

红花注射液对家兔动静脉内瘘术后血中内皮素及一氧化氮水平的影响

蒋宇峰,何立群,沈沛成

(上海中医药大学附属曙光医院,上海 200021)

【摘要】 目的:探讨红花注射液预防动静脉内瘘术后血栓形成的机制。方法:24 只家兔被随机分为红花组、肝素组和对照组,每组 8 只;各组动物分别行双下肢双侧股动静脉内瘘术;术后即刻红花组和肝素组分别经耳缘静脉注射红花注射液(5 mg/kg)和肝素注射液(6 U/kg),对照组给予等量生理盐水,以后每日给药 1 次,连用 14 d。各组动物分别于术后 1、3、7 和 15 d 经耳缘静脉采血检测血浆内皮素(ET)和血清一氧化氮(NO)含量。结果:术后红花组和肝素组血浆 ET 含量均显著低于对照组,血清 NO 含量均显著高于对照组(P 均 <0.01),术后各时间点红花组与肝素组血浆 ET 含量比较差异均无显著性;术后 3 d 和 7 d 红花组血清 NO 含量均显著高于肝素组(P 均 <0.01),术后 1 d 和 15 d 两组比较差异均无显著性。结论:家兔股动静脉内瘘术后 ET 增多,NO 减少,存在血管内皮功能失调;红花注射液通过调整术后 ET 和 NO 的平衡,可改善血管内皮功能,防止早期血栓形成。

【关键词】 红花注射液;动静脉瘘;内皮素;一氧化氮

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2006)06-0345-03

Effects of safflower injection (红花注射液) on the levels of blood endothelin and nitric oxide after femoral arteriovenous fistula operation in rabbits JIANG Yu-feng, HE Li-qun, SHEN Pei-cheng. Department of Nephropathy, Affiliated Shuguang Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

【Abstract】 **Objective:** To study the mechanism of safflower injection (红花注射液) on preventing thrombosis after arteriovenous fistula operation in rabbits. **Method:** Twenty-four rabbits were randomly divided into three groups: safflower injection group, heparin group and control group (each $n=8$). Rabbit femoral artery-vein side-to-side anastomosis models were performed on both sides of the lower extremities and they were coincided. Safflower injection (5 mg/kg) or heparin injection (6 U/kg) was given from ear edge vein immediately after operation in the respective group, while normal saline (0.9%) was given with the same fashion in the control group, once per day for 14 days. On the 1 st, 3 rd, 7 th and 15 th day after operation, the nitric oxide (NO) in serum and endothelin (ET) in plasma were determined respectively. **Results:** The plasma ET contents were significantly lowered in safflower and heparin groups compared with that of control group (both $P<0.01$). There was no difference between safflower group and heparin group at each time point. The serum NO contents were significantly elevated in safflower and heparin groups compared with that of control group (both $P<0.01$). On the 3 rd and 7 th day after operation, the serum NO contents in the safflower group were higher than those in the heparin group (both $P<0.01$). There were no differences between safflower group and heparin group on the 1 st and 15 th day. **Conclusion:** The safflower injection has the effect of improving the endothelial function after femoral arteriovenous fistula operation in rabbits by the adjustment of plasma ET and serum NO. Safflower injection is worthy of clinical selection for anti-thrombosis.

【Key words】 safflower injection; arteriovenous fistula; endothelin; nitric oxide

血液透析是目前尿毒症患者的主要生存手段,而动静脉内瘘手术的成功与否则是能否进行血液透析的必备条件。手术后血管吻合口的血栓形成是手术最严重的并发症,是导致内瘘手术失败的根本原

因之一,及时有效的术后预防十分重要。我们应用红花注射液预防动静脉内瘘术后血栓形成取得了良好的临床效果^[1]。本实验拟观察红花注射液对家兔股动静脉内瘘术后血管内皮细胞功能的影响,探讨红花注射液预防血栓形成的可行性及能否作为微血管吻合术后预防血栓形成的理想药物。

作者简介:蒋宇峰(1972-),男(汉族),江苏人,主治医师,研究方向为慢性肾功能不全及透析治疗。

1 材料与方

1.1 动物分组:实验用家兔 24 只,购于中科院上海实验动物中心,雌雄不限,体重 2.0~2.5 kg,月龄 3 个月左右。按随机数字表法分为红花组、肝素组和对照组,每组 8 只。

1.2 手术方法:手术时以体积分数为 3%的戊巴比妥钠溶液按 30 mg/kg 经耳缘静脉注射(静注)麻醉。常规脱毛,消毒皮肤后,在双侧腹股沟韧带下 1 cm 处切开,暴露股动脉和股静脉,血管夹阻断血管。在 10 倍显微镜下放大,分别行两侧股动、静脉侧侧吻合术,形成动静脉内瘘。每个吻合口用 10-0 无损伤缝合线缝合,检查确认吻合血管通畅后,丝线缝合皮肤,红汞液外敷切口,每日 1 次。

1.3 给药方法:红花组按 5 mg/kg 给予红花注射液加生理盐水 20 ml 静注。肝素组按 6 U/kg 给予肝素注射液加入生理盐水 20 ml 静注。对照组静注等量生理盐水。各组家兔于术后即刻经耳缘静脉注射给药 1 次,以后每日给药 1 次,连用 14 d。

1.4 观察指标:术后 15 d 在麻醉下重新打开切口,仔细分离出吻合血管,观察血管是否通畅、有无血栓形成以及血管与周围组织粘连情况。各组动物分别于术后 1、3、7 和 15 d 从耳缘静脉抽血 2.0 ml,分别采用硝酸还原酶法测定血清一氧化氮(NO)含量,用放射免疫分析法测定血浆内皮素(ET)水平。

1.5 统计学处理:应用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。各组实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 红花注射液对家兔动静脉内瘘术后吻合口远期通畅率的影响:24 只动物共有吻合口 48 处,观察 15 d。制模过程中死亡 2 只,分别死于麻醉过度和术后感染。其余 22 只完成全部实验,其中红花组 7 只,肝素组 8 只,对照组 7 只。结果显示:红花组、肝素组各有 1 处吻合口血栓形成,而对照组有 2 处吻合口血栓形成,其远期通畅率分别为 92.8%、93.7%和

85.7%,红花组远期通畅率明显高于对照组,差异有显著性($P<0.05$),而红花组远期通畅率与肝素组相比,差异无显著性($P>0.05$)。

2.2 红花注射液对家兔动静脉内瘘术后血浆 ET 及血清 NO 含量的影响(表 1):红花组和肝素组血浆 ET 含量降低,血清 NO 含量增加,与对照组比较差异均有显著性;且术后 3 d 和 7 d 红花组 NO 含量显著高于肝素组(P 均 <0.01);术后各时间点红花组 ET 含量与肝素组比较差异无显著性,说明红花注射液能有效改善微血管吻合术后血管内皮功能。

3 讨论

动静脉内瘘术是尿毒症维持性血液透析患者建立血管通路的主要手术方式,术后吻合口血栓形成是直接导致手术失败的根本原因。术后血栓形成可能与血管内皮细胞(VEC)功能改变有关。VEC 最基本的功能就是抗血栓形成,以保证血液流变性正常和循环管道通畅。内皮细胞具有体内合成[即内皮衍生松弛因子(ERF)]NO 的功能,NO 是血管内皮释放的重要舒血管物质,其作用集中代表了正常的血管内皮功能,能使血管平滑肌松弛、血管舒张、血流增加,从而抑制血栓形成。研究显示,NO 重要的生理作用在于它能改变血管的基础张力,调节组织的血流量,抑制血小板黏附、聚集,维持血流畅通^[2]。近年来研究表明,在血管内皮剥脱后,血管很快就恢复了抗血小板聚集、调节血管张力的功能,其原因可能与血管损伤后,一氧化氮合酶(NOS)表达代偿性增加有关^[3]。有文献显示,NO 可抑制血管平滑肌细胞(VSMC)增殖和迁移,抑制细胞外基质(ECM)的沉积,防止血栓形成^[4]。本实验结果显示,血管离断吻合术后,对照组 NO 浓度较红花组和肝素组有显著降低,表明血管内皮损伤后,NO 含量的改变在调节抗凝、防栓过程中起重要作用。

VEC 还具有止血与促栓功能,主要能合成 ET。ET 具有强烈的缩血管作用,是迄今为止最强烈的血管收缩肽。ET 与 NO 是一对由 VEC 产生的血管活性物质,是影响 VSMC 增殖以及调节血管收缩与

表 1 术后各组家兔血中 ET 和 NO 含量的变化($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Change of ET and NO contents at different time points after operation in each group($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	ET(ng/L)				NO(μ mol/L)			
		术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术后 15 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术后 15 d
红花组	7	82.5±21.3 [△]	84.7±15.6 [△]	85.6±23.5 [△]	84.7±15.6 [△]	40.8±19.8 [△]	55.2±20.6 ^{△#}	58.5±15.7 ^{△#}	48.5±15.7 [△]
肝素组	8	83.6±18.5 [△]	85.6±32.1 [△]	84.2±18.9 [△]	85.9±18.9 [△]	39.4±24.9 [△]	38.7±19.2 [△]	40.5±26.7 [△]	45.6±17.5 [△]
对照组	7	121.7±14.8	131.5±18.7	119.0±23.1	116.0±18.6	15.5±13.8	18.5±18.1	16.4±15.6	15.5±21.5

注:与对照组比较,[△] $P<0.01$;与肝素组比较,[#] $P<0.01$

舒张的因子,维持其平衡则有利于保护和恢复内皮功能,抑制血栓形成,防止和延缓血管再狭窄的形成。有实验表明,应激导致 ET/NO 比值增大,提示应激后以 ET 增高更为突出,表明 ET 的缩血管作用是应激后诱发一系列病理变化的基础^[5]。本实验结果显示,手术应激后对照组 ET 水平较肝素组和红花组明显升高,3 d 达最高,以后逐渐下降,表明 VEC 在受到机械性损伤(例如手术应激)时,其对周围环境的反应性减弱,使 NO 释放量减少、生物活性下降,而血浆 ET 水平急剧上升。NO/ET 平衡被破坏,其抗凝功能必然受到破坏,血液易在损伤的内皮细胞处凝固,形成血栓。同时内皮受损,内皮下胶原、基底膜和微纤维显露,导致血管收缩,激活凝血反应,诱导血小板聚集,形成血栓而阻塞血管。

红花注射液是由中草药红花提取而成,其主要成分有红花苷、红花素、黄花素、总黄酮等。文献表明:红花提取物具有改善微循环、降低血黏度、抑制血小板聚集、明显延长血栓形成时间、降低纤维蛋白含量、提高纤维蛋白溶解性等作用^[6]。血栓形成与中医血瘀证有非常密切的联系,活血化瘀法为主要治法。本研究结果显示,在血管损伤及吻合术后,血管内皮功能受损,NO/ET 失衡,抗凝功能受到破坏,并形成血栓,说明内源性 ET 升高与 NO 缺乏可能参与了吻合口血栓形成的过程。红花组和肝素组吻合口通畅率均远高于对照组。表明红花注射液对血管吻合术后内皮细胞合成 ET 的抑制及调节 NO 释

放具有一定的作用。虽然本实验提示肝素与红花两者对 ET 的调节差异无显著性,但对 NO 的调节红花组优于肝素组,术后 3 d 和 7 d 红花组 NO 含量显著高于肝素组,差异有显著性,其机制如何还有待进一步研究。同时,红花组的不良反应明显低于肝素组,说明红花注射液对肝素有禁忌证的术后患者来说,不失为一种可选择的良好抗血栓形成药物。

综上所述:术后应用红花注射液能提高血管吻合口通畅率,促进吻合口内皮细胞功能早期恢复,在手术成功吻合血管的基础上,具有防止血栓形成的作用,同时又可减少肝素的不良反应,具有一定的临床应用价值。

参考文献:

- [1] 蒋宇峰,何立群,邵命海. 红花注射液对动静脉内瘘成形术的影响[J]. 中国血液净化,2005,4:434-436.
- [2] 李海鹏,史载祥. 心血管一氧化氮异常及中西医结合治疗进展[J]. 中国中西医结合急救杂志,2001,8:57-59.
- [3] 王华亭,蔡生业,姚成芳,等. 复方花刺参粘多糖对成形术后球囊成形兔血浆内皮素及血清一氧化氮的影响[J]. 中国海洋药物,2004,23:6-10.
- [4] Chen L, Daum G, Forough R, et al. Overexpression of human endothelial nitric oxide synthase in rat vascular smooth muscle cells and in balloon-injured carotid artery[J]. Circ Res, 1998, 82: 862-870.
- [5] 李志军,孙元莹,吴云良,等. 血必净注射液防治家兔应激性脏器损伤的研究[J]. 中国危重病急救医学,2006,18:105-108.
- [6] 王会玲. 红花黄色素的现代研究概述[J]. 中国中医药科技,1998,5:333-334.

(收稿日期:2006-08-18 修回日期:2006-09-14)

(本文编辑:李银平)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

告读者:《中国中西医结合急救杂志》英文摘要写作要求

投《中国中西医结合急救杂志》文章的作者写作英文摘要时请按照如下要求。

- 1 总体要求:中英文摘要一致,英文摘要可略详于中文摘要。英文摘要实词以 250 个左右为宜。
- 2 文题:①文题为短语形式,可以为疑问句,但不能是陈述句和否定句。②用词宜少,以 10~15 个词为宜。③少用或不用冠词。④尽量避免多个“of”连用。⑤句首字母大写,余小写,专用名词词首字母大写。
- 3 作者姓名及单位:①用汉语拼音写出全部作者的姓名。②翻译全部作者的作者单位,按照科室,医院,单位所在市、邮编、所在省,China 的顺序书写。有通讯作者或责任作者时要以“Corresponding author:”开头,译出通讯作者或责任作者的姓名,单位,单位所在地、邮编、所在省,最后加 China。
- 4 正文:①采用报道性文摘,按照“Objective”、“Methods”、“Results”、“Conclusion”撰写英文摘要。其中,“Objective”要使用“To”开头的不定式短语形式,而“Methods”、“Results”和“Conclusion”均使用陈述句形式。尽量使用短句子。②不使用第一人称“I”、“we”等。③“Methods”、“Results”用过去时,“Conclusion”用一般现在时。④英文缩写第一次出现时要注明英文全称,其后括号内注明缩写,如 interleukin-8 (IL-8)。⑤中药的名称用英文,应采用《中国药典》的名称,既包括植物(或动物、矿石等)的名称,也包括其药用部分和必要的炮制手段。中成药、方剂的名称:药名用汉语拼音,剂型用英文,并在英文后用括号加注中文,例如:Shenmai injection(参麦注射液)。⑥中医证型的英译文后以括号注明中文,例如:deficiency both of Yin and Yang(阴阳两虚)。⑦关于自拟处方,作者有对处方起名的权利,4 个字母以上首字母应大写。
- 5 关键词:①中英文一致,不能使用英文缩写。②所有单词小写,专有名词词首字母大写。

(本刊编辑部)