基础研究 文章编号:0253-3626(2011)05-0560-04

蕲蛇酶联合肝素治疗对兔下腔静脉血栓溶栓效果及出血风险性的实验研究

向 志,孙一来,赵 渝,邹中辉
(重庆医科大学附属第一医院血管外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:蕲蛇酶联合肝素治疗对兔下腔静脉血栓、病变血管内皮及出血风险性的实验研究。方法:新西兰大白兔 72 只建立急性下腔静脉血栓模型后随机分为肝素组(A 组)、尿激酶联合肝素组(B 组)、蕲蛇酶联合肝素组(C 组),每组 24 只。各组在血栓形成 3 d 后给药,分别在用药后的第 3、7、10 天,通过静脉彩超及病变血管内皮细胞损伤分级评估其溶栓的效果;检测各组血液指标,评估其出血的风险性。结果:在不同的时相,B 组和 C 组的溶栓效果较 A 组效果好,具有显著性差异($P<0.01$),B 组和 C 组溶栓效果均较好,但两组间溶栓效果无差异性($P>0.05$)。B 组和 C 组内皮细胞损伤程度均较 A 组轻,有显著性差异($P<0.01$),但 B 组和 C 组的内皮细胞损伤程度无差异性($P>0.05$)。B 组和 C 组较 A 组 PT 值延长、FBG 值降低,具有显著差异性($P<0.01$),B 组较 C 组的 PT 值延长、FBG 值降低,2 组间具有差异性($P<0.05$);结论:蕲蛇酶联合肝素能够有效溶解兔腔静脉血栓,减轻内皮损伤,具有良好的治疗及预后效果,并且出血的风险性相对较小。

【关键词】蕲蛇酶;抗凝;溶栓
【中国图书分类法分类号】R654.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-06-08

Experimental study of the effectiveness of thrombosis and risk of blood the combined application of acutobin and heparin to inferior vena cava thrombus in rabbits

XIANG Zhi, SUN Yi-lai, ZHAO Yu, ZOU Zhong-hui
(*Department of Vascular Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: Experimental study of acutobin combined with heparin to rabbit inferior vena cava thrombosis, endothelial lesions and the risk of blood. *Methods*: The inferior vena cava thrombus model was established in 72 rabbits and they were randomly divided into three groups: heparin group (A), group for combination of urokinase and heparin (B), group for combination of acutobin and heparin (C), each group including 24 rabbits. Drugs were administrated 3 days after thrombosis. Doppler ultrasound and endothelial injury scale of Vascular lesions were used to assess thrombolytic effect. Coagulation indexes were tested to assess the risk of blood, 3, 7, 10 days after administration. *Results*: At different phase, the thrombolytic effect of B group and C group were better than A group, having significant difference ($P<0.01$). The thrombolytic effect of B group and C group were better, but it was no difference between two groups ($P>0.05$). The endothelial cell injury level of B group and C group were lighter than A group, having significant difference ($P<0.01$), but it was no difference between two B group and C group ($P>0.05$). B group and C group compared with A group that the value of PT prolonged, FBG values decreased, with significant differences ($P<0.01$). B group compared with C group that the value of PT prolonged, FBG values decreased, with differences between B group and C group ($P<0.05$). *Conclusion*: Acutobin combined with heparin could effectively dissolve rabbit vena cava thrombosis, reduce endothelial injury, had a good effect of treatment and prognosis, with relatively small risk of blood.

【Key word】acutobin; anticoagulation; thrombolysis

抗凝、溶栓是治疗静脉血栓形成的主要方法,但抗凝、溶栓药物存在出血的副作用。本实验通过蕲蛇酶联合肝素治疗兔下腔静脉血栓,对比尿激酶联合肝素及单纯应用肝素治疗,探讨蕲蛇酶联合肝素治疗兔下腔静脉血栓的治疗和预后效果,以及出血风险性问题。

1 材料和方法

1.1 动物分组

健康新西兰大白兔 72 只(体重 2.5~3.0 kg,重庆医科大学动物实验中心提供),随机分为肝素组(A 组,n=24 只)、

作者介绍:向 志(1964-),男,副教授,硕士,研究方向:腹壁疝和血管疾病的研究工作。

基金项目:重庆市卫生局基金资助项目(编号:2009-2-99)。

逐渐趋于正常，内皮下未见明显基质；组间不同时相内皮损伤比较见表 7：B 组和 C 组与 A 组比较，在溶栓术后 3、7、10 d 差异有统计学意义（$P<0.01$）；B 组与 C 组比较，在溶栓术后 3、7、10 d 差异无统计学意义（$P>0.05$）。

2.3 血液学指标变化

溶栓后 B 组和 C 组与 A 组相比较，在不同的时间段均出现 PT 值延长、FBG 值降低，差异均有统计学意义（$P<0.01$），B组较 C 组的 PT 值延长、FBG 值降低，2 组间差异有统计学意义（$P<0.05$）。

表 1 各组溶栓效果比较（n）

时间	分组	显效	有效	无效	H	P
3 d	A	0	2	6	8.828	0.012
	B	2	4	2		
	C	1	4	3		
7 d	A	0	3	5	10.512	0.005
	B	3	4	1		
	C	2	4	2		
10 d	A	0	3	5	19.774	0.000
	B	3	5	0		
	C	3	4	1		

表 2 组间不同时相溶栓效果比较（n）

分组		3 d	7 d	10 d
A组 vs B 组	Uab	-2.863	-3.106	-4.194
	P	0.004	0.002	0.000
A 组 vs C 组	Uab	-2.166	-2.211	-3.106
	P	0.030	0.027	0.002
B 组 vs C 组	Uab	-0.843	-1.011	-0.962
	P	0.399	0.312	0.336

表 3 各组内皮细胞损伤比较（n）

时间	分组	损伤分级					Hc	P
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ		
3 d	A	0	0	3	5	0	7.804	0.020
	B	0	3	4	1	0		
	C	0	4	3	1	0		
7 d	A	0	2	5	1	0	9.975	0.007
	B	0	4	3	1	0		
	C	0	4	3	1	0		
10 d	A	0	0	1	6	1	16.875	0.000
	B	2	5	1	0	0		
	C	1	6	1	0	0		

表 4 组间不同时相内皮损伤比较（n）

分组		3 d	7 d	10 d
A组 vs B 组	Uab	-2.312	-2.706	-3.456
	P	0.020	0.007	0.001
A 组 vs C 组	Uab	-2.460	-2.706	-3.496
	P	0.014	0.007	0.000
B 组 vs C 组	Uab	-0.403	-0.000	-0.449
	P	0.687	1.000	0.721

3 讨 论

抗凝、溶栓治疗是目前治疗急性下肢深静脉血栓的主要方法，但外周溶栓治疗也加大了大出血的风险[3,4]。目前尿激酶是治疗下肢静脉血栓的主要溶栓药物，但其治疗剂量尚无统一规定，传统用量已显不足，现有增大剂量的趋势。增大溶栓药物用量虽可提高溶栓效果，但出血并发症亦随之增加，日本学者多采用小剂量尿激酶治疗，常用剂量为每次 50 000~10 000 U，总用量 50 万 U 以内，美国用量远大于日本，总剂量达 156~312 万 U[5]。尿激酶半衰期短，所以有效期亦短，因尿激酶剂量过大可引起全身纤溶系统激活而导致严重出血等并发症，所以不能通过不断追加剂量来维持溶栓效果[6]。尿激酶和肝素的主要副作用是出血，二者同时应用更容易发生[7]。据有关文献报道，一般手术后并发静脉血栓形成的发病率为 25%~30%，髋关节置换术为 50%~70%，脊髓损伤引起瘫痪者为 75%~80%[8]。根据这些资料可见术后伴发下肢静脉血栓的发病率还是比较高的，特别是对于术后 3 周发生静脉血栓的患者，应用尿激酶存在严重出血的危险，在一定程度上限制了其应用。

蕲蛇酶是从尖吻蝮蛇毒中分离、纯化的凝血酶样酶，是用于防止血栓性疾病的新型药。这种药品作用于血浆纤维蛋白原，使其转变为不稳定的纤维蛋白产物，后者易被纤溶酶降解为小分子肽，经尿排出。用药后可使血浆纤维蛋白原量下降、凝血酶时间延长、优球蛋白溶解时间缩短、血小板聚集功能受抑制及血小板数量下降；因而阻滞血栓形成，其作用不受肝素的影响。蕲蛇酶在临床中主要用于脑梗塞的治疗，近几年来，逐渐应用于周围血管疾病，关于深静脉血栓治疗的报道较少。

本实验通过静脉彩超观察溶栓疗效的结果提示：B 组、C 组在不同的时间段静脉通常改善情况均大于 A 组，用药第 3 天时统计学上有差异性（$P<0.05$），用药第 7 天时统计学上均有差异性（$P<0.01$），说明抗凝溶栓联合治疗要比单纯性的抗凝治疗效果好；A 组和 B 组在不同的时间段静脉通常改善情况无明显差异（$P>0.05$），提示蕲蛇酶联合肝素与尿激酶联合肝素在治疗深静脉血栓的疗效方面均是有效的，并且两者的溶栓效果无明显差别，可用于抗凝、溶栓治疗并且具有较好保护 EC 结构的作用[9,10]。EC 在抑制平滑肌细胞（Smooth muscle cell，SMC）生长及从中膜到内膜的移行中起着重要作用；其能够合成抑制 SMC 生长的类肝素样物质[11]，当 EC 受损将会失去其抗血栓作用而导致炎症反应等。EC 在血栓形成、复发的过程中具有重要作用，并且在血栓的形成过程中会引起静脉壁发生炎症反应。本实验中扫描电镜结果提示：肝素组 EC 损伤程度随血栓形成的病程发展，第 10 天时损伤大多在Ⅲ~Ⅳ级，说明单纯的抗凝治疗并不能阻止静脉 EC 损伤的进一步加剧。尿激酶不仅具有溶解血栓作用，还能减轻血栓引起的血管壁急性炎症反应[12]。蕲蛇酶联合肝素组和

表 5 3 组不同时间 PT 值比较（$\bar{x}\pm s$,s）

组别	n	血栓形成第 3 天	用药后第 3 天	用药后第 7 天	用药后第 10 天
A	24	7.20 ± 0.15	9.64 ± 0.07	10.80 ± 0.23	11.23 ± 0.26
B	24	7.17 ± 0.19	11.71 ± 0.18*△	12.56 ± 0.30*△	13.63 ± 0.38*△
C	24	7.25 ± 0.31	11.37 ± 0.38△	12.30 ± 0.33△	13.22 ± 0.22△

注：* 与 C 组比较，$P<0.05$；△与 A 组比较，$P<0.01$

表 6 3 组不同时间 FBG 值比较（$\bar{x}\pm s$,g/L）

组别	n	血栓形成第 3 天	用药后第 3 天	用药后第 7 天	用药后第 10 天
A	24	4.47 ± 0.20	4.07 ± 0.22	3.98 ± 0.21	3.86 ± 0.30
B	24	4.42 ± 0.17	3.26 ± 0.17*△	2.73 ± 0.19*△	2.26 ± 0.18*△
C	24	4.36 ± 0.29	3.59 ± 0.15△	2.98 ± 0.14△	2.56 ± 0.25△

注：* 与 C 组比较，$P<0.05$；△与 A 组比较，$P<0.01$

尿激酶联合肝素组在用药后的不同时间段内皮损伤程度的差异无统计学意义（$P>0.05$），用药后第 3 天内皮损伤程度大多为Ⅱ~Ⅲ级，第 10 天时内皮损伤程度大多为Ⅰ~Ⅱ级，说明 2 组在保护内皮细胞作用方面相近，并且能减轻炎症反应。蕲蛇酶能够促进血管 EC 释放组织型纤溶酶原激活物，溶解内皮表面附着的血栓，对减轻血管内皮的损伤可能起到一定的作用。

通过血液学指标检测得出：溶栓后的第 3 天、第 7 天、第 10 天，B 组和 C 组相比，B 组的 PT 延长时间大于 C 组，2 组间有差异性（$P<0.05$），B 组的 FBG 值较 C 组小，2 组间有差异性（$P<0.05$），提示 B 组出血的危险性较 C 组大，C 组相对较安全，这可能与尿激酶激活全身纤溶系统有关，而蕲蛇酶联合肝素治疗的安全性相对较高，发生出血性的风险较低，可能与其主要降解纤维蛋白原，对纤溶系统作用较弱有关。

综上所述，蕲蛇酶联合肝素治疗兔下腔静脉血栓的实验证实：(1)溶栓方面是有效的，并能减轻 EC 的损伤，对静脉血栓具有良好的预后及治疗效果；(2)出血的风险性相对较小；(3)为其在临床中治疗下肢深静脉血栓提供实验理论依据。

参 考 文 献

[1] 苗明三.实验动物和动物实验技术[M].北京：中国中医药出版，1997.142-145.

[2] Cho J S, Martelli E, Mozes G, et al.Effect of thrombolysis and venous thrombectomy on valvular competence, thrombogenicity, morphology, and function[J].J Vasc Surg, 1998, 28(5):787-799.

[3] Schweizer J, Kirch W, Koch R, et al.Short-and long-term results after thromboly-tic treatment of deep venous thrombosis[J].J Am Coll Cardiol, 2000, 36(4):1336-1343.

[4] Levine M N, Coldhaber S Z, Gore J M, et al.Hemorrhagic complications of thrombolyticTherapy in the treatment of myocardial infarction and venous thromboembolism[J].Chest, 1995, 108(s4):291-301.

[5] 陈鸿强，李光新，李朝阳，等.急性下肢深静脉血栓形成的溶栓治疗[J].中国中西医结合外科杂志，2006，12(1):42.

[6] 房溶婿，何益平，朱 敏.低分子质量肝素的临床应用[J].中国实用内科杂，1999，19(9):564-565.

[7] 蔡清明，贺江南.尿激酶治疗下肢深静脉血栓形[J].陕西医学杂志，1998，27(7):437.

[8] Prandoni P.The long-term clinical course of acute deep venors thrombosis[J].Annlnt Med, 1996, 125:126.

[9] Segal J B, Streiff M B, Hofmann L V, et al.Management of venous thromboembolism:a systematic review for practice guideline[J].Ann intern med, 2007, 146(3):211-222.

[10] Cynamon J, stein E G, Dym R J, et al.A new method for aggressive of deep veinthrombosis:retrospective study of the power pulse technique [J].J Vasc Intery Radiol, 2006, 17(6):1043-1049.

[11] Davis M R, Ortegon D P, Kerby J D, et al.Endothelial dysfunction after arterial thrombosis is ameliorated by L-arginine in combination with thrombolysis[J].J Vasc Interv Radiol, 2003, 14(2):233-239.

[12] Thomas W W, Robert M S, Carol A W, et al.Venous thrombosis associated inflammation and attenuation with neutralizing antibodies to cytokines and adhension molecules[J].Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 1995, 15:258-268.

（责任编辑：冉明会）