

· 临床研究 ·

体外治疗性超声对人体凝血及纤溶系统的影响

王海清 曹林生 蒋小燕 李运锋

【摘要】目的 研究体外治疗性超声(ETUS)对正常人体凝血及纤溶系统的影响。**方法** 采用酶联免疫吸附法及发色底物法测定正常人经 ETUS 作用前、后,其血浆 GMP-140、TXB₂、t-PA 及 PAI-1 含量的变化,并将经 ETUS 作用前、后的相应数据进行比较。**结果** ETUS 作用前,受试者 GMP-140 含量为 (3.72 ± 0.51) ng/ml, TXB₂ 为 (87.64 ± 2.62) pg/ml, t-PA 为 (0.49 ± 0.22) IU/ml, PAI-1 为 (0.41 ± 0.19) AU/ml; 经 ETUS 作用后,其 GMP-140 为 (3.63 ± 0.45) ng/ml, TXB₂ 为 (85.84 ± 5.18) pg/ml, t-PA 为 (0.46 ± 0.02) IU/ml, PAI-1 为 (0.36 ± 0.15) AU/ml; 经统计学分析,受试者经 ETUS 作用前、后各指标间差异均无显著性意义(均 $P > 0.05$)。**结论** 本研究所用的治疗性剂量的 ETUS 对正常人体的凝血、纤溶系统没有明显影响。

【关键词】 超声治疗; 血小板 α -颗粒膜蛋白; 血栓素 B₂; 组织型纤溶酶原激活剂; 纤溶酶原激活物抑制剂-1

Effect of therapeutic ultrasound on the normal human body blood coagulation and fibrinolytic system WANG Hai-qing*, CAO Lin-sheng, JIANG Xiao-yan, LI Yun-feng. * Department of Cardiology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China

【Abstract】Objective To study the effect and safety of external therapeutic ultrasound (ETUS) on the normal human body blood coagulation and fibrinolytic system. **Methods** Twenty-five healthy volunteers were subjected to ETUS on the precordial region, and the parameter of ETUS was 0.8MHz, 1.2W/cm², the subjects were treated for 15 minutes daily for 7 days. Before and after the end of treatment by ETUS, the GMP-140, TXB₂, t-PA and PAI-1 were detected by ELISA or Chromogenic Substances. **Results** Before the treatment, the levels of GMP-140, TXB₂, t-PA and PAI-1 were 3.72 ± 0.51 ng/ml, 86.64 ± 2.62 pg/ml, 0.49 ± 0.22 IU/ml and 0.41 ± 0.19 AU/ml, respectively. After treatment, the levels of GMP-140, TXB₂, t-PA and PAI-1 were 3.63 ± 0.45 ng/ml, 85.84 ± 5.18 pg/ml, 0.46 ± 0.02 IU/ml and 0.36 ± 0.15 AU/ml, respectively. Before and after treatment by ETUS, the levels of the above parameters had no significant changes (all $P > 0.05$). **Conclusion** The human body blood coagulation or fibrinolytic system was not activated or inhibited by ETUS under the condition of this study.

【Key words】 Ultrasound therapy; Platelet α -granule membrane; Glycoprotein; Thromboxane B₂; T-PA; PAI-1

相关研究表明,体外治疗性超声(external therapeutic ultrasound, ETUS)能够促进溶栓药物向血栓内渗透,提高溶栓药物的治疗效果,为急性心肌梗死(AMI)的治疗提供一种新的治疗手段^[1,2]。超声的空化效应被认为是体外治疗性超声助溶血栓的主要机制^[3,4];然而人体是一个复杂的机体,血栓的形成是组织损伤、血小板激活后的凝血瀑布反应与机体抗凝、纤溶系统共同作用的结果。在正常情况下,体内凝血系统与纤溶系统处于动态平衡,以维持血液在血管内的流动状态,一旦该平衡被破坏,就会引发血栓形成或出血^[5]。基于上述方面,本研究拟通过观察 ETUS 对正常人血浆组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)、纤溶酶原激

活物抑制剂-1(PAI-1)、血小板 α 颗粒膜蛋白-140(GMP-140)以及血栓素 B₂(TXB₂)的影响,从而探讨 ETUS 对人体凝血及纤溶系统的作用,以进一步研究 ETUS 助溶血栓的机理。现报道如下。

资料与方法

一、研究对象及血样本处理

选取健康志愿者 25 名,均为男性,年龄为 (20 ± 2) 岁,分别在体外超声治疗前及治疗后 1 周各抽取 1 ml 静脉血,随后分装入 4 支容量为 2 ml 塑料试管中,其中 2 支含 1/10 体积 2% EDTA-Na₂,另 2 支含 1/10 体积 0.109 mol/L 枸橼酸钠液。当分装完成后,将上述样品以 3 000 rpm 离心 10 min,收集上清液,于 -20℃ 环境中保存待测。其中用于检测 t-Pa 的血样本需离心后,立即取 200 μ l 血浆并加入等体积酸化液

作者单位:310014 杭州,浙江省人民医院心内科(王海清);华中科技大学同济医学院附属协和医院心血管研究所(曹林生、李运锋);华中科技大学同济医学院附属协和医院康复科(蒋小燕)

混匀后保存待测。

二、ETUS 治疗方法

采用武汉医疗器械研究所研制的 FRK-II 型超声治疗仪,设定超声工作频率为 0.8 MHz,平均声强为 1.2 W/cm^2 , 占空比为 100%。当 ETUS 作用时,受试者取仰卧位,主要治疗部位为心前区,分 2 个区域进行治疗。首先在治疗部位涂抹耦合剂,声头分别在上述 2 区域内移动:一区是自右侧第三肋骨下缘,由胸骨右缘经胸骨向左平行至锁骨中线,全长约 10 cm;二区自胸骨左缘外 2 cm 处开始,由第三肋骨下缘至心尖部,全长约 8 cm。超声治疗模式设定为脉冲式,治疗时将声头紧贴于受辐照部位并均匀移动之,移动速度为 $1 \sim 2 \text{ cm/s}$,每次治疗 10 ~ 15 min,每日 1 次,共治疗 1 周。

三、血浆 t-PA 和 PAI-1 活性的测定

采用发色底物显色法测定血浆 t-PA 和 PAI-1 的活性。药盒购自福建太阳生物技术公司,实验操作严格按照药盒说明书进行。

四、血浆 GMP-140 和 TXB₂ 的测定

采用酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA)测定血浆 GMP-140 及 TXB₂ 含量,操作步骤严格按照说明书进行。试剂盒购自福建太阳生物技术公司。

五、统计学分析

计量数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 SAS 软件进行统计学处理,对于两组样本均数的比较则采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有显著性意义。

结 果

ETUS 治疗前,受试者血浆 GMP-140、TXB₂、t-PA 和 PAI-1 含量分别为 $(3.72 \pm 0.51) \text{ ng/ml}$, $(87.64 \pm 2.62) \text{ pg/ml}$, $(0.49 \pm 0.22) \text{ IU/ml}$ 和 $(0.41 \pm 0.19) \text{ AU/ml}$;经 ETUS 治疗后,上述各指标含量分别为 $(3.63 \pm 0.45) \text{ ng/ml}$, $(85.84 \pm 5.18) \text{ pg/ml}$, $(0.46 \pm 0.02) \text{ IU/ml}$ 和 $(0.36 \pm 0.15) \text{ AU/ml}$ 。经统计学分析后发现,血浆 GMP-140、TXB₂、t-PA 及 PAI-1 含量经 ETUS 治疗前、后差异均无显著性意义(均 $P > 0.05$)。

讨 论

急性心肌梗死多数是由于冠状动脉腔内血栓形成,造成其血液供应急剧减少或中断,如能迅速溶解血栓,缩短缺血区再灌注所需的时间,则可使心肌梗死范围明显缩小,显著提高患者的生存率。目前临床上多采用药物溶栓或经皮腔内血管介入治疗该症,前者因受药物剂量及发病时间限制,后者又因操作技术复杂、设备昂贵等要求,故在应用时均具有一定的局限性。多项研究已证实^[1,2],ETUS 治疗能加速溶栓药物向血栓内渗透,促进血栓溶解,提高溶栓率,而且该方法具

有无创、设备简单、操作方便等优点,易于在基层医院中推广、应用。

关于 ETUS 助溶血栓的确切机制,目前尚未充分阐明。多数学者认为,ETUS 通过超声空化效应加速溶栓药物向血栓内渗透、促进血栓溶解^[6]。超声空化是指液态物质在超声作用下,其中的微小气泡(空化核)可迅速发生闭合-崩溃-重新形成的循环动力学过程,并同时产生巨大的剪切力、冲击波及高速射流。在血栓与周围流动的血液之间或在血栓松散结构内都包含有许多直径 $5 \mu\text{m}$ 的小孔隙(尤其是具有裂隙的血栓表面),可隐藏大量的空化核;当超声辐照时,就会产生空化效应导致微泡崩溃,局部产生冲击波及剪切力,可破坏血栓中的纤维蛋白网状结构,从而形成新的流体通道,减小流体阻力,不仅提高了转运溶栓药物的速率,还增加了溶栓药物进入血栓中的深度,使溶栓效果显著提高^[7,8]。上述 ETUS 的机械效应同时也可以影响血小板的形态及功能,如高强度超声(3.5 W/cm^2)可引起红细胞聚集,但停止应用超声后,红细胞功能又可迅速恢复正常,从而提示超声助溶血栓的机制除空化效应外,可能还有其它机制参与。

本实验中通过测定血浆中花生四烯酸代谢产物 TXB₂ 的含量,可间接反映血小板的活化程度;而 GMP-140 是一种血小板膜糖蛋白,只表达在活化的血小板表面,当血小板遭破坏后,活化的 GMP-140 会出现在血小板浆膜表面,并有部分进入血液导致血浆 GMP-140 含量增高,故检测该指标可以很好地反映体内血小板的活化程度及功能状态。由于血液纤溶系统的活性在很大程度上取决于 t-PA 与 PAI-1 之间的平衡关系,PAI-1 是纤溶酶原激活物最主要的抑制剂之一,对纤溶系统具有重要作用。正常机体的 t-PA 和 PAI-1 含量维持在适当的平衡范围内,既能保证止血反应迅速、有效,又能避免该反应持续时间过长或在伤口以外的部位形成血栓或发生纤溶。本研究通过 ETUS 作用于正常人心前区,分析其血浆 GMP-140、TXB₂、t-PA 和 PAI-1 含量在 ETUS 治疗前、后的变化,结果表明该类型超声(0.8 MHz , 1.2 W/cm^2)对上述各指标均无明显影响,既没有抑制凝血系统,也没有激活纤溶系统;但 Kornowski 等^[9]用频率为 1 MHz、强度为 6.3 W/cm^2 的 ETUS 联合 rt-PA 治疗实验动物(新西兰兔)股动脉血栓时,发现 ETUS 助溶组血管再通过时间虽然短于药物溶栓组,但其动脉通畅程度较差,再闭塞的发生率高于药物溶栓组,故认为 ETUS 可诱导血小板激活,释放的凝血物质抵消了 ETUS 加速血栓溶解的作用。分析上述结果的可能原因还包括:各自的实验方法不同,如在治疗过程中保持探头不动,可形成驻波并损伤血管内皮细胞,使局部血细胞聚集并有发生血栓的危险;各

实验所用的超声频率、强度及辐照时间均不一致。Nilsson 等^[10]做了 ETUS 促进链激酶(SK)和 rt-PA 溶栓的体外实验,结果表明有辅助溶栓作用的 ETUS,其频率范围是 0.5~2.3 MHz,当强度低于 0.5 W/cm² 时无助溶作用,在 0.5~1.5 W/cm² 之间时能发挥显著助溶效应,大于 4 W/cm² 时则抑制 SK 的溶栓作用。

本实验所用的超声强度为 1.2 W/cm²,符合英国皇家理疗学会制定的“安全使用超声治疗指南”^[11],即治疗性超声频率应在 0.75~3.00 MHz 之间,平均声强应小于 3 W/cm²,过大剂量超声治疗会造成组织损伤。本研究同时还提示,超声治疗参数(频率、声强、持续时间、占空比)及治疗方式的选择均十分重要,治疗时超声强度应低于 3 W/cm²;然而机体复杂的血栓形成及溶解过程中无疑还有许多其它因素(如神经体液因素)参与,ETUS 助溶血栓是否还存在其它机制以及超声对神经体液因素有无影响,也有待于更广泛、深入的研究。

参 考 文 献

- 1 Francis CW, Blinc A, Lee S, et al. Ultrasound accelerates transport of recombinant tissue plasminogen activator into clots. *Ultrasound Med Biol*, 1995, 21:419-424.
- 2 Siegel RJ, Atar S, Fishbein MC, et al. Noninvasive, transthoracic, low-frequency ultrasound augments thrombolysis in a canine model of acute

myocardial infarction. *Circulation*, 2000, 101:2026-2029.

- 3 Tachibana K, Tachibana S. Albumin microbubble echo-contrast material as an enhancer for ultrasound accelerated thrombolysis. *Circulation*, 1995, 92:1148-1150.
- 4 Porter TR, LeVein R, Fox R, et al. Thrombolytic enhancement with perfluorocarbon-exposed sonicated dextrose albumin microbubbles. *Am Heart J*, 1996, 132:964-968.
- 5 Amiral J. Usefulness of laboratory techniques for evaluating antithrombotic efficacy of new therapeutic strategies. *Clin Appl Thromb*, 1995, 1:243-246.
- 6 Blinc A, Frances CW, Trudnowski JL, et al. Characterization of ultrasound potentiated fibrinolysis in vitro. *Blood*, 1993, 80:2636-2338.
- 7 Braaten JV, Goss RA, Francis CW, et al. Ultrasound reversibly disaggregates fibrin fibers. *Thromb Haemost*, 1997, 78:1063-1068.
- 8 Luo H, Nishioka T, Fishbein MC, et al. Transcutaneous ultrasound augments lysis of arterial thrombi in vivo. *Circulation*, 1996, 94:775-777.
- 9 Kornowski R, Meltzer RS, Chernine A, et al. Dose external ultrasound accelerate thrombolysis results from a rabbit model. *Circulation*, 1994, 89:339-342.
- 10 Nilsson AM, Odselius R, Roijer A, et al. Pro- and antifibrinolytic effects of ultrasound on streptokinase-induced thrombolysis. *Ultrasound Med Biol*, 1995, 21:833-840.
- 11 Safety of electrotherapy equipment working group. Guidelines for the safe use of ultrasound therapy equipment. *Physiotherapy*, 1990, 76:683-691.

(修回日期:2004-03-15)

(本文编辑:易 浩)

兴城海滨综合疗法对 2 型糖尿病患者血小板参数的影响

胡德永 夏玉昌 方丽

糖尿病是因胰岛素分泌绝对或相对不足所引起的糖、脂类代谢紊乱,是动脉粥样硬化重要的物质基础^[1],易并发血栓性疾病,而血小板功能的变化可先于血管病变的发生^[2]。我们对 2001~2003 年 7~9 月入院的 2 型糖尿病患者,应用自然疗养因子配合温泉浴、运动锻炼、音乐疗法、景观治疗等进行康复治疗,治疗前、后测定空腹血糖(fast blood glucose, FBG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceridemia, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、血小板计数(platelet count, PLT)和平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)。现报道如下。

资料与方法

一、一般资料

2 型糖尿病患者 66 例,均为来院的军队疗养员,均符合 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准,其中男 43 例,女 23 例;年龄 43~63 岁;病程 3~20.3 年;合并高血压 45 例,冠心病 18 例;

肝、肾功能正常;排除脑梗死、脑出血、心率过缓(<50 次/min)、心脏传导阻滞、急性心肌梗死、糖尿病视网膜病变、糖尿病足等病;FBG > 15.0 mmol/L。将 66 例患者随机分为治疗组(33 例)和对照组(33 例)。

二、治疗方法

2 组患者均口服降糖药物,并根据血糖情况调整药物剂量;给予低糖、低盐、低胆固醇膳食,每天食新鲜蔬菜、瓜果和豆类食物;戒烟戒酒。治疗组加用运动锻炼、音乐疗法、温泉浴、景观治疗等。

运动类型以在海滩或山林步行为主,根据患者年龄、性别、体力、病情等情况逐步增加运动时间和运动强度,运动前先做简单、平稳、舒展、不引起屏气的体操,在经过短期适应性训练患者体力与心理都能适应后,才开始运动锻炼。通常掌握“3、5、7”的运动:“3”是每天步行约 3 km,时间为 30 min 以上;“5”是每周要运动锻炼 5 次以上;“7”是用(170-年龄)所得的数值作为运动时的靶心率,运动属于中等量。运动锻炼后,轻松摆动上、下肢及调整呼吸 3~5 min,使患者逐步恢复正常心率和呼吸;运动锻炼后在院内休息过程中,取靠背坐位,轻闭双眼,身体放松