

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.11.0607

·论著·

独一味水提物对大鼠血液凝集参数的影响

廖应琼¹, 邓治国¹, 韦会平²

(1. 攀钢集团总医院药剂科, 四川 攀枝花 617023;
 2. 攀枝花学院医学院, 四川 攀枝花 617023)

【摘要】 目的 研究藏药独一味对凝血作用和血液凝集参数的影响。方法 以云南白药(0.09 g/kg)为阳性对照组, 蒸馏水为空白对照组, 独一味水提物为试验组, 试验组分高(0.3 g/kg)、中(0.15 g/kg)、低(0.075 g/kg)三个剂量组, 给大鼠灌胃给药14 d后, 颈总动脉采血测定其凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)以及纤维蛋白原含量(FIB)。结果 与空白对照组比较, 独一味水提物的高、中、低剂量组及云南白药组的TT值分别缩短了25.77%、12.42%、8.60%和24.91%; FIB值分别增加了26.80%、6.38%、20.72%和9.44%; PT、APTT值无明显变化。结论 独一味水提物能增加大鼠纤维蛋白原的含量并能缩短大鼠凝血酶时间。

【关键词】 独一味; 水提物; 止血; 凝血酶时间; 纤维蛋白原

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2014)11—1561—03

Effect of Herba Lamiophlomis rotata on blood coagulation parameters of rats. LIAO Ying-qiong¹, DENG Zhi-guo¹, WEI Hui-ping². 1. Pharmaceutical Preparation Section, Hospital of Panzhihua Metal Group, Panzhihua 617023, Sichuan, CHINA; 2. Medical School, Panzhihua University, Panzhihua 617023, Sichuan, CHINA

[Abstract] **Objective** To study the effect of tibet medicine herba lamiophlomis rotata on blood coagulation parameters (PT, APTT, TT) of rats. **Methods** Yunnan Baiyao powder (0.09 g/kg), distilled water, high dose (0.3 g/kg), middle dose (0.15 g/kg), low dose (0.075 g/kg) of the aqueous extract of *L. rotata*, were taken orally by rats for fourteen days. Blood samples were culled from common carotid artery and PT, APTT, TT and FIB of these samples were determined. **Results** Compared to the blank control group, the reduced rates of TT values of the high, middle and low dose groups and Yunnan Baiyao powder group were 25.77%, 12.42%, 8.60% and 24.91%, respectively. The increased rates of FIB values were 26.80%, 6.38%, 20.72% and 9.44%, respectively. There were no obvious changes in PT and APTT values between all groups. **Conclusion** The aqueous extract of *L. rotata* could increase the content of FIB and shorten TT value.

[Key words] *Lamiophlomis rotata*; Aqueous extract; Hemostatic; TT; FIB

独一味[*Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo]为唇形科独一味属植物, 是我国藏、蒙、纳西等民族民间常用药之一^[1], 具有止血、镇痛消肿、活血化瘀、补髓、行气、续筋接骨之功效。1982—1985年间, 兰州医学院梁重栋等^[2]首先对其进行基础与临床研究, 并研制了以独一味水提取物为原料的独一味片, 取得了新药证书。载入2000版《中国药典》^[3]的独一味胶囊, 临床应用广泛, 主要用于各种外科手术后的镇痛止血及牙科、妇科、关节炎等方面疾病的治疗。但独一味止血的活性成分及其作用机理至今没有得到明确阐述, 这极大地阻碍了独一味药材质量标准的制定、制剂工艺的优化和临床应用的深入研究, 限制了这一西北特色中药的临床应用和市场推广。我们的前期实验表明, 独一味水提取物小鼠灌胃能显著缩短小鼠断尾出血时间和毛细管凝血时间, 并且对小鼠、大鼠的血小板数量无显著影响。在此基础上, 我们参考相关实验方法学^[4-5], 设计本实验, 考察独一味水提取物大鼠灌胃给药后是否能

够对大鼠的血液凝集参数和纤维蛋白原的含量产生影响, 以进一步阐明独一味的止血机理。

1 材料与方法

1.1 药材与仪器 独一味水提取物由实验室自制, 获得率为23.5%; 云南白药(云南白药集团股份有限公司, 批号20130320); 一次性真空采血管(含0.3 ml, 0.109 M的枸橼酸钠抗凝剂, 英国, 批号5006641); ACL 9000全自动凝血/纤溶分析仪, Instrumentation Laboratory, USA; SPINCHROMTMDLX离心机, BECKMAN, USA; 戊巴比妥钠(化学纯), 北京通县育才精细化工厂, 批号100427; PT、APTT、TT的试剂盒, Behring Werke, Marburg。

1.2 分组与给药 Wistar大鼠50只随机分成5组, 每组10只, 正常条件饲养, 分别设为空白对照组、阳性对照组(云南白药0.09 g/kg)、独一味水提取物高剂量组(0.3 g/kg)、独一味水提取物中剂量组(0.15 g/kg)和独一味水提取物低剂量组(0.075 g/kg)。空白对照组每

天灌胃给予蒸馏水 2 ml/200 g, 其余各组给予同体积的蒸馏水配制的药物。共给药 14 d。

1.3 大鼠体重的变化 实验第 7 天和第 14 天每只大鼠称重, 并与实验前体重进行比较。

1.4 动物采血 实验第 14 天每组大鼠相隔 40 min 给药, 给药后 1 h 依次腹腔注射 3% 戊巴比妥钠溶液 0.6 ml 麻醉, 剥离一侧颈总动脉, 采血 1.7 ml 于一次性真空采血管中, 轻轻颠倒摇匀。

1.5 凝血酶时间的测定 所取血样立即置 SPINCHROMTMDLX 离心机中离心 10 min, 去除血小板, 分离血浆, 取上清 400 μl, 用 ACL9000 凝血/纤溶分析仪依次测定凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)以及纤维蛋白原含量(FIB)。

1.6 TT 缩短率和 FIB 增加率的计算 按下式计算各组与空白对照组比较 TT 缩短率和 FIB 增加率。

$$\text{TT 缩短率} = \frac{\text{空白对照组 TT} - \text{给药组 TT}}{\text{空白对照组 TT}} \times 100\%$$

$$\text{FIB 增加率} = \frac{\text{给药组 FIB} - \text{空白对照组 FIB}}{\text{空白对照组 FIB}} \times 100\%$$

1.7 统计学方法 所有数据用 SPSS10.0 软件进行单因素方差分析, 进行多个样本均数间的两两比较, 以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 独一味口服对大鼠体重的影响 各实验组对大鼠体重的影响测定结果见表 1。独一味水提物高、中、低剂量以及云南白药组大鼠口服给药 14 d 后, 各组大鼠体重变化差异无统计学意义($P>0.05$), 未见明显毒性作用。

表 1 独一味口服对大鼠体重的影响($\bar{x}\pm s, n=10$, g)

组别	第 0 天	第 7 天	第 14 天
空白对照组	198.0±17.5	214.4±19.0	228.2±21.8
阳性对照组	198.8±18.0	223.2±24.2	233.0±29.0
独一味高剂量组	199.8±17.7	219.2±18.0	222.4±18.3
独一味中剂量组	200.0±19.4	222.4±19.3	227.0±19.4
独一味低剂量组	198.6±17.3	217.4±15.6	223.4±15.4

2.2 独一味灌胃给药对大鼠血液凝集参数和纤维蛋白原的含量的影响 各实验组对大鼠血液凝集参数和纤维蛋白原的含量的影响测定结果见表 2。

表 2 独一味灌胃给药对大鼠血液凝集参数和纤维蛋白原的含量影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	PT (s)	APTT (s)	TT (s)	FIB (g/L)
空白对照组	16.97±0.95	24.68±1.76	26.58±3.51	1.567±0.197
阳性对照组	16.28±0.85	25.99±2.66	19.96±4.57	1.715±0.099
独一味高剂量组	16.06±1.55	26.61±3.99	19.73±5.76	1.987±0.370
独一味中剂量组	16.75±2.49	25.76±5.43	23.28±5.77	1.667±0.203
独一味低剂量组	16.50±0.72	24.20±1.37	24.30±6.59	1.913±0.173

独一味给药 14 d 后, 大鼠 PT、APTT 各组测得数值差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 各组 TT 缩短率和 FIB 增加率比较 独一味水提物高、中、低剂量组及阳性对照组给药 14 d 后大鼠 TT 分别为(19.73±5.76) s、(23.28±5.77) s、(24.30±6.59) s 和(19.96±4.57) s, 与空白对照组(26.58±3.51) s 比较, 分别缩短 25.77%、12.42%、8.60% 和 24.91%, 独一味水提物高剂量组、阳性对照组与空白对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。独一味水提物高、中、低剂量组以及阳性对照组口服给药 14 d 后, 各组的大鼠 FIB 含量分别为(1.987±0.370) g/L、(1.667±0.203) g/L、(1.913±0.173) g/L 和(1.715±0.099) g/L, 与空白对照组(1.567±0.197) g/L 比较, 分别增加了 26.80%、6.38%、20.72% 和 9.44%, 独一味水提物高、低剂量组与空白对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3

表 3 TT 缩短率和 FIB 增加率($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	TT		FIB	
	基础值(s)	缩短率(%)	基础值(g/L)	增加率(%)
空白对照组	26.58±3.51	0.00	1.567±0.197	0.00
阳性对照组	19.96±4.57	24.91	1.715±0.099	9.44
独一味高剂量组	19.73±5.76	25.77	1.987±0.370	26.80
独一味中剂量组	23.28±5.77	12.42	1.667±0.203	6.38
独一味低剂量组	24.30±6.59	8.60	1.913±0.173	20.72

3 讨 论

3.1 独一味的止血、促凝血作用 上述结果表明, 独一味水提物对大鼠无明显毒性作用, 对大鼠 PT、APTT 也无显著影响, 但能显著缩短 TT, 并显著增加 FIB。PT 值反映外源性凝血因子是否异常, APTT 值反映内源性凝血因子是否异常, TT 主要反映凝血共同途径纤维蛋白原转变为纤维蛋白的过程中, 是否存在异常的抗凝现象。低纤维蛋白原血症患者常见 TT 延长, 而 FIB 的增加可以缩短 TT。由此可见, 独一味确实具有较好的止血、促凝血作用。并且可以推测独一味止血的机理, 可能主要是影响凝血共同途径纤维蛋白原转变为纤维蛋白的过程, 而对外源性凝血因子和内源性凝血因子影响不大。

3.2 采血方法对凝血实验结果的影响 本实验研究中我们曾经尝试从大鼠眼眶后静脉丛采血, 但由于采血量难以满足测定需要, 并且采血过程中易带入眼组织液、毛等极易激活凝血系统的物质, 使许多样本出现凝血而干扰测定。经大量实验摸索, 我们最终决定从颈总动脉采集大鼠动脉血。此法采集的血样不易凝血, 对各项凝血指标测定的干扰小。

3.3 抗凝剂对凝血实验结果的影响 本项实验用的真空采血管是临床用于人凝血酶实验的采血管, 内含 0.109 M 的枸橼酸钠抗凝剂 0.3 ml, 每次患者采血 2.7 ml。但由于大鼠的血比人类的血具有

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.11.0608
doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.11.0608

•论著•

运动训练对脊髓损伤大鼠脊髓内神经生长因子及其受体 TrkA 表达的影响

贺晓玉¹, 周嘉嘉², 邓京捷¹, 黄霖²

(1. 广东省体育科学研究所, 广东 广州 510663;

2. 中山大学孙逸仙纪念医院, 广东 广州 510120)

【摘要】目的 研究运动训练对脊髓损伤(SCI)大鼠脊髓内神经生长因子(NGF)及其酪氨酸激酶受体 A(TrkA)表达的影响。**方法** 成年雌性 SD 大鼠 24 只分为假手术组($n=6$)、损伤对照组($n=9$)和运动训练组($n=9$)。采用通用型脊髓打击器建立大鼠 T₁₀ 脊髓损伤模型。损伤后 7 d 起, 对 SCI 大鼠进行 4 周运动训练, 假手术组和损伤对照组不进行运动训练。损伤前及损伤后第 1、2、3、4、5 周采用 BBB 评分评定大鼠运动功能, 训练结束后取 T₁₂~L₁ 节段脊髓组织行病理切片, 免疫组织化学法检测脊髓内 NGF 和 TrkA 蛋白表达及分布, Western blot 检测脊髓内 NGF 和 TrkA 蛋白含量。**结果** 损伤后第 3 周(即运动训练两周)起, 运动训练组 BBB 评分高于损伤对照组($P<0.05$)。NGF 免疫反应阳性产物多分布于脊髓前角, 运动训练组 NGF 阳性染色颗粒增多, 平均光密度值较假手术组及损伤对照组增加($P<0.05$)。TrkA 免疫反应阳性产物于脊髓前角、后角、中央管周围处出现分布; 运动训练组 TrkA 阳性染色颗粒增多, 平均光密度值较假手术组及损伤对照组增加($P<0.05$)。Western blot 结果显示运动训练组大鼠脊髓内 NGF 及 TrkA 表达较假手术组、损伤对照组增加($P<0.05$)。**结论** 运动训练可诱导 SCI 大鼠脊髓内 NGF 及其受体 TrkA 表达, 促进 SCI 大鼠运动功能恢复。

【关键词】 运动训练; 脊髓损伤; 神经生长因子; 酪氨酸激酶受体 A

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2014)11—1563—04

Effects of exercise training on the expressions of nerve growth factor and tyrosine kinase receptor A in spinal cord of rats with spinal cord injury. HE Xiao-yu¹, ZHOU Jia-jia², DENG Jing-jie¹, HUANG Lin². 1. Guangdong Provincial Institute of Sports Science, Guangzhou 510663, Guangdong, CHINA; 2. Sun Yat-Sen Memorial Hospital Affiliated to Zhongshan University, Guangzhou 510120, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To study the effect of exercise training on the expressions of nerve growth factor (NGF) and tyrosine kinase receptor A (TrkA) in spinal cord of rats with spinal cord injury (SCI). **Methods** Twenty-four adult female SD rats were divided into three groups, exercise group (SCI-induction and exercises group, $n=9$), control group (SCI-induction without exercises group, $n=9$) and sham-operation group (no operation, without SCI and exercises, $n=6$). Rats with T10 spinal cord injury were produced by the universal spinal cord impact system. Exercise training began from day 7 after injury and lasted for 4 weeks. The hindlimb function was assessed by Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) scale before injury and 1, 2, 3, 4 and 5 weeks post injury. The expressions of NGF and TrkA were detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results** Since the 3rd week after injury (after 2 weeks of

基金项目: 广东省科技计划项目(编号: 2010B060500021)

通讯作者: 贺晓玉。E-mail: gzhxy2010@126.com

更高的凝集性, 当采集 2.7 ml 大鼠血时易发生凝血。我们比较研究了最终抗凝剂含量分别为 10%、15%、20%、30% 时所采血样的凝血状况。结果发现抗凝剂为 15% 时, 即采集 1.7 ml 的大鼠动脉血于内含 0.3 ml、0.109 M 的枸橼酸钠抗凝剂的真空采血管中时, 抗凝效果最好, 且不发生溶血现象, 所测各项指标变异较小。

参考文献

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[S]. 7 卷. 上海:

上海科学技术出版社, 1999: 6074-6075.

- [2] 梁重栋. 藏药独一味的基础与临床研究[J]. 兰州医学院学报, 1987, 40(2): 47-49.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 533-534.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 184-186, 1270-1275.
- [5] 杜冠华, 李学军, 张永祥. 药理学实验指南 - 新药发现和药理学评价[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 219-220.

(收稿日期: 2013-11-28)