

# 补阳还五汤及拆方对血栓形成大鼠梗塞灶、血管损伤半暗区、血浆 *t*-PA、PAI 活性及 ET 含量的影响

韩东, 廖福龙, 李文, 梁日欣, 殷晓杰  
(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

**摘要:** 利用已建立的冷光源光化学诱导血栓形成大鼠动物模型, 观察补阳还五汤总方、补气药及活血药对模型大鼠梗塞面积、血管损伤半暗带面积及程度、局部脑组织血流、血浆 *t*-PA、PAI 活性及血浆 ET 含量的影响。结果: 补阳还五汤总方对上述指标均有显著性影响, 补气药及活血药均可缩小梗塞面积, 减轻血管损伤程度, 改善梗塞区上游供血区脑组织血流, 抑制血浆 PAI 活性。活血药可显著降低血浆 ET 含量; 补气药可显著地提高血浆 *t*-PA 活性, 缩小血管损伤半暗区的范围。

**关键词:** 脑梗塞; 血管损伤半暗区; 脑组织血流; *t*-PA; PAI

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)02-0021-04

## Effect of BuYanHanWu (BYHW) Tang upon Infarction, Vessel Damage Penumbra (VDP), Fibrinolytic System Activity and Endothelin

Han Dong, Liao Fu-long, Li Wen, Liang Ri-xing, Ying Xiao-jie

(Institute of Chinese Materia Medica China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700)

**Abstract:** Objective: To investigate the effect of BuYanHanWu (BYHW) Tang upon infarction, vessel damage penumbra (VDP), fibrinolytic system activity and endothelin. Methods: BYHW Tang consists of two parts, invigorating Qi section (IQs) and promoting blood flow section (PBFs). To utilize the model of cold photochemical initiation of thrombosis to observe the effects of the whole of BYHW Tang, IQs and PBFs, respectively, on infarction size, VDP size, degree of vessel damage, localized cerebral blood flow, plasma tissue plasminogen activator (*t*-PA), plasminogen activator inhibitor (PAI) and plasma endothelin content. Result: BYHW Tang influences all indexes significantly. IQs and PBFs both have the actions of limiting infarction size and degree of vessel damage, promoting of cerebral blood flow and inhibiting PAI activity. On the other hand, reducing the size of VDP and increasing the activity of *t*-PA by BYHW Tang come mainly from IQs, and the effect of reducing ET content is based on PBFs. Conclusion: The IQs is emphasized in the prescription of BYHW Tang. It can enhance the activity of fibrinolytic system and reduce the VDP size. The result hints BYHW Tang is not only formulated for stroke caused by deficiency of Qi, but also effective for the treatment of ischemic stroke.

**Key words:** cerebral infarction; vessel damage penumbra; cerebral blood flow; *t*-PA; PAI

补阳还五汤为清代名医王清任所创, 始载于《医林改错》, 其中黄芪生用, 取其性微温, 补气升阳之中兼有行气于卫表之功, 为君; 当归用尾, 取其行血破瘀之功, 为臣; 赤芍、川芎、桃仁、红花助归尾活血祛瘀; 地龙通经活络, 为佐使。意在补气行气为主, 行血破瘀为辅。

现代对补阳还五汤的临床及药理研究众多, 临床应用涉及中枢神经系统<sup>[1]</sup>、心脑血管系统<sup>[2]</sup>、消化

系统<sup>[3]</sup>以及周围神经系统疾病<sup>[4]</sup>, 药理研究发现补阳还五汤可改善微循环<sup>[5]</sup>, 改善血流变状态, 及血流动力学指标<sup>[6]</sup>, 抗氧化<sup>[7]</sup>, 抗炎, 和调节免疫<sup>[8]</sup>。但在影响纤溶系统方面报道较少, 对血管损伤半暗带的影响尚无报道, 因此我们利用本实验室建立的冷光源光化学诱导血栓形成及血管损伤半暗带大鼠动物模型, 观察了补阳还五汤及其拆方对光化学诱导脑梗塞大鼠梗塞灶范围、血管损伤半暗带范围及程度、血管损伤带脑组织局部血流下降率、血浆 *t*-PA (组织纤溶酶原激活剂)、PAI (纤溶酶原激活剂抑制物) 活性及血浆 ET (内皮素) 含量的影响。

### 1 材料与方法

收稿日期: 2000-07-14

基金项目: 国家九五攀登预选项目 NO: 95-预-32

**1.1 动物** Wistar 大鼠, 体重  $250 \pm 10\text{g}$ , 购于北京医科大学动物中心, 动物证号: 医动字 01—3056, 饲养处为本所动物饲养中心。

**1.2 药物** 中药饮片由北京中医药大学附属东直门医院中药房提供。参照原方用量比例黄芪: 当归尾: 赤芍: 地龙: 川芎: 桃仁: 红花 = 40: 2: 1.5: 1: 1: 1: 1, 总方、补气药(黄芪)、活血药(当归尾、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花) 分别按传统煎法, 先煎 40min, 二煎 30min, 两煎合兑。根据成人每日需要的生药量  $142.5\text{g}$  换算为大鼠每日生药量  $12.8\text{g/kg}$  体重, 浓缩为总方  $1.28\text{g/ml}$ , 补气药  $1.08\text{g/ml}$ , 活血药  $0.20\text{g/ml}$ 。

**1.3 分组方法** 共分五组, 总方组( $12.8\text{g/Kg}$ )、补气组( $10.80\text{g/Kg}$ )、活血组( $2.03\text{g/Kg}$ )、模型组、假手术组, 每组动物 8 只, 总方组、补气组、活血组每日给药一次, 每次  $10\text{ml/Kg}$ 。连续灌胃一周, 模型组及假手术组给等体积的蒸馏水。手术前 1h 各组灌胃一次。

**1.4 诱发局灶性脑梗塞方法及步骤** 光源: 冷光仪(中国医学科学院血液学研究所生产的 HT-1 型):  $150\text{W}$   $24\text{V}$  金属卤化灯为发光光源, 光导纤维传送。滤去全部紫外线与红外线, 投射出单一绿色光束, 波长为  $560 \pm 30\text{nm}$ , 光导纤维输出口至照射区距离为  $2\text{mm}$ , 光束投射中心直径为  $0.4\text{cm}$ , 光照强度为  $5.6 \times 10^5 \text{cd/m}^2$ , 照射中心最高温度为  $27.0^\circ\text{C}$ 。化学诱导剂: 化学荧光染料四碘四氯荧光素二钠(rose bengal RB), 分子量为  $1017.60$ , 分析纯(北京化工厂 810627)。取 RB 溶于  $0.9\%$  生理盐水中, 浓度为  $5.0\%$ , 经  $0.45\mu\text{m}$  超滤后遮光低温保存备用。

手术方法:  $3.5\%$  水合氯醛( $0.35\text{g/kg}$  体重)腹腔注射麻醉。头顶备皮, 常规皮肤消毒, 沿头正中切口, 暴露颅骨, 使用眼科异物针, 小心剥离右侧附着于顶骨处的软组织及肌肉, 电凝止血, 完全暴露右侧顶骨, 使用自制微型开颅钻( $3\text{V}$   $1\text{W}$ ), 钻头为直径  $0.5\text{cm}$  平头金钢砂磨钻, 以矢状缝右侧  $0.3\text{cm}$ 、冠状缝后  $0.3\text{cm}$  为中心开直径  $0.6\text{cm}$  的颅窗, 去除颅骨表层骨板及髓层, 保留下层骨板及硬脑膜, 磨孔过程中生理盐水反复冲洗创面, 消除操作过程中产生的机械热及残骨渣。

股静脉注射  $5\%$  RB ( $125\text{mg/kg}$ ), 时间为  $1\text{min}$ 。大鼠颅脑定位仪(上海仪器厂)固定。采用多普勒激光探头(生理多导仪 BIOPAC Systems Inc. MP100A-CE), 测量照射前后如“图 1”所示区域脑组织血流量, 注意避开大血管。注射 RB 结束后  $5\text{min}$ , 移入光导纤维照射  $10\text{min}$ 。光照期间, 使用 BIOPAC Systems

Inc. MP 100A-CE 多导生理记录仪监测心率及呼吸率。整个手术过程中, 环境温度保持于  $25.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。

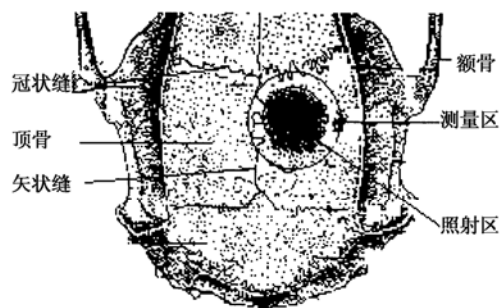


图 1 头骨(背侧面)

**1.5 实验指标观察方法** 实验组动物严格于光照结束后  $10\text{min}$ , 假手术组于注射 RB 结束后  $25\text{min}$ , 右侧眼眶取血共  $2\text{ml}$ , 按 *t*-PA PAI ET 各试剂盒要求分别处理并保存。取血后立刻经舌下静脉注射  $1\%$  Evans Blue(Fluka, 分析纯)  $1\text{ml}$ ,  $1\text{h}$  后断头取脑, 去除小脑及嗅球, 环形闪光灯照相。右侧大脑半球称重, 加入  $0.5\%$   $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $3\text{ml}$ 、丙酮  $7\text{ml}$ , 匀浆, 密闭静置过夜, 测量  $620\text{nm}$  处 OD 值, 计算平均每克脑组织的 OD 值—血管损伤半暗带程度。大脑两半球近照片扫描输入计算机, 采用 Scan Wizard 扫描软件及 Scan-MakerX6EL 扫描仪(MICROTEK International, Inc), 经图象分析软件(普利生仪器公司)计算梗塞灶(红染区)及 VIP(蓝染区)的范围(占右半脑的相对面积)。计算光照前后梗塞周边大脑中动脉上游供血区(测量区)脑组织血流量下降率。

*t*-PA PAI 活性测定: 发色底物法, 按试剂盒(太阳生物技术公司, 批号 990901)说明测定, 酶标仪: Bio-Rad Laboratories, Inc. 450。  $37^\circ\text{C}$  湿箱孵育前酶标仪测定各孔校正值, 反应后各孔均减去校正值。ET 含量测定: 放免法, 送检东亚生物技术公司。

数据统计: 各组间方差齐性检验采用 F 检验, 各组间均数比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

**2.1 一般情况的观察** 在光化学诱导期间, 全部动物生命体征基本平稳, 呼吸率为  $75 \pm 18$  次/分, 心率  $260 \pm 30$  次/分, 与假手术组无差别; 所有实验动物在 RB 注射后  $20 \pm 2\text{min}$  排尿。

**2.2 模型组与假手术组比较** 模型组动物在右侧大脑半球均出现与光照范围基本相似的红色区域(梗塞区), 及梗塞区周围由深至浅的蓝染区(血管损伤半暗区), 假手术组则无此表现。

脑组织局部血流、血浆 *t*-PA、PAI 活性及血浆 ET 含量各指标, 模型组与假手术组均有显著性差异, 具体数值见表 1。

**2.3 补阳还五汤总方组、补气组、活血组与模型组比较** 梗塞范围: 各组均有显著性减少; 血管损伤半暗带范围: 总方组、补气组有显著性减小; 梗塞周边

血管损伤程度: EB-OD 值/mg 脑组织各组均有显著性减小; 梗塞灶周围测量区脑组织局部血流下降率: 各组均有显著性减小; 血浆 *t*-PA 活性: 总方组、补气组有显著性增加; 血浆 PAI 活性: 各组均有显著性降低; 血浆 ET 含量: 总方组、活血组有显著性降低。见表 1。

表 1 各组实验数据比较( $\bar{x} \pm s; n: 8$ )

	假手术组	模型组	总方组	补气组	活血组
梗塞范围(%)	0	11.6 ± 0.7	9.1 ± 1.1***	9.7 ± 1.9*	9.5 ± 1.0***
VIP 范围(%)	0	36.8 ± 1.6	28.5 ± 4.1***	27.4 ± 4.0***	37.8 ± 2.5
EB-OD 值/mg 脑组织	0.082 ± 0.018***	0.180 ± 0.019	0.149 ± 0.026*	0.151 ± 0.025*	0.151 ± 0.016**
脑组织血流下降率(%)	0.005 ± 0.103***	0.721 ± 0.040	0.584 ± 0.132*	0.613 ± 0.090*	0.639 ± 0.093*
血浆 <i>t</i> -PA 活性(IU/ml)	0.40 ± 0.13**	0.20 ± 0.06	0.42 ± 0.04***	0.31 ± 0.10*	0.24 ± 0.07
血浆 PAI 活性(AU/ml)	0.86 ± 0.08*	0.97 ± 0.05	0.78 ± 0.03***	0.80 ± 0.08***	0.72 ± 0.08***
血浆 ET 含量(pg/ml)	116.0 ± 26.1**	152.5 ± 18.4	126.6 ± 16.6*	131.9 ± 26.5	115.5 ± 12.4***

注: 与模型组比较\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

### 3 讨论

本实验使用的“冷光源光化学诱导血栓形成动物模型”利用已建立的光化学诱导血栓形成动物模型的原理<sup>[9]</sup>, 通过造成严重的血管内皮损伤, 短时间内形成光照区内完全的血栓梗塞灶。由于正常情况下 RB 只在血管内流动, 不能透过完整的血脑屏障, 但在血管损伤过程中, 血脑屏障开放, 管腔内 RB 大量渗透入血管周围及组织中, 相继的微血管栓塞又不能将其带走, 滞留于组织内便形成了肉眼可见的红染区。在梗塞区形成后, 再注射 EB, 梗塞区内因无血流, EB 不可能进入, 而周边血管不同程度的损伤, 导致 EB 不同程度的渗出血管, 便形成由深至浅的蓝色过渡带, 这样便可一目了然地分清梗塞灶与周边血近损伤带, 由于本实验的血栓形成与人类脑血栓形成的机制较相似, 启动了血栓形成过程中的血管内皮受损—凝血纤溶系统及血栓形成后的缺血性脑损伤系统。因此, 采集附近的静脉血通过对 *t*-PA、PAI 活性及 ET 含量的测定, 可以了解血栓形成过程中动物体纤溶系统以及血管调节因子的变化。预防性给药后, 可以观察药物对模型动物上述各指标的影响。

我们在实验中发现补阳还五汤可显著地减少梗塞面积、改善梗塞上游供血区脑组织血流, 补气药与活血药单独应用也有同样功效。其机理可能与增强血浆纤溶活性、降低血浆 ET 含量及减少血管的损伤程度并缩小损伤范围有关。其中, 补气药与活血药表现出不同的作用。

血浆 *t*-PA 及其抑制物 PAI 是反映体内纤溶活

性的重要指标, 在血栓形成后, 其含量有明显的变化, 表现为 *t*-PA 活性下降及 PAI 活性的增高<sup>[10]</sup>, 模型组动物已表现出这种变化。补阳还五汤显著地提高了血浆 *t*-PA 的活性并降低了 PAI 的活性, 其中补气药对 *t*-PA、PAI 均有影响, 而活血药对 *t*-PA 未显示影响, 却较明显地降低 PAI 的活性, 这提示补气药与活血药从不同角度影响纤溶活性, 以某种方式共同发挥作用。

ET 是血管舒缩调节因子, 具有强烈的缩血管作用, 大量研究表明: ET 与脑血管痉挛及脑缺血损伤的关系非常密切, 急性缺血性脑中风患者血浆 ET 含量明显升高<sup>[11]</sup>, 模型组动物也有同样结果。补阳还五汤能显著地降低血浆 ET 的含量, 其作用可能主要来自活血药, 因补气药单用时作用不够明显。这也提示活血药减少梗塞面积, 改善血管损伤程度的机理可能与降低血浆 ET 有关。

近年来, 随着对脑缺血病生理研究的不断深入, 提出缺血半暗区及治疗时间窗的概念, 将缺血半暗区, 即可逆性损伤组织作为治疗的主要着眼点, 对其治疗的成功与否直接关系到最终的硬塞面积及日后的恢复。目前缺血半暗区的概念不断发展, 内含不断拓展, 提出了不同角度的缺血半暗区概念, 我们利用冷光源光化学诱导血栓形成的模型观察了补阳还五汤对血管损伤半暗区的影响, 结果显示补阳还五汤可明显改善血管的损伤程度并缩小损伤范围, 其作用主要来源于补气药, 活血药仅对血管损伤程度有改善作用, 对损伤范围无影响, 提出补气药不仅可减轻梗塞灶对周围血管的损伤, 同时控制了影响区

域,为局限梗塞区域,及日后损伤组织的修复创造了有利的条件。

王清任素以活血破瘀见长,而补阳还五汤组方配伍却一反其用药习惯,纵观全方:生黄芪用至四两(120g),占全方用药量的84.21%,而六味活血药的总和只占15.79%,且活血药的绝对用量要比王清任所创其它活血方剂,如血府逐瘀汤、通窍活血汤、膈下逐瘀汤,减少1/3至1/2,旨在气旺血行,脉络通畅而还五。从现代医学角度看,补阳还五汤的配伍原则,符合脑血栓发病的病生理规律,重用补气药,不仅对纤溶活性增强有显著作用,而且可显著地减少血管损伤半暗区的范围,作为辅助作用的活血药在此用量时,已表现出对PAI及ET的抑制,从其它环节减轻了组织损伤程度。因此,我们认为此方并非专为气虚中风所设,对缺血性脑中风治疗具有普遍意义。

#### 参考文献:

- [1] 沈强,郑其进,彭胜权.自血光量子氧合补阳还五汤治疗中风后遗症的临床研究[J].中国中西医结合杂志,1993,13(7):402—404.
- [2] 孙明异.补阳还五汤加味治疗缓慢性心律失常[J].中

医杂志,1995,36(2):81—82.

- [3] 吴子静.补阳还五汤加味治疗肝硬化腹水50例[J].浙江中医杂志,1995,12(4):151.
- [4] 赵翠萍,秦刚善,王健智,等.加味补阳还五汤对周围神经损伤后神经机能恢复的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,1996,4(2):4—7.
- [5] 胥保生,张佩华,何英,等.补阳还五汤煎剂、水煎剂及冲剂在心血管系统方面的药理作用[J].中成药研究,1986,8(3):28—29.
- [6] 许青缓,谢人明,陈春梅,等.补阳还五汤对动物脑循环与血液流变学影响的实验研究[J].中成药研究,1990,12(12):25—26.
- [7] 张道杰,吴玉生,彭立义,等.补阳还五汤治疗早期缺血性中风SOD,MDA变化的研究[J].中药药理与临床,1995,11(6):48—49.
- [8] 段泾云.补阳还五汤抗炎免疫药理作用[J].中西医结合杂志,1989,9(3):164—166.
- [9] Watson BD. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis[J]. Ann Neurol, 1985, 17: 497.
- [10] Alters A. Hemastatic disturbances in acute ischemic strokes: a study of 86 patients[J]. Acta Haematol, 1995, 94: 10.
- [11] Hanziv MD. Increased plasma endothelin 1 in acute ischemic stroke[J]. Stroke, 1992, 12: 141.