

剑麻皂素对急性血瘀大鼠血液流变性的影响研究*

Study the Effect of Tigogenine on Hemorheological Abnormality in Rats with Acute Blood Stasis

袁志林^{1,2}, 李燕婧^{1,2**}, 钟正贤^{1,2}, 陈学芬^{1,2}

YUAN Zhi-lin^{1,2}, LI Yan-jing^{1,2}, ZHONG Zheng-xian^{1,2}, CHEN Xue-fen^{1,2}

(1. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Institute of Chinese Traditional Medical and Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:【目的】研究剑麻皂素对急性血瘀大鼠血液流变性的影响。【方法】采用皮下注射大剂量肾上腺素加寒冷刺激的方法制备大鼠急性血瘀模型, 给予不同剂量的剑麻皂素, 观察用药后大鼠的血液流变学指标。【结果】与正常对照组比较, 急性血瘀模型大鼠的全血黏度(BV)、血浆黏度(PV)均明显升高($P < 0.01$); 剑麻皂素可以明显降低急性血瘀大鼠的全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数(EAI)、红细胞压积(HCT)、红细胞变形指数(DI)、红细胞电泳时间、血沉(ESR)等指数, 同时能降低血浆纤维蛋白原(Fib)含量, 延长凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)和活化部分凝血活酶时间(APTT) ($P < 0.01$)。【结论】剑麻皂素能够明显改善急性血瘀大鼠血液流变性。

关键词: 剑麻皂素 急性血瘀模型 血液流变学 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2014)03-0279-04

Abstract:【Objective】The effect of tigogenine on hemorheological abnormality was evaluated in the rats with acute blood stasis.【Methods】The model of acute blood stasis in rats was made by subcutaneously injecting amount of epinephrine and ice water simulation, in which the changes of hemorheologic indexes were observed after giving different doses of tigogenine.【Results】The viscosity of whole blood (BV) and plasma (PV) in the rats of acute blood stasis model were significantly higher than those in the normal group ($P < 0.01$). The tigogenine reduced the viscosity of whole blood and plasma, erythrocyte aggregation (EAI), the hematocrit (HCT), deformed index (DI), electrophoresis time (ET), erythrocyte sedimentation rate (ESR) and so on. Also, the content of fibrinogen (Fib) was increased while prothrombin time (PT), activated partial thrombin time (APTT) and thrombin time (TT) were shortened.【Conclusion】Tigogenine can improve the hemorheological abnormality in rats with acute blood stasis.

Key words: tigogenine, model of acute blood stasis, hemorheology, rat

收稿日期: 2014-02-13

修回日期: 2014-05-22

作者简介: 袁志林(1965-), 男, 实验师, 主要从事抗心脑血管疾病中药药理研究。

* 广西自然科学基金项目(2010GXNSFBO13086)资助。

** 通讯作者: 李燕婧(1979-), 女, 助理研究员, 主要从事抗心脑血管疾病中药药理研究。

【研究意义】东一号剑麻(*Agave* spp.)为龙舌兰科(Agaveace)龙舌兰属植物, 作为全球热带地区重要的麻类经济作物, 在药用方面具有凉血止血、消肿止痛之功效^[1]。广西剑麻制品的生产能力已达30000多吨, 用剑麻纤维制绳索是目前剑麻在广西的唯一用

途,占剑麻叶片总量 95%以上的废弃麻汁和麻渣中含有经济价值较高的成分,没有被提取利用,常被用作回田的肥料或弃去,不仅造成资源浪费而且污染环境。如何充分利用剑麻废弃物,开发其药用价值,增加农副产品加工的附加值,已经成为刻不容缓的研究课题。【前人研究进展】研究发现剑麻液汁中含有贵重药物的生产原料皂甙元,现已提取分离出 5 种分子结构明确的天然植物皂甙元,其中以替告皂甙元(商品名剑麻皂素)含量最高。我们在前期的研究工作中发现剑麻皂素具有抗炎、镇痛、增强免疫、降血糖等作用,且毒性较低^[2,3]。【本研究切入点】目前,尚未见有关剑麻皂素对血液流变性影响的报道。【拟解决的关键问题】我们采用急性血瘀大鼠模型,模拟临床血液流变异常的病理过程,进行血液流变学参数的测定,从对血液流变学影响方面探讨剑麻皂素的活血化瘀作用,为其在心血管方面的临床应用提供科学依据。如果能将剑麻皂素变废为宝,既可以促进地区资源开发和生态环境建设,提高剑麻总体效益,又可以为我国新药的研制提供新资源,促进广西制药工业的发展。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物

剑麻皂素为白色片状结晶(含量为 92%),由广西中医药研究院化学所提供,使用时加数滴吐温-80 研磨成乳浊液供实验用;复方丹参片为成都华神集团股份有限公司制药厂的产品,生产批号 110310。

1.1.2 试剂

盐酸肾上腺素注射液(1mL:1mg)为天津药业集团新郑股份有限公司产品,批号:1203152。凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(Fib)试剂盒由长春汇丽生物技术有限公司提供,批号分别是:115217、121099、112135、122051。

1.1.3 动物

健康 SD 大鼠,体重 250~280g,SPF 级,由广西医科大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK 桂 2009-0002。大鼠饲养于空调实验室内,室温(22±2)℃,湿度(60±5)℃,自由饮水和摄食。

1.1.4 仪器

SA-6000 型全自动血流变测试分析仪为北京赛科希德科技发展有限公司产品,XC-40 型血沉仪为北京普利生仪器有限公司产品,Bio-Rad 伯乐电泳仪从美国进口,KHB202 血凝仪为济南金浩峰科技有限公

司产品,FA1004-型万分之一电子天平为上海精密科学仪器有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 急性血瘀模型的制备^[4]

大鼠皮下注射(sc)肾上腺素 0.8mg·kg⁻¹,一共 2 次,间隔时间为 4h。第 1 次 sc 给予肾上腺素 0.8mg·kg⁻¹后 2h,将大鼠置于 0℃冰水中浸泡 5min,2h 后第 2 次 sc 给予肾上腺素 0.8mg·kg⁻¹,造成大鼠急性血瘀症。

1.2.2 分组与给药

选取大鼠 60 只,随机分为正常对照组,模型组,阳性对照复方丹参片组和剑麻皂素高、中、低剂量组,每组 10 只。正常对照组、模型组灌服蒸馏水 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹,复方丹参片组按 600mg·kg⁻¹·d⁻¹,剑麻皂素高、中、低剂量组分别按 450、225、113mg·kg⁻¹·d⁻¹灌服相应药物,1 天 1 次,连续 10 天。于第 8 次给药后,除正常对照组 sc 给予生理盐水外,其余各组动物按 1.2.1 的方法造成急性血瘀模型,禁食 16~18h,期间给第 9 次和第 10 次药。

1.2.3 标本采集及指标测定

末次给药后 30min 腹主动脉取血 5.0mL,肝素抗凝,于全自动血流变测试分析仪上测定大鼠血液流变学指标:全血高、中、低切黏度,血浆黏度,红细胞聚集指数、红细胞压积、红细胞变形指数、红细胞电泳时间、血沉等指标。另取 1.0mL 血液,3.8%枸橼酸钠抗凝,分离血浆用于 APTT,TT,PT 和 Fib 的测定。

1.2.4 统计学处理

采用 *t* 检验作组间分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据统计采用 SPSS13.0 软件系统处理。

2 结果与分析

2.1 剑麻皂素对急性血瘀大鼠血液流变学指标的影响

实验结果(表 1,表 2)表明,与正常对照组比较,模型组大鼠全血高、中、低切黏度、血浆黏度均明显升高($P < 0.05$),说明大鼠急性血瘀模型造模成功。与模型组比较,复方丹参片和剑麻皂素高、中剂量组大鼠全血高、中、低切黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞聚集指数、红细胞变形指数、红细胞电泳时间、血沉均明显降低($P < 0.05$),差异有统计学意义;低剂量组大鼠血液流变性指标没有明显变化。提示剑麻皂素具有改善急性血瘀证大鼠血液流变性的作用。

2.2 剑麻皂素对凝血参数的影响

实验结果(表 3)表明,与正常对照组比较,急性

表 1 剑麻皂素对急性血淤大鼠血液流变学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 The effect of tigogenine on hemorheologic indexes in rats with acute blood stasis($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Doses ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全血黏度 Viscosity of whole blood ($\text{mPa} \cdot \text{s}$)			血浆黏度 Viscosity of plasma ($\text{mPa} \cdot \text{s}$)
		$200 \cdot \text{s}^{-1}$	$50 \cdot \text{s}^{-1}$	$3 \cdot \text{s}^{-1}$	
正常对照组 Control	—	5.16 ± 1.03	10.42 ± 1.34	17.65 ± 1.26	1.26 ± 0.09
模型组 Model	—	$7.98 \pm 1.11^\#$	$13.65 \pm 1.26^\#$	$21.96 \pm 1.60^\#$	$1.96 \pm 0.10^\#$
复方丹参片 Ffdsp	600	$6.09 \pm 1.35^*$	11.03 ± 1.04	$19.06 \pm 1.41^*$	$1.42 \pm 1.01^*$
剑麻皂素 Tigogenine	450	$6.22 \pm 1.34^*$	$11.36 \pm 1.19^*$	$19.69 \pm 1.59^*$	$1.57 \pm 0.31^*$
剑麻皂素 Tigogenine	225	$6.40 \pm 1.25^*$	$11.55 \pm 1.26^*$	$20.06 \pm 1.07^*$	$1.63 \pm 0.29^*$
剑麻皂素 Tigogenine	113	$7.21 \pm 0.99^*$	13.65 ± 1.26	20.56 ± 1.30	1.81 ± 0.22

$\#$ 与正常对照组比较, $P < 0.05$; * 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

$\#$ Compare with control, $P < 0.05$; * Compare with model, $P < 0.05$ 。

表 2 剑麻皂素对急性血淤证大鼠血液流变学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 The effect of tigogenine on hemorheologic indexes in rats with acute blood stasis($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	红细胞压积 HCT(%)	红细胞 聚集指数 EAI	红细胞 变形指数 DI	红细胞 电泳时间 ET(s)	血沉 ESR(mm/h)
正常对照组 Control	0.55 ± 0.05	10.35 ± 1.06	0.81 ± 0.06	19.32 ± 2.18	1.49 ± 0.08
模型组 Model	$0.80 \pm 0.06^\#$	$14.60 \pm 1.34^\#$	$0.98 \pm 1.25^\#$	$26.34 \pm 2.01^\#$	$3.02 \pm 1.02^\#$
复方丹参片 Ffdsp	$0.59 \pm 0.05^*$	$11.85 \pm 1.62^*$	$0.88 \pm 1.25^*$	$22.69 \pm 2.20^*$	2.05 ± 0.09
剑麻皂素(Tigogenine)H	$0.62 \pm 0.06^*$	$12.69 \pm 1.59^*$	$0.91 \pm 1.25^*$	$23.49 \pm 1.98^*$	2.26 ± 0.08
剑麻皂素(Tigogenine)M	$0.68 \pm 0.08^*$	$11.99 \pm 1.29^*$	$0.92 \pm 1.25^*$	$23.10 \pm 1.87^*$	2.41 ± 0.07
剑麻皂素(Tigogenine)L	0.71 ± 0.11	13.27 ± 1.63	0.95 ± 1.25	25.02 ± 1.99	2.92 ± 0.09

$\#$ 与正常对照组比较, $P < 0.05$; $\# \#$ 与正常对照组比较, $P < 0.01$; * 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

$\#$ Compare with control, $P < 0.05$; $\# \#$ Compare with control, $P < 0.01$; * Compare with model, $P < 0.05$ 。

表 3 剑麻皂素对血淤证大鼠凝血参数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 The effect of tigogenine on blood coagulation parameters in rats with acute blood stasis

组别 Group	剂量 Doses ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	凝血酶 时间 TT (s)	凝血酶原 时间 PT (s)	活化部分凝血 活酶时间 APTT (s)	纤维蛋白原 Fib ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常对照组 Control	—	12.26 ± 0.69	12.69 ± 0.60	13.32 ± 0.63	1.95 ± 0.46
模型组 Model	—	$10.05 \pm 0.59^\#$	$10.62 \pm 0.52^\#$	$11.06 \pm 0.50^\#$	$2.74 \pm 0.63^\#$
复方丹参片 Ffdsp	600	$11.95 \pm 0.60^*$	$12.31 \pm 0.61^*$	$12.98 \pm 0.57^*$	$2.07 \pm 0.54^*$
剑麻皂素 Tigogenine	450	$11.63 \pm 0.45^*$	$11.96 \pm 0.58^*$	$12.35 \pm 0.44^*$	$2.30 \pm 0.60^*$
剑麻皂素 Tigogenine	225	$11.29 \pm 0.34^*$	$11.45 \pm 0.48^*$	$12.02 \pm 0.59^*$	2.41 ± 0.60
剑麻皂素 Tigogenine	113	10.35 ± 0.57	10.99 ± 0.51	11.48 ± 0.48	2.66 ± 0.53

$\#$ 与正常对照组比较, $P < 0.05$; * 与模型组比较, $P < 0.05$ 。 $\#$ Compare with control, $P < 0.05$; * Compare with model, $P < 0.05$ 。

血瘀模型组大鼠血浆 TT、PT、APTT 明显缩短, Fib 含量升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 复方丹参片与剑麻皂素高剂量组大鼠血浆 TT、PT、APTT 延长, Fib 含量降低 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义; 剑麻皂素中剂量组大鼠血浆 TT、PT、APTT 延长 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义, 但对 Fib 含量无明显差异; 剑麻皂素低剂量组对急性血瘀大鼠凝血参数没有明显差异。提示剑麻皂素对急性血淤证大鼠有抗凝血作用。

3 讨论

血液流变性异常, 会引起机体血液循环障碍, 以血液黏度增加为首要因素, 凝血功能障碍也是其一因素。为了评价剑麻皂素对血液黏滞度和凝血系统的

影响, 本实验采用皮下注射肾上腺素加冰水浸泡, 模拟临床气滞血瘀发生的病理过程, 复制急性血瘀动物模型, 观察剑麻皂素对急性血瘀大鼠血液黏滞度及凝血功能的影响。

血瘀是指血液循环不畅的病理状态, 血液的黏性、流动性、变形性、凝固性中任何一方面发生改变均反映有瘀血存在。临床资料^[5,6]表明, 如果机体血液流变性质发生异常, 血液浓稠度增高, 血液流动性下降, 会引起全身或局部循环和微循环障碍, 最终会导致诸如中风、冠心病、肺心病、糖尿病、肝肾疾病等发生。影响血液流变性的因素主要包括全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数(EAI)、红细胞压积(HCT)、红细胞变形指数(DI)、红细胞电泳时间、血沉(ESR)等指数, 这些指标的变化直接影响血液的流动性、粘滞

性和凝固性,其变化超出正常范围就可能引起脑血管病。本实验结果显示,剑麻皂素可以使急性血瘀模型大鼠全血黏度、血浆黏度、ESR、HCT 及 EAI 均明显降低,使其血液循环状态得到明显改善,改善了血流变异常性的“浓、粘、稠、聚”,这在一定程度上反映出剑麻皂素的活血化瘀作用。

防治血管内栓塞或血栓形成的疾病,可以通过影响血液凝固系统和纤溶系统的某些凝血因子阻止凝血过程。PT、APTT、TT、Fib 是反映内源性和外源性及其共同途径中的凝血因子,统称凝血功能四项。这些因子的检测在一定程度上能够反映机体凝血系统的状态,如内源凝血途径的 APTT、外源性凝血途径的 PT 均明显缩短,Fib 明显增高,TT 缩短,进而引起抗凝血机制减弱,从而导致血液处于高凝状态。本实验结果显示,剑麻皂素能延长急性血瘀模型大鼠血浆 TT、PT、APTT,降低 Fib 含量,说明剑麻皂素是通过内源性和外源性凝血通路以及凝血系统凝血因子影响来实现抗凝血作用的。

综上所述,剑麻皂素对急性血瘀模型大鼠血液流变学的异常变化有明显改善作用,其是如何增强血液流变性以及改善凝血障碍的作用机制尚需进一步探讨。

参考文献:

[1] 广西中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西人民出版社,1984,56:5.
Guangxi Institute of Chinese Traditional Medical and Pharmaceutical Science. Guangxi directory of medicinal plant[M]. Nanning:Guangxi People's Publishing House, 1984,56:5.

[2] 赖克道,李燕婧,李茂. 剑麻皂素降血糖作用的研究[J]. 广西科学院学报,2010,26(1):56-58.
Lai K D,Li Y J,Li M. Study on hypoglycemic effects of tigogenin[J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2010,26(1):56-58.

[3] 李燕婧,周桂芬,韦善新. 剑麻皂素药理作用的实验研究[J]. 时珍国医国药,2006,10(17):1958-1959.
Li Y J,Zhou G F,Wei S X. The pharmacological studies of tigogenin [J]. Lishizhen Medicine and Materia Mesearch,2006,10(17):1958-1959.

[4] 陈可冀. 血淤症与活血化瘀研究[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990:389.
Chen K J. The studies on syndrome of blood stasis and activating blood and removing stasis [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1990:389.

[5] 胡德胜,郭伟星,于杰. 心血管疾病活血化瘀论治[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2006,1(4):66-67.
Hu D S,Guo W X,Yu J. Preliminary study on the treatment of cardiovascular disease in invigorating blood circulation silt[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine On Cardio-/Cerebrovascular Disease,2006,1(4):66-67.

[6] 姚向荣,张全华,吕云利,等. 糖尿病性眼肌麻痹患者糖代谢与血液流变学相关性分析[J]. 现代医学,2011,39(6):680-683.
Yao X R,Zhang Q H,Lv Y L,et al. Correlation analysis of haemorheology and blood glucose metabolism in patients with diabetic ocular muscles palsy [J]. Modern Medical Journal,2011,39(6):680-683.

(责任编辑:陈小玲)