

μl 抗凝血试管,各管加入 ADP 20 μl (10 $\mu\text{mol/L}$)轻轻混匀,放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 10 分钟后立即各管又分别加入不同浓度的丹参应用液 10 μl ,轻轻混匀,放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 10 分钟;方式 C:不同浓度丹参应用液各取 10 μl ,分别加入试管中后,再向各管中分别加入 20 μl ADP (10 $\mu\text{mol/L}$),放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 10 分钟后立即各管又分别加入抗凝全血 270 μl ,轻轻混匀,放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 10 分钟。

1.2.4 对照管:30 μl 生理盐水加 270 μl 抗凝全血混匀,放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 10 分钟。

1.2.5 抗血小板的单克隆免疫荧光抗体染色:在上述三种加样方式的各试管中分别取样 10 μl 入各测定管,各测定管均加入抗血小板的单克隆免疫荧光抗体 PAC-1FITC、CD₆₂P PE 和 CD₆₁PerCP 各 10 μl ,轻轻混匀,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 20 分钟,后立即加入 1.0 ml 1% 多聚甲醛混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测定;阴性对照管:取对照管中血样 10 μl ,加抗血小板的单克隆免疫荧光抗体 PAC-1FITC、RGDS、MouseIgG1PE 和 CD₆₁PerCP 各 10 μl 混匀,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 20 分钟,后立即加入 1% 多聚甲醛 1.0 ml 混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用;正常对照管:取对照管内血样 10 μl 加抗血小板的单克隆免疫荧光抗体 PAC-1FITC、CD₆₂P PE 和 CD₆₁PerCP 各 10 μl 混匀,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 20 分钟,后立即加入 1% 多聚甲醛 1.0 ml 混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测定。

1.2.6 流式细胞仪测定:用阴性对照管调校仪器,采用 CD₆₁PerCP/SSC 双参数设定血小板门,将上述三种加样方式的测定管和正常对照管分别在流式细胞仪上测定,分析 PAC-1CD₆₂P PE 阳性血小板表达百分率。

1.2.7 统计学分析:以 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验。

2 结果(见表 1)

3 讨论

血小板的活化可由多种因素引起,而且活化的机制也不尽相同。但最终活化的血小板的表现形式:一是血小板形态发生改变;二是血小板膜表面暴露纤维蛋白原受体(FIB-R)即 PAC-1,使与纤维蛋白原结合,从而易使血小板聚集,导致血小板堵塞形成。其次是被活化的血小板,胞浆中 α -颗粒发生脱颗粒反应,颗粒内容物释放至血液中,同时血小板膜糖蛋白 P-选择素(CD₆₂P)暴露于血小板表面,使血小板易发生粘附聚集。采用不同的加样方式来研究丹参液对血小板活化抑制作用,以流式细胞术全血法、三色免疫荧光染色分析血小板活化

表 1 血小板 PAC-1 和 CD₆₂P 活化表达的阳性率($\bar{x} \pm s$, %)

加样方式	例数	活化指标	不同浓度的丹参应用液(mg/L)			
			40	80	160	320
A	9	PAC-1	3.3 \pm 0.7*	2.9 \pm 0.5*	2.7 \pm 0.7*	2.7 \pm 0.9*
		CD ₆₂ P	2.9 \pm 0.4*	3.2 \pm 0.6*	2.5 \pm 0.2*	2.1 \pm 0.5*
B	9	PAC-1	77.2 \pm 3.1 [▲]	72.7 \pm 4.6 [▲]	77.6 \pm 5.9 [▲]	75.1 \pm 7.7 [▲]
		CD ₆₂ P	60.9 \pm 8.4 [▲]	55.5 \pm 5.2 [▲]	56.1 \pm 5.9 [▲]	56.7 \pm 6.5 [▲]
C	9	PAC-1	35.1 \pm 6.9 [▲]	26.6 \pm 7.2 [▲]	13.3 \pm 5.7 [▲]	9 \pm 0.7 [▲]
		CD ₆₂ P	27.6 \pm 4.8 [▲]	14.7 \pm 5.5 [▲]	10.4 \pm 6.6 [▲]	8.1 \pm 0.6 [▲]
正常	9	PAC-1		3.1 \pm 0.6		
对照		CD ₆₂ P		2.8 \pm 0.9		

注: * 与正常对照比较, $P > 0.05$; ▲ 与正常对照比较, $P < 0.05$

水平^[1],测定血小板活化的分子标志物即血小板活化早期标志物 PAC-1 和血小板活化后期标志物 CD₆₂P。研究结果显示,选择加样方式 A 时,丹参液有明显的抑制血小板 PAC-1 和 CD₆₂P 活化的作用,并且在低含量的丹参液抑制作用也较强, PAC-1 和 CD₆₂P 表达水平低。选择加样方式 B 时,血小板明显被活化,并且高浓度的丹参液也不能抑制血小板的活化。说明丹参液无法降低已被活化后的血小板 PAC-1 和 CD₆₂P 的表达水平。选择加样方式 C 时,其血小板 PAC-1 和 CD₆₂P 的表达水平随丹参液浓度增加抑制作用加强,表达水平降低,这可能与丹参液和 ADP 同时竞争作用血小板膜糖蛋白有关。根据不同的加样方式推测,丹参液有下调纤维蛋白原受体的表达和颗粒内容物的释放,降低血小板的聚集性,防止血小板活化,阻止血栓形成的作用。但是,丹参液是否有溶栓作用还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 王振义,李家增,阮长耿,主编.血栓与止血-基础理论与临床[M].第二版.上海:上海科学技术出版社,1996.396.
- [2] Fabre JE, Nguyen M, Latour A, et al. Decreased Platelet aggregation, increased bleeding time and resistance to thromboembolism in P2Y1-deficient mice[J]. Nut Med, 1999, 5: 1199.
- [3] 王建中,曹凌,贺茂林,等.流式细胞术三色分析循环活化血小板及其在缺血性脑血管病中的临床意义[J].中华医学杂志, 2000, 80: 499.
- [4] Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function[J]. Blood, 1996, 87: 4925.

收稿日期:2003-07-09

逍遥散加夏枯草膏治疗经前乳房胀痛 2 例

张红

(重庆市渝中区二院,重庆 400013)

将我院应用逍遥散为主方加夏枯草膏治疗经前乳房胀痛 2 例报道如下。

1 临床资料

2 例病人,均为月经前感乳房胀痛,为持续性,夜间较轻,白天尤甚。用逍遥散:柴胡、白芍、当归、白术、茯苓各 9 g,烧生姜 1 块切破,薄荷 6 g、丹皮 10 g,阴虚加生地。配夏枯草膏口服。

服药一个疗程症状消失 1 例。服药二个疗程症状消失 1 例,随访一年未复发。

2 病案举例

病人女,30 岁,月经前半月乳房胀痛 3 月,局部无红肿、硬结,精神正常,苔薄白,脉弦,各项化验检查结果无异常。给予逍遥散加夏枯草,服后症状减轻,月经来后半月,继续服用此药至下次月经来潮,二月后症状基本消除。

逍遥散是《太平惠民和剂局方》,我们根据妇女的生理病理特点,给予疏肝理气、调和经血,使气血相和,通则不痛。只要辨证正确、合理应用古代方剂,加上现代成药治疗,在临床上收到满意的治疗效果。

收稿日期:2003-08-01