

· 实验研究 ·

逐瘀法对血瘀证血清内皮素影响的实验研究

何海菊 付娟 付津 刘洪涛 许妙如 柴霞

指导: 张洪义

(天津中医学院 300193)

摘要 目的 血瘀证涉及临床各科多种疾病, 活血化瘀法、方、药也为临床治疗多种疾病提供了有效措施。方法通过血瘀证的动物实验, 对我们使用的经验方治疗血瘀证进行观察、研究, 探讨血瘀证及其治疗过程对内皮素变化的影响, 从而进一步明确血瘀证及活血化瘀法作用的机理。实验结果表明 1 典型的血瘀证伴有异常的内皮素升高。2 逐瘀生新方能使血瘀证家兔血清内皮素含量下降。结论活血化瘀法能调整动物机体状态, 降低血清内皮素(ET)含量, 以保护血管内皮细胞及其功能, 从而改善血瘀证。

关键词 血瘀证 逐瘀法 内皮素 逐瘀生新方

中图分类号: R 255.7 **文献标识码**: A **文章编号**: 1005-7145(2000)01-0042-04

血瘀是血液运行异常的主要病理改变之一, 它与多种疾病的发生、发展都有重要关系。如能对血瘀证的发生、发展机理有所认识, 则将为很多疾病的病理生理学研究提供线索; 通过活血化瘀法机理的研究也可为研究中医组方原理提供依据。因此血瘀证和活血化瘀法机理的进一步研究已成为当今治疗临床各科疾病的重要课题。

内皮细胞的完整性对维持循环系统的正常功能有重要意义, 当内皮细胞损伤时, 血管壁胶原裸露, 可激活凝血系统, 诱发血小板聚集、释放反应。手术造成的血管损伤, 激活血小板和血液凝固系统, 形成血栓, 并释放凝血酶等活性物质。凝血酶是内皮素(ET)基本表达和释放的激动剂。

本实验以内皮素(ET)(内皮素为 21 氨基酸的生物活性多肽物质)为血管内皮细胞功能受损指标, 观察血清内皮素与血瘀证的关系, 同时观察以逐瘀生新方为代表的活血化瘀法对血瘀证的治疗作用在内皮素方面的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

动物: 日本纯种大耳白家兔。体重 2.0~2.5Kg; 雄性。

药物:

逐瘀生新方: 五灵脂、当归、川芎、桃仁、丹皮、赤芍、延胡索、红花、川牛膝、莪术。上 10 味各等分, 加工制成 1:1 溶液 每毫升含生药 1 克, 加盖消毒,

冷藏备用。

3% 戊巴比妥钠

1.2 方法

1) **动物分组**: 将家兔随机分成 2 组, 每组 11 只, 分别为血瘀证模型组和逐瘀法中药治疗组。

2) **造模**: “肠粘连型血瘀型法”制模[1]

3) **药物投给**:

逐瘀法中药治疗组: 应用 100% 浓度之逐瘀生新方汤剂从造模后第一日起按相应时间给家兔灌喂, 10ml/kg 体重, 每日一次。

血瘀证模型组: 从造模后第一日起按相应时间和剂量给予生理盐水灌喂。全部动物共连续给药 10 天。

4) **检测方法**:

血清内皮素(ET-1)采用放射免疫分析法(RIA)[2]测定。

5) **观测指标及方法**:

肠粘连面积、粘连发生率、粘连程度、平均粘连处;

于造模后第十天剖杀家兔, 并计算血瘀证模型组与逐瘀法中药治疗组(以下简称中药治疗组)的肠粘连面积, 粘连发生率, 粘连程度、平均粘连处[3]。

血清内皮素

分别于造模前、造模后第一天、第五天、第十天经家兔耳缘静脉取血, 分离出血清, 测定 ET-1 含量。

2 结果分析

表 1

实验家兔肠粘连发生率比较

组别	动物数量	粘连发生数量	粘连发生率
血瘀证模型组	9	9	100%
中药治疗组	11	7	64% *

* P < 0.05

从表 1 可见, 中药治疗组肠粘连发生率明显低于血瘀证模型组。

实验对肠粘连致密程度的影响: 根据《中药药理学实验方法学》记载粘连程度分级标准, 对实验家兔肠粘连程度进行分级评定: “+”单处粘连, 质脆, 无法

取标本: “++”单处粘连, 牢固, 易取标本: “+++”二处粘连, 牢固易取标本: “++++”三处以上粘连, 牢固, 易取标本。

表 2

实验家兔肠粘连程度分级评定

组别	动物数量	粘连程度				
		0	+	++	+++	++++
血瘀模型组	9	0	0	1	4	4
中药治疗组	11	0	0	5	2	0

实验结果:
第一、上述手术方法所致的腹膜损伤, 足以引起实验动物腹腔内粘连的发生。血瘀证模型组动物大部分发生粘连。粘连多发生于阑尾切口或切口对侧与临近小肠之间, 有时上述部位与临近系膜粘连; 个别发生阑尾切口与网尾膜切口与网膜之间粘连。无

论血瘀证模型组和中药治疗组, 腹部切口均愈合良好。
第二、术后 24 小时开始给予 100% 浓度的逐瘀生新方汤剂, 能明显减低粘连发生率, 粘连程度也明显降低。

表 3 实验家兔平均肠粘连处数及粘连面积的比较 (X ± S)

平均粘连面积根据辛普生计算公式:

面积 = (b - a) / b { f(a) + 4f[(a + b) / 2] + f(b) }

组 别	动物数量	平均粘连处数	平均粘连面积 (mm ²)
血瘀证模型组	9	2.33 ± 0.71	614.31 ± 241.43
中药治疗组	11	0.82 ± 0.75 *	232.63 ± 133.31 *

* (P < 0.01)

经检验, 中药治疗组的平均粘连处数及平均粘连面积均明显低于血瘀证模型组。

表 4 造模前血瘀证模型组与中药治疗组血清 ET-1 指标比较 (X ± S)

血瘀证模型组		中药治疗组
ET-1 (pg/ml)	15.19 ± 0.82	14.9 ± 1.05

经检验, 造模前血瘀证模型组与中药治疗组的指标总体方差相等。

表 5 造模前后家兔血清 ET-1 指标变化比较 ($\bar{X} \pm S$)

造模前		造模后
ET-1 (pg/ml)	15.03 ± 0.94	16.55 ± 1.07 *

* 与造模前比较 P < 0.01

造模后血清 ET-1 明显升高, 且差别显著。

表 6 造模后血瘀证模型组与中药治疗组 ET-1 的比较 ($\bar{X} \pm S$) (单位: ET-1 pg/ml)

第五天		第十天	
模型组	中药组	模型组	中药组
ET-1 15.23 ± 0.78	14.23 ± 0.85 *	14.52 ± 0.83	13.51 ± 0.87 *

* P < 0.05 ** P < 0.01

表 6 示造模后第五天, 第十天 ET-1 中药治疗组较血瘀证模型组降低。

3 讨论

3.1 血瘀证与内皮素

近年来, 随着活血化瘀药物应用研究的不断深入, 已从血液动力学, 微循环, 病理生理、生物化学及细胞、分子生物学等方面, 对血瘀证的成因作了多方面的研究。有观点认为血瘀证存在高凝状态。高凝状态是指疾病在发展过程中, 影响了机体的凝血机制, 使凝血因素如血小板激活, 各种凝血因子及纤维蛋白元增加, 而抗凝因素如抗凝血酶Ⅲ降低, 纤溶活力减弱等, 造成凝血功能高于抗凝功能, 导致血液处于一种高凝状态, 粘稠度增加, 运动受阻, 继而形成血栓, 可栓塞于组织和脏器, 成为致病因素, 可继发于多种疾病。可见高凝状态从微观上更具体的解释了瘀血的形成机理, 实际上瘀血就是血液中凝血与抗凝机制的失衡所致。以上观点, 从血管壁的因素考虑较少。本实验从血管受损, 血管内皮细胞的分泌功能变化等因素, 来考察血瘀证的机理, 通过内皮素的测定, 来反映血瘀证是否有血管内皮细胞功能的异常。

血管内皮细胞具有多种生理功能, 参与机体的凝血、免疫、物质转运和生物活性物质释放等主要的生命活动。血管内皮细胞损伤已成为许多疾病发生、发展的基本病理过程, 特别表现在血管性疾病中。内皮细胞的存在为维持正常血液流动状态所必需, 它的损伤是血管病变的始动因素, [4]而作为反映血管内皮细胞损伤特异标志之一的 ET 则是迄今发现的作用最强、维持最久的缩血管物质, 其收缩血管作用效应至少是血管紧张素 I 的 10 倍。

内皮素分布于全身各脏器中, 影响心血管的活动和其他脏器的功能, 在心、脑、肾、肺等疾病过程中可能都有重要意义。一般认为血浆中的内皮素来自

血管内皮细胞。在正常生理状态下, 血浆内皮素浓度极低, 但在某些刺激因子作用下, 如缺血、缺氧可以刺激前内皮素原的转录, 促进内皮素的释放。内皮素可直接收缩血管, 使外周阻力增加及通过神经内分泌作用, 刺激儿茶酚胺、醛固酮、心钠素和 P 物质的释放, 使血压升高; 其可使肾小球基底膜, 特别是系膜细胞收缩, 使系膜细胞和血管平滑肌增殖, 从而可导致肾小球的慢性损伤。

现代医学已表明, 血瘀状态常为机体整体水平上宏观结构和功能变化的某种局部的、具体的形态学改变, 认为瘀血的形成与血液成份、血流状态、血管壁等病理变化密切相关。

本实验主要探讨血管内皮细胞损伤与血瘀证的关系。实验结果显示, 血瘀证模型组血清内皮素含量明显高于非血瘀证模型组, 说明血瘀证确实存在血清内皮素的升高; 内皮细胞功能异常, 可能参与了血瘀证的形成, 也是血瘀证产生的病理、生理基础之一。

血瘀证对内皮素增加的可能机制主要有: 血栓的形成: 造模后形成的血管损伤, 激活血小板和血液凝固系统, 形成血栓, 并释放凝血酶等活性物质。凝血酶是 ET 基因表达和释放的激动剂, 可以剂量依赖和时间依赖地刺激 ET 的合成与分泌。局部组织缺血、缺氧, 氧自由基等大量释放, 可能刺激了 ET 的基因表达和 ET 的释放, 是 ET 的正相调节机制。

总之, 造成中医血瘀证的本质可能是多方面的, 有血流因素、血液成份的改变, 但不能忽视血管壁的因素, 即血管内皮细胞的损伤。血清内皮素的测定, 可作为血管内皮细胞损伤的指标之一。而且血流因

素、血液成份改变与血管内皮细胞损伤在造成血瘀证时,三者有密切关系,如血管内皮细胞损伤引起血小板凝集而释放的血浆凝血活素使血液凝固成份增加,血栓易形成,而导致血流缓慢,因此,三者皆是致瘀因素[5]。

3.2 逐瘀法的保护血管内皮细胞的作用

3.2.1 逐瘀生新方为导师多年教学、科研及临床实践的基础上依据清代王清任的“通窍活血汤”、“膈下逐瘀汤”、“血府逐瘀汤”加减综合化裁而成。方剂中药物,基本由活血化瘀药物组成,包括:五灵脂、当归、川芎、桃仁、丹皮、赤芍、延胡索、红花、川牛膝、莪术十味有代表性之活血化瘀药物,故以此方用于逐瘀法的研究。方中“五灵脂”“通利血脉”(《开宝本草》)“行血止血”(《本草衍义补遗》)“当归”“活血运行周身”(《药品化义》)“破恶血,养新血,及主症癖”(《日华子本草》)“川芎”“行气开郁”“血中气药也”(《本草纲目》)“桃仁”“主瘀血,血闭瘕”(《本经》)“破症瘕,通月水”“丹皮”“除坚,瘀血留舍肠胃”(《本经》)“治肠胃积血,衄血、吐血”(《珍珠囊》)“赤芍”“行血、破瘀、散血块、止腹痛”(《滇南本草》)“延胡索”“破症癖扑损瘀血”(《大明本草》)“红花”“活血、润燥、止痛、散肿、通经”“川牛膝”“破症结,排脓、止痛”(《日华子本草》)10“莪术”“破积聚恶血”(《本草通串》)。以上诸药以五灵脂、桃仁、红花、破血逐瘀,配合当归、川芎、赤芍活血养血,使瘀血去而不伤

血,川牛膝破瘀通经,引瘀血下行,丹皮清热凉血,活血化瘀,莪术、延胡索行气止痛,增强行瘀之力,诸药配合,达逐瘀活血、生新的目的。

3.2.2 逐瘀生新方显著降低家兔血清 ET 表明:逐瘀法能有效地保护血管内皮细胞及其凝血、免疫、物质转运和生物活性物质释放等多种生理功能,从而维持、恢复血管壁的完整以发挥其正常的生理效应。造成血管内血流不畅或停滞(瘀血)的主要原因有三:即心脏性,如心脏泵力不足;血管性,如血管硬化,内腔狭窄;血液性,如血液流变性改变,血液粘浓聚凝增高。血瘀证时,这三方面相互作用,互为因果。本实验仅就其中一个方面进行讨论,因此在探讨血瘀证的实质方面,还需要作深入的研究工作。

参考文献

- 1 李仪奎 第一版 上海科学技术出版社 1991: 143
- 2 钟福荪等 过氧化脂质的硫代巴比妥酸比色法 临床检验杂志 1986 4(3): 129- 130
- 3 徐翠薇 计算方法引论, 第一版 北京: 北京高等教育出版社 1985 88
- 4 吴其夏 体液因素和血液循环病理生理学, 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版 1991 年第一版
- 5 石志芸等 血瘀证患者血浆内皮素测定的临床意义 辽宁中医杂志 1996(10): 435- 437

(收稿日期: 1998- 10- 14)