

本文引用:柳景红,刘登义,陈振中,李乐平,曹建雄.桃红四物汤对急性深静脉血栓模型大鼠血清IL-6和TNF- $\alpha$ 水平的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(1):32-34.

## 桃红四物汤对急性深静脉血栓模型大鼠血清 IL-6和TNF- $\alpha$ 水平的影响

柳景红,刘登义,陈振中,李乐平,曹建雄\*

(湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007)

**[摘要]** **目的** 观察桃红四物汤对急性下肢深静脉血栓(deep vein thrombosis,DVT)大鼠血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor-necrosis-factor- $\alpha$ ,TNF- $\alpha$ )与白介素-6(interleukin-6,IL-6)水平的影响。**方法** 将80只雄性SD大鼠随机分为假手术(A)、DVT模型(B)、桃红四物汤(C)、阿司匹林(D)4组,每组20只。A组:只开腹,不结扎股静脉,再灌胃生理盐水;B组:予以结扎近心端左股静脉造模后灌胃生理盐水;C组:予以结扎近心端左股静脉造模后桃红四物汤灌胃给药;D组:予以结扎近心端左股静脉造模后灌胃阿司匹林;7d后停止灌胃,分别于术前、术后第1天、7天用放射性免疫分析法测定各组血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6的水平,并进行组间比较。**结果** 术后第1天、7天,与A组比较,B组血清IL-6和TNF- $\alpha$ 水平递增( $P<0.05$ ),3个时间点两两比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与B组比较,C组IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均降( $P<0.05$ )。**结论** DVT大鼠经桃红四物汤治疗后其血清IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均明显降低,提示桃红四物汤对深静脉血栓的防治疗效较好,具有抗凝聚、提高纤溶活性的作用。

**[关键词]** 桃红四物汤;深静脉血栓;白介素-6;肿瘤坏死因子- $\alpha$

**[中图分类号]**R285.5;R543.6

**[文献标志码]**A

**[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.01.008

### Effect of Taohong Siwu Decoction on Serum Levels of IL-6 and TNF- $\alpha$ in a Rat Model of Acute Deep Venous Thrombosis

LIU Jinghong, LIU Dengyi, CHEN Zhenzhong, LI Leping, CAO Jianxiang\*

(The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of Taohong Siwu Decoction on the serum levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in rats with acute deep venous thrombosis (DVT) of the lower extremities. **Methods** Eighty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups: sham-operated group (group A), DVT model group (group B), Taohong Siwu Decoction group (group C), and aspirin group (group D), with 20 rats in each group. The rats in group A were given open surgery without femoral vein ligation, and then given intragastric administration of saline. The rats in group B were given proximal ligation of the left femoral vein to establish a DVT model, and then given intragastric administration of saline. The rats in group C were given intragastric administration of Taohong Siwu Decoction after proximal ligation of the left femoral vein for establishing the DVT model. The rats in group D were given intragastric administration of aspirin after proximal ligation of the left femoral vein for establishing the DVT model. The intragastric administration in the rats of all groups was withdrawn 7 days later. The serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in the four groups were measured by radioimmunoassay before and at 1 and 7 days after operation, and were compared between the four groups. **Results** Group B had significantly higher serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  than group A at 1 and 7 days after operation ( $P<0.05$ ), and the two proinflammatory cytokines were significantly different between the three time points ( $P<0.05$ ). However, group C had significantly reduced serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  compared with group B after operation ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in SD rats with acute DVT decrease significantly after

**[收稿日期]**2017-12-10

**[基金项目]**湖南省科技厅科研项目(2011FJ6055)。

**[作者简介]**柳景红,男,硕士研究生导师,教授,主任医师,从事中西医结合骨伤的临床与科研。

**[通讯作者]**\*曹建雄,男,博士研究生导师,教授,主任医师,E-mail:2570088917@qq.com。

intra-gastric administration of Taohong Siwu Decoction, suggesting that Taohong Siwu Decoction has good efficacy in preventing and treating DVT, with anticoagulant and fibrinolytic activity.

[**Keywords**] Taohong Siwu Decoction; deep venous thrombosis; interleukin-6; tumor necrosis factor- $\alpha$

静脉血栓栓塞 (venous thromboembolism, VTE) 是临床三大血栓性疾病(心肌梗死、缺血性脑卒中及静脉血栓)之一,也是临床上最常见的静脉疾病之一<sup>[1]</sup>。急性下肢深静脉血栓 (deep vein thrombosis, DVT) 是临床常见的外周血管疾病,若治疗不及时,易继发致命的肺栓塞和慢性静脉瓣功能不全。目前 DVT 的临床治疗主要以中西医结合为主<sup>[2]</sup>。而中医药治疗 DVT 不良反应小,安全性高,对促进再通和侧支循环的建立都有可靠疗效,可以弥补西药治疗溶栓抗凝治疗带来的易致出血的不良反应,以及其量效关系不确切的不足<sup>[3]</sup>。桃红四物汤为中医传统活血化瘀经典方剂之一,源自于清·吴谦的《医宗金鉴》,由桃仁、红花、当归、白芍、熟地黄、川芎 6 味中药组成,具有活血化瘀、养血补血的双重功效。全方养血而不滞血,活血而不破血,补中有行,破中有收,诸药合用,达到活血行气、扶正祛邪之功效,在现代中医临床被广泛应用,且有较好疗效。近几年来现代医学研究发现炎症与血栓形成之间存在着密切的联系,一方面炎症促进高凝状态,另一方面血栓形成中的物质也可引起炎症。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 与白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 是重要的早期炎症因子。本研究采用桃红四物汤对大鼠 DVT 模型进行干预后,试图通过检测血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平的变化,研究桃红四物汤治疗深静脉血栓的作用机制,为中医药防治深静脉血栓形成提供实验依据。

## 1 材料与方

### 1.1 实验动物及分组

选用体质量 (250 $\pm$ 20)g 的雄性清洁级 SD 大鼠 80 只,16 周龄,由湖南中医药大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(湘)2012-0004。随机分为 A、B、C、D 4 组,每组 20 只。

### 1.2 药物试剂与仪器

IL-6 和 TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒均购自武汉默沙克生物科技有限公司 (IL-6 试剂盒产品编:kt40133, TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒产品编号:kt30484)。其他相关仪器由湖南中医药大学实验室提供。桃红四物汤按照《医宗金鉴》的配比:桃仁 20 g,红花 20 g,当归 20 g,熟地黄 20 g,赤芍 20 g,川芎 10 g。依据成人 (60 kg) 与动物体表面积换算公式得出大鼠等效剂量为 7.56 g/kg,桃红四物汤 3 次煎煮药液混合并浓缩至含生药 1.1 g/mL,由湖南中医药大学第一附属医院中药煎剂室提供。阿司匹林肠溶片(批准文号:国

药准字 J20130078,安徽仁济制药有限公司提供)以生理盐水配成 0.075 mg/mL。

### 1.3 实验方法

1.3.1 造模 各组大鼠常规饲养 1 周后开始手术造模,予以大鼠腹腔内注射 2%戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉后,仰卧位固定,常规消毒铺巾,沿左侧下肢股静脉走行切开皮肤约 4.5 cm,暴露、分离左侧股静脉,抽取股动脉血液做检测标本。A、B、C 3 组用 4 号丝线于暴露的股静脉近心端结扎股静脉,结扎线以下 1 cm 处放置微型血管夹,6 h 后拆除结扎线及血管夹,造模完成,无菌缝线缝合手术创口,D 组(假手术组)大鼠不予结扎,只将丝线置于血管处,6 h 后无菌缝线缝合手术创口。

1.3.2 干预措施 造模术后 6 h,肉眼见模型大鼠左下肢肿胀,行彩色多普勒超声检查大鼠左下肢静脉血栓形成,则提示造模成功,造模成功后,立即实施干预措施。假手术组(A组)20 只,术后 6 h 灌胃 20 mL/kg 生理盐水;模型组(B组)20 只,术后 6 h 立即灌服 20 mL/kg 生理盐水;桃红四物汤组(C组)20 只,术后 6 h 立即桃红四物汤浓缩液灌胃给药,剂量 20 mL/kg;阿司匹林组(D组)20 只,术后 6 h 立即灌服阿司匹林肠溶片悬浊液 20 mL/kg。以上灌服方法均为每日 2 次,持续时间为一周。

1.3.3 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平检测 术后第 1 天、7 天取大鼠动脉血采用 ELISA 法检测血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平,具体操作均按照 ELISA 试剂盒说明书进行,并于 450 nm 波长处测定吸光度(OD)值。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,同时点 4 组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用  $q$  检验;同组内各时点比较采用重复测量资料的方差分析,两两比较采用  $q$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 彩色多普勒超声检查 DVT 组大鼠模型

实验过程中无大鼠死亡,建模前彩色多普勒超声检查提示所有大鼠的左下肢深静脉通畅、无 DVT 发生;术后 1 d 行彩色多普勒超声检查提示 DVT 组大鼠均有左下肢 DVT 形成。

### 2.2 各组大鼠各时点的血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$ 水平

术前假手术组、模型组、桃红四物汤组与阿司匹林组的血清 IL-6 水平和 TNF- $\alpha$  术前水平比较差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ );但术后第 1 天、7 天,与

假手术组比较,模型组血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平递增 ( $P<0.05$ );除假手术组外其余 3 组组内 3 个时点间两两比较差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ );与模型组比较,桃红四物汤组 IL-6、TNF- $\alpha$  水平均降低 ( $P<0.05$ )。见表 1、表 2。

表 1 术后各组大鼠各时点的血清 IL-6 水平 ( $\bar{x}\pm s$ , ng/mL)

组别	n	术前	术后第 1 天	术后第 7 天
假手术组	20	0.14 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02
模型组	20	0.13 $\pm$ 0.03	24.47 $\pm$ 0.84 $\Delta^{\Delta}$	32.53 $\pm$ 0.68 $\Delta^{\Delta\#}$
桃红四物汤组	20	0.14 $\pm$ 0.02	12.81 $\pm$ 0.47* $\Delta$	6.27 $\pm$ 0.54* $\Delta^{\#}$
阿司匹林组	20	0.13 $\pm$ 0.03	8.16 $\pm$ 0.52* $\Delta$	3.21 $\pm$ 0.52* $\Delta^{\#}$

注:同一时间段,与假手术组比较, $\Delta P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与本组术前比较, $\Delta P<0.05$ ;与本组术后第 1 天比较,# $P<0.05$

表 2 术后各组大鼠各时点的血清 TNF- $\alpha$  水平 ( $\bar{x}\pm s$ , ng/mL)

组别	n	术前	术后第 1 天	术后第 7 天
假手术组	20	0.44 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.02	0.46 $\pm$ 0.02
模型组	20	0.44 $\pm$ 0.02	8.56 $\pm$ 0.06 $\Delta^{\Delta}$	16.37 $\pm$ 0.67 $\Delta^{\Delta\#}$
桃红四物汤组	20	0.43 $\pm$ 0.03	8.27 $\pm$ 0.69* $\Delta$	6.11 $\pm$ 0.05* $\Delta^{\#}$
阿司匹林组	20	0.44 $\pm$ 0.02	7.18 $\pm$ 0.68* $\Delta$	3.96 $\pm$ 0.06* $\Delta^{\#}$

注:同一时间段,与假手术组比较, $\Delta P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与本组术前比较, $\Delta P<0.05$ ;与本组术后第 1 天比较,# $P<0.05$

### 3 讨论

DVT 的形成系指血液在深静脉腔内不正常地凝结,阻塞静脉管腔,从而导致静脉回流障碍,是创伤、手术、瘫痪等之后常发生的并发症,常好发于下肢。若治疗不及时,易继发致命的肺栓塞和慢性静脉瓣功能不全。现代医学研究<sup>[4-7]</sup>表明,炎症反应与血栓形成之间存在着密切的联系,一方面炎症促进高凝状态,另一方面血栓形成中的物质也可引起炎症。IL-6 与 TNF- $\alpha$  是重要的早期炎症因子,与创伤后 DVT 形成<sup>[8-9]</sup>、创伤后感染<sup>[10]</sup>、创伤后预后有着密切联系。中医学认为 DVT 是各种原因致瘀血瘀阻脉中,历代医家多采用活血化瘀法治疗 DVT<sup>[11]</sup>,在临床上我们发现桃红四物汤治疗效果甚佳。亦有实验研究<sup>[12]</sup>表明,桃红四物汤能显著延长大鼠体内凝血时间和血栓形成时间,能显著降低血瘀大鼠全血比黏度、血浆比黏度及血清比黏度,具有较好的活血化瘀作用。桃红四物汤为中医活血化瘀经典方剂之一,源自于清·吴谦的《医宗金鉴》,由四物汤衍生而来,共有药物 6 味,由桃仁、红花、当归、赤芍、熟地黄、川芎组成,具有活血化瘀、养血补血的双重功效。全方养血而不滞血,活血而不破血,补中有行,破中有收,诸药合用,达到活血行气、扶正祛邪之功效,在现代中医临床被广泛应用,且有较好疗效。

本实验通过结扎股静脉以建立大鼠 DVT 模型,且用彩色多普勒超声检查提示大鼠左下肢 DVT 建立成功后,立即实施干预措施。术后第 1 天、7 天,与 A 组比较,B 组血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平递增 ( $P<0.05$ ),3 个时点间两两比较差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ),说明结扎术导致了 DVT 的形成及炎症因子的释放,炎症因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$  在 DVT 形成中具有重要作用;与 B 组比较,C 组 IL-6、TNF- $\alpha$  水平均降低 ( $P<0.05$ ),说明桃红四物汤能下调 TNF- $\alpha$ 、IL-6 炎症因子的水平,其机制主要可能是桃红四物汤药能有效地抑制 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的失控性释放,清除体内炎症介质,并可能在一定程度上改善微循环、改善血流动力学、减少炎症渗出,促进炎症吸收,从而抑制了 DVT 的进一步发展。

综上,桃红四物汤能明显改善炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$  的血清学水平,在一定程度上揭示了其防治深静脉血栓的作用机制,为临床实践及实验研究提供了实验基础和理论依据。深化了中医药养血活血法治疗 DVT 的研究,为在中医辨证论治理论的指导下,应用养血活血等方药对深静脉血栓的防治提供较为客观、科学的数据支持。

### 参考文献

- [1] 党晓卫,姚振涛,乔师师,等.兔下腔静脉球囊损伤后血管重塑相关因子的变化及 G-CSF 的干预作用[J].中国普通外科杂志,2013,22(6):721-725.
- [2] 陈艳琴,王艳丽.中西医结合治疗下肢深静脉血栓形成临床观察[J].湖北中医药大学学报,2013,15(1):54-55.
- [3] 王涛,杨杰山.中医药预防髋部骨折术后深静脉血栓形成的研究进展[J].四川中医,2010,28(8):38-40.
- [4] LYTVYN O I, KOPITSA M P, PETYUNINA O V. Interaction between inflammation and thrombosis in acute coronary syndrome[J]. Kardiologia polska, 2004, 61(8):114-116.
- [5] SALOBIR B, SABOVIC M. Possible vascular-bed-specific role of interleukin-6 in young women with a history of myocardial infarction, lacunar cerebral infarction and deep vein thrombosis[J]. Cytokine, 2004, 25(6):265-272.
- [6] ESMON C T. The impact of the inflammatory response on coagulation[J]. Thromb Res, 2004,114(5/6):321-327.
- [7] VAN A B E, REITSMA P H, ROSENDAAL F R. Interleukin 8 and venous thrombosis: evidence for a role of inflammation in thrombosis[J]. British journal of haematology, 2002,116(1):173-177.
- [8] 张玥,刘效敏,张玉冬.深静脉血栓形成患者血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平变化及意义[J].放射免疫学杂志,2007,20(1):13-14.
- [9] 张玥,侯玉芬,刘明.炎症细胞因子在深静脉血栓形成中的作用[J].中国中西医结合外科杂志,2006,12(6):590-592.
- [10] 卫俊杰,刘华,赵有成,等.IL-6 水平检测与重症并发感染者的相关性研究[J].现代检验医学杂志,2008,23(6):92-94.
- [11] 霍培正,林丙昌.中西医结合辨证治疗下肢深静脉血栓的体会[J].现代中西医结合杂志,2005,14(13):1746.
- [12] 丁艳杰,张前德.桃红四物汤临床与实验研究进展[J].江苏中医药,2010,42(1):77-79.

(本文编辑 杨 瑛)