

注射肾上腺素模拟“气滞”复制 急、慢性血瘀模型初探

和 岚¹ 蒋文跃² 毛腾敏²

摘要 目的 验证中医情志致病“气滞血瘀”理论,探讨用肾上腺素(Adr)制造急、慢性动物血瘀模型的方法。方法 将 Wistar 大鼠分为 5 组,即空白组(不造模)、A 大组(用 0.1%Adr 一次皮下注射)、A 小组(用 0.01%Adr 每日 1 次,连续 7 日皮下注射)、丹参组(用 0.1%Adr 一次皮下注射,并用丹参治疗)和川芎组(用 0.1%Adr 一次皮下注射,并用川芎治疗);Adr 模拟人体大怒及焦虑状态,制造大鼠血瘀模型,应用中药丹参、川芎反证证型,检测某些血液流变学指标。结果 A 大组、A 小组与空白组比较,低切度率下全血粘度增加($P<0.01$)、红细胞变形指数增高($P<0.05$, $P<0.01$)、红细胞聚集指数增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。丹参组与 A 大组比较,离体血栓长度增加($P<0.01$),干重、湿重增加($P<0.01$),川芎组与 A 大组比较,差异无显著性。结论 一次大剂量及多次小剂量皮下注射 Adr 模拟大怒及焦虑状态可以造成动物血瘀模型,且为中医“气滞血瘀”理论提供了实验依据。

关键词 血瘀模型;气滞血瘀;肾上腺素;血液流变学

Preliminary Exploration on Establishing A Simulated Model of Acute and Chronic After-Qi-stagnation Blood Stasis by Adrenaline Injection HE Lan, JIANG Wen-yue, MAO Teng-min *The Third Hospital, Peking University, Beijing (100083)*

Objective To testify the TCM theory on “qi-stagnation causes blood stasis” and explore the method of using adrenaline to establish an acute and chronic blood stasis animal model. **Methods** Wistar rats were divided into 5 groups, the blank group (un-modeled), the model group A (modeled with once subcutaneous injection of 0.1% adrenaline), the model group B (modeled with once a day of subcutaneous injection of 0.01% adrenaline for consecutive seven days), the Salvia group (treated with salvia after modeling) and the Chuanxiong group (treated with Chuanxiong after modeling). The model was established by simulating the anger and anxious status to form acute and chronic blood stasis model respectively and the treatments of Salvia and Chuanxiong was used to testify the syndrome type. Hemorrhheologic parameters of the rats were measured. **Results** Compared with that in the blank group, the low sheared rate of whole blood viscosity increased, and the RBC deformability and aggregation index raised in both model group A and B ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with that in Group A, in the Salvia group, the in vitro thrombus lengthened ($P<0.01$), with its dry weight, wet weight increased ($P<0.01$) after treatment, but the above-mentioned parameters in the Chuanxiong group were not changed at all. **Conclusion** One time large dosage and multiple times of small dosage adrenaline subcutaneous injection to simulate angry and anxious status could produce blood stasis animal model. This fact provides an experimental basis for “Qi stagnation causes blood stasis” theory in TCM.

Key words blood stasis model; qi stagnation causes blood stasis; adrenaline; hemorrhheology

依据中医学病因、病机理论,长期忧思焦虑及狂躁大怒均可引起气血运行失常,瘀血内停。近年来研究表

明,人体在焦虑时常有肾上腺素(Adr)和去甲肾上腺素分泌增加^[1],躁狂症患者肾上腺素能占优势,应用碳酸锂治疗取得较好疗效。因为锂离子可加速儿茶酚胺类神经递质的降解,降低突触后受体的敏感性,纠正处于躁狂状态时神经之间儿茶酚胺的过度活动状态^[2]。说明肾上腺素增多与焦虑不安、烦躁、暴怒等情绪密切相关。本实验应用大剂量肾上腺素一次给药模拟人体暴

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 3880901)

作者单位:1. 北京大学第三医院(北京 100083);2. 北京大学医学部基础医学院

通讯作者:和 岚;Tel:010-62017691-2821;E-mail:lhem@

163bj.com 万方数据

怒,以及小剂量 Adr 连续多次给药,模拟较长时间情感焦虑状态,观察其血液流变学相关指标的变化。运用中医学气血相关理论,探索制备气滞血瘀证动物模型的方法,并用中药丹参、川芎反证血瘀证型。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 健康雌性 Wistar 种大白鼠,鼠龄 4 个月左右,体重 250~300g,本校实验动物部自行繁殖。

1.2 药物 Adr 为 0.1% Adr 注射液(无锡市第四制药厂生产)。丹参(*salvia miltiorrhiza* Bge)川芎(*ligusticum chuanxiong* Hont)为市售饮片,经本校生药教研室鉴定。

1.3 仪器 HT-2 航天牌血液流变仪(上海航天局 801 所生产),为双筒式黏度计。DXC-300A 型红细胞变形能力测定仪(上海医科大学生产),为负压式核孔膜滤过式,核孔滤膜之孔径为 5μm。DJH-1 型多环血栓检测仪(江苏丹阳市生化电学研究所生产),Chandler 氏法原理。

2 方法

2.1 动物分组与给药 大鼠随机分为 5 组。(1)空白组:12 只,与实验组同批同条件饲养,但不注射 Adr。(2)Adr 大剂量组(简称 A 大组):15 只,在测定前日皮下注射 0.1% Adr 0.1ml/只(0.4mg/kg 体重)1 次。(3)Adr 小剂量组(简称 A 小组):15 只,用 0.01% Adr 0.2ml/只(0.08mg/kg 体重)皮下注射,每日 1 次,连续 7 日。(4)丹参组:12 只,100% 丹参水煎剂 3ml/只(相当于生药 12g/kg 体重,成人用药剂量的 48 倍),连续灌胃 7 日,最后一日灌胃后,皮下注射 0.1% Adr 0.1ml/只 1 次。(5)川芎组:12 只,100% 川芎水煎剂 3ml/只(相当于生药 12g/kg 体重,为成人用药剂量的 48 倍。),连续灌胃 7 日,最后一日灌胃后,皮下注射 0.1% Adr 0.1ml/只 1 次。各组动物均在最后一次注射 Adr 后 24h 处死。

2.2 测定指标与方法 大鼠于实验前一日禁食,腹腔戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血。(1)全血黏度测定:取血 3ml,用适量肝素粉抗凝,然后在血液流变仪上,测定在切变率为 1s⁻¹低切(η_{al}) 100s⁻¹高切(η_{a100})下的全血黏度。(2)红细胞(RBC)变形能力测定:取血 1.8ml 加入 0.2ml 肝素等渗液中,离心后所余 RBC 用生理盐水冲洗并离心两次。将 RBC 以生理盐水稀释至红细胞压积(HCT)为 5% 的混悬液。在 RBC 变形能力测定仪上测出红细胞混悬液之滤过时间(t_s),生理盐水滤过时间(t_b)。以下列公式计算 RBC 滤过指

数(IF), $IF = \frac{ts - tb}{tb} \times \frac{1}{H}$ 。H 为 RBC 混悬液 HCT。将全血黏度代入公式,计算红细胞聚集指数(AI), $AI = \eta_{al} / \eta_{a100} \times (3)$ 体外血栓测定:取 1ml 血,立即放至塑料 Chandler 管中,将管放入血栓测试仪内,旋转 10min 后,将血栓倒出,测血栓长度、湿重、干重。

3 统计学方法 采用 t 检验。

结 果

因造模药物 Adr 用药量较大,给药时间长,故 A 大组、A 小组、川芎组出现个别动物死亡,属正常现象。另外,观测体外血栓形成不能使用抗凝剂,实验难度较大,个别血样不合乎要求,没有结果。以上实验原因使实验样本数略有改变。

1 各组全血黏度测定结果 见表 1。与空白组比较,A 大组与 A 小组在 1s⁻¹低切变率下全血黏度增加(P<0.01),提示注射 Adr 后,低切变率下血流缓慢,此与 RBC 聚集性增强关系密切。

表 1 各组全血黏度、红细胞 IF 及 AI 测定结果比较 (x̄ ± s)

组别鼠数	全血黏度(Pa/s)		IF	AI
	低切 1s ⁻¹	高切 100s ⁻¹		
空白 10	23.96 ± 1.23	6.89 ± 0.21	10.57 ± 0.97	3.47 ± 0.10
A 大 15	34.25 ± 1.95 **	6.71 ± 0.16	15.93 ± 1.84 *	5.11 ± 0.25 *
A 小 13	43.75 ± 7.04 **	7.09 ± 0.29	20.06 ± 1.77 **	6.01 ± 0.84 **

注:与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01

2 各组红细胞变形能力及聚集指数测定结果 见表 1。本实验以 IF 反映红细胞变形能力。与空白组比较,A 大组与 A 小组 IF 增加(P<0.05 或 P<0.01)。提示注射 Adr 后,RBC 通过核孔滤膜时间延长,变形能力下降,反映机体微循环灌注障碍。根据公式计算出红细胞 AI。与空白组比较,A 大、小组 AI 均增加(P<0.05 或 P<0.01)。提示注射 Adr 可加强大鼠红细胞聚集性,红细胞易形成缞钱状聚集体,解聚力差,是血栓形成的基础。

3 各组体外血栓长度、重量测定结果 见表 2。与空白组比较,A 大、A 小组体外血栓长度增加(P<

表 2 各组体外血栓长度、湿重、干重测定结果比较 (x̄ ± s)

	鼠数	长度(mm)	湿重(mg)	干重(mg)
空白	12	3.93 ± 1.11	12.32 ± 3.88	3.25 ± 0.98
A 大	13	8.95 ± 1.25 **	22.45 ± 2.86 *	6.51 ± 0.38 *
A 小	13	13.10 ± 2.97 *△	31.19 ± 7.37 *	11.45 ± 2.86 **
丹参	12	2.96 ± 1.03△	5.35 ± 1.85△	2.22 ± 0.77△
川芎	10	7.68 ± 1.91	21.85 ± 6.43	6.87 ± 2.09

注:与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01;与 A 大组比较,△P<0.01

0.01) 湿重及干重增加 ($P < 0.05$); 与 A 大组比较, 丹参组体外血栓长度减小, 干重、湿重减轻 ($P < 0.01$); 川芎组体外血栓长度、重量与 A 大组比较差异无显著性。提示注射 Adr 可促进大鼠体外血栓形成, 活血化瘀药可对抗血栓, 但以丹参作用为优。

讨 论

中医学认为肝主疏泄, 疏泄太过与不及均影响气血运行。制造中医病证模型应遵从病因病机理论。一次大剂量注射 Adr 模拟机体暴怒状态, 多次小剂量注射 Adr 模拟较长时间情感不舒, 均造成了大鼠血黏度增高, 红细胞变形能力降低, 易于聚集等情况, 反映血液处于黏、聚状态, 微循环灌注障碍。因为肾上腺素注射至体内后很短时间便被破坏, 而实验是在停药后次日进行的, 故血液的“黏、凝(易形成血栓)、聚”状态, 已不是当时肾上腺素药理作用的结果, 而是用药后机体发生了某种相应的改变, 形成了“血瘀证”。

离体血栓测定对血瘀证诊断有相当的意义, 是血液高凝状态、血流缓慢、血管壁损伤多因素的综合反映结果, 常作为心脑血管病、脉管炎、糖尿病、肿瘤等血瘀类疾病评价的重要指标, 还可用于筛选活血化瘀药物^[3]。故本实验只选择离体血栓指标, 观察丹参、川芎治疗效果, 结果丹参组血栓明显变短、重量减轻, 川芎组无明显改变。临床暴怒患者常表现为实热证, 有报道“火旺”患者血、尿中儿茶酚胺水平升高, 热证大鼠模型也可见血、尿中儿茶酚胺增多。丹参性微寒, 川芎性温, 中医学治则为“热者寒之”, 即寒凉药治热证, 温热药一般不用于治热证。川芎虽为“血中之气药”, 但因其辛温燥烈, 临床常配伍寒凉滋润之品, 防其助热之弊。本实验单用川芎, 无抗血栓作用, 反证此模型瘀血之证重于气滞, 且有瘀而兼热的特点。临床大怒之后诱发血栓, 出现心梗、脑中风之病症者, 静脉注射丹参为有效的治疗方法, 亦与本实验结果相一致。A 大组与 A 小组均为 Adr 所致血瘀模型, 活血药物丹参可对抗 Adr 的致瘀作用, 反证 A 小组模型成立。因 A 大组与 A 小组造模药物相同, 造模后血流变改变相似, 故

推论 A 大组模型成立。考虑若对 A 大组动物实施中药灌胃预防治疗, 同时造模, 时间长, 创伤大, 极易死亡, 故药物治疗部分只针对小 A 组设计。

近年来从不同思路已研制出多种血瘀模型^[4-6], 但模拟长时间精神抑郁制造血瘀模型, 并与一次性大怒造成的血瘀模型相比较却未见报道。本实验造模成功验证了气滞血瘀理论, 验证了血瘀证之成因与机体肾上腺素增多有关。

参 考 文 献

- 1 沈渔. 精神病学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 123—125.
Shen YT. Psychiatry. The 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991: 123—125.
- 2 李家泰. 临床药理学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1300—1304.
Li JT. Clinical pharmacology. The 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991: 1300—1304.
- 3 翁维良, 王怡. 临床常用血流变学指标含义与评价. 微循环学杂志 1994; 4(3): 45—48.
Weng WL, Wang Y. General significance & evaluating of clinical hemorrheology data. Chin J Microcircul 1994; 4(3): 45—48.
- 4 常复蓉, 王殿俊, 刘小浩, 等. 血虚血瘀证动物模型的研制. 南京中医学院学报 1992; 1(1): 23.
Chang FR, Wang DJ, Liu XH, et al. Study of hematasthenia & blood stasis animal model. J Nanjing Univ Tradit Chin Med (Natural Science) 1992; 1(1): 23.
- 5 毛腾敏, 马治中, 李顺成, 等. 血瘀病理模型探索(2)——衰老血瘀模型观测. 北京医科大学学报 1991; 23(2): 100.
Mao TM, Ma ZZ, Li SC, et al. Study of blood stasis model (2)——Study of consenescence blood stasis model. J Beijing Med Univ (Health Science) 1991; 23(2): 100.
- 6 王建, 胡建鹏, 吴华强, 等. 缺血性中风气虚血瘀证动物模型的初步研究. 安徽中医学院学报 1999; 18(2): 46—49.
Wang J, Hu JP, Wu HQ, et al. Preliminary study on animal model of qi deficiency and blood stasis in ischemia stroke. J Anhui Tradit Chin Med Coll 1999; 18(2): 46—49.

(收稿 2003-05-30 修回 2004-01-08)

更正 因工作疏漏, 本刊 2004 年第 1 期封 4“国内定价”印刷有误, 应与该期版权页一致, 即 10.00 元。特向广大读者致歉。