

大分子葡萄糖酐血瘀大鼠偶氮蓝体表特征
与血液流变性的相关性

任映^{1*}, 王琨¹, 朱志慧¹, 孙海芸¹, 宋崇顺¹, 尹军祥¹, 杨金铎¹, 时晶¹, 田金洲^{1*}, 王永炎²
(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700; 2. 中国中医科学院, 北京 100700)

[摘要] 目的: 探讨大分子葡萄糖酐血瘀证大鼠表征的偶氮蓝变化特征与血液流变性的相关性。方法: 分别对大鼠尾 iv 0.5% 偶氮蓝配制的 10% 大分子葡萄糖酐溶液, 0.5% 偶氮蓝溶液, 生理盐水配制 10% 的大分子葡萄糖酐溶液, 或生理盐水, 在注射后 30, 60, 120, 240 min 观察和拍摄大鼠耳廓、舌体表特征变化, 检测血液流变性, 分析体表特征变化与血液流变学指标间的相关性。结果: 尾 iv 0.5% 偶氮蓝配制的 10% 大分子葡萄糖酐溶液的大鼠 30 min 时耳廓和舌出现蓝色斑点, 并随时间延长, 蓝色瘀斑范围增大, 240 min 时耳廓完全呈深蓝色, 舌尖蓝色瘀斑范围继续增加, 几乎占舌体 1/2; 而只注射 0.5% 偶氮蓝的大鼠对照组耳廓始终半透明, 舌体颜色均匀。iv 生理盐水配制 10% 的大分子葡萄糖酐溶液的大鼠与只注射生理盐水的大鼠相比, 30, 60 min 不同减切速率下全血黏度均显著增高, 30, 60, 120, 240 min 血浆黏度、红细胞聚集指数、聚集指数积分也均显著增高, 而 30, 60, 120, 240 min 的红细胞变形面积指数、变形指数积分面积虽未测出明显差异, 但趋势表现为降低。结论: 大鼠尾 iv 0.5% 偶氮蓝配制的 10% 大分子葡萄糖酐后能使血瘀证模型大鼠的血瘀程度在其耳廓和舌体表特征中较为直观地呈现, 且与注射大分子葡萄糖酐后血液流变性变化所反映的血瘀程度相一致, 并呈明显的时效关系, 进一步说明偶氮蓝可以客观反映大分子葡萄糖酐所致血瘀证模型大鼠血瘀程度的表征变化。

[关键词] 偶氮蓝; 大分子葡萄糖酐; 血瘀证; 体表表征; 血液流变学

[中图分类号] R 285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-103-03

Relativity Between the Body Surface Characteristics Indicated by
Evans Blue and the Hemorrheological Parameters in Rats with
Blood-stasis Syndrome Induced by Macromolecule Dextran

REN Ying^{1*}, WANG Kun¹, ZHU Zhi-hui¹, SUN Hai-yun¹, SONG Chong-shun¹, YIN Jun-xiang¹,
YANG Jin-duo¹, SHI Jin¹, TIAN Jin-zhou^{1*}, WANG Yong-yan²
(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;
2. China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relativity between the body surface characteristics indicated by Evans blue and the hemorrheological parameters in rats with blood-stasis syndrome induced by macromolecule dextran. **Method:** The rats were treated by injected 10% macromolecule dextran solution confected by 0.5% Evans blue, 10% macromolecule dextran solution confected by sodium chloride, 0.5% evans blue, or sodium chloride respectively through the caudal vein, then observed and photoed the exosymptom change presented by Evans blue in ear and tongue of the rats, and detected the hemorrheologic variation of the rats at 30, 60, 120, and 240 minutes after the treatment, and analyzed the relativity between the body surface characteristics indicated by Evans blue and the hemorrheological parameters in rats with blood-stasis syndrome. **Result:** In the rats treated by 10%

[收稿日期] 2009-12-29
[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2003CB517104)
[第一作者] 任映, 副研究员, 研究方向: 中药药理, Tel: (010) 84013195
[通讯作者] 田金洲, Tel: (010) 84013380

macromolecule dextran solution confected by 0.5% Evans blue, the blue petechia in rat auricle and tongue were observed after 30 minutes, which aggravated as the time went by, and the whole ear of rat changed to dark blue and the blue petechiae of tongue enlarged to more than half of tongue after 240 minutes, while in the rats treated by 0.5% Evans blue, the rat auricle was semitransparent and the tongue color was uniform. In therats treated by 10% macromolecule dextran solution confected by Sodium Chloride, the blood viscosity increased significantly in different shear rate in 30 and 60 minutes, and the plasma viscosity, the aggregation index of erythrocyte, and the integral of aggregation index significantly increased at 30, 60, 120, and 240 minutes compared with the rats injected by sodium chloride. The index of red blood cell deformation and the integral area of deformation index at 30, 60, 120, and 240 minutes in the rats injected by sodium chloride are slightly lower than that in rats treated by 10% macromolecule dextran solution confected by sodium chloride, though there was no significantly difference can be detected. **Conclusion:** The surface characteristics in rat model with blood-stasis syndromcan be observed directly through the exosymptom change of ear and tongue when 0.5% Evans blue was confected into the 10% macromolecule dextran solution, and it correlated with the degree of blood stasis showed by the hemorrheologic variation. It indicates that the exosymptom changes in rats with blood-stasis syndrome induced by macromolecule dextran can be reflected objectively by Evans blue.

[Key words] Evans blue; macromolecule dextran; blood-stasis syndrome; surface characteristics; hemorheology

就能通过动物体表特征的变化较直观地反映血瘀程度变化作者做了大量的实验研究^[1-5], 本实验是在观察偶氮蓝反映大分子葡萄糖酐所致血瘀证模型大鼠血瘀程度表征变化的同时又平行观察了血瘀证模型大鼠血液流变性变化, 以进一步说明偶氮蓝可以客观反映大分子葡萄糖酐所致血瘀证模型大鼠血瘀程度的表征变化。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雄性, 体重(220 ±20) g, 由维通利华实验动物中心供给, 许可证号京动许字(2000)第017号。大鼠饲养和实验均在清洁级动物实验室内进行, 许可证号 SYXK(京)2004-0009。

1.2 仪器与试剂 大分子右旋糖酐(Dextran500), 瑞典 Pharmacia Biotech 公司; 偶氮蓝, 国药集团化学试剂有限公司; LG-R-80 血液黏度测定仪; LG-B-190 红细胞变形聚集仪; 富士数码相机(SF7000)。

2 方法

2.1 造模 Wistar 雄性大鼠 112 只正常饲养 1 周, 其中 56 只随机分为 8 组, 每组 7 只, 模型组大鼠尾 iv 用 0.5% 偶氮蓝配制的 10% 大分子葡萄糖酐溶液, 5 mL·kg⁻¹, 对照组大鼠尾 iv 等体积等浓度偶氮蓝溶液。分别在注射后 30, 60, 120, 240 min 在同角度和光线下近距离拍摄大鼠耳廓、舌体表表征变化。并按根据造模大鼠耳廓、舌体出现蓝色瘀斑的范围

不同而制定的 5 级分级标准进行等级比较^[1]。另 56 只随机分为 8 组, 每组 7 只, 模型组大鼠尾 iv 用生理盐水配制 10% 的大分子葡萄糖酐溶液, 5 mL·kg⁻¹, 对照组大鼠尾 iv 等体积生理盐水, 分别在注射后 30, 60, 120, 240 min 取血, 检测血液流变性指标。

2.2 统计学处理 统计软件采用 SAS8.2, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较用 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 造模大鼠体表特征变化 模型组大鼠 30 min 时耳廓自耳根部开始出现蓝色瘀点瘀斑, 舌尖 1 ~2 处出现蓝色斑点; 60 min 时耳廓蓝色瘀斑范围增大, 约占全耳廓面积 1/2, 舌尖蓝色瘀斑范围增加, 约占舌体 1/4; 120 min 时耳廓蓝色瘀斑逐渐连成片, 扩及全耳, 整个耳廓呈现均匀蓝色, 舌尖蓝色瘀斑范围增加, 约占舌体 1/3; 240 min 时耳廓完全呈深蓝色, 舌尖蓝色瘀斑范围继续增加, 几乎占舌体 1/2; 对照组耳廓始终半透明, 动静脉清晰, 舌体颜色均匀并随时间推移加深^[1]。

3.2 造模大鼠血液流变学指标变化 结果见表 1 ~2。

从表 1 ~2 可以看出模型组大鼠注射大分子葡萄糖酐后与相应对照组相比在不同时间点及不同剪切速率下全血黏度、血浆黏度、红细胞压积、红细胞

表 1 各实验组大鼠不同时间点全血黏度变化($\bar{x} \pm s, n = 7$)					
时间 /min	组别	全血黏度 / mPa·s			
		150 /s ⁻¹	38 /s ⁻¹	10/s ⁻¹	5/s ⁻¹
30	模型	5. 0 \pm 0. 90 ²⁾	7. 3 \pm 1. 48 ²⁾	13. 0 \pm 3. 60 ²⁾	19. 2 \pm 6. 25 ²⁾
	对照	2. 95 \pm 0. 10	4. 38 \pm 0. 10	7. 91 \pm 0. 14	11. 72 \pm 0. 27
60	模型	3. 80 \pm 0. 35 ¹⁾	5. 84 \pm 0. 56 ¹⁾	11. 00 \pm 1. 82	16. 70 \pm 3. 48
	对照	3. 51 \pm 0. 23	5. 32 \pm 0. 41	9. 80 \pm 0. 99	14. 67 \pm 1. 68
120	模型	3. 12 \pm 0. 18 ¹⁾	4. 59 \pm 0. 21	8. 18 \pm 0. 45	12. 03 \pm 0. 82
	对照	2. 93 \pm 0. 19	4. 41 \pm 0. 23	8. 10 \pm 0. 44	12. 10 \pm 0. 75
240	模型	3. 17 \pm 0. 15	4. 47 \pm 0. 20	7. 80 \pm 0. 40	11. 40 \pm 0. 63
	对照	3. 05 \pm 0. 1	4. 46 \pm 0. 23	7. 80 \pm 0. 46	11. 27 \pm 0. 82

注:与对照组相比 ¹⁾ $P < 0. 05$, ²⁾ $P < 0. 01$ (下同)。

表 2 各实验组大鼠不同时间点血液流变学指标变化 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)							
时间 /min	组别	血浆黏度	红细胞压积	红 细 胞	聚集指数	变形指数	变形指数
		/mPa·s	/%	聚集指数	积分面积		积 分 面 积
30	模型	1. 5 \pm 0. 09 ²⁾	64. 6 \pm 5. 89 ²⁾	2. 4 \pm 0. 06 ²⁾	498. 00 \pm 12. 51 ²⁾	0. 47 \pm 0. 02 ¹⁾	239. 67 \pm 11. 52 ²⁾
	对照	1. 26 \pm 0. 03	48. 57 \pm 9. 64	1. 37 \pm 0. 23	264. 14 \pm 46. 64	0. 45 \pm 0. 01	225. 43 \pm 6. 08
60	模型	1. 46 \pm 0. 07 ²⁾	59. 43 \pm 4. 86 ¹⁾	2. 10 \pm 0. 22 ²⁾	414. 86 \pm 42. 52 ²⁾	0. 47 \pm 0. 01	241. 86 \pm 6. 62
	对照	1. 29 \pm 0. 04	46. 57 \pm 5. 38	1. 22 \pm 0. 09	236. 43 \pm 23. 48	0. 46 \pm 0. 02	238. 86 \pm 8. 67
120	模型	1. 46 \pm 0. 05 ¹⁾	56. 00 \pm 11. 07	2. 38 \pm 0. 15 ²⁾	479. 14 \pm 28. 28 ²⁾	0. 49 \pm 0. 01	247. 71 \pm 9. 29
	对照	1. 27 \pm 0. 19	47. 43 \pm 9. 46	1. 38 \pm 0. 10	247. 00 \pm 19. 67	0. 48 \pm 0. 02	246. 86 \pm 10. 89
240	模型	1. 52 \pm 0. 05 ¹⁾	42. 29 \pm 8. 28	2. 65 \pm 0. 24 ²⁾	532. 57 \pm 44. 31 ²⁾	0. 48 \pm 0. 03	246. 14 \pm 16. 45
	对照	1. 45 \pm 0. 08	45. 14 \pm 5. 52	1. 34 \pm 0. 15	249. 57 \pm 28. 20	0. 47 \pm 0. 02	243. 71 \pm 13. 11

聚集指数、聚集指数积分均有不同程度增高,红细胞变形面积指数,变形指数积分面积虽与对照组无明显差异,但趋势为低于对照组。

4 讨论

血瘀证是中医病性辨证中的一个重要而常见的证型。近 20 年来,对血瘀证的生物学基础研究取得了显著的进展。血液流变学是研究血液的流动性、黏滞性、变形性的科学。它是判断血瘀证的公认指标。本实验在观察血瘀证模型大鼠血瘀程度表征变化的同时检测了血液流变性的变化,结果显示,与对照组相比,模型组大鼠舌体及耳廓蓝色瘀斑在 30, 60, 120, 240 min 时随时间推移逐渐扩大,同时观察到全血黏度、血浆黏度、聚集指数、聚集指数积分面积、血球压积在 30, 60, 120, 240 min 时显著升高,变形指数降低、变形指数积分面积减小,这一血液流变性的改变与不同时间血瘀证模型大鼠耳廓、舌体蓝色瘀斑所反映的血瘀程度表征变化相一致,并呈明显的时效关系,进一步说明了偶氮蓝可以客观反映大分子葡萄糖酐所致血瘀证模型大鼠血瘀程度的表

征变化。

[参考文献]

[1] 王琨, 宋崇顺, 任映, 等. 大分子右旋糖酐致血瘀大鼠体表特征研究[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(2) : 94.

[2] 任映, 宋崇顺, 尹军祥, 等. 大分子葡萄糖酐致血瘀证动物模型表征的偶氮蓝变化特征[J]. 北京中医药大学学报, 2007, 30(12) : 824.

[3] 宋崇顺, 田金洲, 王永炎, 等. 大分子葡萄糖酐所致血瘀模型小鼠中偶氮蓝渗出量与血瘀程度的相关性[J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(2) : 108.

[4] 宋崇顺, 任映, 尹军祥, 等. 活血化瘀药对大分子右旋糖酐所致血瘀模型伊文斯蓝表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(6) : 435.

[5] 尹军祥, 田金洲, 王永炎, 等. 三种血瘀证动物模型的比较及评价[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(6) : 438.

(责任编辑 何伟)