

• 论著 •

僵蚕注射液对凝血酶诱导血管内皮细胞纤溶平衡的影响

郝晓元, 苏 云, 彭延古

(湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007)

【摘要】 目的:观察不同浓度僵蚕注射液对凝血酶诱导血管内皮细胞释放组织型纤溶酶原激活物(t-PA)和纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)活性的影响。**方法:**培养新生儿脐带静脉,选取生长良好的第2~5代脐静脉内皮细胞用于实验。将大、中、小剂量僵蚕注射液(浓度分别为600、300和150 mg/L)加入5 kU/L凝血酶诱导的内皮细胞中,培养12 h后收集细胞液,用酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测细胞培养液中PAI-1和t-PA的活性。**结果:**单用5 kU/L的凝血酶组具有诱导内皮细胞分泌PAI-1增加、抑制t-PA释放作用,与无凝血酶和僵蚕的空白对照组比较差异均有显著性(P 均 <0.01)。与凝血酶组比较,僵蚕大、中、小剂量组均能明显增加t-PA活性、降低PAI-1活性,差异均有显著性(P 均 <0.01);僵蚕大、中、小剂量组对凝血酶诱导内皮细胞释放t-PA的影响率分别为96.8%、95.6%和55.1%,对PAI-1的影响率分别为92.5%、85.4%和29.3%。**结论:**大剂量僵蚕注射液可明显抑制凝血酶诱导的内皮细胞释放作用,并能抗血栓形成。

【关键词】 血管内皮细胞;僵蚕注射液;凝血酶;纤溶酶原激活物

中图分类号: R285.5; Q343.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-9691(2007)02-0070-03

Effect of bombyx batryticatus injection (僵蚕注射液) on the balance of fibrinolytic system of human umbilical vascular endothelial cell induced by thrombin HAO Xiao-yuan, SU Yun, PENG Yan-gu. *The First Affiliated Hospital, Traditional Chinese Medicine University of Hunan, Changsha 410007, Hunan, China*

【Abstract】 Objective: To observe the effect of bombyx batryticatus injection (僵蚕注射液) on the tissue type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) activities of human umbilical vascular endothelial cell (HUVEC) induced by thrombin. **Methods:** The well grown 2-5 generations of HUVECs were cultured for the study. After different concentrations of bombyx batryticatus injection (600, 300 and 150 mg/L respectively) were given, the activities of PAI-1 and t-PA released by HUVEC induced by thrombin (5 kU/L) were measured with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 12 hours after cultivation. **Results:** PAI-1 was increased and t-PA expression was inhibited by 5 kU/L thrombin in HUVEC compared with the blank controls without thrombin and bombyx batryticatus (both $P < 0.01$). The activities of t-PA were increased and the activities of PAI-1 were reduced by different concentrations of bombyx batryticatus injection compared with thrombin group (all $P < 0.01$), and the effect rates of high, middle and low doses of bombyx batryticatus on t-PA in HUVEC induced by thrombin were 96.8%, 95.6% and 55.1%, and those on PAI-1 were 92.5%, 85.4% and 29.3%, respectively. **Conclusion:** High dose of bombyx batryticatus injection can significantly inhibit the HUVEC releasing function induced by thrombin and inhibit the coagulation process.

【Key words】 vascular endothelial cell; bombyx batryticatus injection; thrombin; plasminogen activator

《神农本草经》中记载,僵蚕具有熄风止痉、活血通络、化痰散结等功效。在对僵蚕抗实验性静脉血栓及药理作用的研究中发现,僵蚕水提液的体内、外实验均证实其具有较强的抗凝作用,可作用于心脑血管、肝、肾和血液病变等。本实验通过比较不同浓度僵蚕注射液对凝血酶诱导血管内皮细胞(VEC)释放组织型纤溶酶原激活物(t-PA)和纤溶酶原激

活物抑制剂-1(PAI-1)活性的影响,从维持纤溶系统平衡角度观察僵蚕抑制凝血酶诱导的VEC释放作用以及抑制血栓形成的机制。

1 材料与方法

1.1 材料:新生儿脐带静脉由湖南中医药大学第一附属医院妇产科提供;凝血酶由上海太阳生化公司提供;僵蚕由湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供(僵蚕注射液制备程序:僵蚕匀浆化,经水煎、醇沉,制成注射液,pH 7.4,生药含量约2 kg/L)。二氧化碳(CO₂)培养箱为美国 Format Scientific Co. 产

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30171159);湖南省教育厅资助项目(03C301)

作者简介:郝晓元(1955-),男(汉族),山西省人,硕士生导师,主任医师(E-mail:xy320@126.com)。

品;倒置相差显微镜为中国上海显微镜厂产品;超净工作台为上海锦屏仪器代表有限公司产品;细胞离心机(TGL-16G型)为上海安亭仪器厂产品;Multiscan酶标仪为日本Epson公司产品;t-PA和PAI-1试剂盒由上海太阳生化公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 内皮细胞的培养与鉴定:取新生儿脐带静脉,用质量分数为0.25%的胰蛋白酶消化和机械刺激获取脐静脉内皮细胞,原代培养。实验选用经Ⅷ因子免疫荧光检测并生长良好的第2~5代内皮细胞。

1.2.2 实验分组:收集对数期细胞,调整细胞浓度(密度 1×10^5)并接种于96孔培养板中,置于37℃、体积分数为5%的CO₂培养箱中培养24~48h后,当培养板内已有80%的细胞呈汇合状态时,加药进行实验。实验分为凝血酶组、凝血酶+大剂量僵蚕组、凝血酶+中剂量僵蚕组、凝血酶+小剂量僵蚕组以及无凝血酶和僵蚕的空白对照组。凝血酶用量为5kU/L,僵蚕大、中、小剂量分别为600、300和150mg/L。每组实验做6个重复孔,培养12h。

1.2.3 测定指标与方法:t-PA和PAI-1活性测定用酶联免疫吸附法(ELISA),PAI-1的单位以AU表示,操作按药盒说明书要求进行。

1.3 统计学分析:数据处理采用SPSS12.0统计软件,结果以均数±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 t-PA和PAI-1活性(表1):与空白对照组比较,凝血酶组t-PA活性显著降低,PAI-1活性显著增高,差异均有显著性(P 均 < 0.01)。与凝血酶组比较,僵蚕大、中、小剂量组t-PA活性均增加,PAI-1活性降低,差异均有显著性(P 均 < 0.01)。僵蚕大、中、小剂量组间t-PA和PAI-1比较差异均无显著性。

表1 僵蚕注射液对凝血酶诱导VEC释放t-PA和PAI-1活性的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of bombyx batryticatus injection on t-PA and PAI-1 activities of VEC induced by thrombin($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数(孔)	t-PA(kU/L)	PAI-1(kAU/L)
空白对照组	6	0.467±0.007	0.436±0.021
凝血酶组	6	0.242±0.006**	0.675±0.018**
僵蚕小剂量组	6	0.366±0.014△△	0.605±0.013△△
僵蚕中剂量组	6	0.457±0.019△△	0.471±0.020△△
僵蚕大剂量组	6	0.460±0.001△△	0.454±0.060△△

注:与空白对照组比较:** $P < 0.01$;与凝血酶组比较:△△ $P < 0.01$

2.2 相关性分析:按公式计算僵蚕对凝血酶诱导

VEC释放反应的影响程度[影响率=(僵蚕组-凝血酶组)/(凝血酶组-空白对照组) $\times 100\%$],结果:僵蚕大、中、小剂量组对凝血酶诱导VEC释放t-PA的影响率分别为96.8%、95.6%和55.1%;而对PAI-1的影响率分别为92.5%、85.4%和29.3%。说明僵蚕大剂量组对凝血酶诱导VEC释放t-PA具有明显的促进作用,对PAI-1释放具有明显的抑制作用。

3 讨论

近来研究表明,VEC是一种具有广泛生物活性的细胞,它通过合成、分泌多种生物活性物质,可调节血管紧张度、血小板黏附和聚集,以此来维持血管壁的凝血、抗凝以及纤溶和抗纤溶功能之间的平衡。当VEC功能受损时,其分泌功能失调,使血液呈高凝状态,因而与心脑血管系统中血栓性事件的发生具有密切关系^[1,2]。VEC可通过释放各种促凝因子、抗凝因子以及纤溶酶原活性调节因子,对凝血系统及局部微循环的正常功能起着重要作用。

在重症炎症时,内皮细胞功能受损,分泌的PAI和t-PA对组织器官血栓形成和微循环障碍有重要影响。t-PA和PAI是纤溶系统的一对重要调节因子,t-PA是纤溶的主要生理性刺激剂,启动生理性纤溶,清除血管床上的纤维蛋白沉积,机体通过其来清除血管内不适当的血栓形成;PAI则是t-PA的快速抑制剂^[3]。两者均可由VEC合成,t-PA活性降低、PAI活性升高,可导致血栓形成。t-PA及PAI作为反映纤溶的主要指标,同时亦反映血管内皮功能,是调节纤溶系统功能的关键物质。因此,两者在血栓并发症和心血管疾病的发生发展中起重要作用^[4-7]。

动物实验已发现,注射僵蚕注射液后动物的部分凝血活酶时间、凝血酶原时间和凝血酶时间均有延长,说明僵蚕对凝血酶和纤维蛋白原的反应有直接作用^[8]。研究还发现,给模型动物注射僵蚕液后,其血栓重量明显减轻,纤溶酶原含量、纤维蛋白原含量均减少,优球蛋白溶解时间明显缩短,表明僵蚕具有较强的抗纤溶活性^[9]。

本实验结果显示,僵蚕注射液可显著提高凝血酶诱导人脐静脉内皮细胞培养液中的t-PA活性,并降低PAI-1活性,表明僵蚕注射液具有明显的抗凝、促进纤溶的活性,且呈剂量依赖关系。说明僵蚕注射液通过调节凝血酶诱导的t-PA及PAI-1表达,能达到抑制凝血、促进纤溶、维持纤溶系统平衡的功能,从而起到保护VEC和抗血栓形成的作

用。已有研究表明,僵蚕注射液抗凝血因子 Xa 的活性远远高于其抗凝血酶的活性,性质更接近低分子肝素,而且僵蚕的抗凝作用并不依赖体内的抗凝血酶Ⅲ,因此,对于缺乏抗凝血酶Ⅲ、或分子异常、或过分耗竭的疾病,僵蚕注射液较低分子肝素有更强的临床应用价值^[10]。

参考文献:

- [1] De Meyer G R, Herman A G. Vascular endothelial dysfunction [J]. Prog Cardiovasc Dis, 1997, 39(4): 325-342.
- [2] 张敬霞, 孙根义, 陈永利, 等. 组织型纤溶酶原激活物在急性肺血栓栓塞肺动脉组织中的表达 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(8): 481-483.
- [3] 万海同, 白海波, 杨洁红, 等. 养阴方对培养人脐静脉内皮细胞抗凝和纤溶功能的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(6): 335-337.
- [4] van Hinsbergh V W, Kooistra T, van den Berg E A. Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator

inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo [J]. Blood, 1988, 72(5): 1467-1473.

- [5] Schneider D J, Ricci M A, Taatjes D J. Changes in arterial expression of fibrinolytic system proteins in atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(11): 3294-3301.
- [6] 吴莘, 王曹峰, 盛净, 等. 经胸廓内动脉置泵对急性心肌梗死犬 t-PA 和 PAI 的影响 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(9): 527-529.
- [7] 吴黎明, 苏哲坦. t-PA 和 PAI 与冠心病的研究现状 [J]. 中国危重病急救医学, 1993, 5(2): 121-123.
- [8] 彭延古, 李露丹, 邓奕辉. 僵蚕抗实验性静脉血栓及作用机理的研究 [J]. 血栓与止血学, 2001, 7(3): 104-105.
- [9] 彭延古, 曾序求, 徐爱良, 等. 僵蚕抗内毒素所致红细胞膜损伤作用的研究 [J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(3): 1-2.
- [10] 彭延古, 葛金文, 邓奕辉. 僵蚕抗凝血活性初步研究 [J]. 湖南中医学院学报, 2000, 20(4): 18-19.

(收稿日期: 2006-12-01 修回日期: 2007-01-22)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

21 例重症急性胰腺炎并发腹腔间室综合征患者的监护

王笑微, 金如燕, 蒋兰英

(浙江省金华市中心医院, 浙江 金华 321000)

【关键词】 胰腺炎, 急性, 重症; 腹腔间室综合征; 护理

中图分类号: R259 文献标识码: B 文章编号: 1008-9691(2007)02-0072-01

腹腔间室综合征(ACS)是指因各种原因引起腹内高压(LAH)导致心血管、肺、肾、腹腔内脏、腹壁和颅脑等功能障碍或衰竭的综合征。重症急性胰腺炎(SAP)是导致 LAH, 引发 ACS 的主要原因之一^[1]。因此, 严密监护、尽早发现各脏器功能变化, 恢复肠道功能, 可提高抢救成功率。现对本院 21 例 SAP 并发 ACS 患者的护理体会总结如下。

1 临床资料

1.1 病例: 本组 ACS 诊断符合 Kron 等^[2]提出的标准。男 17 例, 女 4 例; 年龄 30~73 岁, 平均 56.6 岁。

1.2 治疗监护方法与转归: 本组行剖腹减压、胰周坏死组织清创、腹腔引流术 14 例, 非手术治疗 7 例; 其中行呼吸机辅助呼吸 9 例。患者术后均采用早期禁食、胃肠减压, 应用生大黄胃管内注入和灌肠通便恢复肠道功能^[3,4]; 早期补充血容量, 监测血流动力学的变化, 纠正低氧

血症, 做好围手术期的护理。最终 16 例患者痊愈出院(占 76.2%), 5 例死亡(占 23.8%)。死亡原因: 多器官功能衰竭(MOF)3 例, 腹腔感染消化道大出血 2 例。本组 8 例使用人工呼吸机治疗 7~28 d, 5 例经治疗顺利撤机, 3 例抢救无效死亡。

2 讨论

对腹胀采用胰腺“休息疗法”^[5], 大黄灌肠后采用腹部按摩, 或穴位针灸刺激肠蠕动。在心电监护下慎重使用利尿剂, 加强中心静脉压(CVP)及心率、血压的动态监测。对气管插管或气管切开人工呼吸机治疗的患者应注意呼吸道通畅, 动态监测血气分析, 及时纠正低氧血症。监测记录患者的每小时尿量、尿比重, 维护肾功能正常。本组 2 例出现少尿, 因及时发现, 给予血液滤过清除炎症细胞因子, 患者恢复正常。由于 LAH 会导致颅内压升高和脑灌注压降低, 可出现胰腺脑病, 表现为意识模糊, 谵妄躁动等神经损害的症状, 应严密观察双侧瞳

孔及意识的变化, 确保各项治疗措施的有效性。腹腔减压是治疗 ACS 惟一有效的治疗手段, 剖腹减压术后的引流管要妥善固定, 防止扭曲、受压、滑脱, 做到每日定时挤压, 保证有效引流。

参考文献:

- [1] 周尊强, 孙备. 重症急性胰腺炎并发腹腔间隔综合征的研究进展 [J]. 国外医学外科学分册, 2004, 31(5): 278-280.
- [2] Kron I L, Harmian P K, Nolan S P. The measurement of intra-abdominal pressure as a criterion for abdominal reexploration [J]. Ann Surg, 1984, 199(1): 28-30.
- [3] 张颖. 大黄粉治疗重症胰腺炎 32 例 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2002, 9(1): 14.
- [4] 王婧, 阴祯宏, 张淑文, 等. 大黄类药物治疗重症急性胰腺炎的进展 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(5): 318-320.
- [5] 张俊, 陈应果, 李起. 暴发性胰腺炎的诊治体会(附 16 例) [J]. 中华肝胆外科杂志, 2005, 12(7): 486-487.

(收稿日期: 2006-11-09)

(本文编辑: 李银平)

作者简介: 王笑微(1957-), 女(汉族), 浙江省人, 副主任护师。