

养阴生津方对热盛津伤瘀滞证模型家兔 血液流变性和凝血因子的影响

马 红, 杨 进, 南淑玲, 龚婕宁, 刘学风
(南京中医药大学基础医学院, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 研究养阴生津方对热盛津伤瘀滞证模型家兔血液流变性和凝血因子的影响。方法: 采用药物造模方法, 复制温病热盛津伤瘀滞证家兔模型, 观察养阴生津方对模型家兔血液黏度、血沉、红细胞压积、血小板聚集率、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、凝血酶时间 (thrombin time, TT)、部分凝血活酶时间 (kaolin partial thromboplastin time, KPTT)、纤维蛋白原 (fibrinogen, Fg)、血栓素 B₂ (thromboxane B₂, TXB₂) 和 6-酮-前列腺素 F₁ (6-keto-prostaglandin F₁, 6-keto-PGF₁) 的影响。结果: 养阴生津方能降低血液黏度和红细胞压积, 抑制血小板聚集, 降低 Fg 含量, 对抗 PT、TT、KPTT 缩短, 协调 TXB₂、6-keto-PGF₁ 间平衡。结论: 养阴生津方能改善血液流变性, 调节凝血功能, 抑制血栓形成, 是温病“滋而能通”治法的药理学基础之一。

[关键词] 养阴生津方; 血液流变学; 凝血因子; 温病学; 中医治法

[中图分类号] R242 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2005)01-0039-04

Effects of Yangyin Shengjin Decoction on hemorheological parameters and coagulation factors in model rabbits with syndrome of excessive heat consuming body fluid and blood stasis

MA Hong, YANG Jin, NAN Shu-Ling, GONG Jie-Ning, LIU Xue-Feng

(College of Basic Medical Sciences, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu Province 210029, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Yangyin Shengjin Decoction (YYSJD) on hemorheological parameters and coagulation factors in model rabbits with syndrome of excessive heat consuming body fluid and blood stasis. Methods: Rabbit model with syndrome of excessive heat consuming body fluid and blood stasis was produced. The effects of YYSJD on the blood viscosity, erythrocyte sedimentation rate (ESR), hematocrit, platelet aggregation rate, prothrombin time (PT), thrombin time (TT), kaolin partial thromboplastin time (KPTT), fibrinogen (Fg), thromboxane B₂ (TXB₂), and 6-keto-prostaglandin F₁ (6-keto-PGF₁) in the model rabbits were observed. Results: YYSJD decreased the whole blood viscosity and hematocrit, inhibited the platelet aggregation, prolonged PT, TT and KPTT, and reduced the content of Fg. It also regulated the balance between TXB₂ and 6-keto-PGF₁. Conclusion: YYSJD can promote the blood circulation, adjust the blood agglutinating function, and decrease the formation of thrombus. This is one of the pharmacological mechanisms of the therapeutic method of “nourishing yin to promote blood circulation” in the theory of traditional Chinese medicine for seasonal febrile diseases.

KEY WORDS Yangyin Shengjin Decoction; hemorheology; coagulation factors; science for epidemic febrile diseases; therapy in TCM

J Chin Integr Med, 2005, 3(1): 39-42

[基金项目] 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK99139)

[作者简介] 马 红 (1957-), 女, 博士, 副教授. E-mail: mhhome603@sina.com

Correspondence to: Prof. YANG Jin. E-mail: jyang@njutcm.edu.cn

外感温病热壅血滞,因热炽而致瘀,或津枯血凝,因水涸而致瘀,使瘀热证成为温病病程中常见且重要的证型。因而治疗中,在运用清热凉血、活血散瘀方药的同时,养阴生津亦是不可忽视的一个方面。本研究观察了养阴生津方对瘀热证模型家兔血液流变性和凝血因子的影响。

1 材料与方

1.1 实验材料

1.1.1 药物及试剂 养阴生津方(Yangyin Shengjin Decoction, YYSJD),由麦冬、芦根、玄参、生地黄组成,以 2 2 1 1 的比例按常规制成含生药 1 g/ml 的水煎液,4 ℃ 冰箱保存备用。精制大肠杆菌内毒素(LPS, *Escherichia coli* serotype O₁₂₇ B₈),美国 Sigma 公司实验用产品(批号:28H4042),用前以生理盐水在无菌条件下配制成 0.5 μg/ml 的溶液。呋塞米注射液,20 mg/支,南通制药厂产品(批号:010628)。地塞米松磷酸钠注射液,5 mg/支,江苏省江阴制药厂产品(批号:010518)。5'-腺苷二磷酸二钠盐(adenosine-5'-diphosphate disodium salt, ADP),上海伯奥生物科技公司产品(批号:990527)。柠檬酸三钠,江苏宜兴第二化学试剂厂产品(批号:991005),用时配成 3.8% 的溶液。消炎痛-EDTA、血栓素 B₂ (thromboxane B₂, TXB₂)和 6-酮-前列腺素 F₁ (6-keto-prostaglandin F₁, 6-keto-PGF₁)放免药盒,解放军总医院科技开发中心放免研究所产品。纤维蛋白原(fibrinogen, Fg)试剂盒,上海复旦张江生物医药有限公司产品。凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)和部分凝血活酶时间(kaolin partial thromboplastin time, KPTT)测定试剂盒,复旦大学附属华山医院技协生物试剂公司产品。

1.1.2 动物 新西兰兔,雌雄各半,体质量 2.0 ~ 2.8 kg,由南京中医药大学实验动物中心提供。

1.1.3 仪器 锥板式血黏度测定仪、血小板聚集凝

血因子分析仪,北京世帝科学仪器公司产品。半自动生化分析仪,意大利英诺威生物技术有限公司产品。低温冷冻高速离心机,德国 Hermle 公司产品。低速自动平衡离心机,北京医用离心机厂产品。

1.2 实验方法

1.2.1 造模方法 新西兰兔 18 只,随机分为 3 组,即模型组、养阴生津方组和正常对照组,每组 6 只。模型组和养阴生津方组以地塞米松 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 后肢肌肉注射,正常对照组注射等量生理盐水,连续 7 d。于实验第 8 天,前两组家兔分别自耳缘静脉注射呋塞米注射液,剂量 25 mg/kg,1 h 后同法等剂量重复注射 1 次;2 h 后按 0.3 μg/kg 将大肠杆菌内毒素自耳缘静脉缓缓注入。正常对照组注射等量生理盐水。3 h 后全部实验动物由颈动脉采血,分离血浆,进行指标测定。测试 TXB₂ 及 6-keto-PGF₁ 所用血浆以消炎痛-EDTA 抗凝,低温离心机 4 3 500 r/min 离心 15 min;富血小板血浆以 3.8% 柠檬酸三钠溶液抗凝,800 r/min 离心 10 min;余用血浆以 3.8% 柠檬酸三钠溶液抗凝,3 000 r/min 离心 10 min。

1.2.2 给药方法 养阴生津方组于攻毒前 1 d 下午灌胃给药 1 次,给药量 3.36 g/kg。在攻毒当日攻毒前 3 h 和攻毒即刻再分别灌胃 1 次,给药量同前。正常对照组及模型组分别给予等量温开水。

1.3 观察指标及方法 血液黏度(全血黏度和血浆黏度)采用锥板式黏度仪测定;血沉、红细胞压积用温氏管法测定^[1];血小板聚集率采用血小板聚集凝血因子分析仪测定;PT、TT、KPTT、Fg、TXB₂ 和 6-keto-PGF₁ 分别按所用试剂盒方法测定。

1.4 统计学方法 采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 对全血黏度和血浆黏度的影响 养阴生津方在低切变率、中切变率及高切变率处均能显著降低全血黏度,同时还能显著降低血浆黏度。见表 1。

表 1 各组全血黏度和血浆黏度比较

Tab 1 Comparison of whole blood viscosity and plasma viscosity among 3 groups

Group	n	Whole blood viscosity				Plasma viscosity
		200' s	60' s	5' s	1' s	
Normal control group	6	2.96 ± 0.36	3.57 ± 0.37	7.92 ± 0.99	18.94 ± 3.96	1.43 ± 0.07
Model group	6	3.40 ± 0.24*	4.11 ± 0.21*	9.66 ± 1.15*	24.91 ± 4.77*	1.62 ± 0.09**
YYSJD-treated group	6	2.87 ± 0.13	3.42 ± 0.18	7.06 ± 0.33	16.33 ± 0.84	1.51 ± 0.06

($\bar{x} \pm s$, mPa·s)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs normal control group; $P < 0.05$, $P < 0.01$ vs model group

2.2 对血沉和红细胞压积的影响 养阴生津方能显著降低模型家兔红细胞压积,但对其血沉无明显影响。见表 2

2.3 对 ADP 诱导血小板聚集的影响 养阴生津方能显著降低血小板聚集率,并能显著延长其聚集时间。见表 3。

2.4 对血浆 PT、TT、KPTT、Fg 的影响 养阴生津方能显著延长模型家兔 PT、TT、KPTT 时间,显著降低其血浆 Fg 含量。见表 4。

2.5 对血浆 TXB₂、6-keto-PGF₁ 的影响 养阴生

津方能显著降低血浆 TXB₂ 含量,显著升高 6-keto-PGF₁ 含量,并使两者比值下降。见表 5。

表 2 各组血沉和红细胞压积比较

Tab 2 Comparison of ESR and hematocrit among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	ESR (mm/h)	Hematocrit (%)
Normal control group	6	0.48 ± 0.43	33.58 ± 2.73
Model group	6	10.17 ± 14.83	42.67 ± 3.56**
YYSD-treated group	6	2.58 ± 1.74	31.50 ± 1.05

** P < 0.01, vs normal control group; P < 0.01, vs model group

表 3 各组 ADP 诱导血小板聚集的比较

Tab 3 Comparison of ADP-induced platelet aggregation rate among 3 groups

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Platelet aggregation rate (%)			Platelet aggregation time (s)
		1 min	Maximum	5 min	
Normal control group	6	10.48 ± 5.66	15.75 ± 9.02	6.23 ± 3.56	180.00 ± 85.02
Model group	6	25.72 ± 10.75*	32.13 ± 14.66*	15.50 ± 7.72*	85.00 ± 17.96*
YYSD-treated group	6	7.25 ± 4.12	9.33 ± 4.81	3.23 ± 1.02	144.33 ± 59.36

* P < 0.05, vs normal control group; P < 0.05, P < 0.01, vs model group

表 4 各组血浆 PT、TT、KPTT、Fg 比较

Tab 4 Comparison of PT, TT, KPTT and Fg in plasma among 3 groups

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	PT (s)	TT (s)	KPTT (s)	Fg (g/L)
Normal control group	6	21.83 ± 0.98	102.17 ± 5.78	99.67 ± 9.20	3.27 ± 0.55
Model group	6	18.67 ± 1.03**	89.83 ± 9.87*	81.33 ± 10.29**	5.20 ± 0.65**
YYSD-treated group	6	20.50 ± 1.38	105.00 ± 4.94	103.17 ± 5.74	3.27 ± 0.49

* P < 0.05, ** P < 0.01, vs normal control group; P < 0.05, P < 0.01, vs model group

表 5 各组血浆 TXB₂、6-keto-PGF₁ 比较

Tab 5 Comparison of TXB₂ and 6-keto-PGF₁ among 3 groups

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	TXB ₂ (ng/L)	6-keto-PGF ₁ (ng/L)	TXB ₂ /6-keto-PGF ₁
Normal control group	6	168.75 ± 52.97	939.41 ± 189.48	0.18
Model group	6	254.65 ± 62.39*	382.12 ± 171.50**	0.64
YYSD-treated group	6	141.89 ± 26.19	831.62 ± 285.30	0.17

* P < 0.05, ** P < 0.01, vs normal control group; P < 0.01, vs model group

3 讨论

瘀热证是温病病程中的常见证型,它是多因素、多环节病理共同作用的结果。近年来临床和实验研究发现,阴津损伤与温病瘀热证形成密切相关,热盛津伤、血行涩滞是温病瘀热证的重要病理基础之一,在温病治疗中合理使用养阴生津方药,有助于提高临床疗效。为探讨养阴生津方药治疗瘀热证的作用机制,我们在南京中医药大学温病教研室以往研究的基础上^[2],采用大肠杆菌内毒素、咪塞米和地塞米

松复合造模,制作家兔热盛津伤血瘀证动物模型,并观察了养阴生津方对该模型家兔血液流变性和凝血因子的影响。

建立疾病动物模型,应使该模型尽可能与人类疾病的病理改变相类似。温病瘀热证形成的重要病理之一是邪热亢盛致阴津亏耗而血行瘀滞,故模型动物必须同时具备热毒、阴伤、血瘀的病理特点。由于温病学中的“温邪”实际包含了多种致病微生物,而大肠杆菌内毒素又是效应很强的致热原,且有容易控制、使用安全等优点,所以本实验选用大肠杆菌

内毒素作为致病因素进行造模。考虑到使用内毒素后受试动物有血液凝固性下降和血黏度降低的情况,以及模型动物必须具有阴伤存在的特点,我们采用攻毒前先大剂量肌肉注射皮质激素地塞米松 1 周的方法,使动物处于阴虚和高凝、高黏状态。并且为使模型动物的阴津损伤更为明显,在攻毒前还给予实验动物大剂量呋塞米注射 2 次,使本模型尽可能地体现热盛伤津血瘀证候的特点。造模后模型家兔各项指标检测显示:全血黏度和血浆黏度上升,红细胞压积增高,血小板聚集率增高和聚集时间缩短,Fg 含量升高,TXB₂ 上升,6-keto-PGF₁ 下降,二者比值升高,PT、TT、KPTT 缩短,血液呈高黏、高凝状态。

血液黏度作为血液流动时所表现出的内摩擦,是决定血液阻力的因素之一,而血液黏度本身是由血浆和血细胞的流变特性决定的。影响血液黏度的主要因素有红细胞压积、红细胞变形性、红细胞聚集、血浆黏度以及血小板聚集等。红细胞压积是影响血液黏度的主要因素,黏度随红细胞压积呈指数增长。红细胞在流场中发生变形和定向是影响高切变率时血液黏度的重要因素之一,而低切变率时血液黏度主要受红细胞聚集的影响。血浆黏度对全血黏度影响很大,血浆中链状蛋白质分子的链越长、分子量越大对血浆黏度的影响越大,因此纤维蛋白原对血浆黏度的影响最大^[3]。血小板具有黏附、聚集和释放等主要功能,在止血、凝血和血栓形成方面起着重要的作用,许多血栓性疾病均具有血小板聚集、释放功能亢进。而 ADP 诱导血小板聚集的一个重要条件是必需有纤维蛋白原的存在。血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TXA₂) 主要是由血小板微粒体合成并释放的一种具有强烈促进血管收缩和血小板聚集的生物活性物质。其生物半衰期约 30 min,而迅速代谢为无活性的 TXB₂。血管壁内皮细胞合成和释放的另一种抗血小板聚集和舒张的生物活性物质是前列环素(prostaglandin I₂, PGI₂),生物半衰期约为 3 min,迅速代谢生成 6-keto-PGF₁。血浆或

组织中 TXA₂ 和 PGI₂ 平衡失调是造成血小板聚集、血管痉挛收缩或血栓形成的原因之一。由于 TXA₂ 和 PGI₂ 的不稳定,目前难以直接测定,故国内外均以测定 TXB₂ 和 6-keto-PGF₁ 作为判断其浓度的指标。凝血活酶能使血浆中的凝血酶原变成凝血酶,从而促进纤维蛋白原变为纤维蛋白而使血浆凝固,PT、TT 是检测外源性凝血系统较敏感的筛选试验;KPTT 测定血浆中凝血第一阶段内源性凝血因子(除第 和 因子外)是否缺乏的灵敏过筛试验^[4]。在对血瘀证模型家兔应用养阴生津方治疗后,家兔全血黏度和血浆黏度均有明显降低,其中全血黏度在 200 s、60 s 处接近正常组,与正常组比较无显著性差异,红细胞压积显著下降,Fg 含量显著减低,血浆 TXB₂ 下降,6-keto-PGF₁ 上升,两者比值降低,血浆 PT、TT、KPTT 显著延长。因受设备条件的限制,本次实验未能进行红细胞变形和红细胞聚集实验,但从理论上讲,由于已观察到养阴生津方对高切变率时全血黏度改善作用最为明显,故推测该方可能对红细胞变形的影响较大。实验结果表明,养阴生津方滋阴生津、增水行血之效,与其能降低血液黏度和红细胞压积,抑制血小板聚集,降低 Fg 含量,对抗 PT、TT、KPTT 缩短,协调 TXB₂、6-keto-PGF₁ 间平衡,以改善血液流变性,调节凝血功能,抑制血栓形成有关。养阴生津法“滋而能通”具有科学的药理基础。

[参考文献]

- 1 翁维良,廖福龙,吴云鹏,等.血液流变学研究方法及其应用[M].北京:科学出版社,1989.64.
- 2 王秋.家兔“温病阴虚热盛证”动物模型的实验研究[J].辽宁中医杂志,1995,22(9):427-429.
- 3 陈文杰.血液流变学[M].天津:天津科学技术出版社,1987.43.
- 4 李家增,王鸿利,韩忠朝.血液实验学[M].上海:上海科学技术出版社,1997.343.

[收稿日期] 2004-06-12 [本文编辑] 白玉金