

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.01.016

疏血通脉胶囊对颈总动脉血栓大鼠血浆纤维蛋白降解产物及 D-二聚体的影响

刘泰¹, 周军², 段志刚¹, 胡玉英¹, 曹斌², 高微², 吴玉强², 王丽², 刘瑛², 张青萍^{*}, 何乾超¹

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西壮族自治区南宁市园湖路 2 号, 530023; 2. 广西中医药研究院)

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(2011GXNSFA018180); 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科攻 11107009-4-11)

摘要 目的 探讨疏血通脉胶囊对颈总动脉血栓大鼠动脉血栓的影响及其作用机制。方法 将 50 只 Wistar 大鼠随机分为生理盐水组、曲克芦丁组(0.1 mg/g)、疏血通脉胶囊低(2.5 mg/g)、中(5 mg/g)、高(10 mg/g)剂量组, 每组 10 只, 连续灌胃 20 天后, 制作左侧颈总动脉血栓模型, 2 h 后从各组大鼠右侧颈总动脉抽血检测纤维蛋白降解产物(FDP)、D-二聚体(D-D)含量, 同时取左侧颈总动脉血栓称血栓湿重、干重。结果 与生理盐水组比较, 各给药组大鼠血栓湿重、干重均明显减轻($P < 0.01$), 血浆 FDP、D-D 含量明显下降($P < 0.01$), 其中疏血通脉胶囊高剂量组改善程度较疏血通脉胶囊低、中剂量组及曲克芦丁组更为明显($P < 0.01$)。结论 疏血通脉胶囊能防治大鼠动脉血栓的形成及发展, 其机制可能与降低血浆 FDP、D-D 的含量有关。

关键词 疏血通脉胶囊; 动脉血栓; 纤维蛋白降解产物; D-二聚体

脑梗死是临床常见的危急重症, 按发病机制可分为动脉粥样硬化性血栓性脑梗死、脑栓塞、腔隙性脑梗死及分水岭梗死等, 以前两者多见^[1]。血浆 D-二聚体(D-D)及纤维蛋白降解产物(FDP)的含量在脑梗死急性期较高, 在恢复期则较急性期显著降低, 所以对血浆 D-D 和 FDP 的检测有助于了解患者病情改变^[2]。本研究观察疏血通脉胶囊对颈总动脉血栓大鼠血浆 D-D 和 FDP 的影响, 探讨其治疗脑梗死的可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物

清洁级成年 Wistar 大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重 120 ~ 160 g, 由广西医科大学实验中心提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(桂) 2009—0008。

1.2 药物

疏血通脉胶囊组成: 三七粉 15 g, 薤白 10 g, 地龙 10 g, 瓜蒌皮 10 g, 冰片 0.1 g 等, 由广西中医药研究院制备胶囊剂, 每克含生药 5 g, 中药饮

片购自南宁生源中药饮片有限责任公司; 曲克芦丁片(批号: 20110112), 山西亚宝药业集团股份有限公司生产。

1.3 主要试剂和仪器

D-D 含量测定试剂盒(批号: MB0208), 上海太阳生物技术公司; FDP 含量测定 ELISA 试剂盒(批号: 42717), 天津子涵生物科技有限公司; FeCl₃ 试剂(批号: 20110923), 西格玛奥德里奇公司。AR2140 型电子分析天平, 奥豪斯国际贸易上海有限公司; START-4 全自动四通道血凝仪, Stago 公司; 5417R 低温高速离心机, 德国 Eppendorf 公司; 全光谱酶标仪, 美国 Bioek 公司。

1.4 分组及处理方法

将 50 只大鼠根据随机数字表分为生理盐水组、曲克芦丁组及疏血通脉胶囊低、中、高剂量组, 每组 10 只。疏血通脉胶囊低、中、高剂量组均用蒸馏水做溶媒, 给药量分别为 2.5 mg/g、5 mg/g、10 mg/g; 曲克芦丁组给予曲克芦丁片 0.1 mg/g; 生理盐水组予等量生理盐水。各组均每日灌胃 1 次, 共 20 天。

* 通讯作者: liutai590216@163.com, (0771) 5848502

用 10% 水合氯醛行腹腔麻醉, 参照文献 [6] 方法制作颈总动脉血栓模型, 分离两侧颈总动脉, 左侧颈总动脉分离长度为 2 cm, 其下置小片塑料薄膜 (4.0 cm × 1.8 cm), 用于保护血管周围组织, 将吸有 20 μl FeCl₃ 溶液的小片滤纸 (1 cm × 1 cm) 敷于左侧颈总动脉上。右侧颈总动脉分离约 1.5 cm, 穿线备用。敷滤纸后 30 min 去除, 去除滤纸后 90 min 从右颈总动脉插管取血 1.8 ml, 置于含有 0.2 ml 的枸橼酸钠 (0.109 mol/L) 抗凝液的试管中, 3000 r/min 离心 15 min, 吸取上层血浆于 EP 管中, -70℃ 保存。

1.5 指标检测

1.5.1 动脉血栓干重、湿重检测 取血后迅速剪下左侧颈总动脉血栓部位血管, 纵向剖开血管管腔, 用滤纸条仔细吸去血管内血液并观察有无血栓形成, 若有则轻镊出, 立即用微量电子天平称取血栓湿重, 然后置 60℃ 烘箱中烘干 24 h 精确称干重。

1.5.2 FDP 和 D-D 检测 按 ELISA 试剂盒单克隆抗体夹心法测定 FDP。加大鼠血浆 10 μl 和 5 个含量梯度不同浓度的标准品, 混匀 37℃ 孵育 30 min, 洗涤 4 次, 加酶标记抗体 100 μl/孔, 在 37℃ 下孵育 30 min, 洗涤 4 次, 加底物 OPD 100 μl/孔, 在 37℃ 下放置 10 min, 用 2 mol/L H₂SO₄ 50 μl/孔终止显色, 然后用酶标仪 492 nm 波长处比色。以含量作为纵坐标, OD 值作为横坐标, 作标准曲线, 按公式计算: FDP 含量 = 样品含量 (查曲线所得) × 10 × 抗凝稀释倍数。采用免疫比浊法测定 D-D 含量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行处理, 计量资料均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠动脉血栓干重、湿重比较

表 1 示, 与生理盐水组比较, 其余各组大鼠动脉血栓干重、湿重明显降低 ($P < 0.01$); 与疏血通胶囊低剂量组比较, 疏血通胶囊高、中剂量组及曲克芦丁组血栓干重、湿重明显降低 ($P < 0.01$); 与曲克芦丁组、疏血通胶囊中剂量组比较, 疏血通胶囊高剂量组血栓干重、湿重明显降低 ($P < 0.01$)。

2.2 各组大鼠血浆 FDP、D-D 含量比较

表 2 示, 与生理盐水组比较, 其余各组大鼠血浆 FDP 及 D-D 的含量明显降低 ($P < 0.01$); 与疏

血通脉胶囊低剂量组比较, 疏血通脉胶囊高、中剂量组及曲克芦丁组血浆 FDP 及 D-D 的含量明显降低 ($P < 0.01$); 与曲克芦丁组、疏血通脉胶囊中剂量组比较, 疏血通脉胶囊高剂量组血浆 FDP 及 D-D 的含量明显降低 ($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠动脉血栓干重、湿重比较 (mg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	血栓湿重	血栓干重
生理盐水组	10	10.68 ± 0.92	5.34 ± 0.43
曲克芦丁组	10	6.86 ± 0.70 ^{*△}	3.44 ± 0.30 ^{*△}
疏血通脉胶囊低剂量组	10	9.21 ± 0.59 [*]	4.55 ± 0.35 [*]
疏血通脉胶囊中剂量组	10	7.33 ± 0.51 ^{*△}	3.64 ± 0.31 ^{*△}
疏血通脉胶囊高剂量组	10	5.07 ± 0.53 ^{*△▲#}	2.55 ± 0.29 ^{*△▲#}

注: 与生理盐水组比较, ^{*} $P < 0.01$; 与疏血通脉胶囊低剂量组比较, [△] $P < 0.01$; 与疏血通脉胶囊中剂量组比较, [#] $P < 0.01$; 与曲克芦丁组比较, [▲] $P < 0.01$

表 2 各组大鼠血浆 FDP、D-D 含量比较 (mg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	FDP	D-D
生理盐水组	10	7.06 ± 0.71	0.87 ± 0.15
曲克芦丁组	10	5.27 ± 0.40 ^{*△}	0.60 ± 0.12 ^{*△}
疏血通脉胶囊低剂量组	10	6.31 ± 0.73 [*]	0.75 ± 0.12 [*]
疏血通脉胶囊中剂量组	10	5.31 ± 0.58 ^{*△}	0.62 ± 0.13 ^{*△}
疏血通脉胶囊高剂量组	10	4.71 ± 0.44 ^{*△▲#}	0.46 ± 0.13 ^{*△▲#}

注: 与生理盐水组比较, ^{*} $P < 0.01$; 与疏血通脉胶囊低剂量组比较, [△] $P < 0.01$; 与疏血通脉胶囊中剂量组比较, [#] $P < 0.01$; 与曲克芦丁组比较, [▲] $P < 0.01$

3 讨论

根据中医“邪气盛则实, 实则治其标, 急则治其标”的治疗原则, 在脑梗死急性期积极给予祛瘀化腐的药物对于疾病的预后及转归有着重要的意义。疏血通脉胶囊立足中医中风痰瘀致病理论, 是经现代中药提取工艺提取疏血通脉方剂研制而成。方中三七、薤白为君药, 化痰祛瘀通络; 地龙、瓜蒌皮为臣药, 协同君药加强活血祛瘀作用; 冰片为佐使药, 开窍醒神, 清热止痛。全方共奏化痰熄风、祛瘀通络、痰瘀同治、疏血通脉之功。该药以化痰祛瘀为主, 兼顾熄风、醒脑, 紧守中风“风、火、痰、瘀、毒”之病理特点, 采用从痰瘀论治之法, 符合中医辨证论治^[4]。

在诸多疾病中血栓占据重要地位, D-D 及 FDP 作为血栓溶解后产物, 对高凝状态和血栓性疾病的诊断具有重要意义, 可作为血管内凝血、纤溶和血栓形成的标志^[5]。本实验研究结果显示, 疏血通脉胶囊及曲克芦丁片均可溶解血栓减少动脉血栓干重、湿重, 降低血浆 FDP、D-D 的含量, 推测疏血通脉胶囊通过增强机体纤溶活性, 从而起到抗动脉

血栓形成, 最终起到减少动脉血栓干重、湿重的作用。同时, 本研究结果显示疏血通胶囊低、中、高剂量之间存在量效关系, 高剂量优于低剂量及中剂量, 可指导临床用药剂量。

参考文献

- [1] 吴江. 神经病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 158.
- [2] 姜晓. 血浆 D-二聚体、FDP 及 CRP 在急性脑梗死患者中联合检测研究 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2012, 15

(13): 34-35.

- [3] Kurz K D, Main BW, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride [J]. Thromb Res, 1990, 60(4): 269-270.
- [4] 王永炎, 张伯礼. 中医脑病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 139.
- [5] 詹前美. D-二聚体、FDP 检测的临床意义 [J]. 中国厂矿医学, 2006, 19(4): 362.

Effects of *Shuxue Tongmai Capsule* on Plasma Fibrin Degradation Products and D-Dimer in Rats With Carotid Artery Thrombosis

LIU Tai¹, ZHOU Jun², DUAN Zhigang¹, HU Yuying¹, CAO Bin², GAO Wei², WU Yuqiang², WANG Li², LIU Ying², ZHANG Qingping¹, HE Qianchao¹

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Guangxi Zhuang Autonomous Region 530023; 2. Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science)

ABSTRACT Objective To research the effects and mechanism of *Shuxue Tongmai Capsule* (capsule to course the blood and free the vessels) on arterial thrombosis in rats with carotid artery thrombosis. **Methods** Fifty Wistar rats were randomized into the normal saline group, troxerutin (0.1 mg/g) group, *Shuxue Tongmai Capsule* low-dose (2.5 mg/g), middle-dose (5 mg/g) and high-dose (10 mg/g) group, with 10 in each. The left carotid artery thrombosis models were made after 20 days of intragastric administration. The blood sample from the right common carotid artery was used to detect the contents of fibrin degradation products (FDP) and D-dimer (D-D) and the dry weight and wet weight of left carotid thrombosis was measured 2 hours after the modeling. **Results** Comparing with the normal saline group, the dry weight and wet weight of thrombosis and the contents of FDP and D-D were significantly decreased in all administration groups ($P < 0.01$), especially in the *Shuxue Tongmai Capsule* high-dose group ($P < 0.01$). **Conclusion** *Shuxue Tongmai Capsule* can prevent and treat arterial thrombosis in rats, which may be associated with decreasing the contents of FDP and D-D.

Keywords *Shuxue Tongmai Capsule* (capsule to course the blood and free the vessels); arterial thrombosis; fibrin degradation products; D-dimer

(收稿日期: 2013-05-28; 修回日期: 2013-08-05)

《中医杂志》研究论著类稿件摘要编写要求

本刊研究论著类稿件均要求在正文前附摘要, 一般为 200~300 字, 可根据内容掌握。摘要应具自明性, 即仅阅读摘要而不需阅读全文就能获得必要的信息。摘要一般分为目的、方法、结果、结论 4 个部分。

目的: 研究目的要明确、简洁, 应为该项研究最终要解决的问题, 而不是题目的重复。

方法: (1) 说明研究对象。临床研究应说明病例数量 (必要时说明性别、年龄)、分组情况及每组的例数; 实验研究应说明动物种类、数量 (性别、级别、体重、周/月龄等视情况必要时说明)、分组及每组数量。(2) 说明干预措施、检测指标、检测方法、干预及检测的实施时间/持续时间。临床研究应说明各组治疗方法 (药物、手法或主要穴位) 名称、剂量 (刺激量或参数)、疗程、观察指标及检测实施时间; 实验研究应说明动物造模方法, 各组所用药物名称、剂量、给药途径、持续时间、检测指标及检测实施时间。

结果: 报告研究结果的主要数据及统计学显著性的确切值 (统计量和 P 值) 且数据准确。(1) 结果数据与正文内一致。(2) 主要的阴性结果应予报告。(3) 缩略语首次出现写出中文全称。

结论: 应依据结果分析总结而得出, 立论和推理应有充分依据, 避免套话和猜测性语言。结论不应重复结果内容, 结论应与研究目的一致。