

黄芪桂枝五物汤对实验性冻疮大鼠血液流变性的影响

王永辉*, 李艳彦, 周然, 白贇
(山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] 目的: 考察黄芪桂枝五物汤(五物汤)不同给药途径对实验性冻疮大鼠血液流变性的影响。方法: 采用 40% 乙醇低温浸泡法制备大鼠冻疮模型, 测定模型大鼠及五物汤口服(ig)、浸泡(so)、口服+浸泡(IS)3 种不同给药途径进行干预治疗后血液流变学指标及血栓戊烷 B₂(TXB₂)、6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-k-PGF_{1α})的变化。结果: 与正常对照组相比, 模型组大鼠全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数及红细胞变形指数显著升高($P < 0.05$), 血清中 TXB₂ 显著升高($P < 0.05$), 6-k-PGF_{1α} 显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比, 五物汤 3 种给药方式中只有 IS 组可使升高的 TXB₂ 显著降低($P < 0.05$), ig 组与 IS 组可使降低的 6-k-PGF_{1α} 显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且两组间无统计学差异($P > 0.05$); ig 组、so 组、IS 组均可在不同程度上改善大鼠血液流变学指标。结论: 冻疮模型大鼠存在微循环障碍及血栓易形成状态, 五物汤不同给药途径均有调节冻疮大鼠 TXB₂-PGF_{1α} 失衡、改善微循环血液流变学指标的作用, 以 IS 给药表现出的药理效应最佳。

[关键词] 黄芪桂枝五物汤; 冻疮; 不同给药途径

[中图分类号] R 285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0231-03

The Influence of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction on Hemorheological Indexes in Rats with Chilblains

WANG Yong-hui*, LI Yan-yan, ZHOU Ran, BAI Yun

(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction (Hw) on hemorheological indexes in rats with chilblains. **Method:** Rat chilblains model was established through soaking rats' feet in low temperature 40% alcohol solution. The contents of TXB₂ and 6-k-PGF_{1α} in plasma of the rats taken by Hw through different ways such as oral administration, the immersion, and the oral administration + soak (IS) were determined. **Result:** Compared with the normal control group, blood viscosity, blood plasma viscosity, index of RBC aggregation and index of deformation in rats of model group were significantly increased ($P < 0.05$), TXB₂ were significantly increased ($P < 0.05$) and 6-k-PGF_{1α} decreased ($P < 0.01$). Compared with the rats of model group, TXB₂ decreased ($P < 0.05$) significantly in plasma of the rats with the Hw taken by the IS; PGF_{1α} increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in plasma of the rats with the Hw taken by the oral administration and the IS. The Hw groups taken by different ways had improved hemorheological indexes to varying degrees. **Conclusion:** The model of chilblains brings about the unbalance of immunological function, microcycle barrier and a state of forming thrombus easily. The Hw groups taken by different ways can adjust the abnormal changes in immunology, the unbalance of TXA₂-PGI₂ and improve blood rheology targets, and the group of Hw taken by the IS is better than those of the other two Hw groups.

[Key words] Huangqi Guizhi Wuwu Decoction (Hw); chilblains; different ways of drug administration

冻疮古称为“涿”，首见于《五十二病方》，当时已有外洗，外敷，按摩等多种外治方法。隋《诸病源候论》始称其为“冻疮”，并阐明其病因病机：“严冬之月，触冒风雪寒毒之气，伤于肌肤，气血壅滞，因即涿冻，赤疼痛，便成冻疮。”此后，有关文献多沿袭此说，且以外治法为主。至明清，《外科启玄》提出冻疮的病因病机除寒冷外袭外，还与本身体质虚弱有关：“亦有元气弱之人，不奈其冷着有之。”因而，《外科大成》提出“宜服内托之药，以助阳气”的内治主张，并为后人所沿袭采用。^[1] 黄芪桂枝五物汤（五物汤）出自《金匮要略》，具有益气温经、和血通痹的功效，其主治证的病机在于寒邪凝滞，阳气不足，血行不畅，而冻疮形成的机制与五物汤所治病证的病机正好相合。本文观察了五物汤不同给药途径对实验性冻疮大鼠血液流变性及血栓戊烷 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F_{1α} (6-k-PGF_{1α}) 的影响。

1 材料

1.1 药品与试剂 黄芪桂枝五物汤由黄芪、桂枝、芍药、生姜、大枣组成，药材购自山西省药材公司。方中诸药按原用量比例（黄芪：桂枝：芍药：生姜：大枣，1：1：2：1：4）加 10 倍量水浸泡 30 min，煎煮 30 min，过滤，药渣再加 8 倍量水煎煮 30 min，过滤，合并滤液，水浴将药液浓缩至生药 2.0 g·mL⁻¹，冰箱保存备用。大鼠血栓戊烷 B₂ (TXB₂)、大鼠 6-酮-前列腺素 F_{1α} (6-k-PGF_{1α}) ELISA 试剂盒，由解放军总医院科技开发中心放免所提供（批号 20060725）。

1.2 仪器 DC-2006 低温恒温槽（宁波新芝生物科技股份有限公司）；Spectramax190 连续光谱酶标测试仪（美国分子仪器公司）；SA-6000 血流变检测仪（北京赛科希德科技发展有限公司）。

1.3 动物 Wistar 大鼠，♀♂兼用，体重（230 ± 10）g，许可证号 SCXK（京）0089326，2004-0002，中国医学科学院实验动物研究所提供。

2 方法

2.1 分组、造模与给药 适应性饲养 1 周后，将大鼠随机分为 5 组，每组 10 只，即正常对照组；模型对照组；黄芪桂枝五物汤口服组（ig 组）；黄芪桂枝五物汤浸泡组（so 组）；黄芪桂枝五物汤口服加浸泡组（IS 组）。除正常对照组外，将其余各组大鼠右后足踝关节以下部位浸入 1 000 mL -5℃ 40% 乙醇液中 3 min 后捞出，1 次冷冻即可造成冻伤模型；左后

足不作处理，作为自身对照，实验过程中，使用 DC-2006 低温恒温槽控制冷冻温度。冷冻后，大鼠受冻肢体局部皮肤初期呈白色，足趾挛缩，随后皮肤渐变为紫红色，继而受冻部位肢体开始肿胀，出现水泡，18 h 后可见有个别大鼠足趾出现变黑坏死现象。于造模后 6 h 各组动物开始给药，ig 组按相当于生药材 10.0 g·kg⁻¹（5 mL·kg⁻¹）灌胃，so 组按相同浓度药液浸泡大鼠冻疮足部 30 min [药液体积以浸没大鼠足踝关节为宜，温度（20 ± 2）℃]，IS 组既口服又浸泡；连续给药 3 d，浸泡 2 次/d。模型对照组和正常对照组分别给予等量蒸馏水。

2.2 指标检测 给药 3 d 后，各组大鼠用 20% 乌拉坦 100 mg·kg⁻¹ ip 麻醉后，下腔静脉取血 5 mL，肝素抗凝，取 2 mL 抗凝血用 SA-6000 血流变检测仪检测全血黏度、血浆黏度、血细胞比容、红细胞聚集指数及红细胞变形指数等指标；剩余血液常规分离血浆，按照 ELISA 试剂盒说明书操作，检测大鼠血浆 TXB₂ 和 6-k-PGF_{1α} 含量。

2.3 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，用 SPSS 11.5 软件进行统计分析，多组间均数比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 黄芪桂枝五物汤对局部冻伤大鼠血液流变性的影响 结果见表 1。模型组大鼠全血黏度（高切、低切）、血浆黏度、红细胞聚集指数及红细胞变形指数 4 项指标均显著高于正常组（ $P < 0.05$ ），而 ig 组大鼠全血黏度（低切）、血浆黏度、红细胞聚集指数及红细胞变形指数 4 项指标均显著低于模型组（ $P < 0.05$ ），so 组大鼠全血黏度（低切）、血浆黏度 2 项指标均显著低于模型组（ $P < 0.05$ ）；IS 组大鼠全血黏度、血浆黏度及红细胞聚集指数 4 项均显著低于模型组（ $P < 0.05$ ）。

3.2 黄芪桂枝五物汤不同给药途径对冻疮模型大鼠 TXB₂、6-k-PGF_{1α} 的影响 结果见表 2。与正常组相比，模型组大鼠血清中 TXB₂ 显著升高（ $P < 0.05$ ），6-k-PGF_{1α} 显著降低（ $P < 0.01$ ）；与冻模组相比，3 种给药方式中，只有 IS 组使升高的 TXB₂ 显著降低（ $P < 0.05$ ），且与 ig 组和 so 组相比较有显著性差异，ig 组和 IS 组可使降低的 PGF_{1α} 显著升高（ $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ），且两组间无统计学差异，但 IS 组与 so 组相比较有显著性差异（ $P < 0.05$ ）。

表 1 黄芪桂枝五物汤不同给药途径对局部冻伤大鼠血液流变性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	全血黏度/mPa·s		血浆黏度 /mPa·s	红细胞压积 /L·L ⁻¹	红细胞 聚集指数	红细胞 变形指数
		1(1/s)	200(1/s)				
正常对照	-	39.36 ± 9.12 ¹⁾	3.79 ± 0.67 ¹⁾	1.66 ± 0.37 ¹⁾	0.39 ± 0.03	6.23 ± 0.68 ¹⁾	0.83 ± 0.14 ¹⁾
模型对照	-	73.03 ± 17.04	6.08 ± 1.24	2.60 ± 0.58	0.40 ± 0.03	9.42 ± 0.91	1.49 ± 0.22
ig	10.0	54.75 ± 10.87	5.29 ± 1.26	2.21 ± 0.39 ¹⁾	0.40 ± 0.01	8.33 ± 0.79 ¹⁾	1.24 ± 0.20 ¹⁾
so	10.0	61.04 ± 10.95 ³⁾	5.54 ± 1.24	2.13 ± 0.37 ¹⁾	0.39 ± 0.02	8.79 ± 0.69	1.34 ± 0.21
IS	10.0	47.88 ± 13.40 ¹⁾	5.06 ± 0.99 ¹⁾	1.82 ± 0.43 ¹⁾	0.39 ± 0.03	7.83 ± 0.59 ¹⁾	1.03 ± 0.18 ¹⁾

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与 IS 组相比较³⁾ $P < 0.05$ (下同)。

表 2 黄芪桂枝五物汤不同给药途径对冻疮模型大鼠 TXB₂、PGF_{1α} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TXB ₂ /pg·mL ⁻¹	6-k-PGF _{1α} /pg·mL ⁻¹
正常对照	-	189.83 ± 24.73 ¹⁾	5.24 ± 1.12 ^{2,3)}
模型对照	-	258.10 ± 31.07 ³⁾	2.62 ± 0.39 ³⁾
ig	10.0	212.78 ± 19.46 ³⁾	3.38 ± 0.60 ¹⁾
so	10.0	232.54 ± 37.61 ³⁾	2.92 ± 0.35 ³⁾
IS	10.0	172.70 ± 33.78 ¹⁾	4.41 ± 0.84 ²⁾

4 讨论

现代医学对寒冷引起冻疮的机制尚未完全明确,其可能与皮肤血管对寒冷过敏有关,也可能与自主神经功能紊乱及遗传因素有关。^[2]中医认为:冻疮乃皮肤肌肉外受寒邪,经络阻塞,气血壅滞而成,轻者其伤浅,仅皮肤络脉气血凝滞,患部失去温煦,濡养而受损。重者,伤其深,肌肉,脉络气血凝滞不通,患处不得濡养,或暴冻着热,发生溃烂,甚至可损伤其筋骨;平素气血衰弱或疲劳过度,暴热着冻,暴冻着热也会使本病生成。

机体冻伤后血液循环障碍是造成局部组织损伤的主要原因之一。大量实验结果表明:受冻后,机体血液黏度、红细胞聚集指数均增加,红细胞变形指数和红细胞硬度增加,使红细胞变形能力降低,体内血凝性质增强,抗凝物质活性及含量减少,血液处于高凝状态;且不同程度冻伤伴随不同程度的凝血系统变化,随着冻伤时间的延长,冻伤大鼠全血黏度及血浆黏度会逐渐呈恶化趋势。这些因素综合作用使局部肢体微循环障碍,促使冻疮形成,并造成组织损伤、变性、坏死。^[3-6]因此,在冻后如能及时阻断血液高黏滞状态的恶性循环,使微循环血液流变性恢复正常是治疗冻疮的关键所在。

本研究选取古代名方黄芪桂枝五物汤,考察其不同给药途径对实验性冻疮大鼠血流变的影响。实验结果显示,黄芪桂枝五物汤能使升高的 TXB₂ 水平显著降低,升高 PGF_{1α} 水平,且同时降低升高的血液黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数和红细胞变形指数,其治疗冻疮的机制可能与调节冻疮大鼠 TXB₂-PGF_{1α} 的失衡状态、改善微循环血液流变性、阻断或纠正血液高黏滞状态的恶性循环、减少血栓的生成等有关。从不同给药途径来看,IS 组表现出的药效作用优于其他两种给药方式,提示在冻疮的治疗中,采用全身与局部治疗相结合的措施是十分必要的。总之,黄芪桂枝五物汤对冻疮具有良好的治疗效果,值得进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 王世军, 庞嘉言. 中医药治疗冻疮进展[J]. 河南中医, 2006, 26(3): 85.
- [2] 徐晓光, 顾军. 冻疮的病因与防治[J]. 人民军医, 2006, 49(12): 700.
- [3] 颜培华, 李凤芝, 田嘉荣, 等. 低氧条件下重度冻伤家兔凝血系统某些因素的改变及其治疗的研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2001, 17(4): 405.
- [4] 李凤芝, 刘友梅, 颜培华, 等. 冻伤大鼠血浆中抗凝血酶Ⅲ量与活性改变的研究[J]. 中国应用生理学杂志, 1997, 13(1): 9.
- [5] 薛智谋, 蒋敬, 周慧英, 等. “采和 I 号”、“采和 II 号”治疗冻伤的实验和临床观察[J]. 江苏中医药, 2005, 26(2): 50.
- [6] 阮仕荣. 冻伤病理生理和诊治研究进展[J]. 人民军医, 2002, 45(3): 138.

[责任编辑 何伟]