

消栓饮对创伤性深静脉血栓大兔

Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)亚群漂移的影响

徐文杰¹, 王 勇², 潘德银¹, 李冬春², 黄永松², 简功辉²

(1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208;

2. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙, 410005)

[摘要] 目的:探讨 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)亚群漂移在大兔创伤性深静脉血栓(DVT)形成中的作用及消栓饮的治疗机制。方法:将45只新西兰健康大兔分为空白组、假手术组、0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组,每组各9只,采用直接钳夹静脉+双后肢石膏固定的方法制备创伤性DVT模型后进行给药,于第1、3、7天完成给药4h后,采用流式细胞术检测各组大兔 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)、Th2(CD4⁺ IL-4⁺)的含量变化及 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)值。结果:给药第1、3、7天0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组的 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)比例、Th2(CD4⁺ IL-4⁺)比例及 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)值与同时时间节点空白组、假手术组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);给药第3、7天低分子肝素钠组、消栓饮组的 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)比例、Th2(CD4⁺ IL-4⁺)比例及 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)值与0.9%氯化钠注射液组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:DVT形成过程中存在 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)亚群动态平衡被打破;中药消栓饮可以通过干预 Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)、Th2(CD4⁺ IL-4⁺)含量变化,维持两者的平衡来达到治疗目的。

[关键词] 深静脉血栓;消栓饮;(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)亚群漂移;实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.04.065

Effect of Xiaoshuan decoction on Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) subset shift in rabbits with traumatic deep venous thrombosis

XU Wenjie¹, WANG Yong², PAN Deyin¹, LI Dongchun², HUANG Yongsong², JIAN Gonghui²

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China;

2. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the role of Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) subset shift in traumatic deep venous thrombosis(DVT) in rabbits and the therapeutic mechanism of Xiaoshuan decoction. Methods: A total of 45 healthy New Zealand rabbits were divided into blank group, sham-operation group, 0.9% sodium chloride injection group, low-molecular-weight heparin sodium group, and Xiaoshuan decoction group, with 9 rabbits in each group. A rabbit model of traumatic DVT was established by direct vein clamping and plaster immobilization of both hind limbs, and then corresponding drugs were given. At 4 hours after administration on days 1, 3, and 7, flow cytometry was used to measure the changes in the percentages of Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺) and Th2(CD4⁺ IL-4⁺), and Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) ratio was calculated. Results: On days 1, 3, and 7 of administration, the 0.9% sodium chloride injection group, the low-molecular-weight heparin sodium group, and the Xiaoshuan decoction group had significantly different percentages of Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺) and Th2(CD4⁺ IL-4⁺) and Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) ratio compared with the blank group and the sham-operation group ($P < 0.05$). On days 3 and 7 of administration, there were significant differences in the percentages of Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺) and Th2(CD4⁺ IL-4⁺) and Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) ratio between the low-molecular-weight heparin sodium group/Xiaoshuan decoction group and the 0.9% sodium chloride injection group ($P < 0.05$). Conclusion: Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) balance is broken during DVT. The traditional Chinese medicine Xiaoshuan decoction can regulate the changes in the percentages of Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺) and Th2(CD4⁺ IL-4⁺) and thus maintain Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺) balance.

基金项目:湖南省中医药科研计划项目(编号:201615)

第一作者:徐文杰,男,2016级硕士研究生,研究方向:骨与关节损伤

通讯作者:王勇,男,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向:中医骨伤科学, E-mail: 459831678@qq.com

[Key words] deep venous thrombosis; Xiaoshuan decoction; Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) subset shift; experimental study

深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)是一种由下肢深静脉血流受阻所引起的极为常见的血管疾病,在关节置换及创伤性大手术中,DVT已成为不可忽视的并发症^[1]。有数据显示,DVT的发病率超过50%,但大部分患者并没有明显的临床表现,而手术时间过长也会增加DVT发病率^[2-3]。血栓形成后,一旦脱落,将会导致严重的肺栓塞,因此进一步挖掘血栓的病理机制意义重大。有研究表明,DVT的形成与人体的免疫应答及炎症因子有极大的相关性,血清中炎症因子水平与DVT密切相关^[4]。而在人体中,最主要的免疫细胞为T淋巴辅助细胞(Th细胞),该细胞通过Th1、Th2两个亚群分泌TNF- α 、IL-1、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10等细胞因子。其中Th1亚群可分泌如IFN- γ 、TNF- α 等促炎症细胞因子造成组织破坏、血流动力学改变,从而导致血栓形成;而Th2亚群的作用则是分泌抗炎因子如IL-4、IL-10等以减轻炎症反应,从而抑制血栓形成^[5-6]。Th1、Th2两个亚群处于动态平衡之中,互相调节并维持机体正常的免疫功能。当发生某一种疾病时,Th1、Th2维持的动态平衡被打破,向Th1或Th2其中任一方向发生状态转变均称为Th1/Th2漂移现象。现代免疫学认为,Th1细胞分泌TNF- α 而不分泌IL-4,Th2细胞分泌IL-4而不分泌TNF- α ,故Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)值可作为判断DVT形成和衡量预后的检测指标之一^[7-8]。本实验旨在探讨消栓饮对创伤性DVT大兔模型Th1(CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2(CD4⁺ IL-4⁺)亚群漂移的影响,从而揭示消栓饮对创伤性DVT形成作用的靶点,为进一步研究下肢DVT发生机制和防治措施提供理论依据。

1 实验材料

1.1 动物 选取健康清洁级别新西兰雄性大兔45只,日龄90d;体质量2.0~2.5kg,由湖南太平生物科技有限公司提供,许可证号:SCXK(湘)2015-0004,实验动物质量合格证:NO.43608300000507。由湖南中医药大学东塘校区实验动物中心[设施使用许可证号:SYXK(湘)2013-0005]喂养。

1.2 药物及试剂 消栓饮药物组成:黄芪50g,白芍药30g,茯苓10g,陈皮10g,甘草6g,泽泻10g,丹参30g,大腹皮15g,枳壳10g,猪苓10g,当归尾10g,川牛膝15g,桂枝6g。由湖南中医药大学第二附属医院中药房统一煎制成含生药1g/ml的中药液以备用(自动煎药机型号:YJD20-GL,北京东华原公司制造)。低分子肝素钠注射液(昆明积大制药有限公司,批准文号:国药准字H20053199,规格:0.4ml/支);戊巴比妥钠(sigma公司,生产批号:57-33-0,规格5g/瓶);兔子脾脏淋巴细胞分离液(索莱宝,批号:P6280);红细胞裂解液(碧云天,批号:C3702);FITC-CD4(BD生产,批号:561834);PE-IL4(BD,批号:555082);PE-TNF- α (ebioscience生产,批号:12-7423-41);离子霉素和莫奈霉素复合物(联科生物,批号:70-CS1001);伊红(Wellbio);中性树胶(Sigma生产)。

1.3 主要仪器 台式高速冷冻离心机(湘仪,批号:L530);显微镜(Motic,批号:Ba210T);高分子石膏绷带(上海华埠医疗科技有限公司)。

2 实验方法

2.1 动物分组 将45只实验大兔称重并依次编号,按照随机字表法分为空白组、假手术组、0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组,每组各9只。

2.2 模型制备 实验大兔普通饲养7d后,0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组均采用直接钳夹股静脉+双后肢石膏固定的方法进行创伤性DVT模型制备^[9]。具体方法:将大兔禁食水8h后,用1%戊巴比妥钠(以浓度为40mg/ml,3ml/kg的剂量)进行耳缘静脉麻醉,使大兔仰卧于洁净操作台上,备皮,常规消毒铺巾。用手指触探兔大腿内侧股动脉搏动最强烈处,在左腹股沟内侧沿股动脉走向切一长约3cm的纵行切口,依次分离显露出股动脉、股神经及股静脉,钝性分离出最内侧股静脉。采用同型号蚊式钳分三处不同位置(相隔5mm)各钳夹1次,加持力度以扣紧1个扣为宜,夹持时间约3s,后用3-0丝线逐层缝合,再用石膏固定。假手术组除不行钳夹外,余操作同前。24h后将造模后的大兔使用原切口再次显露股静脉,查看钳夹后的静脉形态判断血管腔内血栓形成的情况,依次缝合伤口,并予以石膏固定。

2.3 给药方法 消栓饮组依据公式对人与动物体表面积换算得出中药剂量为14.5g/kg,灌胃,2次/d;低分子肝素钠组予以腹壁皮下注射低分子肝素钠,40IU/kg,1次/d。空白组、假手术组、0.9%氯化钠注射液组均以14.5g/kg同等剂量生理盐水灌胃,2次/d。各组均连续给药7d。

2.4 指标采集与检测 于第1、3、7d完成灌胃4h后,每组随机选取大兔3只,用1%戊巴比妥钠麻醉后处死,并进行股经脉、脾脏样本采集。大兔脾脏于RPMI-1640培养基中制备单个细胞悬液,离心并用细胞洗涤液洗涤提取脾脏淋巴细胞,置于细胞培养板中,再把离子霉素+莫奈霉素(1:250)加入到1640培养基中培养箱中培养,饱和湿度控制在5%,4h后收集得到沉淀下来的细胞。接着流式抗体染色,收集样品,室温下离心约4~6min。加入FITC-抗CD4,混合均匀后,继续室温、避光孵育15min。用0.9%氯化钠注射液4ml洗涤,离心后去清液。使用固定剂,静置15min。洗涤。破膜剂重悬细胞加入,分别依次加入PE-IL-4(5 μ l)、PE-TNF α (5 μ l)混匀1~2min,室温避光孵育20min,再次洗涤;离心,去上清,用0.1%多聚甲醛0.3ml重悬,3 $^{\circ}$ C~5 $^{\circ}$ C避光保存。24h内用流式细胞术检测。

2.5 统计学分析 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示;各组实验前后对比采用 t 检验;采用One Way-aNOVa方差分析($P > 0.05$)时,选LSD检验对组间进行比较分析;以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 实验脱落说明 在造模过程中,低分子肝素钠组大兔死亡2只,1只因手术中分离股静脉时损伤股动脉致失血过多死亡,1只因麻醉过量致死;0.9%氯化钠注射液组大兔死亡2只,1只因麻醉过量致死,1只在术后第1天因灌胃操作失误致死。2组均于备用同批雄兔中随机挑选进行补充。

3.2 造模术后股静脉情况 正常的股静脉血管色红,粗细均匀,血液流畅(见图1-1)。造模钳夹后的股静脉色紫暗,形态扭曲,可见凝血块(见图1-2)。图1-3提示造模成功。显微镜下可见空白组与假手术组股静脉切片静脉壁完整,不存在炎症细胞,静脉管壁完整且规则,无明显炎症细胞浸润(见图1-4)。造模后的股静脉切片镜下可见血管内有大量的红色粗颗粒,排列规则,血栓与血管壁相连处可见新生毛细血管和纤维母细胞,其间有炎症细胞。(见图1-5、1-6、1-7)

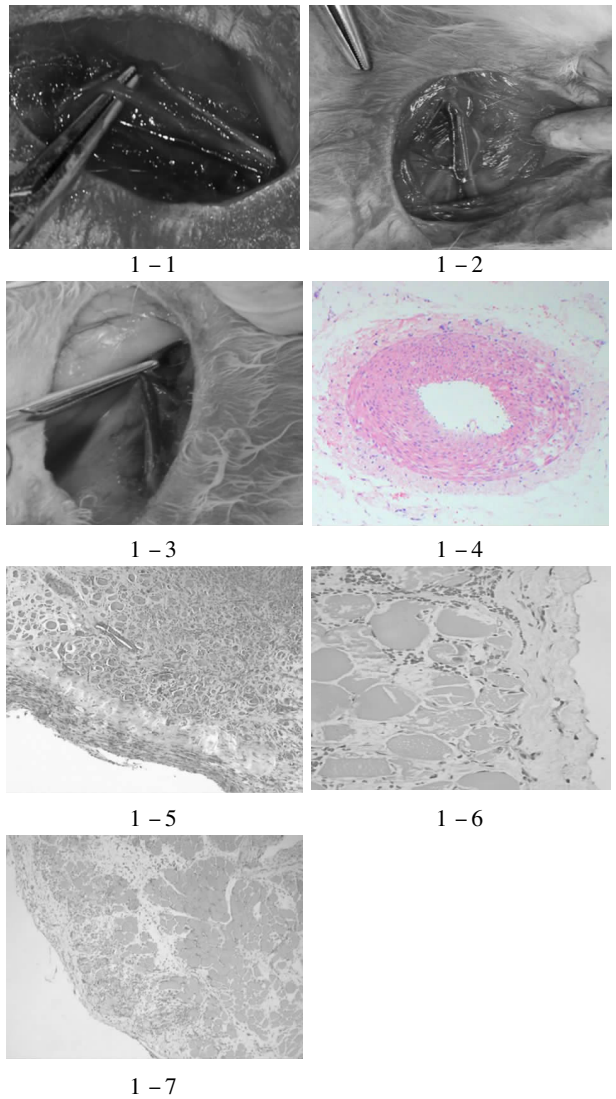


图1 造模术后股静脉情况

3.3 各组Th1(CD4⁺TNF-α⁺)亚群比例比较 给药第1、3、7天0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组的

Th1(CD4⁺TNF-α⁺)比例与同时间节点空白组、假手术组比较,差异均有统计学意义;给药第3、7d低分子肝素钠组、消栓饮组的Th1(CD4⁺TNF-α⁺)比例与0.9%氯化钠注射液组比较,差异有统计学意义。(见表1)

表1 各组Th1(CD4⁺TNF-α⁺)亚群比例比较(̄x±s)

组别	只数	给药第1天	给药第3天	给药第7天
空白组	3	0.720±0.123	0.573±0.119	0.727±0.035
假手术组	3	0.747±0.055	0.743±0.061	0.803±0.404
0.9%氯化钠注射液组	3	3.180±0.613 ^a	6.123±0.167 ^a	5.133±0.100 ^a
低分子肝素钠组	3	3.303±0.435 ^a	4.230±0.205 ^{ab}	3.613±0.105 ^{ab}
消栓饮组	3	3.023±0.268 ^a	4.374±0.145 ^{ab}	3.663±0.084 ^{ab}

注:与同时间节点空白组、假手术组比较,^aP<0.05;与同时间节点0.9%氯化钠注射液组比较,^bP<0.05。

3.4 各组Th2(CD4⁺IL-4⁺)亚群比例比较 给药第1、3、7天0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组的Th2(CD4⁺IL-4⁺)比例与同时间节点空白组、假手术组比较,差异均有统计学意义;给药第3、7天低分子肝素钠组、消栓饮组的Th2(CD4⁺IL-4⁺)比例与0.9%氯化钠注射液组比较,差异有统计学意义。(见表2)

表2 各组Th2(CD4⁺IL-4⁺)亚群比例比较(̄x±s)

组别	只数	给药第1天	给药第3天	给药第7天
空白组	3	0.093±0.153	0.083±0.153	0.103±0.021
假手术组	3	0.110±0.010	0.130±0.100	0.133±0.006
0.9%氯化钠注射液组	3	0.803±0.059 ^a	0.913±0.006 ^a	1.097±0.156 ^a
低分子肝素钠组	3	0.980±0.794 ^{ab}	1.577±0.191 ^{ab}	2.003±0.085 ^{ab}
消栓饮组	3	0.950±0.721 ^{ab}	1.440±0.076 ^{ab}	1.867±0.125 ^{ab}

注:与同时间节点空白组、假手术组比较,^aP<0.05;与同时间节点0.9%氯化钠注射液组比较,^bP<0.05。

3.5 各组Th1(CD4⁺TNF-α⁺)/Th2(CD4⁺IL-4⁺)值比较 给药第1、3、7天0.9%氯化钠注射液组、低分子肝素钠组、消栓饮组的Th1(CD4⁺TNF-α⁺)/Th2(CD4⁺IL-4⁺)值与同时间节点空白组、假手术组比较,差异均有统计学意义;给药第3、7天低分子肝素钠组、消栓饮组的Th1(CD4⁺TNF-α⁺)/Th2(CD4⁺IL-4⁺)值与0.9%氯化钠注射液组比较,差异均有统计学意义。(见表3)

表3 各组Th1(CD4⁺TNF-α⁺)/Th2(CD4⁺IL-4⁺)比值比较(̄x±s)

组别	只数	给药第1天	给药第3天	给药第7天
空白组	9	7.712±0.234	6.687±0.321	7.198±1.245
假手术组	9	6.802±0.375	5.732±0.509	6.026±0.198
0.9%氯化钠注射液组	9	3.976±0.352 ^a	6.704±0.167 ^a	4.872±0.609 ^a
低分子肝素钠组	9	3.382±0.345 ^a	2.715±0.408 ^{ab}	1.806±0.118 ^{ab}
消栓饮组	9	3.179±0.554 ^a	3.071±0.074 ^{ab}	1.969±0.160 ^{ab}

注:与同时间节点空白组、假手术组比较,^aP<0.05;与同时间节点0.9%氯化钠注射液组比较,^bP<0.05。

4 讨论

目前,中华医学会外科学分会的最新DVT形成的诊断治疗指南中建议,对早期DVT患者首选低分子肝素钠抗凝,

也可以使用维生素 K 拮抗剂或新型口服抗凝药等。低分子肝素钠在临床上已广泛用于防治 DVT 形成。许多研究表明,低分子肝素钠在抗炎方面也有突出功效,可抑制促炎症因子^[10-12]。

王勇教授在多年的临床实践中总结出,DVT 在临床上主要由创伤或者久卧导致脉络瘀阻,气血运行不畅而形成瘀血,瘀而化热生湿而致湿热丛生,此三者互相作用而形成本病,且瘀为该病之本。王勇教授自拟经验方“消栓饮”,方中重用黄芪为君,性微温,味甘,归肺、脾、肝、肾经,取其补气、消肿之功;现代药理研究表明,黄芪具有抗血小板聚集、加快血液流动、减少血栓形成的功效^[13-14]。方中桂枝芍药配伍,调和营卫,在行气散瘀时兼顾收敛,且芍药兼有止痛作用。川牛膝逐瘀通经,通利关节,利尿通淋。丹参可入血分,味苦,性微寒,有祛瘀止痛之功;经药理学研究发现,丹参中的有效成分能抑制血小板的聚集,也可扩张血管,促进凝血系统改善血液循环,防治血栓^[15]。陈皮、枳壳理气健脾,且行气兼可燥湿;茯苓、猪苓、泽泻对下肢水肿有很好的消肿作用,并可促进机体代谢^[16]。当归尾可通经络,重在活血破瘀;有研究表明,当归尾有抗血小板凝集和抗血栓作用,可以改善血液循环。大腹皮可祛湿、导滞行气、利水消肿^[17]。甘草性味甘平,调和诸药,可以化解毒性,同时有健脾补气、止痛的功效。本方补气散瘀中兼顾收敛,补泄兼施,使气血得以不断化生,运行流畅。有前期研究证实,该方对于气虚血瘀型 DVT 患者可取得满意的疗效^[18]。

通过本实验表 1 结果可知,血栓形成后机体中 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺) 比例会增加,而消栓饮组及低分子肝素钠组较 0.9% 氯化钠注射液组比较后发现,消栓饮与低分子肝素钠都可以减缓 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺) 水平的增加速度。在表 2 中,血栓形成后机体中的 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比例也会增加,说明机体在受到创伤或产生炎症时会启动免疫应答,从而增加 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 的比例。在消栓饮组及低分子肝素钠组与 0.9% 氯化钠注射液组比较得出,消栓饮、低分子肝素钠都可以加快 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比例的增加速度,从而抑制炎症的发生。通过表 3 可发现,Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比值在血栓形成后变小,说明 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺) 比例增加,而 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比例增加更快,这是因为机体出现应激性的免疫应答,创伤炎症的出现可自发性地促使 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比例增加来拮抗 (CD4⁺ TNF- α ⁺) 比例的增加。与同时间 0.9% 氯化钠注射液组比较,使用消栓饮及低分子肝素钠后,大免 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比值一直呈下降趋势,说明消栓饮及低分子肝素钠使 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 持续增加,Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺) 比例的增加速度持续减缓,反向改变了血栓形成后 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 的漂移方向。因此,消栓饮可通过减缓 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺) 比例的上升速度,并加快 Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 比例上升速度,从而调节 Th1 (CD4⁺ TNF- α ⁺)/Th2 (CD4⁺ IL-4⁺) 的漂移方向,使机体免疫趋向稳态,从而达到治疗 DVT 的目的。

参考文献

- [1] J Cervantes, G Rojas. Virchow's Legacy: Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism [J]. World Journal of Surgery, 2005, 29(1): s30 - s34.
- [2] Boyman O, Sprent J. The role of interleukin - 2 during homeostasis and activation of the immune system [J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(3): 180 - 190.
- [3] 李振, 蔡小嫦. Th1/Th2 细胞在炎症浸润中的不同表现 [J]. 国外医学: 免疫学分册, 2002, 25(1): 36 - 38.
- [4] 莫顶峰. 导致骨科手术患者术后发生下肢深静脉血栓的危险因素 [J]. 中国社区医师, 2018, 34(27): 31 - 32.
- [5] 彭小青, 李夏雨, 王玮, 等. Th1/Th2 细胞炎症因子在大鼠溃疡性结肠炎治疗模型中的表达 [J]. 中南大学学报, 2013, 38(10): 1020 - 1027.
- [6] Li X, Wang B, Li Y, et al. The Th1/Th2/Th17/Treg paradigm induced by stachydrine hydrochloride reduces uterine bleeding in RU486 - induced abortion mice [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145(1): 241 - 253.
- [7] 王彬, 刘明, 郝清智, 等. 中药调节 Th1/Th2 免疫平衡在下肢深静脉血栓形成治疗中的作用 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2013, 19(4): 355 - 358.
- [8] 周光炎. 免疫学原理 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 86 - 87.
- [9] Dentali F, Ageno W, Rancan E, et al. Seasonal and monthly variability in the incidence of venous thromboembolism: a systematic review and a meta - analysis of the literature [J]. Thromb Haemost, 2013, 106(3): 439 - 447.
- [10] Peng H, Han SH, Liu HY, et al. Relationship of inflammation and endothelial dysfunction with risks to cardiovascular disease among people in Inner Mongolia of China [J]. Biomed Environ Sci, 2013, 26(10): 792 - 800.
- [11] 刘建勇. 炎症细胞和炎症介质在创伤性大鼠股静脉血栓形成过程中的变化和意义 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2010.
- [12] Sahand Samieirad, Hadi Tohidi, Majid Eshghpour, et al. an Unusual Case of Deep Vein Thrombosis (DVT) after Orthognathic Surgery: a Case Report and Review of Literatures [J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2018, 76(12): 2649.
- [13] Rahul Saket, Sameer aggarwal, Vishal Kumar, et al. acute venous thromboembolism in patients of proximal femur fractures - a cross sectional observational study at a tertiary care centre [J]. Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma, 1980, 105(7): 460 - 464.
- [14] 王本鹏. 清热散瘀汤对下肢深静脉血栓形成患者炎症因子的影响 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [15] 韩索. 丹参酮 IIa 磺酸钠注射液联合酒石酸美托洛尔治疗冠心病心绞痛患者临床研究 [J]. 中国疗养医学, 2019, 28(3): 311 - 313.
- [16] 张玥, 刘效敏, 张玉冬, 等. 深静脉血栓形成患者血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 水平变化及意义 [J]. 放射免疫学杂志, 2007, 20(1): 13 - 14.
- [17] 苏丙贺. 当归中不同部位有效化学成分分析 [J]. 中国药物经济学, 2019, 14(1): 34 - 37.
- [18] 刘彦汶, 王青, 赵学敏, 等. 全小林运用大剂量茯苓治疗高血压验案 [J]. 山东中医杂志, 2019, 38(3): 281 - 283.

(收稿日期: 2018 - 06 - 17)