

· 药理 ·

凉血活血颗粒对放射性肺损伤大鼠凝血功能 及全血黏度指标的影响

肖春¹, 杨旭辉², 刘毅², 窦永起^{1*}

(解放军总医院全军中医研究所, 北京 100853)

[摘要] 目的: 观察凉血活血颗粒对放射性肺损伤大鼠凝血功能及全血黏度的影响。方法: 90 只雄性 Wistar 大鼠, 随机分为空白对照组、模型组、凉血活血颗粒治疗组, 每组 30 只, 模型组及治疗组大鼠用 6MV X 线右胸一次性照射 25Gy 造模。造模前 1 周开始各组分别 ig 凉血活血颗粒或生理盐水, 每日 1 次。在照射后 7 d, 30 d, 90 d, 每组处死 10 只, 行肺组织 HE 染色, 腹主动脉取抗凝血检测凝血 4 项及全血黏度指标。结果: 模型组照射后出现放射性肺炎及纤维化表现, 治疗组炎症及纤维化表现较模型组明显减轻。模型组大鼠在照射后 7 d, 出现高凝、高黏改变; 在照射后 30 d, 出现低凝、低黏改变; 在照射后 90 d 出现低凝、高黏改变。治疗组大鼠在照射后 7 d, 凝血时间延长, 血液黏度减低; 在照射后 30 d, 凝血时间缩短, 血液黏度升高; 在照射后 90 d, 凝血时间缩短, 全血黏度降低。结论: 放射性肺损伤存在凝血功能紊乱及血液黏度异常, 凉血活血颗粒对上述情况具有调节作用, 能减轻放射性肺损伤的严重程度。

[关键词] 放射性肺损伤; 中医药; 凉血活血; 全血黏度

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0103-04

Influence of a Chinese Herbal Compound Granule with Functions of Cooling and Promoting Blood Circulation on Coagulation Function and Whole Blood Viscosity in Rats with Radiation-induced Lung Injury

XIAO Chun¹, YANG Xu-hui², LIU Yi², DOU Yong-qi^{1*}

(Chinese Medicine Institute of PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[Abstract] **Objective:** To object the influence of a Chinese herbal compound granule with functions of cooling and promoting blood circulation on coagulation function and whole blood viscosity in rats with radiation-induced lung injury. **Method:** Ninety male wistar rats were randomly assigned to blank group, model group and treatment group with 30 rats in each group. The rats in model and treatment group were irradiated with 6 MV x-rays, 25Gy/fraction in the right lung and were given saline or Chinese herbal compound granule accordingly. The rats in blank group were given saline without radiation. Ten rats in each group were sacrificed at the time of 7 d, 30 d and 90 d after radiation. The tissue pathology was conducted; Whole blood viscosity and coagulation indexes were evaluated. **Result:** The rats in model group developed radiation pneumonitis and fibrosis. The pathological changes of radiation injury in treatment group were slighter than the model group. The rats in model group were in the high coagulation and viscosity state in 7 d, in the low coagulation and viscosity state in 30 d, in the low coagulation and high viscosity state in 90 d. The coagulation time in the treatment group was longer in 7 d, shorter in 30 d and 90 d; The whole blood viscosity was decreased in 7 d, increased in 30 d, decreased in 90 d. **Conclusion:** Blood

[收稿日期] 2009-10-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30371826); 军队“十一五”计划项目 (06MA251)

[通讯作者] * 窦永起, Tel: (010) 66939456; E-mail: dyqi_301@yeah.net

coagulation function disorder and viscosity abnormality occurred in the radiation-induced lung injury. The herbal compound granule with functions of cooling and promoting blood circulation can make appropriate adjustment and reduce the radiation-induced lung injury.

[Key words] radiation-induced lung injury; Chinese herbal medicine; blood cooling and promoting; whole blood viscosity

放射性肺损伤是胸部放射后常见并发症,目前尚缺乏有效的防治药物。笔者根据中医学理论并结合现代医学研究成果,提出放射性肺损伤属“热毒血瘀”证,呈现早期“热伤肺络”及后期“瘀阻肺络”的动态改变,早期研究显示采用凉血活血法防治放射性肺损伤具有较好实验及临床效果^[1-2]。本实验观察其对放射性肺损伤大鼠的凝血功能及全血黏度指标的影响。

1 材料

1.1 动物 清洁级雄性 Wister 大鼠 90 只,体重(200 ±20) g,由中国人民解放军总医院医学实验动物中心提供(动物合格证号 SCXK(京)2007-0001)。

1.2 药物 凉血活血颗粒由总后药检所提供,处方组成药材生地、牡丹皮、连翘、川芎均购自中国人民解放军总后卫生部药材供应站,并经其鉴定。各味药在方中比例为 1 1.5 1.5 1.5,丹皮、连翘、川芎以丹皮酚含量及出膏率为指标,用乙醇回流法提取;生地以梓醇含量和出膏率为指标,用乙醇回流法提取。颗粒剂每克相当于生药 5.83 g。

1.3 试剂与仪器 LDZ5-2 型离心机,北京医用仪器厂;LBY-N6 Compact 型血液流变学测定仪,北京普利生仪器有限公司;STA-R 全自动血凝仪,法国 Diagnostic Stago 公司;BH2 型光学显微镜,日本奥林巴斯。凝血功能测定所用试剂采用法国 STAGO 公司提供的试剂盒。凝血酶时间(TT),凝血酶原时间(PT),活化部分凝血活酶时间(APTT)及纤维蛋白原定量(Fib)试剂盒批号分别为 090423,090504,090510,090519。

2 方法

2.1 分组 将大鼠按体重随机分为空白组(A组)、模型组(B组)、凉血活血颗粒治疗组(C组),每组各 30 只。

2.2 造模 B组和C组于照射前尾 iv 3%戊巴比妥钠(45 mg·kg⁻¹)麻醉后俯卧位定位,取右肺照射野 2 cm ×3 cm,铅块遮挡周围,用 6MV-X 线照射,25 Gy 一次性照射造模,照射深度 2 cm,剂量率为 4Gy/min。

A 组大鼠同时进行麻醉不照射。

2.3 给药方法 各组大鼠于照射前 1 周开始至处死前每日早晨 8 时 ig 给药 1 次。C 组予凉血活血颗粒 1.5 g·kg⁻¹(临用前用蒸馏水配制成 0.3 g·mL⁻¹),A 组和 B 组 ig 给予相同体积生理盐水。

2.4 指标测定 在放射处理 7,30,90 d 后各组随机取 10 只大鼠检测指标,检测前禁食 12 h,自由饮水。大鼠以 10% 水合氯醛(350 mg·kg⁻¹) ip 麻醉后,剪开腹部,剥离腹主动脉采血 6 mL,分装于 3.8% 枸橼酸钠抗凝管中 3 mL 测定凝血功能,肝素抗凝管中 3 mL 测全血黏度。将枸橼酸钠抗凝管中血液 3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上层血浆,按照试剂盒方法用磁珠凝固法测定 TT,PT,APTT,Fib。肝素抗凝管中血液在血流变仪上机检测全血黏度,切变率选择 1 s⁻¹,5 s⁻¹,30 s⁻¹,200 s⁻¹。剖开胸腔,取右肺置于 10% 甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋,切片厚 4 μm,HE 染色,光学显微镜观察。

2.5 统计学处理 计量数据以均数 ±标准差(珉±s)表示,用 CHSS 软件进行统计学分析。均进行正态性检验,多个样本均数比较采用方差分析,组间多重比较采用 *q* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 病理组织学改变 空白对照组大鼠肺为正常组织结构。模型组放射后 7 d 表现为肺泡壁毛细血管充血,间质水肿,炎细胞浸润;30 d 后,急性炎症反应明显,肺间质充血、出血、水肿明显,并见巨噬细胞、淋巴细胞、肺泡上皮细胞等聚积;90 d 后,仍可见炎性细胞浸润,肺泡壁增厚,肺泡腔缩小,壁内成纤维细胞增多。治疗组放射后 7 d 肺水肿及炎性浸润情况较模型组轻;在放射后 30 d 及 90 d 亦出现急性炎症及纤维化表现,但程度较模型组明显减轻。典型照片见图 1。

3.2 凝血功能改变 在放射后 7 d,模型组 TT 缩短(*P* < 0.05),APTT 延长(*P* < 0.05);在放射后 30 d 和 90 d,TT,PT,APTT 延长(*P* < 0.01)。治疗组与模型组比较,在放射后 7 d,TT,PT,APTT 延长(*P* <

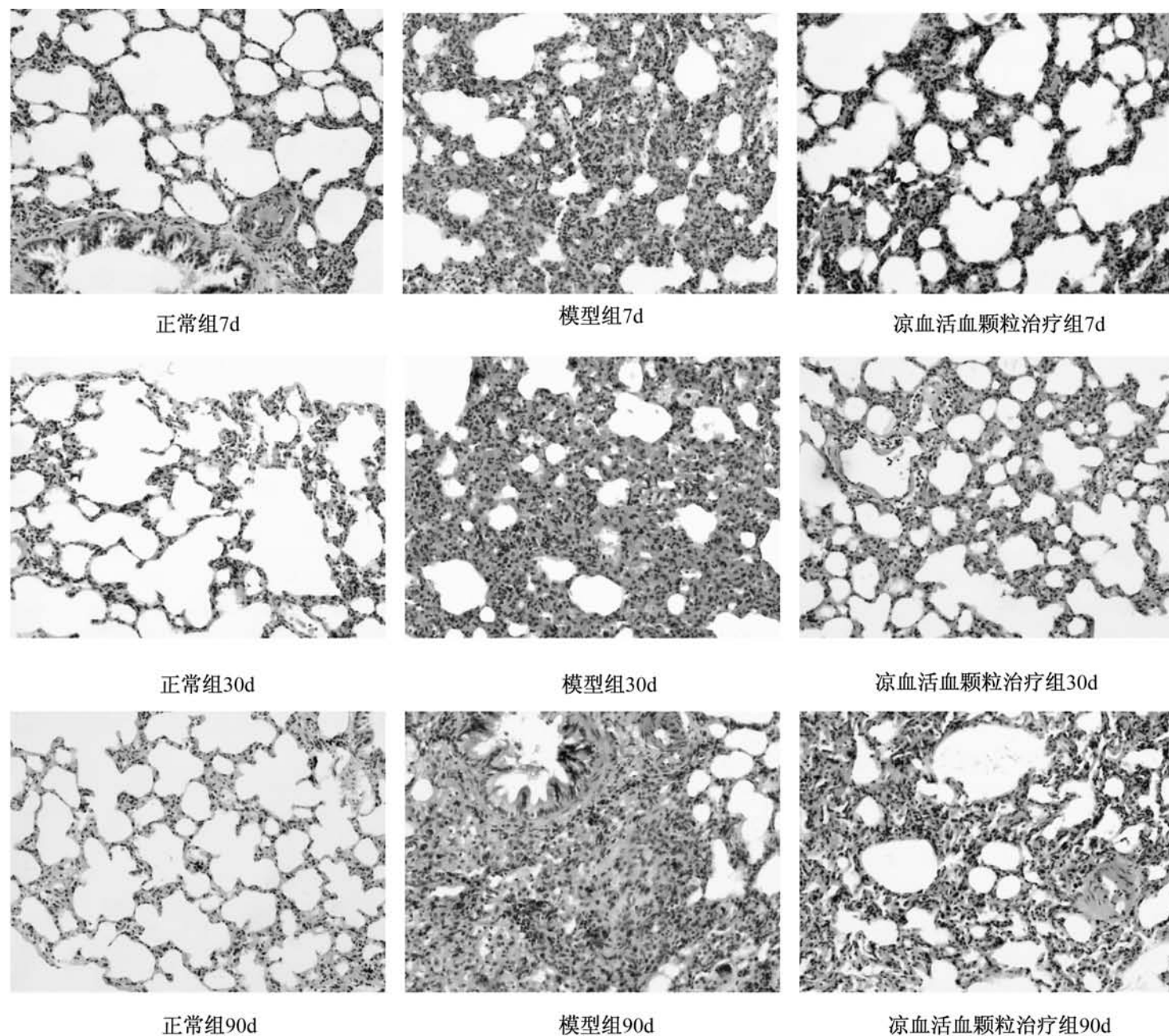


图 1 肺组织病理切片图 (HE, ×100)

0.05); 在放射后 30 d 和 90 d, TT 缩短 ($P < 0.01$), PT 延长 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 1。

3.3 全血黏度改变 模型组在放射后 7 d, 各切变率下全血黏度均显著升高; 在放射后 30 d, 各切变率下全血黏度均降低; 在放射后 90 d, 在 $1 s^{-1}$, $5 s^{-1}$,

$30 s^{-1}$ 切变率下全血黏度上升 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。治疗组全血黏度与模型组比较, 出现先下降、再升高、最后下降的反向性变化 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 2。

表 1 照射后不同时间点各组大鼠凝血功能的变化 (̄±s n=10)

组别	剂量 / 颗粒 $g \cdot kg^{-1}$	时间/d	TT/s	PT/s	APTT/s	Fib/ $g \cdot L^{-1}$
空白	-	7	36.55 ± 0.78 ¹⁾	17.38 ± 0.38	21.98 ± 0.68 ¹⁾	2.63 ± 0.15
模型	-	7	35.24 ± 1.38	17.19 ± 0.83	22.89 ± 1.12	2.38 ± 0.23
治疗	1.5	7	40.36 ± 1.23 ²⁾	17.95 ± 0.69 ¹⁾	24.26 ± 0.96 ²⁾	2.54 ± 0.32
空白	-	30	36.43 ± 0.96 ²⁾	16.89 ± 0.84 ²⁾	21.98 ± 0.88 ²⁾	2.58 ± 0.19
模型	-	30	40.28 ± 0.99	18.64 ± 1.10	25.18 ± 0.98	2.43 ± 0.38
治疗	1.5	30	38.44 ± 0.89 ²⁾	19.65 ± 0.38 ¹⁾	21.67 ± 0.39 ²⁾	2.55 ± 0.37
空白	-	90	36.36 ± 0.67 ²⁾	17.28 ± 0.55 ²⁾	21.69 ± 0.87 ²⁾	2.68 ± 0.18
模型	-	90	39.42 ± 1.18	18.22 ± 0.57	22.68 ± 0.78	2.83 ± 0.22
治疗	1.5	90	36.34 ± 0.58 ²⁾	18.89 ± 0.38 ²⁾	22.56 ± 0.69	2.52 ± 0.23 ²⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

表 2 照射后不同时间点各组大鼠全血黏度的变化($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

组别	剂量 / 颗粒 $g \cdot kg^{-1}$	时间/d	全血黏度 / $mPa \cdot s$			
			$1 s^{-1}$	$5 s^{-1}$	$30 s^{-1}$	$200 s^{-1}$
空白	-	7	32.38 \pm 2.66 ²⁾	12.84 \pm 1.46 ²⁾	6.38 \pm 0.95 ²⁾	4.59 \pm 0.38 ²⁾
模型	-	7	54.34 \pm 3.78	19.13 \pm 2.13	8.49 \pm 0.78	5.38 \pm 0.46
治疗	1.5	7	40.34 \pm 2.54 ²⁾	14.77 \pm 1.74 ²⁾	7.02 \pm 0.65 ²⁾	4.68 \pm 0.35 ²⁾
空白	-	30	32.24 \pm 2.28 ¹⁾	13.28 \pm 0.63 ²⁾	6.67 \pm 0.42 ¹⁾	4.75 \pm 0.29 ²⁾
模型	-	30	28.78 \pm 3.82	11.45 \pm 1.42	6.04 \pm 0.58	4.29 \pm 0.38
治疗	1.5	30	35.76 \pm 2.57 ²⁾	13.16 \pm 0.58 ²⁾	6.78 \pm 0.64 ²⁾	4.38 \pm 0.32
空白	-	90	32.34 \pm 1.21 ²⁾	13.18 \pm 0.83 ²⁾	6.52 \pm 0.35 ¹⁾	4.59 \pm 0.32
模型	-	90	34.68 \pm 0.34	13.42 \pm 0.89	6.82 \pm 0.59	4.85 \pm 0.42
治疗	1.5	90	29.64 \pm 1.23 ²⁾	11.75 \pm 0.49 ²⁾	6.55 \pm 0.34 ²⁾	4.54 \pm 0.38 ²⁾

4 讨论

放射性肺损伤是多种细胞因子介导的急性炎症、慢性炎症向纤维化转化的一个病理改变^[3]。肖氏^[4]研究显示内皮病变和血液循环障碍是放射性肺损伤早期的主要改变,是肺纤维化的起始因素,主张应早期采取措施进行防治。中医学者大多认为射线为热毒,可损伤人体正气及阴血,放射性肺损伤病症类型以“热毒血瘀”证最为常见^[5];热毒血瘀证具有“浓”、“黏”、“凝”、“聚”的特点,以血液黏度升高,凝血处于高凝状态,微循环不畅为其具体表现,全血黏度及凝血功能是其重要的理化指标^[6]。本研究结果显示在放射后 7 d,照射区域即出现血管充血、扩张等血液瘀阻表现,理化检查显示血液处于高凝、高黏状态;而在放射后 30 d,则以急性炎症,伴明显肺内出血为主要特征,血液出现低凝、低黏状态;在放射后 90 d,则以慢性炎症伴早期纤维化为主要表现,血液则出现低凝、高黏改变。这表明放射性肺损伤既有与一般热毒血瘀证相同的改变,又有其不同特点:早期血行壅滞、中期离经出血、后期瘀血阻络,即早期“热伤肺络”和晚期“瘀阻肺络”的动态改变。

针对“热伤肺络”和“瘀阻肺络”的动态演变规律,我们提出早期采用凉血活血法防治放射性肺损伤的观点,并拟定了凉血活血方。该方以生地为君药,生地甘寒质润养阴,苦寒泄热入营血,为滋阴、清热、凉血之要药;川芎辛温,为“血中之气药”,能辛香走窜,具行气、活血、祛瘀之功效;丹皮苦、辛、寒,能清热凉血,活血化瘀;连翘解毒散结,性清上浮,尚可引药达上焦。诸药共同达到清热解毒、凉血活血化瘀的功效。

根据现代药理研究^[7],生地有一定的抗辐射、抗纤维化的作用,地黄乙醇提取物有促进血凝、扩张毛细血管、改善血液流变性的作用;川芎及丹皮具有抗炎作用,能改善血液动力异常及改善微循环。作为复方药物,从上述研究结果看该药对放射性肺损伤的凝血功能紊乱及血液黏度的异常具有调节作用,具有凉血止血及活血化瘀的特点,能有效减轻放射性肺损伤的严重程度。

[参考文献]

- [1] 窦永起,魏正茂,林明雄,等.早期应用凉血活血法预防放射性肺炎临床观察[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(10):64.
- [2] 杨明会,窦永起,臧倩,等.凉血活血中药治疗放射性肺损伤的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2007,27(9):827.
- [3] Ghafoori P, Marks LB, Vujaskovic Z, et al. Radiation-induced lung injury. Assessment, management, and prevention[J]. Oncology (Williston Park), 2008, 22(1):37; discussion 52.
- [4] 肖桃元,陶忠芬,可金星,等.大鼠肺放射性损伤的超微结构观察[J].第三军医大学学报,2007,29(21):2034.
- [5] 王景娜,刘莉.中药在放射性肺损伤防护中的作用[J].现代肿瘤医学,2008,16(10):1800.
- [6] 刘军莲,宋剑南.中医血瘀证本质研究概况[J].辽宁中医杂志,2006,33(9):1091.
- [7] 陈奇.中成药名方药理与临床[M].北京:人民卫生出版社,1998:234.