair, No. 371 Hospital of PLA, Henan Xinxiang 453000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To observe the effects of Ehong tablets on hemorheology and related indexes of thrombosis in acute blood stasis model rats. **METHODS:** Totally 72 male SD rats were randomly divided into blank group, model group, Naoxintong capsules group (0.8 g/kg) and Ehong tablets low-dose, medium-dose and high-dose groups (0.375, 0.75, 1.5 g/kg), with 12 rats in each group. Administration groups were given relevant medicine intragastrically; blank group and model group were given constant volume of normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 7 d. Except for blank group, other groups were given adrenaline hydrochloride (0.06 mg/kg) subcutaneously 1 h after last medication, 2 h later were irritated with cold water for 3 min, and then given same dose of adrenaline hydrochloride subcutaneously again 2 h later to induce acute blood stasis model. Twenty hours after fasting without water fasting, the behaviors of rats were observed, whole blood viscosity (high, medium and low shear) and serum contents of TXB₂ and 6-k-PGF1a were detected. **RESULTS:** The rats in the normal group had normal diet, good mental and active state. The model group suffered from loss of appetite, depression and activity decreasing, etc.; whole blood viscosity (high, medium and low shear) and serum contents of TXB₂ were increased significantly, while serum content of 6-k-PGF1a was decreased significantly, compared with blank group, with statistical significance ($P < 0.01$). Compared with model group, above symptoms of rats were improved to different extents in administration groups. The whole blood viscosity (high, medium and low shear) and serum contents of TXB₂ were decreased significantly in Naoxintong capsules group, Ehong tablets medium-dose and high-dose groups, while serum contents of 6-k-PGF1a was increased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **CONCLUSIONS:** Ehong tablets can reduce blood viscosity and improve blood stasis symptoms to certain extent, the effects of which may be associated with down-regulating serum content of TXB₂ and up-regulating serum content of 6-k-PGF1a. **KEYWORDS** Ehong tablets; Rats; Acute blood stasis model; Blood viscosity; TXB₂; 6-k-PGF1a

血瘀证是中医临床常见的一种证型,是由机体内气机逆乱、气血运行不畅所致的瘀积凝滞,或者血液离开经脉且无法及时消散以致在体内停留所致的多种病症的总称,主要表现为疼痛、肿块、出血、舌紫、脉涩等^[1-3]。目前,相关研究通常根据血瘀证的病因病机(如寒邪、外伤、郁怒、气虚等)复制动物模型,急性血瘀证模型便是其中的一种^[4-5]。该模型采用的造模方法为皮下注射盐酸肾上腺素,并同时复合4℃冷水浴,可很好地印证中医关于血瘀证“寒则凝,凝则成瘀”的认识^[6]。急性血瘀证模型可使实验动物外周血管强烈收缩、心肌耗氧量增加、心功能减退,从而引起血流运行障碍;此外,该模型还能引起其血液流变学的改变,使血液呈“黏、浓、凝、聚”状态,最终堵塞血管引发心血管疾病^[7]。

莪红片是根据临床经验自拟的院内制剂,由莪术、红花组成,具活血化瘀之功效,可用于治疗缺血性心脑血管疾病,且疗效较好^[8-10]。本课题组前期采用高效液相色谱法对莪红片中所含的主要有效成分进行了分析^[11]。在此基础上,本研究进一步探讨了莪红片对急性血瘀证模型大鼠血液流变学及血栓形成相关指标的影响,以期阐明其临床治疗血瘀证的作用机制提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

N6C型全自动血液流变仪(北京普利生仪器有限公司);680型酶标仪(美国Bio-Rad公司);H2050R型台式高速大容量冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);JA1103N型电子分析天平(河南中良科学仪器有限公司);JX5001型电子分析天平(上海浦春计量仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

莪红片[解放军第371医院制剂室,批准文号:济联字(2001)FP10013(21)号,批号:20151022,规格:0.3 g];脑心通胶囊(陕西步长制药有限公司,批准文号:国药准字Z20025001,批号:170566,规格:每粒装0.4 g);盐酸肾上腺素注射液[远大医药(中国)有限公司,批准文号:国药准字H42021700,规格:1 mL:1 mg];血栓素B₂(TXB₂)试剂盒、6-酮-前列腺素F1a(6-k-PGF1a)试剂盒均由苏州卡尔文生物科技有限公司提供;其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF级雄性SD大鼠72只,体质量180~200 g,由山东省实验动物中心提供[动物使用许可证号:SYXK(豫)2015-0005]。

2 方法

2.1 分组、给药与造模^[12-15]

取SPF级雄性SD大鼠72只,随机分为6组,即空白

组、模型组、脑心痛胶囊组(阳性对照,0.8 g/kg,根据成人临床剂量的10倍换算而得;给药体积为1 mL/100 g,溶剂为生理盐水)和莪红片低、中、高剂量组(0.375、0.75、1.5 g/kg,根据成人临床剂量的5、10、20倍换算而得;给药体积为1 mL/100 g,溶剂为生理盐水),每组12只。各给药组大鼠灌胃相应药物,空白组和模型组大鼠灌胃等容生理盐水,每天1次,连续7 d。除空白组外,其余各组大鼠均于末次给药1 h后皮下注射盐酸肾上腺素(0.06 mg/kg),2 h后将其放入4 ℃冷水浴中刺激3 min,捞出,擦干,2 h后再次皮下注射同等剂量的盐酸肾上腺素以复制急性血瘀证模型。

2.2 指标检测

造模后,所有大鼠均禁食、不禁水20 h,观察其行为。以10%水合氯醛(0.35 mL/100 g)进行麻醉后,于大鼠腹主动脉取血两管。一管采用全自动血液流变仪检测血液流变学指标[全血黏度(高、中、低切)];另一管经3 000 r/min离心10 min后,取上层血清,采用酶联免疫吸附测定法以酶标仪检测血栓形成相关指标(TXB₂、6-k-PGF1a)的含量,严格按照试剂盒说明书操作。

2.3 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;采用单因素方差分析检查其方差齐性,方差齐者组间比较采用最小显著差数(LSD)法,方差不齐者则采用Games-Howell检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 莪红片对急性血瘀证模型大鼠行为的影响

空白组大鼠饮食正常,精神与活动状态良好;模型组大鼠食欲不振,精神萎靡,活动减少,皮毛无光泽,对外界刺激反应迟钝,且体质量降低;各给药组大鼠上述症状均有不同程度的改善,其中以莪红片高剂量组大鼠的状态较好。

3.2 莪红片对急性血瘀证模型大鼠全血黏度的影响

与空白组比较,模型组大鼠全血黏度(高、中、低切)均显著升高($P < 0.01$),提示模型复制成功。与模型组比较,脑心痛胶囊组和莪红片中、高剂量组大鼠全血黏度(高、中、低切)均显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);而莪红片低剂量组大鼠全血黏度(高、中、低切)与模型组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),详见表1。

3.3 莪红片对急性血瘀证模型大鼠血清TXB₂和6-k-PGF1a含量的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清TXB₂含量显著升高,6-k-PGF1a含量显著降低($P < 0.01$),提示模型复制成功。与模型组比较,脑心痛胶囊组和莪红片中、高剂

表1 莪红片对急性血瘀证模型大鼠全血黏度的影响($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{mPa} \cdot \text{s}$)

Tab 1 Effect of Ehong tablets on whole blood viscosity of rats with acute blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{mPa} \cdot \text{s}$)

组别	高切全血黏度	中切全血黏度	低切全血黏度
空白组	3.94 ± 0.30	4.46 ± 0.39	9.49 ± 0.36
模型组	4.77 ± 0.31*	5.11 ± 0.27*	10.03 ± 0.36*
脑心痛胶囊组	4.13 ± 0.22 ^{##}	4.75 ± 0.36 [#]	9.60 ± 0.33 [#]
莪红片低剂量组	4.67 ± 0.30	5.11 ± 0.20	10.00 ± 0.23
莪红片中剂量组	4.45 ± 0.21 [#]	4.80 ± 0.24 [#]	9.61 ± 0.50 [#]
莪红片高剂量组	4.24 ± 0.26 ^{##}	4.73 ± 0.33 ^{##}	9.53 ± 0.34 ^{##}

注:与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. blank group, * $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P <$

0.01

量组大鼠血清TXB₂含量均显著降低,6-k-PGF1a含量均显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);而莪红片低剂量组大鼠血清TXB₂、6-k-PGF1a含量与模型组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),详见表2。

表2 莪红片对急性血瘀证模型大鼠血清TXB₂和6-k-PGF1a含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{pg/mL}$)

Tab 2 Effect of Ehong tablets on serum contents of TXB₂ and 6-k-PGF1a in rats with acute blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{pg/mL}$)

组别	TXB ₂	6-k-PGF1a
空白组	534.67 ± 95.90	6 815.00 ± 389.52
模型组	1 114.33 ± 136.22*	3 737.50 ± 284.07*
脑心痛胶囊组	772.00 ± 138.02 ^{##}	6 370.00 ± 583.22 ^{##}
莪红片低剂量组	1 010.33 ± 125.42	4 492.50 ± 592.64
莪红片中剂量组	981.67 ± 125.51 [#]	5 242.50 ± 512.86 ^{##}
莪红片高剂量组	890.67 ± 86.10 ^{##}	5 715.00 ± 334.26 ^{##}

注:与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. blank group, * $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P <$

0.01

4 讨论

脑心痛胶囊由丹参、当归、川芎、红花、水蛭等多种中药组成,具有益气活血、化瘀通络之功效,可用于治疗气虚血滞、脉络瘀阻所致的中风、脑梗死等症^[6]。临床研究表明,该药可显著降低血瘀证患者的全血黏度(高、中、低切)、血浆黏度和血小板黏附率,可抑制腺苷二磷酸(ADP)诱导的血小板聚集,显著抑制血栓的形成;同时,其还可显著增加脑血流量,降低脑血管阻力,延长凝血时间,增加心肌供血,有效改善患者的心功能^[17]。因此,本研究选择脑心痛胶囊作为阳性对照药物。

有研究认为,血瘀证主要表现为血液流变学异常及体内微循环障碍,是一种因血液流动性和黏性异常而引发的血流紊乱症^[18-19]。相关研究表明,血瘀证伴有全血黏度升高及血小板聚集性增强等现象^[20]。全血黏度不仅能反映血液的黏滞程度,还能反映血液流变学的基本

特征^[19]。因此,全血黏度是诊断血瘀证的重要指标之一。正常情况下,人体体内凝血系统、抗凝血系统以及纤溶系统处于动态平衡状态,相互制约;发生血瘀后,血液运行受阻,血流不畅,血液凝滞,内外源凝血途径均被激活,血小板黏附聚集,血栓形成^[21]。TXB₂由血小板产生并释放,能够收缩血管、促进血小板聚集;6-k-PGF_{1a}是TXB₂的抑制物,能够舒张血管、抑制血小板聚集,两者对血栓的形成具有重要的作用^[21]。

莪术是较为常用的破血行气中药,对血瘀证具有很好的治疗效果;红花为活血之王,性辛、温,归心、肝经,具有活血祛瘀的功效^[22]。《本草汇言》中记载,“红花,破血、行血、和血、调血之药也”。现代研究发现,红花黄色素能够降低血浆黏度,抑制血小板聚集,阻碍血栓形成。本课题组根据临床经验以莪术、红花配伍(莪术为主,红花为佐)制成莪红片,并在有效成分分析的基础上,初步探讨了其对急性血瘀证模型大鼠血液流变学及血栓形成相关指标的影响,结果显示,模型组大鼠出现食欲不振、精神萎靡、活动减少等症状;与空白组比较,模型组大鼠全血黏度和血清TXB₂含量均显著升高,6-k-PGF_{1a}含量显著降低,提示造模成功;与模型组比较,各给药组大鼠上述症状均有不同程度的改善,且脑心通胶囊组和莪红片中、高剂量组大鼠全血黏度和血清TXB₂含量均显著下降,6-k-PGF_{1a}含量均显著升高。这提示,莪红片可以降低急性血瘀证模型大鼠的全血黏度和血清TXB₂含量,升高血清6-k-PGF_{1a}含量,从而有效改善了大鼠血瘀症状。

综上所述,莪红片可一定程度地降低全血黏度、改善血瘀症状,这种作用可能与其下调血清TXB₂、上调6-k-PGF_{1a}含量有关。但本研究未对血小板聚集的相关指标进行检测,且尚未评估莪红片对血瘀证模型大鼠血小板功能的影响,故仍有待后续研究深入探讨。

参考文献

[1] 唐宗海. 血证论[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2016:23、97.

[2] 陈可冀,史载祥. 实用血瘀证学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2011:29-30.

[3] 何浩强,高嘉良,陈光,等. 治疗气虚血瘀证中成药的组方规律分析[J]. 中国药房,2017,28(35):4910-4914.

[4] 何婵,罗华丽,季晖. 基于TNF- α 的脑缺血再灌注损伤机制及相关药物研究进展[J]. 中国药房,2016,27(28):4016-4020.

[5] 张允岭,张锦,扈新刚,等. 制作缺血性中风气虚血瘀证大鼠模型的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2009,29(4):343-346.

[6] 贾梅,郑传柱,张丽,等. 四物汤对急性血瘀模型大鼠活

血祛瘀有效部位筛选[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(16):119-123.

[7] 方洋,杨明,赖琼. 栀子提取物对急性血瘀模型的影响[J]. 江西中医药,2016,47(2):45-46.

[8] 张三林,岳荣喜,卫世强,等. 莪红片治疗不同证型不稳定型心绞痛100例临床研究[J]. 中国中医急症,2009,18(12):1935-1937.

[9] 张三林,岳荣喜,卫世强,等. 莪红片对不同证型不稳定型心绞痛患者血清白细胞介素-6、18和C反应蛋白的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(2):15-17.

[10] 朱改针,张三林,卫世强,等. 莪红片对不同证型不稳定型心绞痛患者血清IL-8影响的研究[J]. 医学信息,2011,24(2):769.

[11] 郝少君,李军,李献玉. 高效液相色谱法测定莪红片制剂中羟基红花黄色素A的含量[J]. 解放军药学报,2010,26(6):531-532、535.

[12] 郭子华. 补阳还五汤治疗缺血性脑中风的疗效及对血液流变学指标的影响[J]. 中医药临床,2017,29(12):2090-2092.

[13] 谢国旗,李文俊,郝少君,等. 清脑片对急性血瘀模型大鼠血液黏度及血液流变学的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2017,35(4):971-974.

[14] 章丽,赵冰洁,袁嘉瑞,等. 牡丹皮、赤芍与白芍对急性血瘀模型大鼠活血功效的比较研究[J]. 中草药,2016,47(15):2676-2683.

[15] 李莎,王芳,马兰,等. 丹红注射液对冠心病心绞痛患者血液流变学影响的系统评价[J]. 中国药房,2015,26(30):4236-4239.

[16] 黄斌,李耿,郭宇飞,等. 脑心通胶囊中4个成分肠吸收研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(6):889-893.

[17] 培峰,张三印,焦晨莉. 脑心通胶囊对大鼠急性“血瘀”证的血液流变性的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2003,1(8):463-465.

[18] 李广新. 血液流变学指标在首发精神分裂症诊断中的临床价值[J]. 中国医药指南,2018,16(1):77-78.

[19] 吴建峰. 中西医结合治疗缺血性脑中风的疗效及对血液流变学指标的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2014,23(34):3833-3834.

[20] 刘军莲,宋剑南. 中医血瘀证本质研究概况[J]. 辽宁中医杂志,2006,33(9):1091-1093.

[21] 王海丽,肖林焱,陈毅,等. 茜草炭不同提取物对急性血瘀模型大鼠的影响比较研究[J]. 中草药,2016,47(8):1351-1356.

[22] 蔡淑彬. 红花黄色素治疗出血性中风血瘀证的临床观察[D]. 福州:福建中医药大学,2017.

(收稿日期:2018-03-02 修回日期:2018-07-11)

(编辑:张元媛)