

血康口服液治疗特发性血小板减少性紫癜实验研究

★ 李秀梅 (江西天施康中药股份有限公司 鹰潭 335000)

★ 易剑峰 (江西中医学院 南昌 330000)

摘要:目的:研究血康口服液对 ITP 模型小鼠的药效学研究。方法:采用免疫法腹腔注射外源性抗血清(APS)建立 ITP 小鼠模型,分别运用血康口服液、泼尼松治疗,观察各组小鼠外周血象、脏器均重、骨髓巨核细胞、免疫器官病理变化。结果:与模型组比较,大剂量血康口服液能明显降低造模后小鼠死亡率,明显提升血小板,使骨髓巨核细胞数恢复正常。结论:血康口服液对 ITP 模型小鼠有明显治疗作用。

关键词:血康口服液;特发性血小板减少性紫癜;实验研究

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

血康口服液是我国自行研制治疗特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)较为理想的一种纯中药制剂,其主要成分为天然植物草珊瑚(又名肿节风)的提取物,含有黄酮类、延胡索酸、琥珀酸等活性成分,具有升血小板、调节免疫、活血化瘀、消肿散结、凉血止血的作用^[1]。本实验通过研究血康口服液对 ITP 模型小鼠作用,旨在为血康口服液治疗 ITP 提供实验依据,并为进一步的机理研究提供基础。

1 试验材料

动物: BALB/C 小鼠, 体重 18~22 g, 8 周龄, 雌雄各半, 共 80 只。豚鼠 14 只, 体重 180~220 g, 全为雌性。以上动物均购自中国医学科学院上海动物所。

药品: 磷酸氢二钠(湖州化学试剂厂, 批号: 020601), 磷酸二氢钠(湖州化学试剂厂, 批号: 020601), ACD(上海血液中心), 完全福氏佐剂和不完全福氏佐剂(美国 Sigma 公司产品, 42k8939), 强的松(仙居制药有限公司, 020708), 取强的松片 5 mg 溶于生理盐水中制备成 1 mg/mL 浓度的药液待用, 血康口服液(031106)。

仪器: 流式细胞仪(美国 BD 公司)、全自动血细胞计数分析仪、倒置生物显微镜等。

2 方法

2.1 抗血小板血清(APS)的制备 取 10 只 BALB/c 小鼠, 乙醚麻醉后, 以 EDTA-Na₂ 抗凝从心脏取出全血, 分离血小板并洗涤, 用生理盐水稀释, 与等量完全福氏佐剂充分混合, 注射于豚鼠足掌、背及皮下至少四点; 分别于首次注射后第 1、2、4 周重复以上取血操作。末次注射后第 6 天, 取豚鼠心脏不抗凝

全血, 1 500 r/min 离心 10 分钟后取上清, 即为豚鼠抗血小板血清(GP-APS), 储存于 -20 ℃ 冰箱待用。

2.2 模型的制备 将 APS 从冰箱中取出, 置于 56 ℃ 水浴中 30 分钟, 以等量的 BALB/c 小鼠红细胞至少吸附 2 次, 用生理盐水 1:4 稀释。采用注射豚鼠抗小鼠血小板血清(APS)方法, 建立小鼠免疫性血小板减少性紫癜模型。于 0、2、4、6、8、10、12 天按照 100 μL/20g 小鼠腹腔注入 1:4 稀释的抗血清, 每 2 天重复注射 1 次, 以维持血小板的持续降低。

2.3 动物分组及给药 小鼠随机分为 5 组, 每组 14 只, 分别为血康口服液高剂量组、低剂量组、模型组、空白对照组和阳性对照组。血康高剂量组: 以 20 mL/kg, 低剂量组以 1 mL/kg 灌胃, 每日 1 次, 连续给药 15 天。正常对照组: 给同等体积生理盐水。ITP 模型生理盐水对照组: 给同等体积生理盐水。ITP 模型强的松对照组: 配成 1 mg/mL 浓度, 以 0.1 mg/10g 剂量灌胃。

2.4 实验观察指标 观察实验中小鼠的精神活动状况、皮毛光泽、饮食饮水量、大小便、体重变化及死亡情况。实验结束后眼球取血, 观测各组小鼠全血, 检测血小板、白细胞、红细胞、血红蛋白。处死动物, 取胸骨制作骨髓片, 染色后油镜下计数 1.5 cm × 1 cm 范围内骨髓巨核细胞总数。取各组小鼠脾脏、胸腺、肾上腺称重并计算脏器系数, 制作脾脏病理切片做病理形态学检查。

2.5 统计学方法 试验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *q* 检验。

3 结果

3.1 一般行为学改变 自第 3 次(第 4 天)注射 APS 后, 模型组小鼠出现明显皮下紫癜, 以注射部

位、四肢、尾部为重,同时小鼠出现精神萎靡、毛发色泽变暗,进食进水量减少、便溏、体重下降等脾虚症状。经治疗后,血康高剂量组和强的松阳性组脾虚证候明显改善,低剂量组效果不明显,但可见小鼠的活动能力比模型组强。除空白对照组外,其余各组

在治疗过程中均出现死亡现象,模型组以及血康高剂量组和低剂量组各死亡2只,强的松组死亡1只。各组的造模前后体重见表1,可见造模后小鼠的体重明显下降。

3.2 对血常规的影响 见表1。

表1 血康口服液对ITP模型小鼠治疗后各组血常规变化

组别	n	WBC/ $10^{12} \cdot L^{-1}$	RBC/ $10^{12} \cdot L^{-1}$	HB/ $g \cdot dL^{-1}$	PLT/ $10^9 \cdot L^{-1}$
正常对照组	14	$6.0 \pm 0.8^{\Delta\Delta}$	$7.1 \pm 0.71^{\Delta\Delta}$	$14.3 \pm 1.3^{\Delta\Delta}$	$392.3 \pm 34.1^{\Delta\Delta}$
模型组	12	8.8 ± 0.84	5.3 ± 0.9	11.4 ± 1.1	254.7 ± 40.0
血康高剂量组	12	$6.2 \pm 0.8^{\Delta\Delta}$	$6.7 \pm 1.0^{\Delta\Delta}$	$14.2 \pm 1.3^{\Delta\Delta}$	$362.5 \pm 28.3^{\Delta\Delta*}$
血康低剂量组	12	$6.3 \pm 0.8^{\Delta\Delta}$	$6.4 \pm 0.8^{\Delta\Delta}$	$13.7 \pm 1.1^{\Delta\Delta}$	$325.3 \pm 54.1^{\Delta\Delta*}$
强的松组	13	$6.21 \pm 0.9^{\Delta\Delta}$	$6.8 \pm 1.1^{\Delta\Delta}$	$13.8 \pm 1.2^{\Delta\Delta}$	$371.8 \pm 52.9^{\Delta\Delta}$

注:与模型组比较: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与正常对照组比: $* P < 0.05$, $** P < 0.01$ 。下同。

从表1可知,与正常组比较,模型组白细胞数显著升高,红细胞、血红蛋白及血小板数则显著降低。与模型组比,血康高、低剂量组及强的松组治疗后白细胞数显著下降,红细胞、血红蛋白及血小板数则升高。

3.3 对骨髓巨核细胞的影响 见表2。

表2 血康口服液对ITP模型小鼠骨髓巨核细胞影响

组别	n	骨髓巨核细胞数/个·片 $^{-1}$
正常对照组	14	$89.42 \pm 16.32^{\Delta\Delta}$
模型组	12	190.17 ± 29.63
血康高剂量组	12	$107.75 \pm 26.38^{\Delta\Delta}$
血康低剂量组	12	$162.92 \pm 37.14^{**\Delta\Delta}$
强的松组	13	$113.58 \pm 33.12^{**\Delta\Delta}$

从表2可知,模型组与正常对照组、血康口服液组及强的松阳性组相比,骨髓巨核细胞明显增多;血康口服液大剂量给药治疗后,骨髓巨核细胞数恢复正常。血康口服液低剂量组和模型组给药后,骨髓巨核细胞亦有恢复,但未恢复至正常水平。

3.4 各组脏器指数和脾脏病理学改变 见表3、4。

表3 血康口服液对ITP模型小鼠治疗后各组脏器变化

组别	n	脾脏 /mg·(10g) $^{-1}$	胸腺 /mg·(10g) $^{-1}$	肾上腺 /mg·(100g) $^{-1}$
正常对照组	14	$58.04 \pm 8.54^{\Delta\Delta}$	$66.08 \pm 10.52^{\Delta\Delta}$	$50.92 \pm 15.28^{\Delta\Delta}$
模型组	12	96.4 ± 7.98	45.25 ± 8.38	35.5 ± 6.72
血康高剂量组	12	$85.8 \pm 11.3^{\Delta\Delta**}$	$60.5 \pm 7.0^{\Delta\Delta}$	$48.1 \pm 12.0^{\Delta\Delta}$
血康低剂量组	12	$91.1 \pm 11.0^{**}$	$60.3 \pm 7.46^{\Delta\Delta}$	$42.3 \pm 7.0^{\Delta\Delta*}$
强的松组	13	$75.4 \pm 11.2^{\Delta\Delta**}$	$60.0 \pm 8.21^{\Delta\Delta}$	$48.25 \pm 6.8^{\Delta\Delta}$

表4 血康口服液对ITP模型小鼠治疗后脾脏变化

组别	n	巨嗜细胞/个	凋亡小体/个
正常对照组	14	$4.5 \pm 1.5^{\Delta\Delta}$	$4.8 \pm 1.6^{\Delta\Delta}$
模型组	12	18.3 ± 2.2	19.8 ± 3.0
血康高剂量组	12	$10.7 \pm 2.0^{\Delta\Delta**}$	$11.6 \pm 2.8^{\Delta\Delta**}$
血康低剂量组	12	$16.3 \pm 2.3^{\Delta\Delta**}$	$17.4 \pm 3.4^{\Delta\Delta**}$
强的松组	13	$9.1 \pm 2.0^{\Delta\Delta**}$	$12.1 \pm 2.9^{\Delta\Delta**}$

注:巨嗜细胞定量:5个高倍镜下数的巨嗜细胞数。凋亡小体:高倍下看5个生发中心,求平均值。

从表3、表4可以看出,模型组脾脏重量较正常组明显增加,但胸腺、肾上腺均重较正常对照组明显下降。血康高、低剂量组和强的松治疗组胸腺、肾上腺脏器指数与正常对照组比无显著差异。强的松组和大剂量组巨噬细胞和生发中心的凋亡小体数明显减少。

4 讨论

免疫性血小板减少性紫癜(ITP)为临床常见的血小板减少所致的出血性疾病,在中医中属于“紫斑”范畴,阳明气分热盛,热扰血分,迫血妄行,发为肌衄,形成紫斑。现代医学认为是体内产生抗自身血小板抗体,导致血小板寿命缩短,在网状内皮系统大量破坏,临床出现以外周血血小板减少,骨髓巨核细胞增多伴成熟障碍为特征的自身免疫性出血综合征^[2]。由于该病发病机理尚未完全阐明,故至今尚无特效药物^[3],对于本病的治疗目前主要采用激素,但存在副作用大、病情易反复的缺点。血康口服液的有效成分是中药肿节风的提取物,众多研究表明肿节风具有明显的抗ITP效果^[4,5],本次实验亦证实了这点。相比激素,血康口服液具有毒副作用小、不易复发的特点,因此有较高的临床应用价值。

参考文献

- [1]徐卫国.血康口服液的临床应用[J].中国药业,2005,14(4):79
- [2]胡红,周艳华,张智,等.养血糖浆的药效学研究[J].中国中医基础医学杂志,2000,6(9):22~26
- [3]黄振翘.中医治疗原发性血小板减少性紫癜的现代药效学设计与方法的研究[J].中医药通报,2002,1(4):34.38
- [4]赵诗云,彭旦明,周名智,等.肿节风对小鼠白细胞和血小板的影响[J].上海实验动物科学,2000,20(3):154~156
- [5]徐国良,肖兵华,陈奇,等.肿节风及其分离部位对免疫性血小板减少性紫癜小鼠血小板的影响[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(4):33~36

(收稿日期:2006-01-10)