

大黄、虎杖等中药中，原料易于获得。因此，从何首乌等中药中提取或用化学法合成大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷，对研制和生产抗癌药物具有深远意义。目前对此的相关研究及报道甚少，要加强对这种具有较好防治癌症效果的物质的研究，为进一步开发抗癌新药提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 吴晓青. 何首乌化学成分与药理活性的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 146-147.
- [2] Lv L, Cheng Y, Zheng T, et al. Purification, antioxidant activity and antiglycation of polysaccharides from *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 99: 765-773.
- [3] Han DQ, Zhao J, Xu J, et al. Quality evaluation of *Polygonum multiflorum* in China based on HPLC analysis of hydrophilic bioactive compounds and chemometrics[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 72: 223-230.
- [4] 高淑红, 苏珍枝, 吴士杰, 等. 制首乌化学成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 13.
- [5] 张超, 张瑞晨, 孙震晓. 何首乌生品与炮制品对大鼠肝

脏的毒理学研究[J]. 中药材, 2013, 36(9): 1416-1419.

- [6] Liang ZT, Shi YX, Chen HB, et al. Histochemical analysis of the root tuber of *Polygonum multiflorum* Thunb. (Fam. Polygonaceae) [J]. Microscopy Research and Technique, 2011, 74(6): 488-495.
- [7] Huan Zhang, Chang Li, Sin-Tung Kwok, et al. A Review of the pharmacological effects of the dried root of *Polygonum cuspidatum* (Hu Zhang) and its constituents[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 13.
- [8] Li S, Li SK, Gan RY, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 51: 289-298.
- [9] Liu Y, Deng Q, Mu S, et al. Production of emodin-8-O-β-D-glucopyranoside by biotransformation based on suspended cell culture system of *Catharanthus roseus* [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2010, 9: 18.

(责任编辑: 刘淑婷, 吴凌)

冠脉通片对大鼠血栓形成的保护作用及其机制

王兴华, 李广平, 杨万松, 焦占全, 刘洪梅, 倪燕平

天津医科大学第二医院心脏科, 天津市心血管病离子与分子机能重点实验室, 天津心脏病学研究所, 天津 300211

[摘要] 目的: 探讨冠脉通片对大鼠血栓形成的保护作用及其机制。方法: 将SD大鼠随机分成5组: 模型组(M)、假手术组(S)、冠脉通低剂量组(GL)、冠脉通中剂量组(GM)和冠脉通高剂量组(GH), 体外动脉血栓形成方法构建血栓形成模型并检测各组间血栓湿重的差异, 通过检测凝血时间和凝血相关因子[P-选择素和血管性血友因子(vWF)]的表达情况反应冠脉通片保护大鼠血栓形成的作用机制。结果: GL、GM和GH组与M组大鼠比较, 血栓湿重降低($P < 0.05$), GH组作用最明显, 与此同时血栓抑制率有所增加。M组凝血酶时间有所减少, GL、GM组活化部分凝血活酶时间(APTT)中与M组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 凝血酶原时间(PT)在各组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。P-选择素和vWF-1是血小板聚集及活化的重要因子, 与M组比较, GL、GM组P-选择素和vWF-1水平较低($P < 0.05$)。结论: 冠脉通片可通过影响凝血相关因子的表达对大鼠血栓形成起到保护作用。

[关键词] 急性心肌梗死; 血栓; 冠脉通片; P-选择素; 血管性血友因子(vWF); SD大鼠; 实验研究

[中图分类号] R542.2*2 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415(2015)04-0266-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.04.127

[收稿日期] 2014-11-05

[基金项目] 天津医科大学第二医院课题(y1106)

[作者简介] 王兴华(1982-), 女, 研究实习员, 研究方向: 心肌缺血性疾病。

[通讯作者] 李广平, E-mail: tjcardiol@126.com。

急性冠状动脉血栓常发生于急性冠脉综合征和经皮冠脉介入术后,可由动脉粥样硬化斑块破裂,糜烂诱发,继而诱导血小板的聚集和激活,最终导致心肌梗死和猝死^[1]。抗血小板药物能显著减少冠心病患者的心血管事件,在临床上是治疗和预防急性冠脉综合征(ACS)的基本用药^[2]。冠脉通片方由丹参、红花、枸杞子、何首乌、淫羊藿、石菖蒲、桑寄生、冰片等组成。其有效组分不但具有改善微循环和冠状动脉供血,促进心肌收缩等作用,还可抑制血小板聚集,对缺血性心脏病有很好的预防和治疗作用。为了更好探究冠脉通片对缺血性心脏病的保护作用,本实验建立了动脉血栓形成模型并观察冠脉通片对大鼠凝血时间,血栓抑制率和血小板活化和聚集相关因子P-选择素及血管性血友因子(vWF)的影响,从而探讨其在冠心病抗血栓治疗中可能的保护机制。

1 材料和方法

1.1 动物分组及处理 健康雄性SD大鼠60只,10~12周龄,体重220~250g,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供。许可证编号:SCXK(军)2007-004。将60只大鼠随机分为模型组(M)、假手术组(S)、冠脉通低剂量组(GL)、冠脉通中剂量组(GM)和冠脉通高剂量组(GH)。冠脉通各剂量组分别给予冠脉通片0.55g/kg·d、1.1g/kg·d、2.2g/kg·d, M组和S组灌以等量蒸馏水,连续灌胃,10天后制备动脉血栓模型。术前1h给药1次。大鼠经腹腔注射10%水合氯醛(3mL/kg)麻醉后,固定,分离左侧的颈总动脉和右侧的颈外静脉,在7cm的聚乙烯管中放一根预先称重的4#手术线。将提前准备好的聚乙烯管(充满生理盐水肝素溶液(50U/mL·kg)),一端先插入右颈外静脉,另一端插入左颈总动脉开放血流,即刻开始计时,15min后中断血流,取出手术线称重,减去原线重量即为血栓湿重。计算抑制率,抑制率=(对照组血栓重量-给药组血栓重量)/对照组血栓重量×100%。

1.2 试剂和药品 冠脉通片由天津同仁堂股份有限公司提供,vWF ELISA试剂盒和P-选择素ELISA试剂盒购自R&D。

1.3 对凝血时间的影响 模型成功后,直接心脏取血,放入提前准备好的抗凝管(3.8%枸橼酸钠1:9抗凝)中颠倒混匀数次,确信无凝血,3000×g离心15min,吸取上清供测试用。

1.4 ELISA检测P-选择素和vWF因子 参照试剂盒说明书操作,用酶标仪在450nm波长下测定OD值,计算样品浓度。

1.5 统计学方法 采用SPSS 15.0统计软件进行统计学处理,实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用t检验。

2 实验结果

2.1 各组动脉血栓情况比较 见表1。GL、GM和GH组与M组大鼠比较,血栓湿重降低($P < 0.05$),GH组作用最明显,与此同时血栓抑制率有所增加。

2.2 各组大鼠凝血酶时间比较 见表2。M组凝血酶时间有所减少,GL、GM组活化部分凝血活酶时间(APTT)中与M组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);凝血酶原时间(PT)在各组

间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组动脉血栓情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	血栓湿重(mg)	血栓抑制率(%)
M	8.720 ± 1.057	-
GL	7.411 ± 0.719	15.0128
GM	7.407 ± 0.577	15.0606
GH	7.250 ± 0.327	16.8578

与M组比较,① $P < 0.05$

表2 各组大鼠凝血酶时间比较($\bar{x} \pm s$)

组别	APTT	PT
M	11.50 ± 2.52	11.23 ± 1.60
S	17.12 ± 1.25	14.95 ± 2.13
GL	17.52 ± 2.22 ^①	13.35 ± 1.51
GM	19.10 ± 3.17 ^①	13.53 ± 1.56
GH	14.05 ± 3.32	13.45 ± 1.96

与M组比较,① $P < 0.05$

2.3 各组P-选择素和vWF-1比较 见表3。P-选择素和vWF-1是血小板聚集及活化的重要因子,与M组比较,GL、GM组P-选择素和vWF-1水平较低($P < 0.05$)。

表3 各组P-选择素和vWF-1比较($\bar{x} \pm s$)

组别	P-选择素	vWF-1
M	1.2744 ± 0.2687	2.2541 ± 0.2745
S	0.9864 ± 0.0756	1.8555 ± 0.3166
GL	0.9754 ± 0.2172	2.1454 ± 0.2171
GM	0.9623 ± 0.2008	1.9326 ± 0.2229
GH	1.0390 ± 0.2741	1.5760 ± 0.1614

与M组比较,① $P < 0.05$

3 讨论

血栓形成是一个复杂的病理过程,静脉血栓主要是由于血液高凝状态和血流滞缓产生,而动脉血栓主要发生在动脉粥样硬化基础上,由血小板黏附和聚集产生。血小板活化是血栓形成和进展的始发因素,在本病病理形成过程和介入治疗后缺血事件的复发过程中都发挥着重要作用^[3]。如今抗血栓和血小板药在临床应用和心血管领域研究中越来越受到重视,已普遍用于缺血性心脏病的预防及治疗当中。本课题选择的动脉血栓模型引起的血栓形成与血小板黏附、释放、再聚集密切相关^[4]。笔者发现使用冠脉通组凝血时间延长,血栓抑制率增加,推测冠脉通片对血栓形成的影响与血小板的功能密切相关。

P-选择素(P-selectin)由McEver等于1984年发现,作为血小板活化的主要标志物,血小板表面和血中P-选择素增高可以反映血小板活化的程度^[5]。研究发现,当血小板激活时P-选择素表达增加,可降低纤溶酶活性,促进白细胞及血小板与内皮细胞黏附,促进血栓形成,加重心肌缺血缺氧^[6];尤

见于血栓性疾病的早期阶段, 这为动脉粥样硬化、心脑血管性疾病及各种伴有血栓倾向疾病的早期诊断与病情判断提供了有力依据和指标^[7]。vW F 也称凝血因子 相关抗原, 主要有两种功能, 即参与血小板的黏附和聚集及形成 因子 -vW F 复合物。内皮损伤后 vW F 表达增加, 高水平的 vW F 又可介导血小板黏附并诱发血小板聚集和释放反应, 从多个环节激动内源性凝血途径, 进而加速血栓形成并最终导致急性冠脉事件的发生。研究发现 vW F 同时对冠心病发病风险具有预测意义^[8~10]。

冠脉通片主要由丹参、红花、何首乌等成分构成。其中红花主要成分红花黄素可降低 P- 选择素^[11]; 而丹参可作用于多种凝血酶原因子、降低 vW F 浓度来抑制凝血, 并可降低冠心病初发型心绞痛患者 P- 选择素浓度, 抑制血小板积聚, 从而改善心肌缺血缺氧^[12~13]。参考冠脉通组分的相关作用机制, 为了进一步探讨其对抗血栓形成的作用机制, 笔者再次检测了与血小板活化和聚集功能密切相关的这两个因子。结果显示冠脉通片在动脉血栓模型中可同时降低血中 vW F 和 P- 选择素的表达, 从新的方向验证了冠脉通片在急性心肌梗死治疗中可能的机制之一。

本研究显示, 冠脉通片作为治疗心血管疾病传统中药, 可以通过抑制动脉粥样硬化血栓的形成对急性冠脉综合征病人起到治疗和预防的作用。通过对其有效组分的分析相信其对心血管病的预防和治疗作用应该远不止于此, 这将是今后继续研究的方向, 希望进一步为临床的治疗提供更可靠而有效的实验基础。

[参考文献]

- [1] Virmani RI, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(5): 1262-75.
- [2] Ueno H. Gene therapy for acute myocardial infarction [J]. *Nihon Rinsho*, 2001, 59(1): 131-136.
- [3] Gawaz M. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 498-511.
- [4] Umetsu T, Sanai K. Effect of 1-methyl-2-mercapto -5-(3-pyridyl)-imidazole (KC-6141), an anti-aggregating com-

ound, on experimental thrombosis in rats [J]. *Thromb Haemost*, 1978, 39(1): 74-83.

- [5] Conway DS, Pearee LA, Chin BS, et al. Prognostic value of plasma von Willebrand factor and soluble P-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 994 patients with nonvalvular atrial fibrillation [J]. *Circulation*, 2003, 107: 3141-3145.
- [6] Ostingh GJ, Pozgajova M, Ludwig RJ, et al. Diminished thrombus formation and alleviation of myocardial infarction and reperfusion injury through antibody or small molecule mediated inhibition of selectin dependent platelet functions [J]. *Haematologica*, 2007, 92(4): 502-512.
- [7] 赵亚鹏, 金佩佩, 周同, 等. P-选择素及其细胞黏附与血栓形成[J]. *细胞生物学杂志*, 2007, 29: 22-26.
- [8] Jansson JH, Nilsson TIL, Johnson Q. von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death [J]. *Br Heart*, 1991, 66(11): 351-355.
- [9] Nichols TC, Bellinger DA, Reddick RL, et al. Role of von Willebrand factor in Arterial thrombosis [J]. *Circulation*, 1991, 83(SupplIV): 56-64.
- [10] Cortellaro M, Boschetti C, Coffrancesco E, et al. The PLAT Study: hemostatic function in relation to atherothrombotic ischemic events in vascular disease patients: principal results [J]. *Arterioscler Thromb*, 1992, 12(4): 1063-1070.
- [11] 张建初, 杨卫兵, 夏蕾, 等. 红花黄素对大鼠肺动脉内皮细胞 P-选择素及 ICAM-1 表达的影响 [J]. *中国微循环*, 2007, 11(1): 5-8.
- [12] 颜平, 罗心平. 丹参多酚酸盐对血小板功能影响的临床研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2005, 14(16): 2092-2094.
- [13] 成之福, 王毅华, 王家安, 等. 复方丹参注射液对冠心病患者一氧化氮、内皮素 1 的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2006, 26(10): 1275.

(责任编辑: 骆欢欢)