

补阳还五汤对高脂血症模型大鼠血液流变学和血小板相关生物学指标的影响^Δ

凌爽*,冯月男,刘思莹,毕悦,卞敬琦,肖洪彬[#],牛雯颖^{#b}(黑龙江中医药大学基础医学院,哈尔滨 150040)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)07-0801-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.07.06

摘要 目的:探讨补阳还五汤对于高脂血症模型大鼠血液流变学和血小板相关生物学指标的影响。方法:将雄性Wistar大鼠随机分为空白对照组(10只)和造模组(40只)。空白对照组大鼠给予普通饲料,造模组大鼠给予高脂饲料,分组喂养至少6周以复制高脂血症模型。将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、阳性对照组(辛伐他汀,0.004 g/kg)和补阳还五汤低、高剂量组(3.5、14.0 g/kg,以生药量计),每组10只。空白对照组和模型对照组大鼠灌胃生理盐水,各药物组大鼠灌胃相应药液,0.01 mL/g,每日1次,连续4周。末次给药30 min后,检测大鼠的血液流变学指标(全血黏度、血浆黏度)、血小板黏附作用相关指标[黏附率、血管性血友病因子(vWF)、纤维连接蛋白(FN)]、血小板释放作用相关指标[β -血小板球蛋白(β -TG)、血小板第4因子(PF4)]、血小板纤溶系统相关指标[组织型纤溶酶原活化剂(t-PA)、纤溶酶原激活物抑制剂1(PAI-1)]、血小板参数[血小板计数(PLT)、血小板分布宽度(PDW)、血小板平均体积(MPV)、血小板压积(PCT)、大型血小板比率(PLCR)]和凝血4项指标[活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)]。结果:与空白对照组比较,模型对照组大鼠全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度、血小板黏附率以及vWF、FN、 β -TG、PAI-1、PLT、MPV、PCT、PLCR、FIB含量或水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),t-PA含量显著降低($P<0.05$)。与模型对照组比较,各药物组大鼠全血黏度(除补阳还五汤高剂量组高切变率全血黏度外)、血浆黏度、血小板黏附率以及vWF、FN、 β -TG、PAI-1、PLT、PDW(除补阳还五汤低、高剂量组外)、MPV、PCT、PLCR(除补阳还五汤低剂量组外)、FIB含量或水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),t-PA含量(除阳性对照组外)均显著升高($P<0.05$)。结论:补阳还五汤可能是通过降低血液黏度和FN含量、改善血小板黏附性、增强纤溶活性、改善血小板聚集状态、抑制凝血及血小板释放亢进等途径,来发挥对高脂血症模型大鼠病理状态的改善作用。

关键词 补阳还五汤;高脂血症;血小板;黏附;释放;纤溶;大鼠

325(1):309-315.

- [16] 李雨宸,陈正浩,潘远风,等. 巯基改性纤维素的制备及其对亚甲基蓝的吸附研究[J]. 纤维素科学与技术, 2020, 28(1):34-41.
- [17] 冯甜华. 姜黄素的提纯、稳定性及抗氧化性研究[D]. 重庆:重庆大学, 2016.
- [18] 邹佳辉,黄偲偲,邱娜,等. 用于肺部给药的磷酸奥司他韦微粉的制备及肺组织分布初步考察[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 28(5):692-698.
- [19] 张国立,肖志美,于翔,等. 治疗急性损伤的莜术油和莜术醇粉雾剂的比较研究[J]. 药学学报, 2020, 5(6):1312-1319.
- [20] 朱李飞,刘晓妍,陈红君,等. 白藜芦醇二棕榈卵磷脂脂质

粉雾剂的制备及其抗菌作用研究[J]. 中草药, 2018, 49(24):5803-5811.

- [21] 胡玉贞. 防治肺纤维化的肺吸入姜黄素大多孔微粒的研究[D]. 合肥:安徽医科大学, 2017.
- [22] 李楠,刘佩莉,孔令钰,等. 姜黄素固体脂质纳米粒干粉吸入剂的质量评价及初步稳定性考察[J]. 中国药房, 2016, 27(34):4838-4841.
- [23] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:附录12-附录13.
- [24] SILVA A L D, CRUZ F F, ROCCO P R M, et al. New perspectives in nanotherapeutics for chronic respiratory diseases[J]. Biophys Rev, 2017, 9(5):793-803.
- [25] FERNANDO J M, MEILAN K H, JAMES P A, et al. At the root: defining and halting progression of early chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care, 2018, 197(12):1540-1551.
- [26] 张攀. 慢性阻塞性肺疾病稳定期患者小气道改变及其对吸入剂的治疗反应评价[D]. 广州:南方医科大学, 2016.
- [27] SANTUS P, RADOVANOVIC D, PECCHIARI M, et al. The relevance of targeting treatment to small airways in asthma and COPD[J]. Respir Care, 2020, 65(9):1392-1412.

(收稿日期:2020-11-24 修回日期:2020-02-02)

(编辑:林静)

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81703981, No.82074326);中国博士后科学基金第13批特别资助(站中)(No.2020T130180);中国博士后科学基金第65批面上资助二等项目(No.2019M651320);黑龙江省博士后资助经费(No.LBH-Z18250);黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划(No.UN-PYSCT-2018232);黑龙江中医药大学科研基金项目(No.2019M39)

* 博士研究生。研究方向:方剂学配伍规律与药理学基础。电话:0451-8219349。E-mail:986990984@qq.com

#a 通信作者:教授,硕士。研究方向:方剂学配伍规律与药理学基础。电话:0451-8219342。E-mail:hrbxiaohongbin@126.com

#b 通信作者:研究员,博士。研究方向:方剂学配伍规律与药理学基础。电话:0451-8219349。E-mail:121505982@qq.com

Effects of Buyang Huanwu Decoction on Hemorheology and Platelet Related Biological Indexes in Hyperlipidemia Model Rats

LING Shuang, FENG Yuenan, LIU Siying, BI Yue, BIAN Jingqi, XIAO Hongbin, NIU Wenying (Basic Medical College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the effects of Buyang huanwu decoction on hemorheology and platelet related biological indexes of hyperlipidemia model rats. **METHODS:** Male Wistar rats were randomly divided into blank control group (10 rats) and model group (40 rats). Blank control group was given normal diet, and model group was given high-lipid diet for 6 weeks at least to induce hypelipidemia model. After modeling, rats were randomly divided into model control group, positive control group (simvastatin, 0.004 g/kg), Buyang huanwu decoction low-dose and medium-dose groups (3.5, 14.0 g/kg, by crude drug), with 10 rats in each group. Blank control group and model control group were given normal saline intragastrically, administration groups were given relevant drug intragastrically, 0.01 mL/g, once a day, for consecutive 4 weeks. Thirty min after last medication, hemorheological indexes (whole blood viscosity, plasma viscosity), platelet adhesion related indexes [adhesion rate, von Willebrand factor (vWF), fibronectin (FN)], platelet release related indexes [β -thromboglobulin (β -TG), platelet factor 4 (PF4)] and platelet fibrinolytic system related indexes [tissue plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor (PAI-1)], platelet parameters (PLT, PDW, MPV, PCT, PLCR), 4 kinds of coagulation parameters (APTT, TT, PT, FIB) were detected. **RESULTS:** Compared with blank control group, the whole blood viscosity (low, medium and high shear rate), plasma viscosity, platelet adhesion rate, the contents or levels of vWF, FN, β -TG, PAI-1, PLT, MPV, PCT, PLCR and FIB in model control group were increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and t-PA content was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with model control group, the whole blood viscosity (except for whole blood viscosity of high shear rate in Buyang huanwu decoction high-dose group), plasma viscosity, platelet adhesion rate, the contents or levels of vWF, FN, β -TG, PAI-1, PLT, PDW (except for Buyang huanwu decoction low-dose and high-dose groups), MPV, PCT, PLCR (except for Byang huanwu decoction low-dose group) and FIB were decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while t-PA content (except for positive control group) was increased significantly ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS:** Buyang huanwu decoction can significantly improve the pathological state in hyperlipidemia model rats by reducing blood viscosity and FN content, improving platelet adhesion, enhancing fibrinolytic activity, improving platelet aggregation, inhibiting hypercoagulability and hyperplatelet release.

KEYWORDS Buyang huanwu decoction; Hyperlipidemia; Platelet; Adhesion; Release; Fibrinolysis; Rats

研究显示,高脂血症是一种全身性代谢性疾病,该症患者的血液流速放缓且易处于瘀滞的状态,血液中的血小板异常聚集沉淀,从而导致血栓形成^[1-2]。由于该症患者存在代谢障碍,容易发生其他代谢性疾病,如糖尿病、高血压、脂肪肝等,且会出现血管内膜损伤、血小板活性增强、微循环障碍等症状,使得心脑血管疾病的发生率显著增加^[3-4]。实验研究表明,高脂血症模型小鼠体内可见明显的血小板黏附与聚集^[5-6]。目前,治疗高脂血症的药物较多,但由于高脂血症与许多疾病密切相关,故药物治疗效果有限^[7]。补阳还五汤是中医内科活血化瘀的经典方,本课题组前期研究结果显示,该方不但可以降低血脂水平,而且还可以改善血液的异常状态^[8-10]。为进一步明确补阳还五汤在高脂血症治疗方面的作用机制,发挥其多靶点、多途径的治疗优势与特色,本研究拟侧重观察该方对高脂血症模型大鼠血小板黏附、释放及纤溶等相关过程的影响,评价其改善作用,为补阳还五汤临床治疗高脂血症提供新的实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

实验所用主要仪器包括 imark 型酶标仪(美国

Bio-Rad 公司)、TGL-16G 型高速台式离心机(苏州捷美电子有限公司)、LBY-N7500B 型全自动血液流变仪(北京普利生仪器有限公司)、X500i 型全自动血液细胞分析仪[希森美康医用电子(上海)有限公司]、C2000-A 型全自动血凝仪(北京普利生仪器有限公司)、DZKW-D-1 型水浴锅(上海医用分析仪器厂)、HYQ-2121A 型涡旋仪(北京市永光明医疗仪器厂)等。

1.2 主要药品与试剂

补阳还五汤所用药材,即生黄芪、当归尾、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花(每方含上述药材 120、6、5、3、3、3、3 g)均购自黑龙江中医药大学附属第一医院,由黑龙江中医药大学中药学教研室王振月教授鉴定为真品。将上述药材用 10 倍量水(mL/g)煎煮、浓缩后制得相应药液(每 1 mL 药液约相对于生药总量 1.4 g),备用。

辛伐他汀片(阳性对照,国药准字 H20010454,批号 201808001,规格 10 mg)购自哈药集团三精明水药业有限公司;血管性血友病因子(vWF)、纤维连接蛋白(FN)、血小板第 4 因子(PF4)、 β -血小板球蛋白(β -TG)、组织型纤溶酶原活化剂(t-PA)、纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所

(批号均为20181126);凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)检测试剂盒(批号分别为1807006、1812063、1812009、1812077)均购自上海长岛生物技术有限公司;生理盐水(批号20180815)购自广东圣戈生物科技有限公司;其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物与饲料

清洁级健康Wistar大鼠,雄性,体质量220~240 g,由哈尔滨医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号为SCXK(黑)2016-001。所有动物均饲养于20~22℃的动物房内,自由摄食、饮水。

高脂饲料(基础饲料63.6%、蔗糖20%、猪油15%、胆固醇1.2%、胆酸钠0.2%)和基础饲料分别由北京科奥协力饲料有限公司、辽宁长生生物技术有限公司提供。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

大鼠适应性喂养7天后,随机分为空白对照组(10只)和造模组(40只)。其中,空白对照组大鼠喂食基础饲料,造模组大鼠喂食高脂饲料以复制高脂血症模型;所有大鼠均自由摄食饮水。于分组喂养第6周开始检测大鼠血脂水平,以血脂水平显著变化作为模型复制成功的判定标准^[9]。将造模成功的大鼠随机分为模型对照组、阳性对照组(辛伐他汀0.004 g/kg,按照人临床常用剂量换算为大鼠给药剂量;以水配制相应药液)和补阳还五汤高、低剂量组(14.0、3.5 g/kg,以生药总量计;按照人临床常用剂量换算并以“1.2”项下药液作为大鼠给药高剂量,以水稀释4倍作为低剂量),每组10只。从第6周模型复制成功后即日起开始给药,空白对照组和模型对照组大鼠灌胃生理盐水(0.01 mL/g),各药物组灌胃相应药液(0.01 mL/g),每日1次,连续给药4周。给药期间,各组大鼠饮食与造模时相同。在实验过程中,空白对照组、模型对照组、阳性对照组和补阳还五汤高、低剂量组分别有1、2、3、2、3只大鼠死亡。

2.2 指标检测

所有大鼠禁食不禁水12 h,并于末次给药30 min后,腹腔注射5%水合氯醛溶液(6 mL/kg)进行麻醉,以仰卧位固定,使用抗凝管于其腹主动脉采血,检测如下指标:

2.2.1 血液流变学指标 取肝素钠抗凝血2 mL,使用全自动血液流变仪检测大鼠全血黏度(包括低、中、高切变率黏度);取枸橼酸钠抗凝血2 mL,以3 000 r/min离心10 min,分离血浆,使用全自动血液流变仪检测大鼠血浆黏度。

2.2.2 血小板黏附、释放及纤溶系统相关指标 取枸橼酸钠抗凝血2 mL,使用全自动血液细胞分析仪检测大鼠

前血小板数;随后,将血样放入装有10个玻璃珠的小锥形玻璃瓶里,于室温下以3 000 r/min离心15 min,取上清液,同法检测大鼠后血小板数;计算血小板黏附率[血小板黏附率=(前血小板数-后血小板数)/前血小板数×100%]。取枸橼酸钠抗凝血2 mL,采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)以酶标仪检测大鼠血小板黏附作用相关指标(vWF、FN)、血小板释放作用相关指标(β -TG、PF4)和纤溶系统相关指标(t-PA、PAI-1)含量,严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.2.3 血小板参数 取乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血2 mL,使用血细胞仪检测血小板计数(PLT)、血小板分布宽度(PDW)、平均血小板体积(MPV)、血小板压积(PCT)、大型血小板比率(PLCR)等血小板参数。

2.2.4 凝血指标 取枸橼酸钠抗凝血2 mL,以3 000 r/min离心10 min,采用全自动血凝仪检测大鼠APTT、PT、TT、FIB等凝血4项指标水平,严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠全血黏度和血浆黏度的影响

与空白对照组比较,模型对照组大鼠全血黏度(低、中、高切变率黏度)和血浆黏度均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型对照组比较,各药物组大鼠上述指标(除补阳还五汤高剂量组高切变率全血黏度外)均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表1。

表1 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠全血黏度和血浆黏度的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Buyang huanwu decoction on whole blood and plasma viscosity in hyperlipidemia model rats($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量, g/kg	全血黏度, mPa·s			血浆黏度, mPa·s
			低切变率(10 s ⁻¹)	中切变率(60 s ⁻¹)	高切变率(200 s ⁻¹)	
空白对照组	9		7.20 ± 1.13	4.58 ± 0.47	3.84 ± 0.33	1.20 ± 0.04
模型对照组	8		9.79 ± 2.21**	5.55 ± 0.97**	4.15 ± 0.41*	1.34 ± 0.07**
阳性对照组	7	0.004	6.72 ± 0.76 [#]	4.49 ± 0.43 [#]	3.73 ± 0.21 [#]	1.26 ± 0.07 [#]
补阳还五汤高剂量组	8	14.0	6.48 ± 0.57 [#]	4.70 ± 0.64 [#]	3.87 ± 0.37	1.23 ± 0.06 [#]
补阳还五汤低剂量组	7	3.5	6.68 ± 1.00 [#]	4.39 ± 0.38 [#]	3.71 ± 0.19 [#]	1.23 ± 0.09 [#]

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,[#] $P < 0.05$,[#] $P < 0.01$

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

3.2 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠血小板黏附作用的影响

与空白对照组比较,模型对照组大鼠血小板黏附率和vWF、FN含量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型对照组比较,各药物组大鼠上述指标均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表2。

表2 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠血小板黏附率和vWF、FN含量的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effects of Buyang huanwu decoction on adhesion rate, vWF and FN contents of hyperlipidemia model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	黏附率,%	vWF,U/L	FN, μ g/L
空白对照组	9		19.61 \pm 14.26	518.4 \pm 103.8	20.26 \pm 5.58
模型对照组	8		33.23 \pm 15.56*	673.7 \pm 121.6**	30.44 \pm 5.32**
阳性对照组	7	0.004	18.13 \pm 9.33 [#]	406.6 \pm 113.8 ^{##}	21.64 \pm 7.42 ^{###}
补阳还五汤高剂量组	8	14.0	23.42 \pm 9.26 [#]	557.4 \pm 99.3 [#]	22.45 \pm 8.98 [#]
补阳还五汤低剂量组	7	3.5	16.58 \pm 4.68 [#]	534.1 \pm 137.6 [#]	24.31 \pm 7.05 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

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

3.3 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠血小板释放作用的影响

与空白对照组比较,模型对照组大鼠 β -TG含量显著升高($P<0.05$);与模型组对照组比较,各药物组大鼠 β -TG含量均显著降低($P<0.05$);而各组间PF4含量比较差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表3。

表3 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠 β -TG、PF4含量的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Effects of Buyang huanwu decoction on β -TG and PF4 contents in hyperlipidemia model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	β -TG, μ g/L	PF4, μ g/L
空白对照组	9		15.62 \pm 7.40	6.44 \pm 2.20
模型对照组	8		27.32 \pm 11.46*	6.44 \pm 3.59
阳性对照组	7	0.004	14.29 \pm 5.48 [#]	6.47 \pm 3.94
补阳还五汤高剂量组	8	14.0	16.22 \pm 6.26 [#]	5.88 \pm 3.27
补阳还五汤低剂量组	7	3.5	14.30 \pm 9.78 [#]	4.46 \pm 0.63

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$

Note:vs. blank control group,* $P<0.05$;vs. model control group,[#] $P<0.05$

3.4 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠纤溶系统的影响

与空白对照组比较,模型对照组大鼠PAI-1含量显著升高,t-PA含量显著降低($P<0.05$);与模型对照组比较,各药物组大鼠PAI-1含量均显著降低,补阳还五汤各剂量组大鼠t-PA含量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表4。

表4 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠PAI-1、t-PA含量的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Effects of Buyang huanwu decoction on PAI-1 and t-PA contents in hyperlipidemia model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	PAI-1,ng/mL	t-PA,ng/mL
空白对照组	9		26.74 \pm 7.02	10.92 \pm 2.70
模型对照组	8		35.99 \pm 7.33*	8.51 \pm 1.44*
阳性对照组	7	0.004	25.12 \pm 5.03 [#]	7.81 \pm 1.88
补阳还五汤高剂量组	8	14.0	26.51 \pm 5.82 [#]	10.86 \pm 2.55 [#]
补阳还五汤低剂量组	7	3.5	21.31 \pm 5.85 ^{##}	10.19 \pm 1.50 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

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

3.5 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠血小板参数的影响

与空白对照组比较,模型对照组大鼠PLT、MPV、PCT、PLCR水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而PDW水平差异无统计学意义($P>0.05$);与模型对照组比较,各药物组PLT、MPV、PCT、PLCR(补阳还五汤低剂量组除外)水平和阳性对照组PDW水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表5。

表5 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠血小板参数的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 5 Effects of Buyang huanwu decoction on platelet parameters of hyperlipidemia model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	PLT, $\times 10^9 L^{-1}$	PDW, μ L	MPV, μ L	PCT,%	PLCR,%
空白对照组	9		653.8 \pm 37.1	7.05 \pm 0.14	6.45 \pm 0.12	40.41 \pm 1.87	3.53 \pm 0.41
模型对照组	8		751.1 \pm 62.8**	7.28 \pm 0.32	6.74 \pm 0.29*	42.45 \pm 2.64*	4.33 \pm 1.06*
阳性对照组	7	0.004	665.1 \pm 43.3 ^{##}	6.94 \pm 0.30 [#]	6.39 \pm 0.20 ^{##}	38.23 \pm 1.61 ^{##}	3.33 \pm 1.01 [#]
补阳还五汤高剂量组	8	14.0	671.2 \pm 52.7 [#]	7.03 \pm 0.29	6.36 \pm 0.21 [#]	38.47 \pm 1.73 ^{##}	3.13 \pm 0.87 [#]
补阳还五汤低剂量组	7	3.5	675.1 \pm 52.7 [#]	7.01 \pm 0.34	6.45 \pm 0.24 [#]	38.69 \pm 1.20 ^{##}	3.71 \pm 1.05

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

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

3.6 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠凝血指标的影响

与空白对照组比较,模型对照组大鼠FIB含量显著升高($P<0.05$);与模型对照组比较,各药物组大鼠FIB含量均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);而各组间APTT、TT、PT比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表6。

4 讨论

补阳还五汤系出自清朝知名医家王清任的《医林改错·下卷·瘫痿论》,由生黄芪、当归尾、赤芍、川芎、桃仁、红花、地龙等7味中药组成,此方将大量补气药和多味活

表6 补阳还五汤对高脂血症模型大鼠凝血指标的影响
($\bar{x} \pm s$)

Tab 6 Effects of Buyang huanwu decoction on coagulation indexes of hyperlipidemia model rats
($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	APTT,s	TT,s	PT,s	FIB,g/L
空白对照组	9		19.15±1.30	58.30±7.76	10.36±0.66	1.97±0.16
模型对照组	8		21.76±4.82	69.30±17.44	14.24±0.63	2.41±0.57*
阳性对照组	7	0.004	20.39±2.37	80.30±7.91	13.65±3.30	1.86±0.19 [#]
补阳还五汤高剂量组	8	14.0	27.52±11.91	40.50±20.50	18.12±11.04	1.98±0.21 [#]
补阳还五汤低剂量组	7	3.5	26.95±11.30	70.00±11.60	16.34±5.78	1.72±0.43 ^{##}

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

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

血药配伍使用,以发挥补气活血通络之功效^[11-13]。补阳还五汤及其加减方的现代药理研究表明,其在治疗脑缺血、肺纤维化、高脂血症以及神经损伤等症方面取得了一定的进展:有学者对补阳还五汤的有效成分进行研究,发现其可以明显改善血液循环状态、降低其黏稠度,还能减少血小板黏附、抑制血小板聚集、抗血栓形成,从而防止心脑血管疾病的发生^[14]。

临床研究发现,高脂血症患者,尤其是高胆固醇伴高三酰甘油者的血小板参数会发生改变:首先,表现出PLT升高的趋势;随着血脂水平进一步恶化,患者MPV和PDW水平将显著升高,其原因可能与高脂血症患者血小板功能受损加剧、血小板生命周期明显缩短有关^[15]。有研究表明,高脂血症与血小板结构功能关系密切,主要包括血小板的活化和血小板的聚集^[6,16]。金露等^[17]研究发现,70例高脂血症患者体内P-选择素水平显著升高,提示血小板活化。孙明等^[18]对93例高脂血症患者进行了相关研究,发现不同类型高脂血症患者均伴有血小板异常,MPV和PDW水平均显著升高。MPV和PDW升高水平与血小板功能及其超微结构密切相关,其中MPV水平升高可使致密颗粒的含量升高、活性物质释放增加、血小板聚集功能明显增强,可进一步诱发高凝状态,提示高脂血症患者血管脂质沉积可使血管内皮细胞受到损伤,导致黏附、聚集、释放等一系列活化反应的发生^[18]。

研究显示,全血黏度和血浆黏度是从宏观角度说明血液流变学的变化情况,是血液流变学的特征参数,也是衡量血液黏滞程度的核心指标之一^[19]。vWF是由巨核细胞和内皮细胞合成的具有黏附作用的大分子糖蛋白,是血小板黏附发生的主要影响因素:当血管受损时,血管内皮下胶原暴露出来,vWF与内皮下组织结合,继而与血小板膜上的糖蛋白受体和内皮下胶原结合引起

广泛且不可逆的血小板聚集^[20]。FN是重要的高分子糖蛋白,可由体内多种细胞生成,与血小板的黏附聚集密切相关^[20]。在血小板释放反应中, β -TG和PF4是血小板 α 颗粒中特有的蛋白质,其含量的变化可作为血小板释放反应的特异性检测指标^[21]。t-PA在机体内广泛存在,主要来源于血管内皮细胞,可以有效激活纤溶酶原,同时促进纤维蛋白降解^[22]。PAI-1则具有抑制纤溶酶原的作用,控制t-PA的活性可有助于使二者保持动态平衡;同时,PAI-1还可有效清除纤维蛋白凝块,有效预防血栓^[22]。此外,血小板相关参数PLT可动态反映血小板生成和破坏的平衡,其数值越大表明血小板越容易凝固;MPV和PDW均可反映血小板的功能,其值越大表明血小板越容易发生黏附与聚集;PCT等于MPV和PLT的乘积,可反映血小板在血中的比例,其值越大说明血液中的血小板越多;PLCR反映的是大血小板的活跃程度,其值越大表明血小板的黏附功能、聚集功能越强^[23]。有研究指出,FIB反映的是纤维蛋白原的溶解活性,在凝血酶的作用下FIB可直接破坏内皮细胞,使后者发生迁移和变性,促进平滑肌细胞增生肥大,从而增加血液黏稠度,促进血细胞聚集,使血栓的发生风险增加^[24]。

本研究结果显示,高脂血症模型大鼠全血黏度和血浆黏度均显著高于空白对照组,存在血液流变学异常。给予补阳还五汤干预后,各药物组大鼠在各切变率下的全血黏度(除补阳还五汤高剂量组高切变率全血黏度外)和血浆黏度均显著降低,说明补阳还五汤可有效改善高脂血症模型大鼠血液流变学参数的异常状态。同时,模型组大鼠FN含量显著高于空白对照组;给予补阳还五汤干预后,各剂量组FN含量均显著降低,提示模型大鼠血液黏度的升高可能与FN含量异常升高有关。在血小板释放活性方面, β -TG和PF4是血小板 α 颗粒中特有的蛋白质,当血小板发生活化时,血浆内 α 颗粒中 β -TG和PF4含量升高,提示血栓栓塞性疾病或者血栓前状态^[21]。此外,与正常对照组比较,模型组黏附指标vWF、FN含量出现异常,纤溶性指标t-PA、PAI-1平衡状态被破坏,血小板相关参数MPV、PLCR、PCT、PLT水平均显著升高,说明高脂血症模型大鼠巨噬细胞增生和代谢越活跃,血小板的黏附力、聚集力增强。给予补阳还五汤干预后,各药物组 β -TG含量均显著降低,提示大鼠血小板 β -TG释放功能受到抑制;同时,黏附指标vWF和FN含量有所恢复,血小板黏附率有所降低,提示大鼠血管内皮损伤有所改善,说明补阳还五汤可以抑制血小板黏附。此外,各药物组大鼠PAI-1含量均显著下降、t-PA含量均显著升高,说明补阳还五汤能够增强高脂血症模型大鼠纤溶活性,改善血小板聚集的异常状态,这些因素

可能是补阳还五汤抑制血小板黏附聚集的途径。值得一提的是,笔者在记录高切全血黏度和黏附、血小板纤溶系统和释放作用等指标时发现,补阳还五汤低剂量组的改善效果优于高剂量组,预估其原因可能与补阳还五汤高剂量组糖类含量更高有关,但具体原因有待后续研究予以确认。

综上所述,补阳还五汤可能是通过降低血液黏度和FN含量、改善血小板黏附性、增强纤溶活性、改善血小板聚集状态、抑制凝血及血小板释放亢进等途径,来发挥对高脂血症模型大鼠病理状态的改善作用。

参考文献

[1] 孙媛,纪笑艳.高脂血症与血瘀证关系辨析[J].辽宁中医杂志,2012,39(6):1048-1049.

[2] 苏蓉,于德水.高脂血症的危害及防治[J].中国当代医药,2009,16(8):128-129.

[3] 刘晶晶,贾连群,吕美君,等.高脂血症中西医结合研究进展[J].中华中医药刊,2017,35(4):815-818.

[4] 吴东华.补阳还五汤对急性脑梗死患者的疗效及血液流变学指标的影响[J].中国医药导报,2012,9(22):114-115,118.

[5] IWAKI T, SANDOVAL-COOPER M J, BRECHMANN M, et al. A fibrinogen deficiency accelerates the initiation of LDL-C cholesterol-driven atherosclerosis via thrombin generation and platelet activation in genetically predisposed mice[J]. Blood, 2006, 107(10):3883-3891.

[6] GÖÇMEN A Y, BURGUCU D, GÜMÜŞLÜ S. Effect of resveratrol on platelet activation in hypercholesterolemic rats: CD 40 -CD 40 L system as a potential target[J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2011, 36(3):323-330.

[7] 谢艳群.他汀类药物治疗脑出血合并高脂血症的效果观察[J].中国实用神经疾病杂志,2017,20(7):109-111.

[8] 张玉昆,袁茵,等.补阳还五汤对高脂血症模型大鼠脂质代谢及肝组织的影响[J].中国药房,2020,31(10):1203-1207.

[9] 牛雯颖,王莉丽,冯月男,等.补阳还五汤、少腹逐瘀汤和丹参饮对高脂血症模型大鼠红细胞膜组分影响的研究[J].上海中医药杂志,2018,52(8):78-82.

[10] 马春.补阳还五汤加减对高脂血症的临床干预研究[J].中国医药指南,2013,11(2):262-263.

[11] 阮金兰,赵钟祥,曾庆忠,等.赤芍化学成分和药理作用的研究进展[J].中国药理学通报,2003,19(9):965-970.

[12] 王征,耿平,左丽,等.川芎嗪对肿瘤化疗患者血小板功能

的影响[J].吉林中医药,2014,34(2):166-168.

[13] 贾佼佼,苗明三.红花的现代药理与新药[J].中医学报,2013,28(11):1682-1685.

[14] 徐洁,李阳,郭伟,等.补阳还五汤对糖尿病高脂血症模型大鼠血糖、血脂以及丙二醛水平的影响[J].中国中医药科技,2012,19(2):131-132.

[15] 孙明,王国征,徐菲,等.高脂血症患者凝血功能、血小板参数和血液流变学检测的临床意义[J/OL].中华临床医师杂志(电子版),2013,7(21):9765-9767[2020-10-10]. <http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=48585868>. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.21.089.

[16] 王炎炎,朱会超,许文平,等.注射用血栓通对高脂血症家兔血小板功能的影响[J].中草药,2015,46(3):396-400.

[17] 金露,何立人,符德玉,等.高脂血症血瘀证患者血浆可溶性CD40配体水平及其临床意义[J].中国中西医结合杂志,2011,31(3):315-318.

[18] SIKORA J, KOSTKA B, MARCZYK I, et al. Effect of statins on platelet function in patients with hyperlipidemia[J]. Arch Med Sci, 2013, 9(4):622-628.

[19] 郝秀兰,李凤兰,徐金凤,等.刺络放血治疗高黏滞血症对血液流变性的影响[J].针灸临床杂志,2000,16(2):49-50.

[20] CALIXTO J B, CAMPOS M M, OTUKI M F, et al. Anti-inflammatory compounds of plant origin: part II: modulation of proinflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules[J]. Planta Med, 2004, 70(2):93-103.

[21] LI Z, DELANEY M K, O'BRIEN K A, et al. Signaling during platelet adhesion and activation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(12):2341-2349.

[22] 郑丽娟,朱原,徐榆林,等.补阳还五汤对脑缺血再灌注大鼠血小板PDK1/Akt Thr308通路的影响[J].中药药理与临床,2016,32(4):1-4.

[23] STEPHENS G, O'LUANAIGH N, REILLY D, et al. A sequence within the cytoplasmic tail of Gp II b independently activates platelet aggregation and thromboxane synthesis[J]. J Biol Chem, 1998, 273(32):20317-20322.

[24] LI C Q, VINDIGNI A, SADLER J E, et al. Platelet glycoprotein I b alpha binds to thrombin anion-binding exosite II inducing allosteric changes in the activity of thrombin[J]. J Biol Chem, 2001, 276(9):6161-6168.

(收稿日期:2020-10-14 修回日期:2021-01-15)

(编辑:张元媛)