

• 药理 •

冰水冷冻大鼠模型血清 TXB₂/PGF α 含量 及血液流变学变化特征

尹军祥¹, 田金洲^{1*}, 任 映², 李乐军¹, 时 晶¹, 胡 泉¹, 杨金铎², 宋崇顺², 王永炎³

(1. 北京中医药大学老年医学研究所, 北京 100700;

2. 北京中医药大学东直门医院中药药理室, 北京 100700;

3. 中国中医科学院, 北京 100700)

[摘要] 目的: 探讨冰水冷冻大鼠模型大鼠血清血栓素(TXB₂)/ $\text{6-}\alpha$ -前列腺素 F_{1 α} ($\text{6-k-PGF}_{1\alpha}$) 含量和血液流变性变化特征。方法: 采用冰水(0 ℃)冷冻 20 次(每天 1 次, 每次 5 min)制成寒凝血瘀证表征模型大鼠, 检测造模后第 1, 3, 5 d 模型大鼠血液流变性和血清 TXB₂/ $\text{6-k-PGF}_{1\alpha}$ 含量。结果: 模型大鼠血清 TXB₂/ $\text{6-k-PGF}_{1\alpha}$ 值造模后第 1 d(1.59 ± 1.05)、第 3 d(1.09 ± 0.47) 明显高于正常组(0.74 ± 0.56), 具有显著意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 模型组大鼠全血黏度及还原黏度在高、低切变率状态下均较正常组升高, 部分值升高差异显著($P < 0.05$)。结论: 冰水冷冻致寒凝血瘀证模型大鼠血清 TXB₂/ $\text{6-k-PGF}_{1\alpha}$ 含量升高、血液黏度增高, 这种状态持续约 1 周。

[关键词] 冰水冷冻; 血栓素; $\text{6-}\alpha$ -前列腺素 F_{1 α}

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)10-0022-02

本研究依据证候模型研究应遵循的“因脉证治”研究思路^[1,2], 在前期寒凝血瘀证表征模型的制作和评价方法^[3]基础上, 我们探讨了此种模型大鼠血液流变性指标和 TXB₂ 和 $\text{6-k-PGF}_{1\alpha}$ 变化特征, 为进一步研究血瘀证的生物学基础提供科学依据。实验报告如下。

1 材料和方法

1.1 动物 SD 大鼠, 体重(280 ± 20) g, 由维通利华实验动物研究所提供; 动物于实验前一周入实验室分笼饲养, 室温(23 ± 1) ℃, 相对湿度 60%, 光线自动控制, 明(7:00~19:00)暗(19:00~7:00)交替, 自由饮水、摄食。

1.2 试剂与仪器 肝素钠注射液(江苏万邦生化医药股份有限公司, 批号: 0507110, 12 500 U/支); 红细胞变形性试剂(北京世帝科学仪器公司, 批号: 060628, 100 mL/瓶)。血栓素 B(TXB₂) 和 $\text{6-}\alpha$ -前列

环素 F_{1 α} ($\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$) 放免试剂盒(北京科美东雅生物技术有限公司)。血液黏度测试仪(北京世帝科学仪器公司, LG-R-80 型); 血细胞变形/聚集测试仪(北京世帝科学仪器公司, LG-B-190 型) JXJ-2A 型离心机(长沙科伟仪器公司); GL-20 型全自动高速冷冻离心机(湘西仪器仪表总厂)。

1.3 动物分组 SD 大鼠 60 只, 随机分为正常组、冰水冷冻 20 d 组(第 1 d 组)、冰水冷冻 20 d 组(第 3 d 组)、冰水冷冻 20 d 组(第 5 d 组)。

1.4 模型制备 模型制备方法参照本课题组前期研究方法^[3], 模型大鼠每天定时于冰水中冷冻 5 min, 每天冷冻 5 min 共 20 d; 正常大鼠每天则在常温水中 5 min 来代替。各组大鼠分别于冷冻 20 d 后第 1, 3, 5 d, 按相应要求采集血液及组织标本。

1.5 方法 各组大鼠在处死前禁食不禁水 24 h, 10% 水合氯醛腹腔麻醉, 腹主动脉取血, 检测如下指标: (1) 血液流变性 取 5 mL 血入预存 100 μ L(2.5 万单位/mL) 肝素钠试管, 在血液流变学检测仪进行血液流变性 13 项指标检测。(2) 血清 TXB₂/ $\text{6-k-PGF}_{1\alpha}$ 含量 取 2.0 mL 血入已加 100 μ L 消炎痛-EDTA 液试管中, 低温离心取上清液, 采用 TXB₂ 和

[收稿日期] 2007-03-15

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2003CB517104)

[通讯作者] * 田金洲, Tel: (010) 84013380; E-mail: johnsontian@hotmail.com

6-k-PGF1 α 放免试剂盒在放免仪进行检测。

2 统计学处理

所有数据均用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异用 t 检验, 用 SPSS 11.5 统计软件数据包处理。

3 结果

3.1 血液黏度比较 结果显示, 冰水冷冻 20 d 各组大鼠全血及还原黏度值在高切和低切变率状态下较正常组升高, 部分值升高有显著意义 ($P < 0.05$), 表 1。

表 1 血瘀证模型大鼠造模后不同切变率血黏度 (mPa·s) 比较

组别	全血黏度 (150 s ⁻¹)	全血黏度 (5 s ⁻¹)	还原黏度 (150 s ⁻¹)	还原黏度 (5 s ⁻¹)
正常组	3.83 \pm 0.35	15.23 \pm 1.60	6.13 \pm 0.64	30.78 \pm 2.58
第 1 d 组	4.13 \pm 0.33	16.86 \pm 1.36	7.57 \pm 0.54 ¹⁾	38.44 \pm 3.53 ¹⁾
第 3 d 组	3.81 \pm 0.28	15.55 \pm 0.76	6.53 \pm 0.67	33.86 \pm 1.31
第 5 d 组	3.71 \pm 0.34	15.40 \pm 1.23	5.61 \pm 0.70	29.97 \pm 1.57

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.2 红细胞压积、聚集指数和变形指数比较 红细胞压积: 冰水冷冻 20 d 停止后第 1 d 组和第 3 d 组大鼠红细胞压积均较正常组有明显下降 ($P < 0.05$), 但第 5 d 组高于正常组。聚集指数: 冰水冷冻 20 d 停止后第 1 d 组和第 3 d 组大鼠红细胞聚集指数低于正常组, 而第 5 d 组明显升高 ($P < 0.05$)。变形指数: 冰水冷冻 20 d 组大鼠红细胞变形指数变化不显著, 表 2。

表 2 血瘀证模型大鼠造模后红细胞压积、聚集指数和变形指数比较

组别	压积	聚集指数	变形指数
正常组	46.51 \pm 3.69	1.04 \pm 0.15	0.49 \pm 0.02
第 1 d 组	41.32 \pm 2.34 ²⁾	0.91 \pm 0.19	0.50 \pm 0.01
第 3 d 组	43.01 \pm 2.11 ²⁾	0.84 \pm 0.13 ¹⁾	0.50 \pm 0.01
第 5 d 组	48.24 \pm 1.79 ^{3,4)}	1.33 \pm 0.10 ^{1,3,4)}	0.48 \pm 0.04

注: 与第 1 d 组比较³⁾ $P < 0.01$; 与第 3 d 组比较⁴⁾ $P < 0.01$

3.3 血清 TXB2/6-k-PGF1 α 比值和血浆黏度比较

血清 TXB2/6-k-PGF1 α 比值: 冰水冷冻 20 d 后第 1 d 组 3 d 组大鼠血清 TXB2/6-k-PGF1 α 比值高于正常组, 具有显著意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。血浆黏度: 第 1 d 组大鼠血浆黏度值较正常组有升高, 表 3。

表 3 血瘀证模型大鼠造模后血浆黏度和血清 TXB2/6-k-PGF1 α 比值

组别	TXB2/6-k-PGF1 α 比值	血浆黏度 (mPa·s)
正常组	0.74 \pm 0.56	1.36 \pm 0.11
第 1 d 组	1.59 \pm 1.05 ²⁾	1.40 \pm 0.07
第 3 d 组	1.09 \pm 0.47 ^{1,3)}	1.36 \pm 0.30
第 5 d 组	0.70 \pm 0.56 ^{4,5)}	1.37 \pm 0.03

注: 与第 1 d 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与第 3 d 组比较

⁵⁾ $P < 0.01$

4 讨论

血瘀证是心脑血管疾病常见证候, 临床病人血液流变性和血清 TXB2/6-k-PGF1 α 含量变化对心脑血管病疾病的发生发展、预后和疗效判定具有重要意义。以往的后肢低温冷冻法^[4]和寒冷环境冷冻法^[5], 是局部寒冷刺激致冷伤形成局部血瘀和低温环境中一次性低温冷冻直致阳气衰竭后血瘀, 与临床久病阳虚内寒致寒凝血瘀证的病理机制差异较大。因此, 我们根据证候概念和证候模型研究因脉证治思路^[1,2], 采用冰水冷冻方法建立了寒凝血瘀证表征模型^[3]。

实验表明, 采用冰水冷冻 (0 $^{\circ}$ C) 刺激 20 次, 每天 1 次, 每次 5 min 的方法, 造模后第 1, 3, 5 d 大鼠血液流变性和血清 TXB2/6-k-PGF1 α 含量变化具有一定的特征, 即模型大鼠高, 低切变率状态下全血及还原黏度值较正常组有升高, 部分值升高显著 ($P < 0.05$); 模型组大鼠血清 TXB2/6-k-PGF1 α 比值在第 1, 3 d 升高明显, 具有显著意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。本次研究显示, 冰水冷冻 20 次后模型大鼠反映血瘀的血液黏度值和 TXB2/6-k-PGF1 α 比值相应增高, 红细胞压积及聚集指数在第 5 d 组明显升高。

实验说明寒冷刺激可导致机体存在瘀血阻滞脉络, 脏腑或器官若出现血瘀瘀滞或脉络瘀阻则发生疾病或病理变化的机率会明显增高, 临床易发生心脑血管疾病。而本次研究选择冰水冷冻 (寒冷) 诱导形成寒凝血瘀证表征模型, 观察到模型大鼠血液黏度正相关指标明显升高, 这种血液黏度增高状态持续存在时间大约在 1 周, 这为寒凝血瘀证的生物学基础研究及药物研究提供了依据。

[参考文献]

- [1] 田金洲, 王永炎, 时晶, 等. 证候模型研究的思路[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(6): 18-21.
- [2] 田金洲, 王永炎, 时晶, 等. 证候的概念及其属性[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(5): 6-8.
- [3] 尹军祥, 田金洲, 王永炎, 等. 寒凝血瘀证表征模型的建立[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(10): 682-685.
- [4] 吴焱莉, 张珊珊. 寒凝血瘀证动物模型的研制[J]. 中国中医基础医学杂志, 1996, 2(2): 49-51.
- [5] 郑小伟. 寒凝血瘀证动物模型的量化研究[J]. 浙江中医学院学报, 1999, 23(2): 43-45.