

益气活血方对气虚血瘀证大鼠血管内皮功能的影响

黄婷婷^{1,2}, 韩笑², 刘建勋^{2*}, 史雅红², 李磊², 尹春园^{1,2}, 任钧国²

(1. 北京中医药大学 研究生院, 北京 100029;

2. 中国中医科学院 西苑医院 基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091)

[摘要] **目的:**探讨气虚血瘀证大鼠血管内皮细胞功能变化及益气活血方(YQHXF)对其的影响。**方法:**实验分为空白组,气虚血瘀组,YQHXF高、低剂量组(5.54,2.77 g·kg⁻¹)。采用水环境小平台站立长期无规律、不完全的睡眠剥夺法,每天剥夺16 h,持续6周,制造大鼠神劳加体劳的双重消耗建立大鼠气虚血瘀证候模型,自第5周开始灌胃给药,连续给药2周至实验结束。酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠血浆中内皮素-1(ET-1),血管性血友病因子(vWF),血管细胞黏附分子-1(VCAM-1),细胞间黏附分子(ICAM-1),P选择素,白细胞介素-6(IL-6),肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量,硝酸还原酶法检测一氧化氮(NO)水平。**结果:**与空白组比较,气虚血瘀组大鼠呈现毛发粗糙晦暗,体质量、脉搏幅度显著降低($P < 0.01$),舌面R, G, B值显著降低($P < 0.01$),全血黏度高、中切值,血浆黏度均显著增高($P < 0.01$),ET-1, vWF, VCAM-1, ICAM-1, P选择素, IL-6, TNF-α等血管内皮功能相关指标明显升高($P < 0.05, P < 0.01$);与气虚血瘀组比较,YQHXF高、低剂量可显著升高气虚血瘀证大鼠脉搏幅度及舌面R, G, B值($P < 0.01$),明显降低全血黏度高、中、低切值及血浆黏度($P < 0.05, P < 0.01$),同时明显降低大鼠ET-1, IL-6, VCAM-1, P选择素水平($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**睡眠剥夺法可诱导大鼠气虚血瘀证形成,并可导致血管内皮功能失调。YQHXF具有保护血管内皮的功能,通过调节血管内皮活性物质分泌、减少细胞黏附、抑制炎症等途径改善气虚血瘀证大鼠气虚及血瘀症状。

[关键词] 睡眠剥夺; 气虚血瘀证; 血管内皮细胞功能; 益气活血方; 补阳还五汤

[中图分类号] R289;R241.8;R714.252;R331.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)08-0040-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20190838

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190102.1038.005.html>

[网络出版时间] 2019-01-04 11:05

Effect of Yiqi Huoxue Recipe on Vascular Endothelial Function in Rats with Qi Deficiency and Blood Stasis Syndrome

HUANG Ting-ting^{1,2}, HAN Xiao², LIU Jian-xun^{2*}, SHI Ya-hong², LI Lei²,
YIN Chun-yuan^{1,2}, REN Jun-guo²

(1. Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Institute of Basic Medical Sciences, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the changes and benefits of vascular endothelial cell function in rats with qi deficiency and blood stasis syndrome, and the effect of Yiqi Huoxue recipe (YQHXF) of such changes. **Method:** Rats were randomly divided into blank control group, Qi deficiency and blood stasis group, and YQHXF high and low dose groups (5.54, 2.77 g·kg⁻¹). A small platform of water environment was used to make the rats stand for a long-term with irregular and incomplete sleep deprivation, 16 h per day for six weeks, so that both mentality and labor of rats were consumed to establish qi deficiency and blood stasis rat models. From the fifth

[收稿日期] 20181113(010)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2015CB554405)

[第一作者] 黄婷婷,在读硕士,从事心血管药理学研究,E-mail: hu826913@126.com

[通信作者] *刘建勋,博士,研究员,从事心脑血管药理学和新药研究,E-mail: liujx0324@sina.com

week, intragastric administration was given for 2 weeks, until end of the experiment. Then levels of endothelin-1 (ET-1), von willebrand factor (vWF), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule (ICAM-1), P-selectin, interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in rat plasma were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nitric oxide (NO) was detected by nitrate reductase assay. **Result:** Compared with blank control group, rats in Qi deficiency and blood stasis group showed rough and dark hair, with significantly decreased body weight and pulse amplitude ($P < 0.01$); R, G, B values of the tongue surface were decreased significantly ($P < 0.01$); high and moderate shear values of whole blood viscosity, as well as plasma viscosity were significantly increased ($P < 0.01$), and the indexes of vascular endothelial function such as ET-1, vWF, VCAM-1, ICAM-1, P-selectin, IL-6 and TNF- α were abnormally increased after sleep deprivation ($P < 0.05$, $P < 0.01$). High and low dose YQHXF significantly increased the pulse amplitude and tongue R, G, B values ($P < 0.01$), reduced the high, moderate and low shear values of whole blood viscosity, as well as plasma viscosity ($P < 0.05$, $P < 0.01$); at the same time, the levels of ET-1, IL-6, VCAM-1 and P-selectin in rats were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Sleep deprivation can induce the formation of Qi deficiency and blood stasis syndrome in rats, and lead to vascular endothelial dysfunction. YQHXF has the function of protecting the vascular endothelium. It can improve the Qi deficiency and blood stasis symptoms in rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome by regulating the secretion of vascular endothelial active substances, reducing cell adhesion and inhibiting inflammation.

[**Key words**] sleep deprivation; Qi deficiency and blood stasis syndrome; vascular endothelial cell function; Yiqi Huoxue Recipe; Buyang Huanwu Tang

气血理论为中医学的核心理论之一,其核心在于“气血相关,相互为用”,即“气为血之帅,血为气之母”。气血失和,气病及血,血病及气,气血同病是心脑血管病的基本中医病机,从气血论治已成为治疗心脑血管疾病的重要方法。研究表明,气虚血瘀是慢性心力衰竭和脑梗死恢复期的最主要的病理改变,益气活血法为主治疗慢性心力衰竭和脑梗死恢复期,可显著改善患者的生活质量和远期预后^[1-2]。研究表明益气活血方(YQHXF)作用机制主要包括改善心功能、改善血液流变学、保护血管内皮、减轻炎症反应、减轻氧化应激等^[3]。对气虚证的生物学基础研究发现,气虚证与细胞内能量代谢低下、免疫球蛋白水平异常和淋巴细胞转化率降低、细胞因子和血管活性物质及相关基因、蛋白水平的变化有关^[4]。关于气的概念,至今未有比较明确和统一的表述。对于“血脉之气”的生物学基础,亦缺乏系统深入的研究。

近年来,现代医学在防治心脑血管疾病方面,除重视抗血小板、抗血栓形成外,也越来越重视血管功能,尤其是血管内皮功能,这与中医学气血相关的整体观有相通之处。血管内皮功能障碍是诱发许多心脑血管疾病的始动环节和最终共同途径^[5-7]。对气虚血瘀证的病理生理基础研究发现,血管内皮细胞作为一个功能复杂、代谢活跃的心血管内分泌器官,

其内分泌功能紊乱是导致气虚血瘀证病理生理异常的根本原因,表现在表达和分泌血管活性物质、凝血、抗凝及纤溶等物质异常^[8]。气虚则不能运血,气不能行,血不能荣,脉络瘀阻。YQHXF由经典名方补阳还五汤的加减而来,由黄芪、桃仁、西红花、赤芍、川芎、当归、生地黄等组成。补阳还五汤出自清代名医王清任的《医林改错》,为益气活血化瘀的代表方剂,在治疗气虚血瘀证心脑血管疾病中具有良好的疗效。临床研究表明补阳还五汤可有效缓解气虚血瘀证冠心病患者的临床症状,改善心电图缺血征象及提高患者生活能力评分、改善神经功能缺损程度^[9-10]。近年来,研究者对补阳还五汤的临床疗效及动物病证结合模型药理作用机制进行了深入探索,但尚未见补阳还五汤对气虚血瘀证大鼠模型关于内皮功能的研究。

本实验基于与气血紧密相关的脏象理论,提出血为气母主要表现为血液运载营养和活性物质。血管调节紊乱、内皮功能障碍和血液异常等是气血失和,气虚血瘀证的主要病理环节。因此本课题组采用长期无规律、不完全睡眠剥夺法建立大鼠气虚血瘀证候模型,在此模型基础上从血管内皮细胞损伤及功能障碍角度探讨气虚血瘀证实质并探讨YQHXF对气虚血瘀证大鼠血管内皮细胞功能、炎症反应、细胞黏附的影响。

1 材料

1.1 动物 正常 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体重 200 ~ 220 g, 购于维通利华实验动物技术有限公司, 动物合格证号 SCXK(京)2016-0006。饲养于中国中医科学院西苑医院 SPF 级实验动物中心, 许可证号 SYXK(京)2015-0011。本实验经中国中医科学院西苑医院伦理委员会审批通过, 编号 2018XLC003-2。

1.2 药物 YQHXF 为传统补阳还五汤的加减方, 由黄芪 30 g, 桃仁 12 g, 西红花 9 g, 赤芍 6 g, 川芎 9 g, 当归 9 g, 生地黄 9 g 组成, 为配方颗粒, 华润三九医药股份有限公司提供, 批号 1511001Y。

1.3 材料与试剂 异氟烷(鲁南贝特制药有限公司, 批号 64160305); 医用水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司, 批号 20131027); 肝素钠注射液(常州千红生化制药股份有限公司, 批号 H32022088); 白细胞介素-6(IL-6), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 细胞间黏附分子(ICAM-1), P 选择素大鼠酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国 Ray Biotech 公司, 批号分别为 0706180724A, 0706180709A, 0706180722A, 0706180772A); 大鼠内皮素-1(ET-1), 血管性血友病因子(vWF), 血管细胞黏附分子(VCAM-1)ELISA 试剂盒(武汉云克隆科技股份有限公司, 批号分别为 LT180709701, L180628258, L180628228); 一氧化氮(NO)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号 A013-1)。

1.4 仪器 Mouse Ox 型小动物无创脉搏血氧仪(美国 Starr Life Science Inc 公司); VIP 3000 型小动物麻醉机(美国 Midmark Matrix 公司); ES-1100 型电子天平(长沙湘平科技发展有限公司); Casmach 型比色卡(日本 Bear Medic 公司); D90 型数码单镜反光相机(日本 Nikon 公司); LBY-N6C 型全自动血液流变测定仪(北京普利生仪器有限公司); 水环境小平台盒(自制)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 适应性喂养 3 d 后, 按照体质量随机分为 4 组: 空白组, 气虚血瘀组, YQHXF 高、低剂量组(5.54, 2.77 g·kg⁻¹), 每组 10 只。根据国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目中北京中医药大学东方医院 YQHXF 临床用药量为 19.4 g·d⁻¹, 相当于含生药 143 g·d⁻¹。因此大鼠自睡眠剥夺第 5 周开始给药, YQHXF 高剂量组每天给予颗粒配方 5.54 g·kg⁻¹, 相当于 2 倍临床等效剂量, YQHXF 低

剂量组每天给予颗粒配方 2.77 g·kg⁻¹, 相当于临床等效剂量。二者均以水溶, 每天灌胃给药, 灌胃体积为 10 mL·kg⁻¹, 空白组和气虚血瘀组每日给予相同体积纯水灌胃, 持续 2 周。

将大鼠放入水深 3.5 cm 的水环境小平台盒里, 每个盒里有 6 个小平台(直径 6 cm, 高 4 cm), 每盒放 5 只大鼠, 用带有食槽的铁丝网盖住, 大鼠不能逃脱但可以自由进食饮水, 每天随机睡眠剥夺 16 h 后取出, 回笼, 正常饮食饮水。实验室保持自然昼夜光照, 室温和水温均控制在 22 ~ 24 °C, 每天更换盒中的水。睡眠剥夺 6 周建立大鼠气虚血瘀证模型。以其一般状态如毛发、精神状态、体质量, 脉搏幅度, 舌像, 血液流变学变化作为模型成立的基本指标^[11-14]。

2.2 指标检测

2.2.1 大鼠一般状态观察 6 周造模结束后, 在安静环境下观察大鼠一般体征, 包括精神状态、活动情况、毛发以及体质量变化等。

2.2.2 脉搏幅度检测 使用小动物麻醉机对大鼠进行持续气体麻醉(2% 异氟烷复合氧气), 使用 Mouse Ox 型小动物无创脉搏血氧仪对大鼠脉搏幅度进行检测, 待大鼠状态平和, 数据平稳之后连续记录 30 个有效数据, 取平均值。

2.2.3 舌象分析 造模结束后, 采集大鼠舌面图像。大鼠用 2% 异氟烷进行气体麻醉, 用弯镊将其舌头夹出, 拍照时比色卡与舌面始终保持在同一平面, 然后将采集的大鼠舌面图像, 利用 Adobe Photoshop CS5 软件进行处理分析, 取所有图片的标准比色卡的相同位置记录色彩三原色, 红色(R), 绿色(G), 蓝色(B), 并取平均值作为标准值, 在此前提下, 所有动物的舌面均取舌中部相同部位 3 个邻近点并记录 R, G, B, 取平均值, 用绝对中性灰的色彩 RGB 值(R = G = B = 128)除比色卡灰色色块的平均 RGB 值乘舌面采集平均 RGB 值, 得到舌面 R, G, B 的相对值^[12]。公式为 X 相对值 = 128/X 比色卡值 × X 舌面值(X = R, G, B)。

2.2.4 旋转法检测全血黏度和血浆黏度的含量 水合氯醛腹腔注射(400 mg·kg⁻¹)麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 肝素抗凝, 3 000 r·min⁻¹离心 10 min 取血浆, 全自动血液流变测定仪检测全血黏度和血浆黏度含量。

2.2.5 ELISA 及硝酸还原酶法检测血管内皮细胞功能相关指标的含量 大鼠腹主动脉取血, 3.8% 枸橼酸钠抗凝管及 EDTA 抗凝管抗凝。4 °C

1 600 r·min⁻¹离心 10 min 分离血浆, -80 ℃冻存待检测。实验步骤严格按照试剂盒说明书进行,检测相关指标含量。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件对实验结果进行统计分析,所有实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠一般状态及体质量的影响 空白组大鼠精神状态与活动均正常,毛色洁白有光泽;气虚血瘀组大鼠精神萎靡,自主活动降低,毛发粗糙晦暗,体型消瘦,与空白组比较,气虚血瘀组大鼠体质量显著降低($P < 0.01$);与气虚血瘀组比较,YQH XF 高、低剂量组大鼠精神状态、毛色等有一定的改善,体质量显著升高($P < 0.01$)。见表 1。

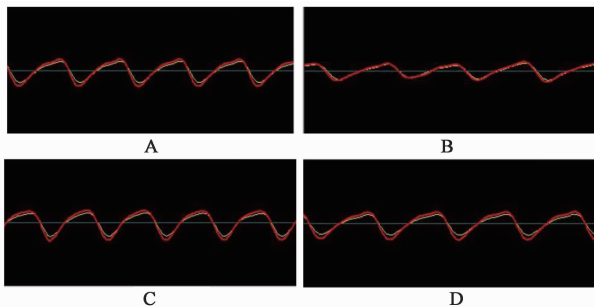
表 1 YQH XF 对气虚血瘀证大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of YQH XF on body weight of rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s, n = 10$) g

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	0 周	3 周	6 周
空白	-	237.11 ± 9.33	350.57 ± 22.29	448.56 ± 12.49
气虚血瘀	-	237.57 ± 6.18	297.30 ± 13.11 ¹⁾	355.20 ± 27.28 ¹⁾
YQH XF	5.54	238.38 ± 8.11	288.42 ± 7.75 ²⁾	341.40 ± 24.60 ²⁾
	2.27	233.47 ± 6.48	285.97 ± 10.33 ²⁾	343.20 ± 27.05 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与气虚血瘀组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

3.2 对大鼠脉搏幅度的影响 与空白组比较,气虚血瘀组大鼠脉搏幅度显著降低($P < 0.01$);与气虚血瘀组比较,YQH XF 高、低剂量组大鼠脉搏幅度显著升高($P < 0.01$)。见图 1,表 2。



A. 空白组;B. 气虚血瘀组;C. YQH XF 高剂量组;D. YQH XF 低剂量组(图 2 同)

图 1 YQH XF 对气虚血瘀证大鼠脉搏幅度的影响

Fig. 1 Effect of YQH XF on pulse amplitude in rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome

表 2 YQH XF 对气虚血瘀证大鼠脉搏幅度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of YQH XF on pulse amplitude in rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	脉搏幅度/ μm
空白	-	74.74 ± 10.51
气虚血瘀	-	38.02 ± 6.81 ¹⁾
YQH XF	5.54	76.70 ± 14.43 ²⁾
	2.27	69.64 ± 5.17 ²⁾

3.3 对大鼠舌象图像 R,G,B 值的影响 与空白组比较,气虚血瘀组舌色紫暗,舌面色彩分析的 R,G,B 值均显著降低($P < 0.01$);与气虚血瘀组比较,YQH XF 高、低剂量组较气虚血瘀组的 R,G,B 值均显著升高($P < 0.01$)。见图 2,表 3。

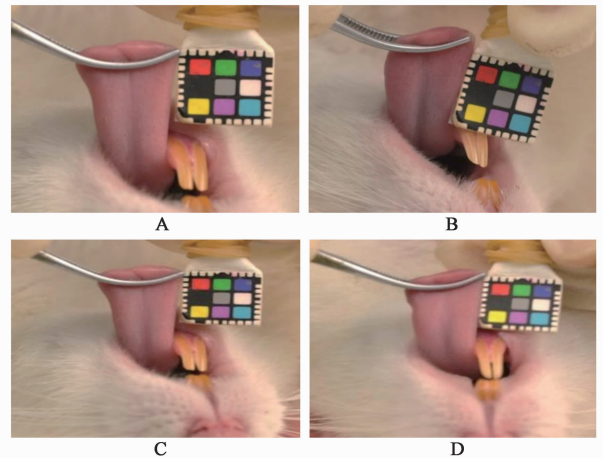


图 2 YQH XF 对气虚血瘀证大鼠舌象影响

Fig. 2 Effect of YQH XF on tongue image of rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome

表 3 YQH XF 对气虚血瘀证大鼠舌象 R,G,B 值的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of YQH XF on tongue R, G and B in rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	R	G	B
空白	-	10	151.40 ± 6.09	94.53 ± 4.87	102.74 ± 5.33
气虚血瘀	-	10	136.94 ± 6.20 ¹⁾	82.37 ± 4.69 ¹⁾	90.13 ± 5.05 ¹⁾
YQH XF	5.54	10	146.77 ± 2.80 ²⁾	93.66 ± 2.95 ²⁾	102.65 ± 4.64 ²⁾
	2.27	9	148.23 ± 5.28 ²⁾	91.25 ± 4.32 ²⁾	99.13 ± 4.78 ²⁾

3.4 对大鼠血液流变学的影响 与空白组比较,气虚血瘀组全血黏度高、中切值,血浆黏度均显著增高($P < 0.01$);与气虚血瘀组比较,YQH XF 高、低剂量组全血黏度高、中、低切值,血浆黏度均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 4。

表 4 YQHXF 对气虚血瘀证大鼠血液流变学的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of YQHXF on hemorheology of rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	全血黏度			血浆黏度/mPa·s
			低切(5 s ⁻¹)	中切(60 s ⁻¹)	高切(150 s ⁻¹)	
空白	-	10	11.34 ± 1.30	5.45 ± 0.33	4.38 ± 0.25	1.12 ± 0.03
气虚血瘀	-	9	12.34 ± 2.40	6.24 ± 0.91 ¹⁾	4.91 ± 0.56 ¹⁾	1.17 ± 0.05 ¹⁾
YQHXF	5.54	9	10.42 ± 0.80 ²⁾	5.46 ± 0.35 ³⁾	4.40 ± 0.28 ³⁾	1.10 ± 0.07 ³⁾
	2.27	8	10.60 ± 1.72 ²⁾	5.15 ± 0.33 ³⁾	4.14 ± 0.14 ³⁾	1.11 ± 0.03 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.01;与气虚血瘀组比较²⁾ P < 0.05,³⁾ P < 0.01。

3.5 对大鼠血管活性物质及炎症因子水平的影响
与空白组比较,气虚血瘀组大鼠血管内 ET-1, vWF, IL-6, TNF-α 水平显著升高(P < 0.01);与气虚血瘀组

比较,YQHXF 高、低剂量组 ET-1, IL-6 水平均明显降低(P < 0.05, P < 0.01)。表明 YQHXF 对大鼠血管活性物质及炎症因子水平有改善作用。见表 5。

表 5 YQHXF 对气虚血瘀证大鼠血管活性物质及炎症因子的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of YQHXF on vasoactive substances and inflammatory factors in rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	ET-1/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	vWF/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-6/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	TNF-α/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	-	4.39 ± 1.81	160.25 ± 16.47	124.20 ± 22.35	76.24 ± 2.35	596.65 ± 61.55
气虚血瘀	-	1.75 ± 0.86 ²⁾	197.21 ± 16.58 ²⁾	184.71 ± 20.91 ²⁾	214.05 ± 8.10 ²⁾	921.37 ± 109.25 ²⁾
YQHXF	5.54	3.15 ± 0.66	156.61 ± 8.80 ⁴⁾	153.18 ± 5.20 ⁴⁾	102.11 ± 8.61 ⁴⁾	711.61 ± 77.83 ⁴⁾
	2.27	2.98 ± 1.23	159.08 ± 19.55 ⁴⁾	170.25 ± 15.85	169.61 ± 14.83 ⁴⁾	770.10 ± 55.72 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.05,²⁾ P < 0.01;与气虚血瘀组比较³⁾ P < 0.05,⁴⁾ P < 0.01(表 6 同)。

3.6 对大鼠血浆 VCAM-1, ICAM-1, P 选择素含量的影响
与空白组比较,气虚血瘀组大鼠血浆 VCAM-1, ICAM-1, P 选择素明显升高(P < 0.05,

P < 0.01);与气虚血瘀组比较,YQHXF 高剂量组大鼠血浆中 VCAM-1, P 选择素明显降低(P < 0.05)。见表 6。

表 6 YQHXF 对气虚血瘀证大鼠血浆 VCAM-1, ICAM-1, P 选择素含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effect of YQHXF on plasma VCAM-1, ICAM-1 and P-selection contents in rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	VCAM-1	ICAM-1	P 选择素
空白	-	193.45 ± 26.56	3 318.01 ± 778.21	87.58 ± 21.05
气虚血瘀	-	302.39 ± 63.15 ²⁾	4 659.11 ± 646.18 ¹⁾	148.82 ± 87.33 ²⁾
YQHXF	5.54	230.36 ± 32.57 ³⁾	2 045.61 ± 504.50	77.49 ± 28.70 ³⁾
	2.27	289.67 ± 54.39	2 495.94 ± 587.88	98.54 ± 17.08

4 讨论

气为血之帅,气行则血行,若气虚则血行无力,故气病致瘀为临床常见证候,且与诸多疾病相关。气虚血瘀证具有本虚标实的病理特点。研究表明气虚血瘀证的病理改变主要涉及微循环障碍、能量代谢异常、血液流变学改变、血小板功能障碍、内皮功能损伤及炎症等多方面。《黄帝内经·灵枢·经脉》中云:“脉不通则血不流”,可见,脉的功能正常是保

证血液循环的重要条件,脉的功能受损必然与血瘀证的发生有密切关系^[15]。血管内皮细胞通过合成与释放许多活性物质来调节血管张力和血液流动性及黏附性,对维持正常血管壁的通透性,血管的功能状态,凝血纤溶系统及炎症反应起着重要作用^[16]。内皮功能障碍主要是 NO 生物利用率下降,内皮介导的血管舒张减弱、血流动力学紊乱、纤溶能力受损、产生过多的生长因子、黏附分子以及炎症因子、

活性氧簇产物、氧化应激增加以及细胞渗透增强^[17]。

《黄帝内经·素问·阴阳应象大论》中有“定其血气,各守其乡,血实宜决之,气虚宜掣引之”的论述。气虚当补气,血瘀当活血,使气旺得以鼓动血行,促使血流通畅,致气血调和。故益气活血法是气虚血瘀证的基本治则^[18]。YQHXF为益气活血化瘀的代表方剂,方中重用黄芪补气以行血,当归尾活血,有祛瘀而不伤好血之妙,且当归的主要有效成分阿魏酸有明显的抗血栓作用;川芎的主要活血成分川芎嗪可扩血管、抗凝血,西红花能减轻缺血性脑水肿,对脑梗死动物的脑组织有保护作用,并可增加小鼠耐缺氧能力;桃仁能加速血液循环,抗血小板聚集;地龙能抗血管痉挛,保护血管内皮细胞。诸药合用,具有标本同治之功,在防治心脑血管疾病方面具有良好疗效。

本实验采用水环境小平台站立长期无规律、不完全的睡眠剥夺法造成大鼠神劳加体劳的双重消耗建立大鼠气虚血瘀证候模型,实验结果显示与空白组比较,睡眠剥夺可导致大鼠呈现毛发粗糙晦暗、精神萎靡不振,体质量、脉搏幅度显著降低等气虚症状;舌面图像呈现紫暗,舌色质以图像转化为R,G,B值进行定量分析,结果显示R,G,B值显著降低,提示动物舌色从红到青紫的演变,与肉眼观察结果一致。及血液流变学全血黏度(高、中切),血浆黏度均显著性升高等血瘀症状。本模型的建立既体现了中医“劳则气耗”“精气夺则虚”所呈现的神劳、体劳导致气虚的证候特点,也体现了“日久则虚”,气虚则血行无力,进而导致血瘀证的致病因素,符合现代人的致病特点。

血管收缩/舒张因子(ET-1/NO)是维持血管基础张力稳定的重要因素^[19]。且当血管内皮细胞受损时,vWF可使血小板发生黏附、聚集。研究发现,NO,ET-1,vWF与气虚血瘀证病理生理过程密切相关^[20-21]。本实验睡眠剥夺后模型组大鼠较空白组ET-1,vWF显著升高,提示其血管内皮细胞舒缩功能失调,促血管平滑肌细胞生长和增殖,增强血小板的黏附、聚集,血液黏度增加,从而也体现出上述血液流变学的异常改变,血液呈“黏”“浓”“凝”“聚”的状态。IL-6,TNF- α 是重要的炎症因子,二者在炎症反应中联系紧密,TNF- α 可诱导IL-6生成^[22]。本实验结果显示气虚血瘀证大鼠IL-6,TNF- α 较空白组均显著升高,提示在睡眠剥夺法造成的气虚血瘀证大鼠模型中,机体的炎性免疫反应可能在血瘀证

形成过程中起重要作用。

细胞黏附也是机体最基本的一种现象,细胞间相互黏附依赖于其表达的黏附分子^[23]。VCAM-1,ICAM-1是免疫球蛋白家族中的成员,对内皮细胞具有趋化作用,能够促进血管生成^[24]。P选择素属于细胞黏附分子中的选择素家族,是反映血小板和内皮细胞受损与激活状态的良好指标^[25]。李艳等^[26]研究发现血管内皮细胞分泌的sICAM-1和sVCAM-1等血管活性物质是冠心病气虚血瘀证重要的病理标志物。本实验结果显示模型组大鼠VCAM-1,ICAM-1,P选择素较空白组显著升高,表明睡眠剥夺诱导的气虚血瘀证大鼠黏附分子的表达存在异常。且与上述模型组炎症因子IL-6,TNF- α 显著升高相对应。

探讨YQHXF对上述气虚血瘀证相关指标的影响发现YQHXF高、低剂量均可显著升高气虚血瘀证大鼠脉搏幅度及舌面R,G,B值,降低血液流变学全血黏度(高、中、低切),血浆黏度;同时降低气虚血瘀证大鼠ET-1,IL-6,VCAM-1,P选择素水平。提示YQHXF可以减少血管内皮细胞损伤,具有保护血管内皮的功能,并通过调节血管内皮活性物质分泌,改善血管的舒缩功能,减少细胞黏附,抑制炎症反应等途径改善气虚血瘀证大鼠气虚、血瘀症状。

综上所述,本实验睡眠剥夺法诱导的气虚血瘀证大鼠模型,研究与血管内皮损伤密切相关的NO,ET-1,vWF,IL-6,TNF- α ,ICAM-1,VCAM-1,P选择素等相关指标,证明存在血管内皮细胞功能障碍,血管内皮功能障碍促使抑制血小板聚集功能减弱导致血瘀,且血小板增多使ET-1增加,血液流动性下降,血液流变学异常。且血管内皮细胞分泌的炎症因子、黏附分子可以增加凝血活性,进一步增强血瘀程度,YQHXF对气虚血瘀证大鼠血管的舒缩程度、凝血、黏附、炎症反应等相关活性分子的表达具有调节作用。

[参考文献]

- [1] 王嘉麟,郭蓉娟,张允岭,等. 脑梗死恢复期气虚血瘀证患者中医临床路径评价与思考[J]. 环球中医药, 2012,5(12):908-910.
- [2] 朱明军,李彬,王永霞. 充血性心力衰竭中医病因病机分析[J]. 世界中西医结合杂志, 2009,4(1):1-2.
- [3] 赵爱梅,任钧国,刘建勋. 益气活血方治疗冠心病气虚血瘀证作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017,23(7):215-220.
- [4] 于赫,孙力. 气虚证的生物化学与分子生物学研究进

- 展[J]. 中医药信息, 2005, 22(5):48-51.
- [5] Schiro A, Wilkinson F, Weston R, et al. Endothelial microparticles as conveyors of information in atherosclerotic disease [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 234 (2):295-302.
- [6] Favero G, Paganelli C, Buffoli B, et al. Endothelium and its alterations in cardiovascular diseases: life style intervention [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014 (2):801896.
- [7] Tarone G, Balligand J L, Bauersachs J, et al. Targeting myocardial remodelling to develop novel therapies for heart failure: a position paper from the working group on myocardial function of the european society of cardiology [J]. *Eur J Heart Fail*, 2014, 16(5):494-508.
- [8] ZHANG H, WANG W R, LIN R, et al. Buyang Huanwu decoction ameliorates coronary heart disease with Qi deficiency and blood stasis syndrome by reducing CRP and CD40 in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(1):98-102.
- [9] 石立鹏, 杜旭勤, 赵凤林, 等. 针刺联合补阳还五汤治疗气虚血瘀证冠心病稳定型心绞痛疗效及对血脂水平的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(35):3880-3882, 3966.
- [10] 李迎春. 中药补阳还五汤治疗脑梗塞气虚血瘀证的效果研究 [J]. *智慧健康*, 2018, 4(12):76-77.
- [11] 陈进成, 刘建勋, 林成仁, 等. 基于“劳则气耗”理论研究气虚证动物模型的建立方法 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(11):2177-2183.
- [12] 史雅红, 任建勋, 刘建勋, 等. 睡眠剥夺诱导的大鼠血瘀证对血小板活化影响的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(16):3341-3345.
- [13] 郝婷婷, 郭浩, 刘建勋, 等. 2 种分析方法对睡眠剥夺大鼠血瘀证评价的初步研究 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(9):1880-1885.
- [14] 刘建勋. 病症结合动物模型拟临床研究思路与方法 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2014:70-76.
- [15] 陈利国, 胡小勤. 论病症结合血瘀证血管内皮细胞损伤模型的建立 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2007, 27 (3):267-269.
- [16] Maier J A. Endothelial cells and magnesium: implications in atherosclerosis [J]. *Clin Sci*, 2012, 122 (9):397-407.
- [17] Akiko H, Takahisa T, Hiroko M, et al. Advanced glycation end products increase endothelial permeability through the RAGE/Rho signaling pathway [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(1):61-66.
- [18] 莫莉. 冠心病气虚血瘀证的临床特征及益气活血法干预的实验研究 [D]. 长沙:湖南中医药大学, 2008.
- [19] 杨宝元, 李继安, 董印宏, 等. 冠心病气虚血瘀证血管内皮细胞功能失调相关性研究 [J]. *江苏中医药*, 2011, 43(8):28-30.
- [20] 荣晓凤, 李荣亨, 吕霞. 气虚血瘀证大鼠 NO、ET、TXB₂、6-keto-PGF₁α 的变化及意义 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(12):914-916.
- [21] 李艳, 郑桂玲. 气虚血瘀证与冠心病血浆一氧化氮、内皮素和血管紧张素 II 含量的相关性研究 [J]. *成都中医药大学学报*, 2012, 35(4):11-12.
- [22] Kanaji N, Sato T, Nelson A, et al. Inflammatory cytokines regulate endothelial cell survival and tissue repair functions via NF-κB signaling [J]. *J Inflamm Res*, 2011, 4(1):127-138.
- [23] 林桂永, 王子健. 冠心病血瘀证气血辨证与内皮细胞损伤的关系 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2005, 3(10):856-858.
- [24] 陈海燕. 麝香保心丸对气虚血瘀型冠心病患者 PCI 术后心肌损伤保护作用的临床研究 [D]. 福州:福建中医药大学, 2012.
- [25] Jansen M P B, Florquin S, Roelofs J J T H. The role of platelets in acute kidney injury [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(7):457-471.
- [26] 李艳, 刘卫星. 血浆 sICAM-1、sVCAM-1 含量与冠心病气虚血瘀证的相关性研究 [J]. *山东中医药大学学报*, 2012, 36(6):487-488.

[责任编辑 孙丛丛]