

川芎嗪对犬肾动脉成形术局部血栓形成影响的实验研究

梁俊生, 贺能树, 吴胜勇, 杨海贤

【摘要】 目的:探索川芎嗪对预防 PTA 后血栓形成的作用。**方法:**15 只杂种犬, 随机分为对照组、川芎嗪组和阿司匹林组, 每组 5 只。狭窄术 6~8 周后行 PTRA。术后 4h 将动物处死, 处死前切取成形肾动脉, 制作光、电镜标本。利用图像分析软件测量 PTRA 局部血栓体积和分析血小板血栓的超微结构。**结果:**两个实验组 PTRA 局部血栓明显小于对照组, PTRA 局部血小板血栓单位面积内纤维蛋白面积、血小板和线粒体数量均显著低于对照组, 而 α -颗粒、致密颗粒的相对数量明显高于对照组; 两个实验组间上述指标差异均无显著性意义。**结论:**川芎嗪可能是一种有效预防 PTA 后血栓形成的药物。

【关键词】 血管成形术, 经腔, 经皮肾动脉; 动物, 实验; 血栓; 川芎嗪; 阿司匹林

【中图分类号】 R815; R242; R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2003)10-0757-03

Experimental study of effect of ligustrazine on the thrombosis of PTRA site in canine renal artery stenosis model LIANG Jun-sheng, HE Neng-shu, WU Sheng-yong, et al, Department of Radiology, 266 Hospital of PLA, Chengde 067000, P. R. China

【Abstract】 Objective: To evaluate the effect of ligustrazine on preventing the thrombosis at the site of percutaneous transluminal renal angioplasty (PTRA). **Methods:** Dogs models ($n=15$) with experimental renal stenosis were selected and randomly divided into control group, ligustrazine group and aspirin group. Each group had five dogs. PTRA were performed 6~8 weeks after experimental renal stenosis. All dogs were killed 4 hours after PTRA. Angioplastic renal arteries were removed before dogs were killed. Renal specimens were fixed for light and electron microscopic analysis. The thrombus volume and microstructure of platelet thrombus at PTRA sites were measured and analysed respectively. **Results:** The thrombus volume of the two experimental groups were significantly smaller than that of the control group. Compared with the two experimental groups, the fibrin area were significantly high, the gap area were significantly low in the white thrombus in the control group; the number of platelet and thread granules were evidently high, but relative number of α -granules and compact granules were significantly low in the control group. Compared with each other, the changes of the thrombus volume of PTRA sites, the fibrin and gap area in the white thrombus, the number of platelets and thread granules, relative number of α -granules and compact granules were not statistically significant in two experimental groups. **Conclusion:** Ligustrazine could be one of the effective drugs in preventing thrombosis after PTA.

【Key words】 Angioplasty, transluminal, percutaneous renal; Animals, laboratory; Thrombus; Ligustrazine; Aspirin

经皮腔内血管成形术 (percutaneous transluminal angioplasty, PTA) 后早期血栓形成是引起急性血管闭塞的主要原因^[1], 也是导致晚期平滑肌细胞增生性狭窄的诱因之一^[2]。因此, 有效而成功地预防 PTA 后早期血栓形成对减少再狭窄发生率有着十分重要的意义。鉴于此, 笔者对中药川芎嗪在预防肾动脉成形术 (percutaneous transluminal renal angioplasty, PTRA) 后血栓形成的作用做了前瞻性研究。

材料与方法

1. 动物分组、肾动脉狭窄模型制作和血管成形术

15 只杂种犬, 体重 18~26kg, 雌雄不限, 随机分为对照组、实验一组和实验二组, 每组 5 只。肾动脉狭窄模型制作采用 Collins 法。术后 1~2 周造影证实形成狭窄, 6~8 周后行

PTRA。其中经皮扩张 12 只, 采用 Seldinger 技术, 股动脉插管, 用 5F 球囊导管对狭窄肾动脉进行扩张, 压力 405.3~607.95kPa, 每次持续 30s, 间隔 1~3min, 必要时可重复操作 3 次。扩张成功后造影复查。切开扩张 3 只, 行腹部正中切口, 分离上部腹主动脉及狭窄侧肾动脉, 经腹主动脉穿刺置管扩张狭窄肾动脉, 方法同前。

2. 给药方法和标本制备

川芎嗪注射液 40mg/kg 加于 5% 葡萄糖 250ml 中, 对实验一组犬行静脉滴注, 于 PTRA 前 15d 开始, 每日一次。给实验二组犬喂服阿司匹林粉末 4mg/kg, 术前 7d 开始, 每日一次。所有犬均在术后 4h 处死。处死前开腹切取成形侧肾动脉, 立刻用刀片将成形段肾动脉从成形 (即结扎) 正中分开, 随机分别放入 10% 福尔马林和 2.5% 戊二醛多聚甲醛溶液中固定。将用福尔马林固定后的肾动脉常规石蜡包埋, 从成形侧做横断连续切片, 每一标本切取 120~140 张切片。将戊二醛多聚甲醛溶液固定后的标本放入 1% 的四氧化锇溶液中做后固定, 然后常规脱水、包埋和超切, 切片厚度 50~70nm, 醋酸铀及柠檬酸铅

作者单位: 067000 河北, 承德市解放军第 266 医院放射科 (梁俊生); 天津医科大学总医院放射科 (贺能树、吴胜勇); 天津医科大学电镜中心 (杨海贤)

作者简介: 梁俊生 (1962~), 男, 河北保定人, 副主任医师, 主要从事影像诊断和介入放射学工作。

染色。

3. 定量测试方法

光镜切片经摄影镜头与 AST/486 计算机相连,利用 MIAS-300 图像分析软件(图像版:美国图像公司的 PCvision85 Plus),依次测出每张切片肾动脉腔内的血栓面积,取其平均值。再用血栓面积 $\text{mm}^2 \times 1.5\text{mm}$ (通过测量 DSA 像片,肾动脉狭窄长度基本相同,约 3mm),这样便可得到每一例的血栓体积。透射电镜下,每个标本随机选取白色血栓视野拍摄 10 张照片。血栓内纤维蛋白和间隙面积的测量同样采用计算机 MIAS-300 图像分析软件,分别测出每例标本 10 张电镜照片的纤维蛋白面积和间隙面积取其平均值。血小板、线粒体、 α -颗粒、致密颗粒计数采用测试网格覆盖电镜照片测量的方法,分别计算出每例 10 幅照片上血小板、线粒体、 α -颗粒、致密颗粒及两种颗粒的相对数量,取每例的平均值。

4. 统计学处理

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析和 q 检验。

结 果

对照组、川芎嗪和阿司匹林组 PTRa 局部血栓体积测量结果见图 1。

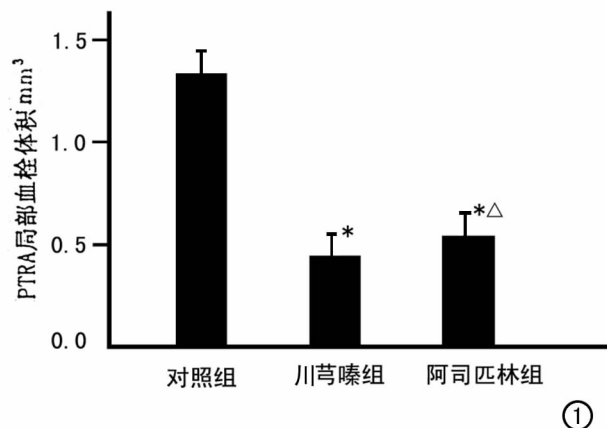


图 1 对照组、川芎嗪组和阿司匹林组 PTRa 局部血栓体积分析成组对照 q 检验,与对照组比较 * $P < 0.01$;两实验组比较 $\Delta P > 0.05$ 。

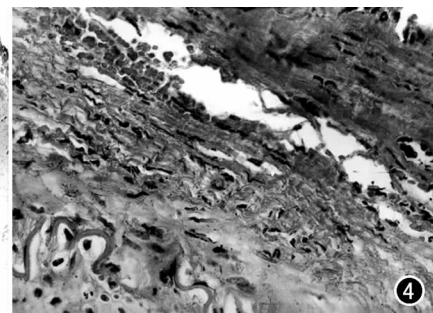
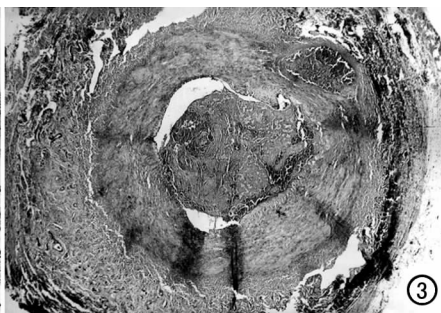
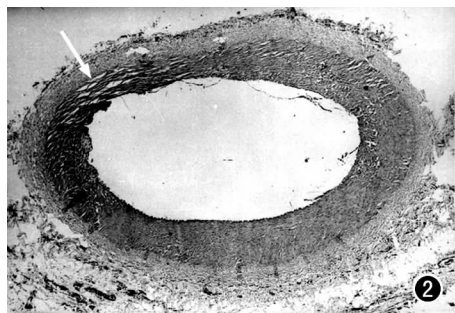


图 2 川芎嗪组 1 例肾动脉成形术后,内膜大部分剥脱,中膜内可见弥漫性不规则状撕裂(箭)。图 3 对照组 1 例成形肾动脉内形成血栓闭塞性再狭窄。图 4 对照组 1 例成形肾动脉中层肌纤维间见不规则裂隙,其内可见血栓形成。

对照组、川芎嗪和阿司匹林组 PTRa 局部血小板血栓单位面积($46.3\mu\text{m}^2$)内纤维蛋白面积和间隙面积、血小板、线粒体、 α -颗粒、致密颗粒数量及两种颗粒的相对数量测量结果见表 1。

表 1 血小板血栓超微结构定量分析结果($\bar{x} \pm s$)

	对照组	川芎嗪组	阿司匹林组
纤维蛋白面积(μm^2)	7.5 ± 2.9	$3.2 \pm 0.9^*$	$3.2 \pm 1.1^* \Delta$
间隙面积(μm^2)	2.8 ± 1.5	$11.9 \pm 3.5^*$	$11.9 \pm 6.0^{** \Delta}$
血小板数量(个)	24.2 ± 2.1	$15.1 \pm 5.0^*$	$13.9 \pm 2.4^* \Delta$
线粒体数量(个)	19 ± 3.7	$10.8 \pm 3.1^*$	$7.7 \pm 1.4^* \Delta$
α -颗粒数量(个)	8.2 ± 1.1	8.0 ± 0.9	$11.6 \pm 4.0 \Delta \Delta$
致密颗粒数量(个)	3.8 ± 2.4	5.8 ± 1.1	$4.3 \pm 1.1 \Delta \Delta$
α -颗粒相对数(个)	0.34 ± 0.05	$0.68 \pm 0.28^{**}$	$0.93 \pm 0.22^* \Delta$
致密颗粒相对数(个)	0.16 ± 0.09	$0.49 \pm 0.21^*$	$0.44 \pm 0.08^{** \Delta}$

注:与对照组比较,* $P < 0.01$,** $P < 0.05$;两实验组间比较 $\Delta P > 0.05$;组间比较 F 检验 $\Delta \Delta P > 0.05$ 。

PTRA 后肾动脉改变:光镜下,三组犬肾动脉成形术后血管壁绝大多数表现为中、重度损伤,剥脱内皮下可见纤维蛋白和血小板附着形成白色血栓,有些可见红色血栓,其中对照组 1 例形成血栓闭塞性再狭窄,其它几例 PTRa 局部血栓均明显多于两个实验组;两个实验组只有 2 例形成红色血栓,大多数只观察到白色血栓。中层肌纤维可见不规则裂隙,较大的裂隙内有血栓形成(图 2~4)。

讨 论

由于 PTA 后血栓形成在再狭窄发生中的决定性作用^[3],故准确测量 PTA 局部血栓体积,对估价再狭窄发生率有着十分重要的意义。以往绝大多数学者都把测量 PTA 局部单位面积内血小板聚集数量作为推测 PTA 局部血栓大小的间接手段^[4,5]。但由于血液在体内分布不均,各种脏器的血流量不同,以及个体血液数量、血小板数量等因素均存在着差异。另外,血栓结构是复杂的,还包括有大量的纤维蛋白、白细胞等血液成分,特别是红色血栓,它是造成急性血栓性血管闭塞的主体,其内血小板仅占较小的比例,故远不能只用血小板的数量来准确推算血栓的实际大小。本研究对肾动脉成形标本做连续切片,利用先进的图像分析技术直接测量 PTRa 局部血栓体积。目前,国内外相关文献尚未见类似报道。三组 PTRa 局部血栓体积比较,对照组血栓体积是两个实验组的 3 倍左右。表

明中药川芎嗪和低剂量阿司匹林抗血小板聚集和血栓形成的作用肯定。

PTRA 局部血小板超微结构定量分析, 以前也未见类似报道。Finklestein 等^[6]只是对血管损伤局部沉积血小板进行了分级, 大多数有关 PTA 局部血小板血栓超微结构的研究只是一般的观察^[7,8]。PTA 局部血栓内纤维蛋白面积代表了纤维蛋白的含量。纤维蛋白的多少具有重要的意义, 因为纤维蛋白是血小板血栓的主要结构成分, 也是构成血栓内血细胞成分的网罗。纤维蛋白的数量在一定程度上决定了血栓的大小及结构性质, 对血栓溶解意义亦非常重要。三组的测量结果显示, 川芎嗪和阿司匹林组纤维蛋白面积均只有对照组的 40%, 统计学处理差异具有显著性。说明川芎嗪和阿司匹林抗血栓形成的机制可能与阻断凝血过程中纤维蛋白原转变为纤维蛋白有关。血栓内间隙反应了血栓的疏密程度, 也从一个侧面代表了血栓溶解的趋势。电镜下两个实验组的血栓都较疏松, 间隙明显较对照组大。表明用药情况下可能提前加速了血栓的溶解, 而血栓溶解的基础是纤维蛋白的溶解, 提示川芎嗪和阿司匹林可能对纤溶系统的某个环节起作用, 促使纤溶酶原转化为纤溶酶, 从而起到降解纤维蛋白溶解血栓的作用。也可能是川芎嗪和阿司匹林降低了血小板的表面活性, 使血小板解聚所致。相反, 对照组血栓由于大量纤维蛋白的存在, 结构致密。

血小板是白色血栓的主体, 血小板的数量一方面反应了血小板激活程度, 另一方面会对血栓的发展产生“启动”作用。本研究两个实验组血小板数量分别是对照组的 62% 和 57%。提示川芎嗪和阿司匹林均降低了血小板的活化程度, 使血小板粘附、聚集于受损血管壁的数量减少, 相应地预防了血栓的形成和发展。这与血栓体积的测量结果一致。血小板内的 α -颗粒和致密颗粒内含物是血小板发挥其生物效应的物质基础, 血小板的功能是通过释放其颗粒内含物而得以实现的。 α -颗粒内含有纤维蛋白原、血小板第四因子、凝血酶敏感素等, 这些活性物质都在血小板粘附、聚集和血栓形成过程中产生促进作用。致密颗粒内含物主要有 5-羟色胺(5-HT)、ADP 和钙离子等, 它们对血小板聚集、血栓形成具有介导和促进作用^[9]。本研究血栓单位面积血小板内 α -颗粒和致密颗粒, 三组之间差异无显著性意义, 考虑是由于两个实验组血栓单位面积的血小板数量明显少于对照组, 这样其内含颗粒的比较缺乏可比性。我们又计算了各组颗粒的相对数量。结果表明, 两个实验组 α -颗粒和致密

颗粒的相对数量明显高于对照组。说明川芎嗪和阿司匹林都能显著降低血小板的活化程度, 削弱聚集血小板的释放反应, 从而对血小板产生抑制作用。

综上所述, 可以认为川芎嗪同小剂量阿司匹林一样, 能明显抑制 PTA 局部血栓形成, 并加速已形成血栓的溶解, 这为川芎嗪用于防治 PTA 后早期血栓闭塞性再狭窄提供了实验依据。

参考文献:

- [1] Savage MP, Goldberg S, Bove AA, et al. Effect of thromboxane A_2 blockade on clinical outcome and restenosis after successful coronary angioplasty[J]. Circulation, 1995, 92(10):3194-3200.
- [2] Weber HS, Nakano I, Arita H, et al. Initial results and clinical follow-up after balloon angioplasty for native coarctation[J]. Am J Cardiol, 1999, 84(1):113-116.
- [3] Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, et al. Platelet function in acute myocardial infarction treatment with direct angioplasty[J]. Circulation, 1996, 93(1):229-237.
- [4] Provost P, Merhi Y. BW775C, a dual lipooxygenase, cyclooxygenase inhibitor, reduces mural platelet and neutrophil deposition and vasoconstriction after angioplasty injury pigs[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1996, 227(1):17-21.
- [5] Mitchell JF, Azrin MA, Fram DB, et al. Inhibition of platelet deposition and lysis of intracoronary thrombus during balloon angioplasty using urokinase-coated hydrogel balloons[J]. Circulation, 1994, 90(5):979-988.
- [6] Finklestein S, Miller A, Callahan RJ, et al. Imaging of acute arterial injury with ^{111}In -labeled platelets; a comparison with scanning electron micrographs[J]. Radiology, 1982, 145(1):155-159.
- [7] Heras M, Chesbro JH, Webster MWI, et al. Hirudin, heparin and placebo during deep arterial injury in the pig[J]. Circulation, 1990, 82(6):1476-1484.
- [8] Hantgen RR, Chesebro H, Stanson AW, et al. Platelet and endothelial cells act in concert to delay thrombolysis-evidence from balloon angioplasty: natural history of the pathophysiologic response to injury in a pig model[J]. Circ Res, 1985, 57(1):105-112.
- [9] Golino P, Piscione F, Benedict CR, et al. Local effect of serotonin released during coronary angioplasty[J]. New Engl J Med, 1994, 330(2):523-528.

(2003-03-26 收稿)

2004 年《介入放射学杂志》征订启事

《介入放射学杂志》是我国第一本有关介入放射学基础研究、临床应用等方面的学术期刊。杂志的宗旨是介绍最新学术成果和临床经验, 具有内容丰富、资料新颖、学术性强、编辑规范等特色, 创刊以来受到国内外介入放射学界的重视与欢迎, 现已列入国家科技部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊), 2002 年被评为第三届华东地区优秀期刊。杂志为大 16 开铜版纸印刷, 国内外公开发行。中国标准刊号: ISSN 1008-794X, CN 31-1796/R, 可在全国各地邮局订阅, 邮发代号: 4-634。由于稿源较多, 为满足广大作者与读者的需要, 2004 年起改为双月刊, 96 页。每双月底出版, 每期定价 15 元, 全年 90 元。需要邮购者, 请与本刊编辑部联系。地址: 200052 上海市华山路 1328 号, 电话: (021) 62409496。