

· 药理 ·

香附四物汤对气滞血瘀证雌性大鼠神经-内分泌-免疫网络的 调控与影响

李炜, 刘培*, 段金廛*, 马春华, 史旭芹, 郭建明

(南京中医药大学 江苏省方剂高技术研究重点实验室/江苏省中药资源产业化
过程协同创新中心, 南京 210023)

[摘要] 目的:评价香附四物汤对气滞血瘀证雌性大鼠血液、神经-内分泌-免疫(NEI)系统部分指标的调控与影响。方法:选用SD雌性大鼠,随机分为正常组、模型组、阳性药组、香附四物汤组,采用14 d皮下注射盐酸肾上腺素(Adr)0.9 mg·kg⁻¹·d⁻¹附加慢性不可预见性刺激复制气滞血瘀证模型,给药组给予香附四物汤干预,酶联免疫法及免疫组化法测定模型大鼠给药前后血浆中白介素-6(IL-6)、白三烯B₄(LTB₄)、雌二醇(E₂)、孕酮(P)、前列腺素E₂(PGE₂)、一氧化氮(NO)等因子含量及下丘脑组织中β-内啡肽水平。PLS-DA法对测定因子统计分析。结果:与正常组相比,模型组血液流变学指标显著升高(P<0.05, P<0.01),血浆凝血酶时间(TT)及活化部分凝血活酶(APTT)时间显著缩短(P<0.01),凝血酶原时间(PT)及纤维蛋白原无显著改变;血浆中IL-6, P含量显著升高, E₂, PGE₂, NO含量显著降低(P<0.01), LTB₄含量无显著变化;下丘脑组织β-内啡肽蛋白表达显著降低(P<0.01);香附四物汤给药组对气滞血瘀证模型有明显改善作用(P<0.01, P<0.05)。PLS-DA统计分析结果表明,血液指标:全血黏度(30 s⁻¹)、血浆黏度、凝血酶时间;神经系统指标:水平运动次数、β-内啡肽表达荧光面积、垂直运动次数、β-内啡肽表达荧光强度、中心格停留时间;内分泌指标:雌二醇、孕酮;免疫指标:前列腺素E₂为主要差异指标。结论:香附四物汤对气滞血瘀证雌性大鼠的血液、神经、内分泌、免疫系统相关生物学指标具有明确的调控作用,该作用与调控内环境稳态有关。

[关键词] 香附四物汤; 气滞血瘀证; NEI网络;

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0099-06

[doi] 10.11653/syfj2014020099

Effects of Xiangfu Siwu Decoction on Nerve Endocrine Immune System in Female Rats with Qi Stagnation and Blood Stasis Syndrome

LI Wei, LIU Pei*, DUAN Jin-ao*, MA Chun-hua, SHI Xu-qin, GUO Jian-ming

(Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of Traditional Chinese

Medicine Formulae and Jiangsu Collaborative Innovation Center

of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Xiangfu Siwu decoction on the blood, nerve endocrine immune (NEI) system in female rats with Qi stagnation and blood stasis syndrome. **Method:** The female SD rats model with Qi stagnation and blood stasis syndrome were prepared by giving adrenaline (Adr) and chronic unpredicted stress, while the medicine groups were treated with Xiangfu Siwu decoction. ELISA and

[收稿日期] 20130518(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202880);江苏省自然科学基金项目(BK2012456);江苏高校优势学科建设工程项目(ysxk-2010)

[第一作者] 李炜, 硕士, 从事方剂功效物质基础研究, Tel:025-85811916, E-mail: njlw1218@163.com

[通讯作者] *段金廛, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药资源化学与方剂功效物质基础研究, Tel:025-85811116, E-mail: dja@njutcm.edu.cn

*刘培, 博士, 助理研究员, 从事中药及方剂功效物质基础研究, Tel:025-85811916, E-mail: liupeipei@njutcm.edu.cn

immunohistochemistry assay were employed to detect contents of interleukin-6 (IL-6), leukotrienes 4 (LTB₄), estradiol (E₂), progesterone (P), prostaglandin E₂ (PGE₂), nitric oxide (NO) in the serum and β -endorphin in hypothalamus before and after the treatment. PLS-DA (Partial least squares discriminant analysis) method was used to analyze the above factors. **Result:** Compared with control group, the model group had significantly higher levels on hemorheology and significantly lower levels on thrombin time (TT) and activated partial thromboplastin time (APTT), while the model group had no obvious changes on prothrombin time (PT) and fibrinogen; the model group had significantly higher levels on the content of IL-6, P in the serum, and significantly lower levels on the contents of E₂, PGE₂, NO in the serum, while the model group had no obvious changes on the content of LTB₄. Xiangfu Siwu decoction had a significant effect on improving the model with Qi stagnation and blood stasis syndrome. Compared with control group, the medicine groups had no significant difference. Through a multi-index analysis with PLS-DA, the most important X variables were E₂, PGE₂, P, TT, horizontal movement, area, vertical movement, integral optical density (IOD), 30 s⁻¹ whole blood viscosity, residence time, plasma viscosity. **Conclusion:** The therapeutic effects of Xiangfu Siwu decoction on many diseases may be mediated by modulating multi-level of blood, nerve, immune, endocrine system and keeping internal environment homeostasis.

[**Key words**] Xiangfu Siwu decoction; Qi stagnation and blood stasis syndrome; NEI system

气滞血瘀证的主要病因是情志异常,情志异常的实质是不良生活事件形成的心理应激反应,机体在收到外界刺激时会做出适当的反应,过激、过久、过量的刺激会导致疾病的产生^[1-2]。情志异常致病机制之一是神经-内分泌-免疫(NEI)网络调节机制的异常^[3]。中药复方对慢性轻度不可预见性心理应激模型、长期应激行为等导致的 NEI 网络异常均有一定的调治作用^[4]。

香附四物汤出自清代梁廉夫《不知医必要》卷四,由四物汤加香附、木香、延胡索组成,具有补气行气之功,主治经脉气血凝滞而痛胀者,是行气化瘀代表方之一。香附四物汤具有多种生物活性,对急性血瘀模型大鼠血液流变性及卵巢功能均有改善作用^[5],能够显著抑制痛经模型小鼠离体子宫的收缩频率及收缩活动力^[6],对环氧合酶-2(COX-2)的抑制作用显著增强^[7],能够抑制 5-羟色胺(5-HT)在下丘脑的代谢^[8]等。香附四物汤对雌性气滞血瘀证大鼠 NEI 网络影响尚无相关实验研究报道,本文采用孤独饲养、皮下注射肾上腺素结合慢性不可预见性刺激复制模型,通过对血浆中相关因子检测,考察香附四物汤对模型大鼠血液、神经、内分泌、免疫系统部分指标的影响,并对测定指标进行综合分析,明确效应标志物,为香附四物汤对 NEI 网络的调控机制提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 雌性 SD 大鼠,体重 180~220 g,由浙江省实验动物中心(SPF 级)提供,许可证号 SCXK(浙)2008-0033。

1.2 试剂 柠檬酸钠(南京化学试剂有限公司,批号 050580052),盐酸肾上腺素注射液(Adr,天津金耀氨基酸有限公司,批号 1112021),水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号 20100709),一氧化氮(NO)检测试剂盒(批号 KGT00750),白三烯 B₄(LTB₄)、前列腺素 E₂(PGE₂)、白介素-6(IL-6)定量酶联检测试剂盒(批号分别为 KGER041、KGER053、KGER003),均由南京凯基生物科技发展公司提供,大鼠雌二醇(E₂)、大鼠孕酮(P)酶联免疫检测试剂盒(南京建成生物工程研究所提供,批号分别为 20120919、20120910), β -内啡肽(β -EP)免疫荧光试剂盒(Peninsula laboratories LLC, Cat. S-3028)。凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号均 20120426)。

1.3 组方饮片及药品 香附四物汤(XFSWD)由熟地黄、当归、川芎、白芍、香附、延胡索、木香组成,药材饮片均购自南京市药材公司,经南京中医药大学段金廛教授鉴定,符合《中国药典》(2010 年版)项下标准。称取组方饮片 5.25 kg,按照熟地黄:当归:川芎:白芍:香附:延胡索:木香 4:3:1.5:1.5:1.5:1.5:1 比例配比,经粉碎至粒径可过 40 目筛,纯水煎煮提取 2 次,第 1 次加 10 倍量纯水煎煮 2 h,第 2 次加 8 倍量纯水煎煮 2 h,合并 2 次煎出液,浓缩至 1 g·mL⁻¹,作为香附四物汤水煎剂供试样品。

阿司匹林肠溶片(aspirin,拜耳医药保健有限公司,批号 BJ05900),阿司匹林肠溶片先研磨至粉状,用超纯水溶解,终质量浓度为 10 g·L⁻¹。动物给药

剂量按体表面积换算系数计算:动物给药剂量 = 人临床用量 $\times 0.018/200 \times 1\ 000 \times$ 临床等效量的倍数。

1.4 仪器 LG-R-80 电脑血液黏度测试仪(北京世帝科学仪器公司);LG-PABER-1 凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司);强迫游泳水池(自备圆柱水桶,直径 60 cm,高度 100 cm)、开场箱(自制 100 cm \times 100 cm \times 100 cm,四周及底部涂黑,底部用白线分隔为 20 cm \times 20 cm 的 25 个方格);DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。Power Wave X340 型酶标仪(美国 BIO-TEK 公司)。

1.5 模型建立及分组 大鼠适应性饲养 7 d 后,随机分为 4 组,每组 8 只。正常组(C):与实验组同批同条件饲养,群养,不注射 Adr,不接受慢性不可预见性刺激;模型组(M)、阳性药组(M + aspirin)、香附四物汤组(M + XFSWD):单笼饲养,皮下注射 Adr 0.9 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ 14 d,4 h 后接受慢性不可预见性刺激(A:昼夜颠倒,B:0 ~ 4 $^{\circ}$ C 冰水游泳 4 min,C:50 $^{\circ}$ C 烘箱热烘 10 min,D:60 dB 噪音刺激 3 h,E:悬尾 10 min,每次随机给予 1 种刺激)复制模型;第 7 天香附四物汤组灌胃给药 22.68 g \cdot kg⁻¹ (按临床 6 倍等效剂量),aspirin 组按 0.10 g \cdot kg⁻¹ 进行给药,正常组和模型组大鼠灌胃给予等体积的生理盐水,灌胃 30 min 后造模。于第 14 天造模后 2 h,进行旷场实验,观察各组大鼠行为学的变化。于第 15 天水合氯醛麻醉后,颈总动脉取血,测定血液流变学相关指标。

2 方法

2.1 行为学实验 行为学检测过程中,房间保持安静。每只大鼠置于中心格,打开录像,记录 3 min 内行为学变化,分析录像并记录其中中心格停留时间、水平运动次数、垂直运动次数。其中中心格停留时间表示大鼠由最初放置于中心格内到四肢均离开中心格的时间;水平运动次数表示大鼠四肢均穿越格线的次数;垂直运动次数表示大鼠直立,两前肢攀爬的次数。

2.2 血液流变学相关指标检测 以质量浓度为 0.1 g \cdot mL⁻¹ 的水合氯醛麻醉大鼠,颈总动脉插管取血,以质量浓度为 0.038 g \cdot mL⁻¹ 的枸橼酸钠 1:9 抗凝,使用 LG-R-80B 电脑血液黏度测试仪测定全血黏度,用温氏管法测定血沉和红细胞压积^[9]。将全血于 3 000 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min,取上清测血浆黏度。得到血浆测定凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活

酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)测定按照试剂盒说明书严格进行。

2.3 血浆中 IL-6, LTB₄, E₂, P, PGE₂, NO 含量测定 2.2 项下获得的血浆,采用酶联免疫测定法按照试剂盒说明书测定 IL-6, LTB₄, E₂, P, PGE₂ 含量。硝酸还原酶法测定 NO 含量。

2.4 β -内啡肽表达水平检测 4 组均分别取出下丘脑,置于 4% 福尔马林液体中。用石蜡包埋组织块制作显微切片。采用免疫荧光测定法检测下丘脑组织中 β -EP 表达水平,应用美国 Media Cybernetics 公司专业图片分析软件 Image-Pro Plus 6.0 进行免疫组化吸光度(A)分析,记录 Area 值和 IA 值。

2.5 数据处理 实验数据采用 SPSS 18.0 统计软件分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示;组间比较采用 ANOVA 检验法, $P < 0.05$ 为有统计学意义;采用 SIMCA-P 11.0 软件对多指标进行偏最小二乘判别分析(PLS-DA)分析。

3 结果

3.1 旷场实验 与正常组大鼠相比,模型组大鼠在中心格停留时间显著延长($P < 0.01$),水平运动次数显著减少($P < 0.01$),垂直运动次数显著减少($P < 0.01$),提示模型组大鼠可能出现神疲、少神、精神萎靡、淡漠等症状。与模型组相比,给药 aspirin 及 XFSWD 后,大鼠在中心格停留时间显著缩短($P < 0.01$),水平运动次数增加($P < 0.05$),垂直运动次数显著增加($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 香附四物汤对气滞血瘀证模型大鼠的行为学影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g \cdot kg ⁻¹	中心格停留时间 /s	水平运动数 /次	垂直运动数 /次
正常	-	1.5 \pm 0.8	44.5 \pm 10.3	15.6 \pm 3.1
模型	-	64.4 \pm 9.2 ²⁾	18.8 \pm 5.9 ²⁾	3.3 \pm 1.6 ²⁾
aspirin	0.10	14.7 \pm 3.4 ⁴⁾	28.8 \pm 3.6 ³⁾	16.5 \pm 5.8 ⁴⁾
XFSWD	22.68	18.4 \pm 3.6 ⁴⁾	24.1 \pm 3.7 ³⁾	16.0 \pm 4.6 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

3.2 对气滞血瘀证模型大鼠血液流变学相关指标的影响^[10] 与正常组相比,模型组全血黏度(200, 30, 5, 1 s⁻¹)均升高,血浆黏度和血压积均升高($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组相比,阳性药组与给药组的全血黏度(200, 30, 5, 1 s⁻¹)、血浆黏度和血压积均降低,存在显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

与正常组相比,模型组的 TT, APTT 时间明显缩

短 ($P < 0.01$)。与模型组相比,阳性药组、给药组均可明显延长 TT, APTT 时间 ($P < 0.01$), 对 PT, APTT 无显著影响 (表 3)。

3.3 对血浆中 IL-6, LTB₄, E₂, P, PGE₂, NO 含量的影响 与正常组相比,模型组大鼠血浆中 IL-6, P 水

平显著升高 ($P < 0.01$), E₂, PGE₂, NO 含量显著降低 ($P < 0.01$)。给予 aspirin 及 XFSWD 后, IL-6, P 含量均显著降低 ($P < 0.01$; $P < 0.05$), E₂, PGE₂, NO 含量均显著提高 ($P < 0.01$; $P < 0.05$)。见表 4。

表 2 香附四物汤对气滞血瘀证模型大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	全血黏度/mPa·s				血浆黏度 /mPa·s	红细胞压积/%
		200 s ⁻¹	30 s ⁻¹	5 s ⁻¹	1 s ⁻¹		
正常	-	3.31 ± 0.42	4.55 ± 0.47	7.82 ± 0.47	17.41 ± 0.62	1.39 ± 0.26	33.4 ± 3.13
模型	-	4.32 ± 0.42 ²⁾	5.47 ± 0.65 ²⁾	8.98 ± 1.22 ¹⁾	20.91 ± 1.45 ²⁾	2.36 ± 0.39 ²⁾	45.8 ± 4.46 ²⁾
aspirin	0.10	3.46 ± 0.39 ⁴⁾	4.47 ± 0.48 ⁴⁾	7.93 ± 0.39 ³⁾	17.38 ± 1.54 ⁴⁾	1.92 ± 0.21 ³⁾	34.1 ± 4.30 ⁴⁾
XFSWD	22.68	3.85 ± 0.32 ³⁾	4.75 ± 0.19 ³⁾	7.94 ± 0.34 ³⁾	18.18 ± 1.41 ⁴⁾	1.82 ± 0.16 ⁴⁾	38.4 ± 2.91 ⁴⁾

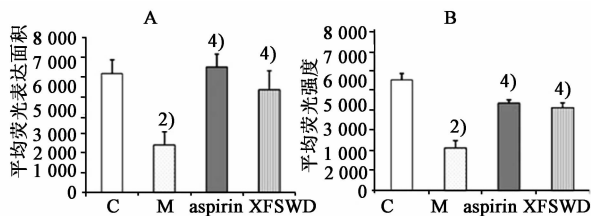
表 3 香附四物汤对气滞血瘀证模型大鼠凝血 4 项的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TT/s	PT/s	APTT/s	FIB/g·L ⁻¹
正常	-	29.1 ± 2.8	15.5 ± 0.4	18.3 ± 2.0	5.46 ± 0.14
模型	-	15.2 ± 0.7 ²⁾	16.1 ± 0.5	15.2 ± 1.2 ²⁾	5.34 ± 0.44
aspirin	0.10	23.0 ± 3.1 ⁴⁾	15.8 ± 0.7	17.2 ± 0.7 ⁴⁾	5.65 ± 0.33
XFSWD	22.68	27.2 ± 3.2 ⁴⁾	16.4 ± 0.8	17.1 ± 0.9 ⁴⁾	5.63 ± 0.16

表 4 香附四物汤对气滞血瘀证模型大鼠内分泌免疫指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	LTB ₄ /ng·L ⁻¹	E ₂ /μg·L ⁻¹	P/μg·L ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹
正常	-	61.96 ± 4.12	20.91 ± 0.63	138.32 ± 14.89	102.07 ± 6.35	102.42 ± 4.27	19.23 ± 1.57
模型	-	73.76 ± 8.60 ²⁾	20.61 ± 1.14	47.80 ± 9.03 ²⁾	147.36 ± 9.98 ²⁾	96.18 ± 1.88 ¹⁾	15.52 ± 1.46 ²⁾
aspirin	0.10	64.96 ± 3.01 ³⁾	19.93 ± 0.11	118.84 ± 18.71 ⁴⁾	106.32 ± 16.54 ⁴⁾	111.21 ± 11.26 ⁴⁾	17.84 ± 1.66 ³⁾
XFSWD	22.68	64.56 ± 2.66 ³⁾	20.36 ± 0.66	71.42 ± 10.69 ⁴⁾	123.57 ± 11.71 ⁴⁾	104.56 ± 5.57 ³⁾	17.36 ± 1.58 ³⁾

3.4 对下丘脑组织中 β-EP 表达水平的影响 与正常组相比,模型组大鼠下丘脑组织中 β-EP 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), 灌胃香附四物汤后, 下丘脑组织中 β-EP 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$), 提示香附四物汤能纠正该蛋白异常降低的状态。见图 1。



(aspirin 0.10 g·kg⁻¹; XFSWD 22.68 g·kg⁻¹);

(A) 平均荧光表达面积 (B) 平均荧光强度;

与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;

与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$

图 1 香附四物汤及阳性药阿司匹林对气滞血瘀证模型大鼠下丘脑组织中 β-EP 表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.5 PLS-DA 统计分析 采用多指标分析法, 按标

值 = (原数据 - 极小值) / (极大值 - 极小值), 对测定指标 (血液流变学相关指标、凝血 4 项指标、行为学指标、神经内分泌免疫指标) 进行数据标准化后, 导入 SIMCA-P 软件, 其中①~④分别代表正常组、模型组、aspirin 给药组、XFSWD 给药组, 进行偏最小二乘判别分析 (PLS-DA), 对数据做进一步的 pareto 缩放, 统计得到得分图和 VIP 图, 见图 2。

图 2 (A) 表明气滞血瘀模型组②与正常组①相对距离最远; 给药组③, ④主成分得分不同程度接近空白组, aspirin 组③与正常组①相对距离较近, 更接近于正常组。

变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 是反映变量对模型重要性的系数, VIP 值越大, 变量对模型越重要, 一般将 VIP > 1 的变量视为模型的重要变量, 即标记物。图 2 (B) 中, E₂, PGE₂, P, TT, 水平运动次数, 平均荧光表达面积, 垂直运动次数, 平均荧光强度, 30 s⁻¹, 中心格停留

时间,血浆黏度的VIP值均大于1,具有统计学意义。其中, E_2 和P反映机体的内分泌系统中性激素水平;水平运动次数,垂直运动次数,中心格停留时间,A和Area是综合反映香附四物汤对神经系统的影响; 30 s^{-1} 与血浆黏度反映机体对血液系统的影响; PGE_2 反映机体的免疫功能。

香附四物汤及阿司匹林对气滞血瘀证模型大鼠血液、神经、内分泌、免疫系统部分指标均有不同程度的改善作用,两者与模型组均有显著性的差异。

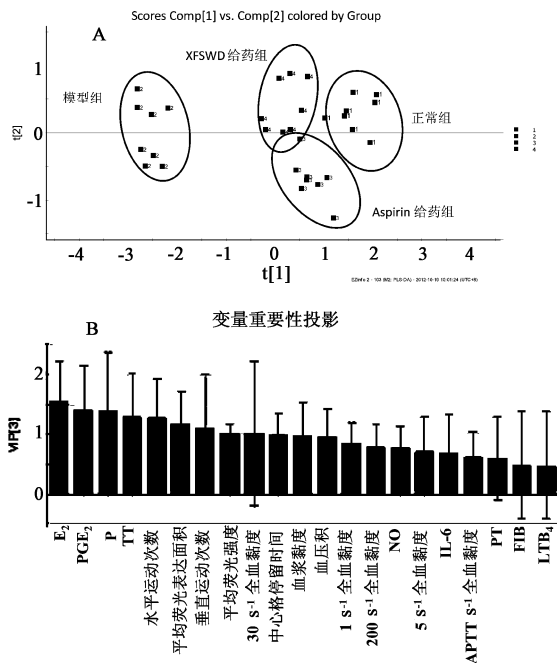


图2 各检测指标偏最小二乘判别分析得分(A)和VIP(B)

4 讨论

本研究将情志学说与应激理论相结合,采用小剂量肾上腺素长期注射法,使交感神经兴奋,引发肝气郁结,久之成瘀,模拟人体较长时间情感焦虑状态,采用噪音、光、束缚、冰水浴等联合刺激模拟大鼠长期处于应激状态,从血液流变学、行为特点两方面发生变化判断模型复制成功,该模型客观体现了气滞血瘀证证候的临床表征及病机特点。

神经、内分泌、免疫系统共同含有激素、神经递质、细胞因子、神经肽等成分。通过这些物质,神经免疫内分泌系统间交互影响、形成网络,共称为神经-内分泌-免疫网络^[12]。神经、内分泌及免疫系统间存在双向往返的反馈联系,许多疾病的发生和发展与神经、内分泌和免疫系统间的交互作用密切相关。

香附四物汤是治疗气滞血瘀证原发性痛经的代表性方剂之一,通过建立气滞血瘀证模型大鼠模型,

考察本方对模型大鼠血浆部分内源性成分的影响,结果表明,气滞血瘀证的发生与NEI网络中多成分改变密切相关:香附四物汤可以显著降低血浆中IL-6水平;提高 E_2 、P含量;显著增加 PGE_2 释放;显著提高NO的水平;增加下丘脑组织中 β -EP的表达。

β -endorphin是一种内源性阿片肽,主要由下丘脑弓状核及垂体中叶合成分泌,起镇痛、调节应激反应及维持神经内分泌环境的相对稳定的作用^[13]。文献报道表明,冷刺激、电击、强光、强迫游泳等刺激可以使大鼠下丘脑 β -内啡肽的含量显著升高^[14-15];电击刺激时,下丘脑、外周组织、垂体前叶中 β -内啡肽含量降低^[16]。本实验结果表明说明香附四物汤有提高下丘脑中 β -endorphin的趋势,其机制可能该药能使下丘脑内啡肽合成速度更快,啡肽类释放增多,因此含量升高,从而达到中枢镇痛作用^[17];也有可能不同应激刺激对此影响不同,并且该影响可能存在一定的时程特性^[18];也有可能是 E_2 、P两种激素对下丘脑分泌 β -endorphin蛋白亦有反馈作用^[17]。

NO对血管的舒缩功能与血液的流动性起着重要的调节作用,NO含量下降,提示血管内皮细胞分泌功能异常,是血瘀证发病的病理基础^[19]。本实验证实了气滞血瘀证大鼠血管内皮细胞分泌功能异常,香附四物汤能够保护血管内皮细胞分泌功能。IL-6是种炎症因子,本实验结果说明香附四物汤能够下调IL-6水平,其机制可能是香附四物汤能清除体内炎症介质,并可能在一定程度上改善微循环、改善血流动力学、减少炎症渗出,促进炎症吸收^[20]。

本研究选用aspirin作为阳性药,现代研究表明,阿司匹林可以通过增加NO释放等途径发挥较强的抗炎、抗血栓和神经系统保护作用^[21],小剂量阿司匹林也可以影响子宫内腺雌、孕激素受体,调节雌、孕激素水平^[22],提示其在血液、神经、内分泌、免疫系统均有明显改善作用。

血瘀证病可能涉及血液流变学异常,微循环障碍,炎症/免疫性炎症反应以及结缔组织代谢异常等。活血化瘀方治则主要体现在调节机体气平衡关系,其调整主要通过调节神经-内分泌-免疫功能来实现^[23-24]。

偏最小二乘判别分析法对多指标综合分析结果表明,香附四物汤对气滞血瘀证雌性大鼠的血液、神经、内分泌、免疫系统相关生物学指标具有明确的调控作用,其中对神经系统的影响最为显著。该作用与调控内环境稳态有关。

多组多指标药效法是中药药效评价的常用方法,但常遇到各组在不同指标上的效应变化不一致或有的统计结果无显著意义,难以综合分析药物的效应关系^[25-26]。本实验研究香附四物汤对气滞血瘀证雌性大鼠血液、神经、内分泌、免疫系统调控与影响,实验数据经标准化处理后,降维四项分析样本,应用偏最小二乘判别分析法对多指标进行综合分析,将多维数据在压缩前先按照需要寻找的差异因素分组,找到效应标志物,该方法克服了主观加权的局限性,保证评价结果的客观性和合理性,为深入研究本方作用机制提供方向和思路。

[参考文献]

[1] 任建勋,林成仁,王敏,等. 多因素整合建立气滞血瘀证动物模型研究[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5):210.

[2] 吴承玉. 血瘀证的研究发展脉络与评述[J]. 南京中医药大学学报, 2004, 20(3):133.

[3] 李楠. 情志致病与神经内分泌免疫网络机制探讨[J]. 中医研究, 2008, 21(3):3.

[4] 李炜,段金廛,刘培,等. 采用雌性SD大鼠探索建立适宜于气滞血瘀证妇科疾病特点的模型评价体系[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8):1211.

[5] 刘培,宿树兰,周卫,等. 香附四物汤与四物汤对急性血瘀模型大鼠血液流变性及卵巢功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8):124.

[6] 张畅斌,陆茵,段金廛,等. 四物汤及其加减方对痛经模型小鼠干预作用的研究[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(6):459.

[7] 华永庆,段金廛,宿树兰,等. 用于不同证型痛经的四物汤类方生物效应评价(I)[J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(1):72.

[8] 刘培,段金廛,刘睿,等. 微透析-HPLC-ECD联用技术用于香附四物汤对大鼠脑内5-HIAA动态变化的评价(英文)[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(5):902.

[9] 李伟霞,黄美艳,唐于平,等. 大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(12):1761.

[10] 李炜,段金廛,刘培,等. 采用雌性SD大鼠探索建立适宜于气滞血瘀证妇科疾病特点的模型评价体系[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8):1211.

[11] 王婷婷,贾乘,陈宇,等. 大鼠气滞血瘀证模型的建立及影响因素分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11):1629.

[12] M Harbuz. Neuroendocrine-immune interactions [J]. Trends Endocrinol Metab, 2003, 14(2):51.

[13] 杨鉴冰,李小花. β -内啡肽与女性生殖内分泌的关系探讨[J]. 陕西中医学院学报, 2004, 27(3):9.

[14] 李兴维,王端玉,王志刚,等. 异丙酚对热应激大鼠脑组织 β -内啡肽表达的影响[J]. 山东大学学报:医学版, 2009, 47(10):72.

[15] M J Millan, M R Przaewlocki. Stress-induced release of brain and pituitary-endorphin: major role endorphins in generation of hyperthermia, not analgesia [J]. Brain Research, 1981, 208:325.

[16] 宋卓敏,屈彩芹,张远,等. 痛经宁颗粒对痛经大鼠中枢及外周 β -EP含量的影响[J]. 天津中医药, 2004, 21(5):405.

[17] 唐已婷,陈家旭. 三种中药复方对慢性束缚应激大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴的调节[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(3):23.

[18] 胡海涛,黄鉴政,刘华. 活血化瘀系列方对脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究[J]. 浙江大学学报:医学版, 2003, 32:502.

[19] 蔡国雄,钟强,张雄辉,等. 桃红四物汤对闭合性胫排骨干骨折早期IL-1、IL-6、TNF- α 的影响[J]. 新中医, 2012, 44(6):94.

[20] 徐涛,曲方. 阿司匹林的神经保护作用[J]. 中国临床神经科学, 2004, 12(2):220.

[21] 郭玉琦,刘义,丁玉莲,等. 小剂量阿司匹林促排卵过程中对子宫内膜发育的研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2006, 22(10):750.

[22] 刘文杰,齐淑玲. 血瘀证实质和活血化瘀药物作用机理的研究[J]. 中医药通报, 2003, 2(1):2.

[23] 马晓娟,殷惠军,陈可冀. 血瘀证与炎症相关性的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(7):669.

[24] 马越鸣,程能能,孙瑞元. 中药研究中多指标量-效关系的综合分析[J]. 数理医药学杂志, 1999, 12(2):106.

[25] 赵玉男,丁怡,孙虹,等. 以数字模型对中药药效进行综合评价的意义和思考[J]. 世界科学技术——中药现代化, 2002, 4(6):24.

[责任编辑 聂淑琴]