

# 活血通络汤防治深静脉血栓形成的实验研究

马勇<sup>1\*</sup>, 陈金飞<sup>1</sup>, 张允申<sup>1</sup>, 喻斌<sup>1</sup>, 许建安<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210029; 2. 江苏省中医院, 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 探讨中药活血通络汤预防深静脉血栓形成的作用及可能机制。方法: 采用结扎下腔静脉和双侧髂总静脉的方法造模, 观察大鼠一般状态 and 左后肢肿胀情况, 检测血小板聚集率、血液黏度、血栓湿重的变化, 电镜及光镜观察髂总静脉结扎线以下至股静脉段组织学变化情况。结果: 活血通络汤能缩短大鼠后肢肿胀恢复时间, 抗血小板聚集, 降低血液黏度及血栓湿重, 药效同复方丹参片组相当, 且作用呈剂量依赖性, 其中活血通络汤高、中剂量组与模型组之间的比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 电镜及光镜观察提示活血通络汤高、中、低剂量组在抑制血管内皮细胞损伤和血栓形成等方面好于模型组, 且高剂量组与复方丹参片组的作用大致相当。结论: 活血通络汤能有效防治深静脉血栓形成, 这可能是其通过降低血小板聚集率、血液黏度, 抑制血管内皮细胞损伤等发挥作用。

**[关键词]** 活血通络汤; 深静脉血栓形成; 实验研究

**[中图分类号]** R 285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0194-05

深静脉血栓形成(DVT)是指血液在深静脉腔内不正常地凝结, 阻塞静脉管腔, 导致静脉回流阻碍。全身主干静脉均可发病, 尤其多见于下肢。国外文献报道, 择期骨科手术 DVT 的发生率为 52%<sup>[1]</sup>, 人工全髋关节、全膝关节置换术为 50% ~ 60%<sup>[2]</sup>, 脊髓损伤引起瘫痪者为 75% ~ 80%<sup>[3]</sup>。吕厚山等<sup>[4]</sup>通过对 46 例病人的下肢深静脉造影, 发现国人人工髋关节置换后 DVT 的发生率约为 48.2%。目前 DVT 的各种监测手段和防治方法已经有了很大进展, 但 DVT 并发的静脉功能不全严重影响着病人的生活质量和工作能力, 并有引起致死性肺栓塞(FPE)的可能, 因而如何有效预防和治疗深静脉血栓, 仍然是医学界的热点问题。作者基于中医药活血化瘀的理论, 采用活血通络汤进行了预防深静脉血栓形成的实验研究, 以求为预防深静脉血栓形成提供一种新的思路。

## 1 材料

**1.1 药品与试剂** 活血通络汤: 江苏省中医院骨伤科提供(药物组成: 生薏苡仁、炒白术、苍术、川牛膝、鸡血藤、丹皮、丹参、仙灵脾、骨碎补、地龙、蜈蚣、生甘草、鹿衔草、茯苓、生泽兰、生泽泻, 共计 161 g); 药

材通过南京中医药大学中药鉴定教研室吴德康教授鉴定。复方丹参片: 广东国医堂制药股份有限公司, 批号 080501; 25% 戊二醛: 成都科龙化工试剂厂, 批号 2007072; 水合氯醛: 国药集团化学试剂有限公司, 批号 T2007022。

**1.2 动物** Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 雄性, 体重 180 ~ 220 g, 上海斯莱克实验动物责任有限公司, 合格证号 SCXK(沪)-2003-0003。

## 2 统计方法

应用 SPSS12.0 软件, 计量资料数据以均数 ± 标准差表示 ( $\bar{x} \pm s$ ), 采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  具有显著性差异,  $P < 0.01$  具有非常显著性差异。

## 3 方法

**3.1 分组** 取雄性大鼠 180 只, 随机分为活血通络汤低剂量组 ( $13.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  生药); 活血通络汤中剂量组 ( $27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); 活血通络汤高剂量组 ( $54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); 复方丹参片组 ( $0.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); 模型组(等体积生理盐水); 假手术组(等体积生理盐水), 共 6 组, 每组 30 只。连续 ig 给药 7 d。第 4 天给药 30 min 后进行结扎血管造模。给药剂量设置按照临床等效量设为低剂量。

**3.2 造模方法** 大鼠以 10% 水合氯醛麻醉 ( $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , ip), 仰位固定, 分离下腔静脉下端与双侧髂总静脉。1 号丝线结扎下腔静脉和双侧髂总静脉, 每侧相距 2 cm。结扎后可吸收缝线双层关腹。假手术组除置丝线于静脉周围不结扎外, 其余手术步骤同实验组。术后不用抗凝药和抗生素。动物自

[收稿日期] 20100108(012)

[基金项目] 南京市科技计划项目(200605013)

[通讯作者] \* 马勇, 教授, 从事中西医结合治疗骨关节损伤的基础与临床研究, E-mail: zhongyi-my@263.net, Tel: 13505153212

由活动、进食,每日 ig 给药。

### 3.3 观察内容

**3.3.1 一般情况观察** 逐日记录观察大鼠一般状态 and 左后肢肿胀等情况。

**3.3.2 血小板聚集率和血液黏度检测** 各组实验动物干预完成后,各取 10 只以 10% 水合氯醛麻醉 (300 mg·kg<sup>-1</sup>, ip), 仰位固定, 颈动脉插管采血, 肝素钠生理盐水溶液 (500 u·mL<sup>-1</sup>) 按 1:9 抗凝, 分别进行如下操作:

血小板聚集率的测定: 抗凝血以 800 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取富血小板血浆 (PRP), 利用 LG-PABER 型血小板聚集及凝血因子分析仪记录各组数值。

血液黏度的测定: 抗凝血采用 LG-R-80 系列血液黏度仪测定全血黏度, 全血测定完后, 剩余血样以 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心, 进行血浆黏度的测定。

**3.3.3 血栓湿重测定** 上述操作完成后, 切取大鼠髂总静脉结扎线以下至股静脉段静脉血管, 剖开管腔, 取出血栓, 于滤纸上吸干血液, 用微量电子天平称取血栓湿重 (mg)。

**3.3.4 光镜组织学检查** 手术后第 3 天给药 30 min 后分别处死各组大鼠各 10 只, 切取髂总静脉结扎线以下至股静脉段 (腹壁浅静脉汇入处), 生理盐水漂洗, 置于 10% 的甲醛中固定, 石蜡包埋切片, 行 HE 染色。

**3.3.5 透射电镜检查** 取材时间同 3.3.4, 每组各取 10 只大鼠, 切取髂总静脉结扎线以下至股静脉段

静脉血管, 于 3% 的戊二醛 PBS 溶液固定, 行透射电镜检查, 观察各组静脉血管损伤程度。

## 4 结果

**4.1 一般情况观察** 假手术组在所有时间段双后肢均无肿胀, 颜色、皮温较术前无明显改变, 术后 6 h 可站立行走。模型组、复方丹参片组、活血通络汤高、中、低剂量组均于造模后出现两后肢青紫、僵硬、肿胀。第 2 天, 模型组、活血通络汤中、低剂量组双足肿胀最严重, 青紫颜色渐退, 双后肢活动增加, 但不能站立。活血通络汤高剂量组双足肿胀严重, 但程度均轻于中、低剂量组及模型组。复方丹参片组双足肿胀明显, 程度轻于活血通络汤中、低剂量组及模型组, 且有部分大鼠开始活动。第 3 天, 模型组、活血通络汤低、中剂量组双后肢肿胀均开始减退, 可站立活动, 但行走活动少, 其中活血通络汤中剂量组肿胀减退程度较低剂量组及模型组明显。活血通络汤高剂量组、复方丹参片组后足肿胀减退最明显, 且均可站立活动。

**4.2 血小板聚集率及血液黏度检测** 由表 1 可见, 假手术组与模型组比较, 其之间的差异具有显著性意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 提示造模成功; 各组血小板聚集率和血液黏度检测结果表明, 活血通络汤能降低静脉结扎模型大鼠全血黏度、血浆黏度、血小板聚集率, 且作用呈剂量依赖性, 药效同复方丹参片组相当, 其中活血通络汤高、中剂量组与模型组之间的比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 1 活血通络汤对静脉结扎大鼠血小板聚集率和血液黏度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	全血黏度/mPa·s <sup>-1</sup>				血浆黏度 100 s <sup>-1</sup>	血小板聚集率/%
		200 s <sup>-1</sup>	30 s <sup>-1</sup>	5 s <sup>-1</sup>	1 s <sup>-1</sup>		
假手术	—	3.18 ± 0.58 <sup>1)</sup>	4.32 ± 0.76 <sup>1)</sup>	7.23 ± 0.77 <sup>2)</sup>	14.89 ± 2.36 <sup>2)</sup>	1.45 ± 0.28 <sup>2)</sup>	14.39 ± 3.98 <sup>2)</sup>
模型	—	3.85 ± 0.64	5.75 ± 0.59	11.57 ± 2.24	25.95 ± 4.96	2.21 ± 0.37	47.13 ± 9.21
复方丹参片	0.16	3.20 ± 0.57 <sup>1)</sup>	4.67 ± 0.79 <sup>1)</sup>	8.86 ± 2.23 <sup>1)</sup>	18.32 ± 3.29 <sup>2)</sup>	1.51 ± 0.28 <sup>2)</sup>	15.91 ± 6.75 <sup>2)</sup>
活血通络汤	54	3.21 ± 0.39 <sup>1)</sup>	4.30 ± 0.66 <sup>2)</sup>	7.31 ± 1.10 <sup>2)</sup>	16.46 ± 2.94 <sup>2)</sup>	1.47 ± 0.30 <sup>2)</sup>	23.16 ± 8.45 <sup>2)</sup>
	27	3.46 ± 0.59	5.03 ± 0.85	8.91 ± 1.87 <sup>1)</sup>	18.43 ± 2.67 <sup>2)</sup>	1.67 ± 0.32 <sup>1)</sup>	32.44 ± 9.03 <sup>1)</sup>
	13.5	3.57 ± 0.61	5.31 ± 0.74	10.57 ± 1.67	22.75 ± 3.69	1.95 ± 0.27	37.94 ± 8.37 <sup>1)</sup>

注: 与模型组比较, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (下同)。

**4.3 血栓湿重测定** 由表 2 可知, 活血通络汤能降低静脉结扎模型大鼠血栓湿重, 且作用呈剂量依赖性, 药效同复方丹参片组相当, 其中活血通络汤高剂量组与模型组之间的差异具有非常显著性意义 ( $P < 0.01$ ), 活血通络汤中剂量组与模型组之间的比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

**4.4 光镜组织学检查结果** 假手术组各例静脉结构完整, 管腔无明显扩张, 未见血管内皮细胞肿胀、变性、坏死, 血管壁及其周围组织无明显炎细胞浸润, 管腔内无明显血栓形成 (图 1); 模型组各例静脉均可见不同程度血管损伤, 表现为血管内皮细胞肿胀, 局部脱落, 管壁周围可见少量炎细胞浸润, 其中 5/10 例静

脉管腔明显扩张,腔内可见血栓形成(图 2);复方丹参片组 3/10 例静脉仍可见不同程度血管损伤,表现为血管内皮细胞肿胀,局部脱落,管壁周围可见少量炎细胞浸润,管腔内未见明显血栓形成;其余 7/10 例静脉结构完整,未见明显病理损伤(图 3);活血通络汤低剂量组 7/10 例静脉仍可见不同程度血管损伤,表现为血管内皮细胞肿胀,局部脱落,管壁周围可见少量炎细胞浸润,其中 1/10 例静脉管腔内可见血栓形成;其余 3/10 例静脉结构完整,未见明显病理损伤(图 4);活血通络汤中剂量组 5/10 例静脉仍可见不同程度血管损伤,表现为血管内皮细胞肿胀,局部脱落,管壁周围可见少量炎细胞浸润,其中 1/10 例静脉管腔内可见血栓形成;其余 5/10 例静脉结构完整,未见明显病理损伤(图 5);活血通络汤高剂量组 4/10 例静脉仍可见不同程度血管损伤,表现为血管内皮细胞肿胀,局部脱落,管壁周围可见少量炎细胞浸润,管腔内未见明显血栓形成;其余 6/10 例静脉结构完整,未见明显病理损伤(图 6)。

表 2 活血通络汤对静脉结扎大鼠血栓湿重的影响  
( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血栓湿重/mg
假手术	-	-
模型	-	$26.64 \pm 3.35$
复方丹参片	0.16	$18.87 \pm 3.23^{2)}$
活血通络汤	13.5	$23.45 \pm 2.81$
	27	$22.17 \pm 3.49^{1)}$
	54	$19.05 \pm 3.38^{2)}$

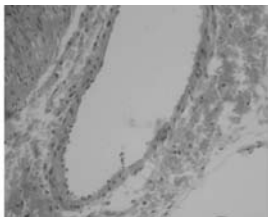


图 1 假手术组(静脉  $\times 200$ )

**4.5 电镜组织学检查结果** 假手术组可见线粒体轮廓清晰,内嵴结构正常,清晰可见,线粒体膜完整(图 7);模型组可见线粒体轮廓不清,大多数内嵴结构呈空泡状,线粒体膜与周围边界不清,胞质中出现大量的空泡结构,细胞核多形性改变,核膜结构不清晰,并失去完整性,呈间断性(图 8);阳性组可见线粒体轮廓基本清晰,内嵴结构正常,清晰可见,线粒体膜基本完整,但少数可见内嵴结构呈空泡状,细胞核结构清晰,形态正常,核膜结构清晰,基本呈连续

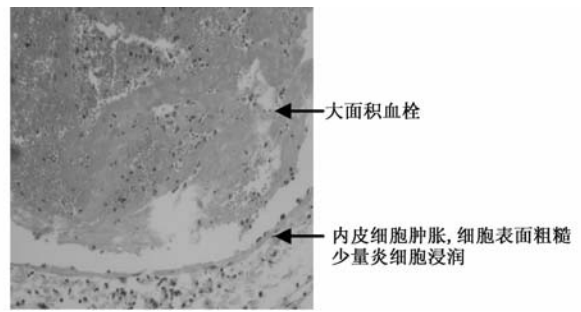


图 2 模型组(静脉  $\times 200$ )

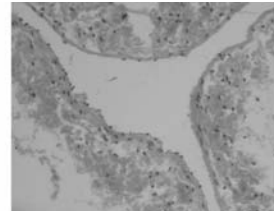


图 3 复方丹参片  $0.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组(静脉  $\times 200$ )

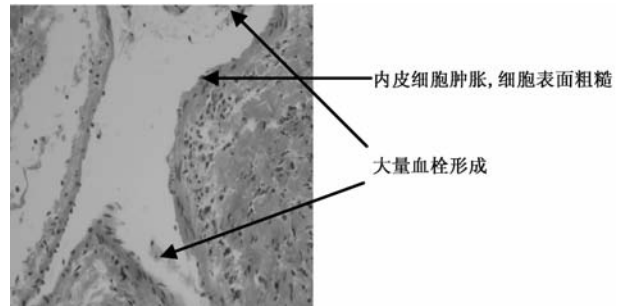


图 4 活血通络汤  $13.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组(静脉  $\times 200$ )

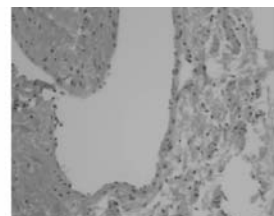


图 5 活血通络汤  $27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组(静脉  $\times 200$ )

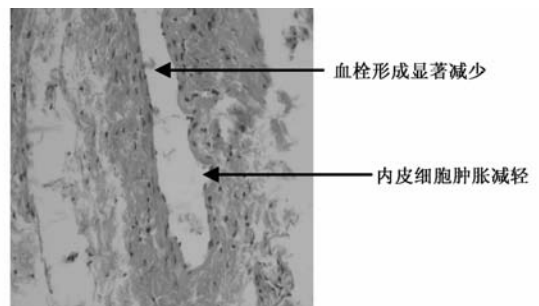


图 6 活血通络汤  $54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组(静脉  $\times 200$ )

性(图 9);低剂量组可见线粒体轮廓不清晰,内嵴结构大部分还是呈空泡状,线粒体膜与周围边界不清晰,胞浆出现空泡结构,细胞核形态呈多形性改变,

但核膜结构清晰,但出现增粗(图 10);中剂量组可见线粒体已见清晰,但绝大多数可见清晰内嵴结构,少数还是呈空泡状,线粒体膜与周围边界比较清晰,胞质空泡结构有所减少,细胞核轮廓未见改变,核膜结构清晰,基本呈连续性(图 11);高剂量组可见线粒体轮廓清晰,内嵴结构正常,清晰可见,线粒体膜完整,胞质未见空泡结构,细胞核轮廓未见改变,核膜结构清晰,基本呈连续性(图 12)。

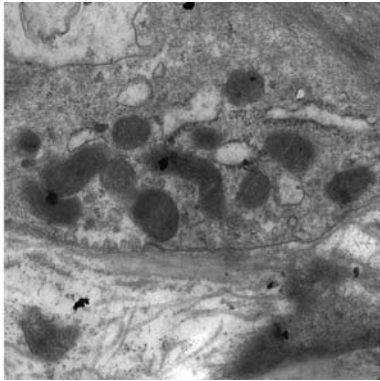
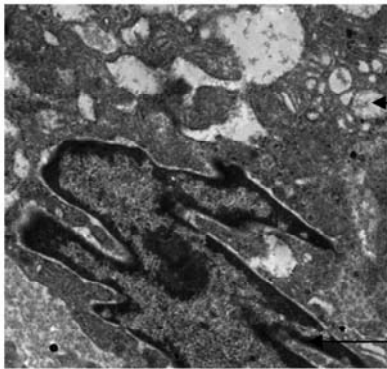
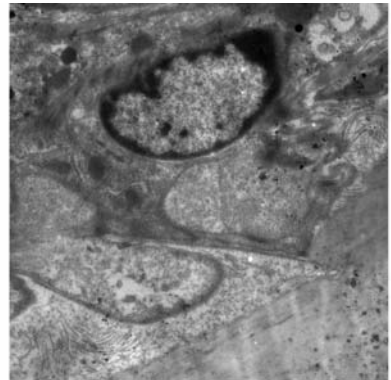


图 7 假手术组血管内皮细胞( $\times 6\ 000$ )

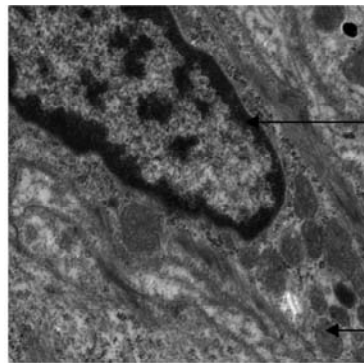
图 10 活血通络汤  $13.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组血管内皮细胞( $\times 4\ 000$ )



线粒体轮廓不清,内嵴结构呈空泡状  
核多形性改变,核膜结构不清晰,失去完整性

图 8 模型组血管内皮细胞( $\times 3\ 000$ )

图 11 活血通络汤  $27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组血管内皮细胞( $\times 2\ 500$ )



核膜结构清晰,基本呈连续性  
线粒体轮廓清晰,内嵴结构正常,清晰可见

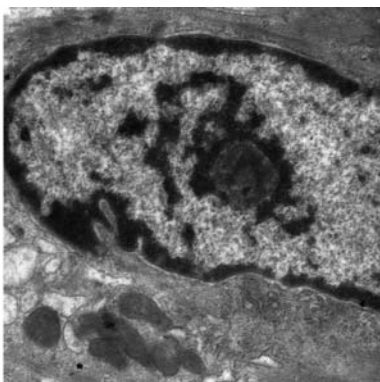


图 9 复方丹参片  $0.16\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组血管内皮细胞( $\times 4\ 000$ )

图 12 活血通络汤  $54\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组血管内皮细胞( $\times 5\ 000$ )

### 5 讨论

1856 年 Virchow 提出了静脉血流滞缓、高凝状态和静脉壁损伤是 DVT 形成最主要的 3 个原因<sup>[5]</sup>。现代医学防治深静脉血栓主要从抗凝、溶栓、保护血管内皮细胞、防止静脉壁的损伤等方面入手。

祖国医学虽无下肢深静脉血栓的病名,但究其发病机制及临床表现,当属“脉闭”范畴。活血通络汤是我院许建安教授治疗下肢深静脉血栓形成的经验方,临床疗效良好。许教授认为:髋关节置换术后患者气血虚弱,血行不畅,瘀血阻滞,水失健运,郁久化热,湿、热、瘀、虚相互为患,是其主要病理特点,瘀

血阻络贯穿于疾病的始终,是病机之关键,故立清热利湿、祛瘀通络为治疗大法。活血通络汤中薏苡仁、白术、苍术、茯苓、泽兰、泽泻健脾利湿、清热利水,牛膝、鸡血藤、丹皮、丹参、地龙、蜈蚣通经活络,仙灵脾、骨碎补、鹿含草补肾活血。诸药合用,共奏清热利湿,祛瘀通络,消肿止痛,补虚培本之功效,使湿化、热清、瘀去、脉络通畅,以达疾病痊愈之目的。现代药理实验证实,丹参中含有的丹酚酸、丹参多酚酸盐有显著的抗血小板聚集作用,从而有助于维持血运和预防血栓形成<sup>[6]</sup>。薏苡仁还具有抗动脉血栓形成和抗凝血作用,由于不延长凝血酶原时间和部分凝血活酶时间,推测其抗凝血作用点可能不在凝血酶原和部分凝血活酶的激活阶段<sup>[7]</sup>。从地龙中提取的蚓激酶可使体外血栓形成的时间延长,既抗凝又不影响止血,有利于血栓的防治<sup>[8]</sup>。蜈蚣能够调节一氧化氮(NO)/内皮素(ET)的平衡,抑制血管内皮细胞生长因子(VEGF)的表达,显著提高 NO 及 iNOS 的表达,进而发挥保护血管内皮细胞、防治内皮细胞增生的作用;此外,蜈蚣还能通过调节脂代谢,降低全血黏度<sup>[9,10]</sup>。

复方丹参片主要由丹参、三七、冰片等组成,具有活血化瘀、理气止痛等功效,实验证明,复方丹参片具有延缓血栓形成的作用<sup>[11]</sup>,把复方丹参片作为实验对照组具有良好可比性。

该实验造模后除假手术组外,其余各组大鼠均出现两侧后肢变青紫并愈加明显、双后肢呈僵硬肿胀、活动减少等症状,这符合下肢深静脉血栓形成的临床表现。对各组动物行为学观察结果显示,复方丹参片组和活血通络汤高中低剂量组大鼠后肢肿胀恢复时间均明显短于模型组,这说明活血通络汤能够有效治疗下肢深静脉血栓引起的肢体肿胀。各组血小板聚集率和血液黏度检测结果表明,活血通络汤能降低静脉结扎模型大鼠全血黏度、血浆黏度、血小板聚集率,且作用呈剂量依赖性,药效同复方丹参片组相当,其中活血通络汤高、中剂量组与模型组之间的比较具有显著性差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。光镜观察静脉损伤情况可见,除假手术组外其余各组均有不同程度血管损伤表现,其中模型组全部有损伤且 5/10 出现静脉血栓,而复方丹参片组及活血通络汤高剂量组分别只有 3/10、4/10 的血管损伤及全部未出现血栓形成。证明复方丹参片组及活血通

络汤高剂量组能够较理想的防治结扎后血管损伤及深静脉血栓形成。电镜组织学检查结果显示活血通络汤高剂量组与复方丹参片组能有效保护血管内皮细胞,防止静脉血管壁的损伤,两者效果相当。可见,活血通络汤能有效保护血管内皮细胞的这一作用是其防治深静脉血栓形成的可能机制之一。

活血通络汤组方合理,既立足于中医理论,又结合了现代医学及药理学的研究进展,充分体现了中医药在临床治疗血瘀证中的优势,且该研究结果进一步证明活血通络汤能够有效改善血液高黏状态、抗血小板聚集、保护血管内皮细胞,这为活血通络汤临床用于防治髋关节置换术后下肢深静脉血栓形成提供了实验依据。

### [参考文献]

- [1] 张培华. 临床血管外科学[M]. 北京:科学出版社, 2003,496.
- [2] Rice KL, Walsh ME. Minimizing venous thromboembolic complications in the orthopaedic patient [J]. Orthop Nurs, 2001, 20(6):21.
- [3] Wakefield T W. Treatment options for venous thrombosis [J]. Vasc Surg, 2000, 31(14):613.
- [4] 吕厚山,徐斌. 人工关节置换术后下肢深静脉血栓形成[J]. 中华骨科杂志, 1999, 19(3):155.
- [5] 石美鑫. 实用外科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1992:179.
- [6] 颜平,罗心平,施海明,等. 丹参多酚酸治疗心绞痛患者的临床疗效及对血小板功能的影响[J]. 介入放射学杂志, 2004, 12(2):55.
- [7] 张明发,沈雅琴,朱自平,等. 薏苡仁镇痛抗炎抗血栓形成作用的研究[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(6):578.
- [8] 刘秀艳. 地龙的药理研究[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(1):106.
- [9] 司秋菊,王亚利,王鑫国,等. 蜈蚣对心肌缺血性损伤小鼠 NO 及 iNOS 的影响[J]. 山东中医杂志, 2004, 23(8):492.
- [10] 张艳慧,司秋菊,王鑫国. 蜈蚣抗家兔动脉粥样硬化的实验研究[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1):26.
- [11] 屈彩琴,杨幼新,张远. 复方丹参片对大鼠实验性血栓形成的影响[J]. 河北中医, 1999, 21(4):252.

[责任编辑 聂淑琴]