

舒心饮对急性心肌缺血鼠血小板活化的影响

何燕 陈竞伟 孙丽华 林种香

(上海中医药大学附属龙华医院心内科, 上海市宛平南路 725 号, 200032)

[摘要] 目的 研究舒心饮对急性心肌缺血鼠血小板活化的影响,以阐明舒心饮治疗冠心病的可能机制。方法 建立大鼠急性心肌缺血模型和小鼠急性心肌缺血再灌注模型。雄性 SD 大鼠和 ICR 小鼠各 51 只,随机各分 5 组,包括假手术组,模型组,舒心饮大、小剂量组,抵克力得组。连续灌胃 30 天后造模、采血。运用流式细胞术、单克隆抗体检测小鼠血小板膜糖蛋白 P-选择素(CD₆₂P);运用放射免疫法检测大鼠血小板聚集率(PAR)、纤维蛋白原(Fg)、血栓素 B₂(TXB₂)和 6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})及其比值。结果 舒心饮能抑制急性心肌缺血再灌注小鼠 CD₆₂P 的高表达,降低急性心肌缺血大鼠的 PAR、Fg 和 TXB₂/6-keto-PGF_{1α}的比值,与对照药抵克力得比较差异无显著性意义。结论 舒心饮可有效抑制急性心肌缺血鼠血小板活化,其防治冠心病的作用与其抗血小板活化机制有关。

[关键词] 舒心饮;冠心病;急性心肌缺血;血小板活化

Influence of Herbal Decoction Shuxin Yin on Platelet Activation in Rats and Mice with Acute Myocardial Ischemia

HE Yan, CHEN Jing-wei, SUN Li-hua, et al.

(Longhua Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032)

ABSTRACT Objective To study the influence of herbal decoction Shuxin Yin (SXY) on platelet activation of rats and mice with acute myocardial ischemia in order to explain its possible mechanism for treating coronary heart disease. **Methods** The rat model with acute myocardial ischemia and the mice model with acute myocardial ischemia and reperfusion were established. The male SD rats and ICR mice, 51 each, were randomized into 5 groups respectively: sham operation group, model group, low dose SXY group, high dose SXY group, ticlopidine group. Made models and collected blood sample after 30 days gastric infusion in succession. The flow cytometry technique and the monoclonal antibody examination were adopted to test the mice platelet glycoprotein CD₆₂P; the radioimmunoassay was used to test rat platelet aggregation rate (PAR), fibrinogen (Fg), thromboxane B₂(TXB₂) and 6-keto-PGF_{1α} and their ratio. **Results** Shuxin Yin can inhibit the high expression of CD₆₂P of mice with acute myocardial ischemia and reperfusion, and decrease PAR, Fg and TXB₂/6-keto-PGF_{1α} of rats with acute myocardial ischemia. Compared with the effect of ticlopidine, the difference was not significant. **Conclusion** Shuxin Yin could effectively inhibit platelet activation in rats and mice with acute myocardial ischemia, and its effect in preventing and treating coronary heart disease might be related to the inhibition of platelet activation.

Key Words Herbal decoction Shuxin Yin; Coronary heart disease; Acute myocardial ischemia; Rats; Mice; Platelet activation

血小板活化、血栓形成在冠心病发生、发展机制中起着相当重要的作用,近来对不稳定型心绞痛和急性心肌梗死的发病机制的研究表明,粥样斑块破裂后血小板活化、血栓形成是其急性发病主要的、共同的原因^[1]。本研究运用流式细胞术、放射免疫法等观察舒心饮对急性心肌缺血鼠血小板活化指标的影响。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠,体重为(200±10)g;雄性 ICR 小鼠,体重为(20±2)g,均由上海中医药大学实验动物中心提供。造模成功并存活各 51 只。

1.2 药物、试剂与仪器

舒心饮由党参、黄芪、麦冬、桑寄生、葛根各 15g,生地黄、熟地黄、枸杞子各 10g 组成,药材加水煎煮提取 2 次后过滤、沉淀、浓缩而成,由上海中医药大学附

属龙华医院中药制剂室生产加工,每瓶 500ml,生药含量 2g/ml,批号:020928。抵克力得由杭州赛诺菲民生制药有限公司生产,每粒 250mg,批号:200032。

相关血液检测设备由上海中医药大学附属龙华医院中心实验室提供。包括 FACS Calibur 型流式细胞仪(Becton Dickinson 公司),ALC200 免疫定量仪(美国 Beckman 公司),SN-695A 智能放免 γ 测量仪(上海原子核所日环光电仪器有限公司),TYXN-96I 多功能血液凝集仪(上海通用机电研究所)。

主要试剂有抗小鼠的 P-选择素(CD₆₂P)单克隆抗体及其阴性对照试剂 rat IgG₁ FITC(美国 BD 公司),批号分别为 09484D 和 553924;氯胺酮(上海中西药业有限公司),批号:010301;垂体后叶素(上海第一生化药业有限公司),批号:010327;硝酸甘油(广州明兴制药厂),批号:010602。

2 方法

2.1 动物分组与给药方法

大鼠、小鼠各随机分为 5 组,即假手术组,模型组,

基金项目:上海市教委科研基金资助项目(99C16)

通讯作者:何燕,hesha@medmail.com.cn,(021)64385700

舒心饮大、小剂量组,抵克力得组。各组动物术前体重比较差异无显著性意义($P>0.05$)。假手术组,模型组:灌服生理盐水,大鼠每天 20ml/kg,小鼠每天 30ml/kg。舒心饮小剂量组:按成人剂量 40ml/天折算,大鼠每天 5ml/kg,小鼠每天 10ml/kg;舒心饮大剂量组:是小剂量组用量 3~4 倍,大鼠每天 20ml/kg,小鼠每天 30ml/kg。抵克力得组:大鼠每天 25mg/kg,小鼠每天 32mg/kg。抵克力得组每天早晨灌胃 1 次,其余各组每天早晚各 1 次,30 天后造模。术前 24 小时禁食,术前 30 分钟灌药 1 次。

2.2 动物模型的建立

急性心肌梗死大鼠造模参考 Bani D^[2] 方法,以 100mg/kg 氯胺酮腹腔麻醉大鼠,术前做心电图进行气管插管,连接动物呼吸机;做左胸骨旁皮肤纵切口,剪开心包,挤出心脏,从左心耳下 2~3mm 处进针到肺动脉圆锥旁出针,在冠状动脉下穿一 5/0 号丝线,结扎冠状动脉,后依次关闭胸腔、缝合胸肌、筋膜及皮肤,并拔除气管插管,做术后心电图,以术后心电图 II 导联 ST 段抬高 0.02mV 为造模成功标志。60 分钟后从腹主动脉抽血送检。

小鼠急性心肌梗死再灌注模型造模,参考黄辉等^[3]方法,先腹腔注射垂体后叶素 30U/kg,30 分钟后再次腹腔注射硝酸甘油 10mg/kg,60 分钟后从下腔静脉中采血 0.2ml 送检。

2.3 检测指标及方法

血小板活化指标包括:(1)小鼠:流式细胞术,单克隆抗体法测 CD₆₂P 的阳性表达率。(2)大鼠:比浊法测血小板聚集率(PAR)、纤维蛋白原(Fg)浓度;放射免疫法测血栓素 B₂(TXB₂),6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})及其比值。

2.4 统计学方法

各组样本检测结果以($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料用 SPSS10.0 统计软件中的单因素方差分析进行统计学分析。

3 结果

3.1 对急性缺血再灌注小鼠 CD₆₂P 表达的影响

表 1 示,模型组的 CD₆₂P 表达水平明显高于假手

表 1 各组小鼠 CD₆₂P 阳性表达率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CD ₆₂ P(%)
假手术组	11	2.61±0.88**
模型组	10	11.92±5.41
舒心饮小剂量组	10	3.40±3.37*
舒心饮大剂量组	10	2.58±1.16**
抵克力得组	10	2.43±1.27**

与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

术组,差异有显著性意义($P<0.01$);3 个用药组与模型组比较,CD₆₂P 均明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);各用药组间差异无显著性意义($P>0.05$)。

3.2 对急性心肌缺血大鼠 PAR 的影响

表 2 示,与模型组比较,舒心饮大、小剂量组和抵克力得组皆降低了 PAR($P<0.01$);模型组 PAR 水平显著高于假手术组($P<0.05$),抵克力得组 PAR 低于舒心饮大、小剂量组,但差异无显著性意义($P>0.05$)。

3.3 对急性心肌缺血大鼠 Fg 的影响

表 2 示,3 个用药组 Fg 浓度低于模型组,组间差异无显著性意义($P>0.05$);但舒心饮大剂量组较抵克力得组下降的趋势更明显(舒心饮大剂量组: $P=0.06$;抵克力得组: $P=0.15$),舒心饮大、小剂量组间有一定量效关系。

3.4 对急性心肌缺血大鼠 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 比值的影响

表 2 示,与模型组比较,3 个用药组皆出现 TXB₂ 降低,PGF_{1α} 上升,TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 比值下降,但 3 个用药组间差异无显著性意义($P>0.05$);与模型组比较,抵克力得组差异有显著性意义($P<0.01$)。但舒心饮大、小剂量组比值的下降水平接近假手术组。

表 2 各组大鼠血小板活化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PAR(%)	Fg(g/L)	TXB ₂ /6-keto-PGF _{1α}
假手术组	11	34.18±7.26*	2.38±0.20	7.68±3.98
模型组	10	42.30±11.02	2.53±0.71	11.95±3.21
舒心饮小剂量组	10	18.15±5.90**	2.34±0.50	7.61±3.73
舒心饮大剂量组	10	14.73±7.54**	2.09±0.67	7.93±4.11
抵克力得组	10	13.49±8.96**	2.19±0.27	4.74±1.20**

与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

4 讨论

血小板的黏附和聚集是血小板活化的最主要表现,CD₆₂P 是血小板活化的主要标志物之一,在血栓的形成和炎症反应过程中起着重要的作用^[4];同时又作为黏附分子,参与再灌注损伤^[5]。本研究证实舒心饮可显著降低 CD₆₂P 的表达,从而抑制血小板活化和白细胞的黏附,减轻随后的心肌损伤。

血小板聚集功能的过度增强促进了冠心病的发生和发展^[6,7],Fg 作为血小板膜 GP II b/III a 的配体,是血小板聚集过程中不可缺少的物质^[8]。血浆 Fg 浓度的升高是冠心病发病的一个独立危险因素;另外,血浆 Fg 又可作为急性炎症反应的一种标志,预测急性心肌梗死的预后^[9]。在花生四烯酸代谢中,血管内皮主要产生前列腺素 I₂(PGI₂),血小板主要合成血栓素 A₂

(TXA₂), 两者功能相反, 处于相对平衡状态, 维持正常内皮功能, 使血流通畅、防止血栓形成。其以迅速代谢成稳定无活性的 PGI₂ 和 6-keto-PGF_{1α}。

本实验表明, 模型组大鼠的血小板活性明显升高, 而舒心饮大、小剂量组和抵克力得组能通过降低血浆 PAR、Fg、TXB₂、TXB₂/6-keto-PGF_{1α}, 提高 6-keto-PGF_{1α} 等抑制血小板活化。舒心饮大、小剂量组间存在一定的量效关系, 为临床用量提供了依据; 同时发现舒心饮降低血浆 Fg 的趋势更明显, 提示其在抗炎方面似优于抵克力得; 舒心饮主要通过升高血浆 6-keto-PGF_{1α} 浓度从而改变 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 比值, 提示其还通过保护内皮功能而抑制血小板活化。

冠心病急性心肌缺血属于中医的“胸痹”、“真心痛”等范畴, 基本病机为本虚标实。我们认为, 就胸痹而言, 其痰证之虚多于实, 故应重视扶正祛瘀。扶正包括了益气、养阴、补血、温阳等, 当辨证施治; 而单纯活血化瘀, 治标不治本, 则会耗气伤正, 影响疗效。本研究所用中药合剂舒心饮属于补虚治本一类的方剂, 该方中以黄芪益气帅血、麦冬滋阴养心为君, 党参补中益气, 生地黄、熟地黄、桑寄生、枸杞子滋补肝肾以培阴精之本而为臣, 葛根升发清阳, 助脾胃化生气血而为使, 诸药合用, 共奏益气养阴、行血补心之功。

既往多年的临床研究表明, 舒心饮有改善心肌缺血、改善心脏舒张功能等作用^[10], 同时, 亦能影响患者血液的流变性和血小板聚集等, 从而改善冠心病临床症状及心电图表现^[11,12]。本实验结果证实舒心饮有抑制急性心肌缺血鼠血小板活化的作用, 与临床相符。因此, 我们认为, 补气血扶正可以助行血而祛瘀; 扶正补虚类中药亦是治疗冠心病心肌缺血的一种有效方剂; 益气养阴方舒心饮防治冠心病的作用与其抗血小板活化机制密切相关。

(上接第 1115 页)

的智商。母乳喂养儿发生腹泻、贫血及低血钙症的机会明显减少^[7]。因此, 提倡母乳喂养是预防阳虚质等偏颇体质形成的重要措施。

本研究应用标准化的中医体质量表, 采用横断面现场调查的方法, 对阳虚质的相关影响因素进行了探讨, 结果表明, 疾病因素、性别差异、运动习惯、饮食因素、体型因素是阳虚质的主要相关影响因素。但这方面的研究还是初步的, 尚应进行更大样本的中医体质流行病学调查以做进一步评价。

参考文献

[1] 谢仁明, 王永炎, 谢雁鸣. 亚健康状态的中医认识及其干预

参考文献

- [1] Rauch U, Osende JI, Fuster V, et al. Thrombus formation on atherosclerotic plaques: pathogenesis and clinical consequences. *Ann Intern Med*, 2001, 134(3): 224~238.
- [2] Bani D, Masini E, Bello MG, et al. Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *Am J Pathol*, 1998, 152(5): 1367~1376.
- [3] 黄辉, 吴伟康, 陈建萍, 等. 新型缺血再灌注模式诱导小鼠细胞凋亡. *中国心血管杂志*, 1999, 4(3): 159~161.
- [4] Hamburger SA, McEver RP. GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils. *Blood*, 1990, 75(3): 550~554.
- [5] Moore KL, Thompson LF. P-selectin(CD₆₂) bind to subpopulations of human memory T lymphocytes and natural killer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 186(1): 173~181.
- [6] Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, et al. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndrome. *N Engl J Med*, 1992, 326(5): 310~318.
- [7] Gurfinkel E, Altman R, Scazzionta A, et al. Importance of thrombosis and thrombolysis in silent ischemia: comparison of patients with acute myocardial infarction and unstable angina. *Br Heart J*, 1994, 71(2): 151~155.
- [8] Meade TW, Vickers MV, Thompson SG, et al. Epidemiological characteristics of platelet aggregability. *Br Med J*, 1985, 290(6466): 428~432.
- [9] Emst E. The role of fibrinogen as a cardiovascular risk factor. *Atherosclerosis*, 1993, 100(1): 1~12.
- [10] 陈伟, 何燕, 林钟香, 等. 舒心饮改善冠心病左心室舒张功能障碍的临床研究. *中国中西医结合杂志*, 1995, 15(5): 271~273.
- [11] 何燕, 林钟香, 顾仁樾, 等. 舒心饮治疗 30 例冠心病的临床观察. *上海中医药杂志*, 2001, 35(11): 11~13.
- [12] 何燕, 孙丽华, 沈琳, 等. 舒心饮治疗冠心病心绞痛的随机双盲多中心临床研究. *中国药房*, 2006, 17(24): 1891~1892.

(收稿日期: 2006-08-01; 修回日期: 2007-04-26)

评价. *中国中医基础医学杂志*, 2005, 11(1): 40~41.

- [2] 王琦, 朱燕波, 薛禾生, 等. 中医体质量表的初步编制. *中国临床康复*, 2006, 10(3): 12~14.
- [3] 朱燕波, 王琦, 薛禾生, 等. 中医体质量表性能的初步评价. *中国临床康复*, 2006, 10(3): 15~17.
- [4] 王莉. 男女体质特点及其异同的研究. *中国中医基础医学杂志*, 1998, 4(2): 7~9.
- [5] 王前奔, 王前飞. 倡建“体质药物治疗学”. *中医研究*, 1996, 9(1): 2~5.
- [6] 王琦. 9 种基本中医体质类型的分类及其诊断表述依据. *北京中医药大学学报*, 2005, 28(4): 1~9.
- [7] 李士欣, 张舒遴, 施俊华, 等. 母乳喂养研究进展. *农垦医学*, 1999, 21(3): 215~217.

(收稿日期: 2006-11-02; 修回日期: 2007-04-10)