

蒲黄炭对血瘀大鼠血液流变性、凝血时间及舌象体征的影响

李芳, 孔祥鹏, 陈佩东, 张丽, 丁安伟*

(南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046)

[摘要] **目的:** 观察蒲黄炭对急性血瘀模型大鼠血液流变性、凝血时间及舌象体征的影响。**方法:** SD 大鼠随机分为 6 组, 分别为正常组, 模型组, 云南白药组, 蒲黄炭高、中、低剂量 (15, 6, 3 g·kg⁻¹) 组。除正常组外, 其余组复制急性血瘀大鼠模型, 并比较蒲黄炭对其血液流变性、凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血酶原时间 (APTT)、凝血酶时间 (TT)、纤维蛋白原含量 (FIB) 及舌象体征的影响。**结果:** 蒲黄炭高、中、低剂量组均能明显降低血瘀大鼠全血低切黏度、血沉、红细胞刚性指数。在凝血时间影响方面, 蒲黄炭高、中剂量组均能明显延长 TT, PT, 缩短 APTT, 降低 FIB 的含量。蒲黄炭低剂量组能明显缩短 PT, APTT。在舌象体征方面, 蒲黄炭在所设剂量下对舌水肿、出血均有一定的治疗作用, 高剂量效果最好, 其次是中、低剂量。**结论:** 蒲黄炭能够改善血瘀大鼠异常的血液流变学指标, 缩短 APTT, 降低纤维蛋白原含量, 改善舌象血瘀体征, 而表现出一定的化瘀止血功效。蒲黄炭高、中剂量组使血瘀大鼠 PT, TT 延长, 在一定程度上表现出剂量对止血的双向调节作用。

[关键词] 蒲黄炭; 血液流变性; 凝血; 舌象体征

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0154-04

Effects of Carbonized Typhae Pollen on Hemorheological Parameters, Clotting Time and Tongue Presentations in Rats with Blood-stasis

LI Fang, KONG Xiang-peng, CHEN Pei-dong, ZHANG Li, DING An-wei*

(Jiangsu Key laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research,
Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of carbonized Typhae Pollen on the hemorheological parameters, clotting time and tongue presentations in acute blood-stasis model of rat. **Method:** The SD rats were divided into control, model, Yunnan White Drug-power, carbo power of Typhae Pollen (high, middle and low

[收稿日期] 20110307(008)

[基金项目] 国家中医药管理局公益性行业科研专项 (HY11076631)

[第一作者] 李芳, 硕士研究生, 研究方向: 中药复方及中药炮制机制研究, Tel: 15150566196, E-mail: lifang19870801@126.com

[通讯作者] *丁安伟, 博士生导师, Tel: 025-85811523, E-mail: awding105@163.com

生理化学性质的研究 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19 (6): 412.

[7] Koskela A, Engström K, Hakelius M, et al. Regulation of fibroblast gene expression by keratinocytes in organotypic skin culture provides possible mechanisms for the antifibrotic effect of reepithelialization [J]. Wound Repair Regen, 2010, 18(5): 452.

[8] Shirakata Y. Regulation of epidermal keratinocytes by growth factors [J]. J Dermatol Sci, 2010, 59(2): 73.

[9] Hayashi N, Kido J, Kido R, et al. Regulation of calprotectin expression by interleukin-1alpha and

transforming growth factor-beta in human gingival keratinocytes [J]. J Periodontal Res, 2007, 42(1): 1.

[10] Aden N, Nuttall A, Shiwen X, et al. Epithelial cells promote fibroblast activation via IL-1alpha in systemic sclerosis [J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(9): 2191.

[11] Lian X, Yang L, Gao Q, et al. IL-1alpha is a potent stimulator of keratinocyte tissue plasminogen activator expression and regulated by TGF-beta1 [J]. Arch Dermatol Res, 2008, 300(4): 185.

[责任编辑 聂淑琴]

dosage, 15, 6, 3 g·kg⁻¹ accordingly). Except the control group, blood stasis model was established in the rest groups. The hemorheological parameters, the prothrombinase time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT), fibrinogen (FIB) and the signs of tongue presentations were detected in these groups. **Result:** Carbonized Typhae Pollen in high, middle and low dosage could decrease the viscosity of whole blood (η_b) at low shear rate, erythrocyte sedimentation rate (ESR) and rigidity of erythrocyte, which increased in model rats. Carbo of Typhae Pollen of high and middle dosage could lengthen TT, PT, shorten APTT and decrease FIB, while low dosage could shorten PT and APTT. Carbo of Typhae Pollen showed therapeutical effect in hydrops and bleeding of tongue and the high dosage showed the best effect. **Conclusion:** Carbonized Typhae Pollen showed the effect of invigorating blood and hemostasis by ameliorating the abnormal hemorheological parameters and the signs of tongue blood stasis. Carbonized Typhae Pollen in high and middle dosage could lengthen PT and TT, which showed the dosage has two-way regulating functions on hemostasis.

[**Key words**] carbonized Typhae Pollen; hemorheology; hemostasis; tongue presentation

蒲黄炭为中药蒲黄(香蒲科植物水烛香蒲 *Typha angustifolia* L.、东方香蒲 *T. orientalis* Presl. 或同属植物的干燥花粉)的加工炮制品。在“红见黑则止”的朴素炭药止血理论和“炒炭存性”原则指导下,作为化瘀止血药,蒲黄炭被长期运用于临床,治疗多种由瘀所致的出血性疾病。临床实践亦证明蒲黄炭具有明显的化瘀止血作用,可用于咯血、吐血、崩漏及其他多种出血病症,疗效确切。本文旨在通过血瘀大鼠模型,考察不同剂量下蒲黄炭对其血液流变性、凝血时间及舌象体征的影响,对蒲黄炭的化瘀止血作用机制进行探讨。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠,体重(200 ± 20) g,由浙江省动物实验中心(SPF级)提供,许可证号 SCXK(苏)2008-0033。

1.2 药品与试剂 蒲黄生品,安徽井泉集团中药饮片有限公司,批号 20091102,并经南京中医药大学中药鉴定教研室吴启南教授鉴定为香蒲科植物水烛香蒲 *T. angustifolia* L. 的干燥花粉。盐酸肾上腺素注射液,天津金耀氨基酸有限公司,批号 0909041;云南白药粉末,云南白药集团股份有限公司,批号 20090116;凝血酶时间测定试剂盒(TT,批号 STG10301-30)、凝血酶原时间测定试剂盒(PT,批号 STG20101-41)、活化部分凝血活酶时间测定试剂盒(APTT,批号 ST20201-39)、血浆纤维蛋白原测定试剂盒(FIB,批号 STG20401-28),均为北京世帝科学仪器公司产品。

1.3 仪器 LG-PABER 凝血仪(北京世帝科学仪器公司)、离心机(上海安亭科学仪器厂)、LG-R-80B

型血液黏度仪(北京中勤世帝科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 供试品药液的制备 按《中国药典》2010年版一部蒲黄炭炮制方法制备蒲黄炭饮片。蒲黄炭 15 倍量水煎煮提取 2 次,合并滤液并浓缩为 1 g·mL⁻¹。实验前用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液将云南白药、蒲黄炭粉混匀并稀释至所需浓度。

2.2 大鼠分组、造模及给药 取雄性大鼠 60 只,体重(200 ± 20) g,随机分为 6 组,每组 10 只,分为空白组、血瘀模型组、云南白药组 0.27 g·kg⁻¹,蒲黄炭粉低剂量组 3 g·kg⁻¹,蒲黄炭粉中剂量组 6 g·kg⁻¹,蒲黄炭粉高剂量组 15 g·kg⁻¹。正常组与模型组 ig 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液 20 mL·kg⁻¹,其余组 ig 等体积的相应药物,每日 1 次,连续 7 d。第 6 天给药后禁食,除空白组外,其余组背部 sc 盐酸肾上腺素 1 mL·kg⁻¹,共 2 次,中间间隔 4 h,并在第 1 次 sc 4 h 后将大鼠浸入 0 ~ 2 °C 冰水冰浴 5 min,复制急性血瘀大鼠模型^[1],正常组 sc 等体积的生理盐水。次晨各组 ig 给药 40 min 后采血并检测指标。

2.3 指标测定

2.3.1 血液流变学测定 取上述各组大鼠抗凝后的血液每只 5 mL,用 LG-R-80B 型血液黏度仪进行全血黏度(η_b)、血浆黏度(η_p)、血沉(ESR)、红细胞压积(HCT)等指标的测定,并计算红细胞刚性指数 IR 与血沉方程 K 值^[2]:

$$\text{红细胞刚性指数(IR)} = \frac{\eta_b - \eta_p}{\eta_p} \times \frac{1}{\text{HCT}}$$

2.3.2 凝血酶活性测定 按试剂盒的要求测定各组大鼠凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆纤维蛋白原含量

(FIB)。

2.3.3 舌象体征的影响 将大鼠处死后,取其舌经 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋,切片厚 4 ~ 5 μm ,HE 染色,根据病变轻重程度,依次半定量为轻度“+”,中度“++”,重度“+++”,无病变组织标记为“-”。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 11.5 统计软件进行检验,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。方差齐时选择 t 检验,方差不齐时选择校正 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对急性血瘀大鼠全血黏度的影响 与空白组

表 1 不同剂量蒲黄炭粉对血瘀大鼠模型全血黏度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全血黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$			
		200 s^{-1}	30 s^{-1}	5 s^{-1}	1 s^{-1}
模型	-	5.50 \pm 0.77	6.68 \pm 0.48	13.34 \pm 2.93	27.74 \pm 2.20
空白	-	4.29 \pm 0.36 ¹⁾	5.32 \pm 0.35 ²⁾	8.62 \pm 0.74 ¹⁾	19.28 \pm 4.20 ²⁾
云南白药	0.67	4.96 \pm 0.68	5.90 \pm 0.42 ¹⁾	10.40 \pm 1.40	22.73 \pm 3.46 ¹⁾
蒲黄炭	15	4.74 \pm 0.41	5.63 \pm 0.19 ¹⁾	9.69 \pm 1.66	20.04 \pm 4.01 ¹⁾
	6	5.18 \pm 0.40	6.28 \pm 0.42	11.66 \pm 2.49	21.36 \pm 3.45 ¹⁾
	3	5.02 \pm 0.17	6.52 \pm 0.17	10.85 \pm 0.17	22.91 \pm 2.22 ²⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

表 2 蒲黄生品、蒲黄炭对血瘀大鼠血浆黏度、血沉、血沉方程、红细胞刚性指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血浆黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$	血沉/ $\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$	红细胞压积	血沉方程	红细胞刚性指数
模型	-	1.33 \pm 0.35	3.93 \pm 0.29	0.37 \pm 0.01	7.33 \pm 1.04	58.85 \pm 3.31
空白	-	1.15 \pm 0.36	1.34 \pm 0.38 ²⁾	0.34 \pm 0.02 ¹⁾	0.26 \pm 0.40 ²⁾	7.70 \pm 2.29 ²⁾
云南白药	0.67	1.01 \pm 0.07	4.25 \pm 0.44	0.32 \pm 0.06	11.52 \pm 1.19 ²⁾	53.80 \pm 2.26 ¹⁾
蒲黄炭	15	1.29 \pm 0.10	1.57 \pm 0.55 ²⁾	0.36 \pm 0.02	7.50 \pm 0.20	41.17 \pm 3.79 ²⁾
	6	1.24 \pm 0.26	1.34 \pm 0.35 ²⁾	0.36 \pm 0.03	8.73 \pm 0.81	49.88 \pm 6.04 ¹⁾
	3	1.28 \pm 0.27	1.80 \pm 1.07 ¹⁾	0.39 \pm 0.01	7.81 \pm 2.30	50.78 \pm 2.15 ²⁾

3.3 对急性血瘀大鼠血浆凝血 4 项的影响 与空白组相比,模型组 TT,PT 明显缩短,APTT 明显延长,FIB 含量明显增加。与模型组相比,蒲黄炭高、

相比,模型组全血黏度明显升高,表明血瘀模型成立。在切变率 30 s^{-1} 下,蒲黄炭高剂量组能明显降低血瘀大鼠全血黏度,蒲黄炭中、低剂量组则无显著性差异;在切变率 1 s^{-1} 下,蒲黄炭高、中、低剂量组均能明显降低血瘀大鼠全血黏度(表 1)。

3.2 对急性血瘀大鼠血浆黏度、血沉、红细胞压积、血沉方程、红细胞刚性指数的影响 与空白组相比,模型组血浆黏度、血沉、红细胞压积、血沉方程及红细胞刚性指数均增高。蒲黄炭高、中、低剂量组对血瘀大鼠血浆黏度、红细胞压积及血沉方程影响不大,但均能明显降低血沉与红细胞刚性指数(表 2)。

中剂量组均能明显延长 TT,PT,缩短 APTT,明显降低 FIB 含量。蒲黄炭低剂量组能明显缩短 PT,APTT。(表 3)。

表 3 蒲黄生品、蒲黄炭对急性血瘀大鼠模型凝血 4 项的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TT/s	PT/s	APTT/s	FIB/s
模型	-	19.1 \pm 0.50	12.4 \pm 0.41	20.1 \pm 1.04	6.5 \pm 1.44
空白	-	21.8 \pm 0.41 ¹⁾	16.2 \pm 0.96 ¹⁾	17.9 \pm 1.84 ¹⁾	8.0 \pm 0.97 ¹⁾
云南白药	0.67	18.4 \pm 0.56	12.6 \pm 0.68	16.3 \pm 1.80 ²⁾	7.9 \pm 0.80 ¹⁾
蒲黄炭	15	22.5 \pm 0.40 ²⁾	14.1 \pm 0.48 ²⁾	16.1 \pm 1.92 ²⁾	7.6 \pm 1.55 ¹⁾
	6	21.5 \pm 0.80 ¹⁾	13.6 \pm 0.89 ¹⁾	17.8 \pm 1.68 ¹⁾	7.8 \pm 1.31 ¹⁾
	3	19.4 \pm 0.43	9.2 \pm 0.36 ²⁾	17.4 \pm 1.20 ¹⁾	7.2 \pm 1.11

3.4 舌象体征病理组织学观察 与空白组相比,模型组 10 例舌固有层见血管充血、轻度水肿,舌肌组

织学结构未见异常。蒲黄炭在所设剂量下对舌固有层水肿、充血有一定的治疗作用,高剂量效果最好,

其次是中、低剂量(表4)。

表4 舌病理组织学检查($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	黏膜上皮变性、坏死和脱落		固有层水肿		固有层充血		
		-	+	-	+	-	+	++
模型	-	10		-	10	-	6	4
空白	-	10		10	-	10	-	-
云南白药	0.67	10		10	-	-	10	-
蒲黄炭	15	10		10	-	6	4	-
	6	10		10	-	5	5	-
	3	10		10	-	3	7	-

4 讨论

本实验采用血液流变学、凝血活酶以及舌象体征等指标观察蒲黄炭不同剂量对血瘀大鼠的影响。“血瘀”是血和脉共同构成的“血行”在体内各种因素作用下引起的血行失度,血液中红细胞聚集性增高,变形能力降低以及血液黏稠度增高,血行缓慢,呈现“浓、黏、凝、聚”的高凝、高纤状态^[3]。由血液流变学测定可知,蒲黄炭高、中、低剂量组均能改善血瘀大鼠异常的血液流变性,降低其全血黏度、血沉、红细胞刚性指数 IR,增强红细胞的变形性,降低红细胞聚集性,使其血液循环状态得到明显改善,这也在一定程度上反映出蒲黄炭的活血化瘀作用。

在对血瘀大鼠不同阶段凝血时间影响来看,蒲黄炭能缩短 APTT,降低纤维蛋白原含量,改善舌象血瘀体征,而表现出一定的化瘀止血功效。蒲黄炭高、中剂量组使血瘀大鼠 PT, TT 延长,在一定程度上表现出剂量对止血的双向调节作用。

根据中医传统理论,任何一个生物体都是一个有机的整体,其内部存在着相互作用和因果联系,因此局部的病变可以产生全身性的病理反应,全身性的病理变化又可以反映于局部,通过舌、唇、爪等外在体征可以间接地反映出疾病的发展状态。实验结果表明血瘀大鼠舌质紫暗、舌体出现瘀斑瘀点,舌固有层水肿、出血,预防性给予蒲黄炭后,血瘀大鼠舌象体征明显改善,这间接反映出蒲黄炭对血瘀大鼠

体征的改善作用。

综上所述,蒲黄炭确有化瘀止血功效,但在不同的生理、生化指标下有着不同的意义,不能一概而论。另外,在对不同阶段凝血时间影响方面,不同剂量下蒲黄炭对其有着双向的调节作用。

另外,蒲黄炭的化瘀止血效果还与炮制程度、给药方式等诸多因素有关^[4-5],他们的化瘀止血机制,以及血瘀与出血相关性有待我们进行更为深入的研究。

[参考文献]

- [1] 张小丽,张静云,范引科,等. 葵藜总皂苷对血瘀模型大鼠血液流变学和体外血栓形成的影响[J]. 中国药房, 2005, 16(11):826.
- [2] 秦任甲,马国忠,温彦生,等. 临床血液流变学[M]. 北京:北京大学医学出版社,2003:91.
- [3] 马民. 血瘀证形成的微观机理研究[D]. 济南:山东中医药大学中医基础理论专业,2003:42.
- [4] 马长振,陈佩东,张丽,等. 蒲黄炭对大鼠凝血系统影响的实验研究[J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(1):42.
- [5] 周卫,宿树兰,刘培,等. 蒲黄-五灵脂药对不同提取物活血化瘀效应的比较研究[J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(3):211.

[责任编辑 聂淑琴]