

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2005)10-0948-03

## 芪丹通脉片对内皮细胞抗血栓形成作用的影响

于海鹰, 王宗仁, 马 静, 魏立强 (第四军医大学西京医院中医科, 陕西 西安 710033)

### Effects of QiDanTongMai Tablet on anti-thrombosis function of endothelial cells

YU Hai-Ying, WANG Zong-Ren, MA Jing, WEI Li-Qiang

Department of Traditional Chinese Medicine, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

**【Abstract】** AIM: To study the effects of QiDanTongMai tablet (QDTMT) a compound preparation made up of pure traditional Chinese herbs, on the anti-thrombosis function of endothelial cells in rats with vascular endothelial injury, and to further explore the mechanism of reinforcing qi and activating blood circulation to remove blood stasis. **METHODS:** Forty-eight SD rats were divided randomly into Control, Model, QDTMT high dosage (QDTMT<sub>H</sub>) and moderate dosage (QDTMT<sub>M</sub>), low dosage (QDTMT<sub>L</sub>) and herbesser (Herbesser) groups. The suspension of QDTMT was given to SD rats by gastrotube for 2 weeks and the model of vascular endothelial was established by injecting subcutaneously a high dose of adrenaline solution to the SD rats on the 15th day. The activity of AT-III and vWF and the concentration of 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> and TXB<sub>2</sub> were determined by automatic blood coagulation and radioimmunoassay respectively. **RESULTS:** Compared to those of the model group, the activity of AT-III and the concentration of 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> and the ratio of 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TXB<sub>2</sub> increased. The activity of vWF and the concentration of TXB<sub>2</sub> were lowered significantly in the group of QDTMT<sub>H</sub> and QDTMT<sub>M</sub> and the effects of QDTMT<sub>H</sub> were obviously better than those of QDTMT<sub>M</sub> and Herbesser. **CONCLUSION:** QDTMT can prevent vascular endothelium from injury, increase the anti-thrombosis function and decrease the hemostasis function of endothelial cells, which may in part be responsible for QDTMT in reinforcing qi and activating blood circulation to remove blood stasis.

**【Keywords】** QiDanTongMai tablet; endothelial; thrombosis

**【摘要】** 目的: 研究益气活血化瘀中药复方制剂芪丹通脉

收稿日期 2005-03-02; 修回日期 2005-04-11

作者简介: 于海鹰(1976-)男(汉族), 内蒙古赤峰市人, 硕士生, 导师王宗仁。Tel. (029) 83375347 Email. Yuhaijing@fmmu.edu.cn

片(qidantongmai tablet, QDTMT)对血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VEC)抗血栓形成作用的影响, 进一步探讨益气活血化瘀药物的作用机制。方法: 48只SD大鼠随机分为空白对照组(Control)、模型组(Model)、QDTMT高剂量组(QDTMT<sub>H</sub>)、QDTMT中剂量组(QDTMT<sub>M</sub>)、QDTMT低剂量组(QDTMT<sub>L</sub>)和阳性对照组(Herbesser), 用QDTMT(或生理盐水)给SD大鼠连续ig 14 d, 第15日起注射大剂量肾上腺素, 复制血管内皮细胞损伤模型, 全自动血液凝固法检测抗凝血酶-III(AT-III)和血管性血友病因子(vWF)的活性, 放免法检测6-酮-前列腺素-F<sub>1α</sub>(6-Keto-PGF<sub>1α</sub>)和血栓素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)的含量。结果: 益气活血化瘀中药复方制剂QDTMT能显著降低血管内皮细胞损伤大鼠血浆vWF活性和TXB<sub>2</sub>的水平, 显著升高AT-III活性, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>水平和6-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TXB<sub>2</sub>比值, 与模型组相比有显著差异(P<0.01), 且QDTMT<sub>H</sub>明显优于QDTMT<sub>M</sub>和Herbesser。结论: QDTMT对内皮细胞损伤具有保护作用, 增强血管内皮细胞抗血栓功能和减低止血功能, 这可能是QDTMT益气活血化瘀的作用机制之一。

**【关键词】** 芪丹通脉片; 内皮; 血栓

**【中图分类号】** R541.4 **【文献标识码】** A

### 0 引言

目前研究表明, 血瘀证与血管内皮细胞损伤密切相关<sup>[1]</sup>, 活血化瘀药物对内皮细胞损伤具有保护作用<sup>[2,4]</sup>, 因此我们拟通过观察益气活血化瘀中药复方制剂QDTMT对血管内皮细胞损伤SD大鼠内皮细胞抗血栓形成作用的影响, 进一步探讨QDTMT益气活血化瘀的药理作用机制。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康雄性SD大鼠48只, 体质量(220~240)g, 由第四军医大学动物试验中心提供; QDTMT提取浸膏干粉(1g干粉相当于生药2.86g), 第四军医大学西京医院提供; 活尔心(Herbesser, HB)30mg/片, 天津田边制药有限公司生产; 盐酸肾上腺素(Adrenaline Hydrochloride Injection), 北京市永康药业有限公司生产; TXB<sub>2</sub>放射免疫分析药盒, 由北京北方生物技术研究所提供; 全自动血液分析器(CA7000); 全自动γ放射器免疫计数器(XH-6020)。  
**1.2 方法** SD大鼠48只被随机分成6组, 即空白对照组(Control)、模型组(Model)、QDTMT高剂量组

(QDTMT<sub>H</sub>)、QDTMT 中剂量组(QDTMT<sub>M</sub>)、QDTMT 低剂量组(QDTMT<sub>L</sub>)、阳性对照组(Herbesser),每组 8 只,所有动物在同等条件下 *po* 给药,1 次/d,连续 14 d,各组均正常饮食。空白对照组和模型组给予生理盐水 10 mL/kg,QDTMT<sub>H</sub>、QDTMT<sub>M</sub>、QDTMT<sub>L</sub> 分别给予 QDTMT 浸膏干粉混悬液 3.24,1.08 和 0.36 g/(kg·d),阳性对照组给予 HB 5 mg/kg·d。第 15 日晨参照文献 [5] 用生理盐水将 1 g/L 的盐酸肾上腺素稀释 1.5 倍,于每日 8:00,12:00,16:00 于相同部位 *sc* 5  $\mu$ L/kg,连续 5 d。空白对照组在同一时间、同一部位注射等剂量的生理盐水。各组于造模后次晨收集标本 20 g/L 戊巴比妥钠麻醉,心脏取血 8 mL,0.13 mol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝,3000 r/min 下离心 10 min,分离血浆即为样品,-20℃ 保存,全自动血液凝固法检测 AT-III,vWF 活性,放免法检测 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$  和 TXB<sub>2</sub> 含量,具体按药盒说明书操作。

统计学处理:实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS12.0 软件,方差齐者用单因素方差分析和

LSD 法多重比较,方差不齐者进行 Kruskal-Wallis 检验和 Mann-Whitney 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

各组动物行为、摄食量无显著差异,注射大剂量肾上腺素后,大鼠精神萎靡,懒动、俯卧、四肢肌肉松弛,饮食减少,饮水、排尿增加,毛发失去光泽,实验结束时模型组与其余各组动物相比体质量无显著降低。

与空白对照组相比,模型组和 QDTMT<sub>L</sub> 血浆 AT-III 活性、6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$  含量和 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$ /TXB<sub>2</sub> 比值明显降低,vWF 活性和 TXB<sub>2</sub> 含量明显升高( $P < 0.01$ );与模型组相比,QDTMT<sub>H</sub>、QDTMT<sub>M</sub> 和阳性对照组血浆 AT-III 活性、6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$  含量和 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$ /TXB<sub>2</sub> 比值明显升高,vWF 活性和 TXB<sub>2</sub> 含量明显降低( $P < 0.01$ ,Tab 1),且 QDTMT<sub>H</sub> 明显优于 QDTMT<sub>M</sub> 和 Herbesser。

表 1 QDTMT 对 AT-III 和 vWF 活性、6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$  和 TXB<sub>2</sub> 含量和 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$ /TXB<sub>2</sub> 比值的影响

Tab 1 Effects of QDTMT on changes of activity of AT-III, vWF, the concentration of 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$ , TXB<sub>2</sub> and ratio of 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$ /TXB<sub>2</sub> ( $n = 8 \bar{x} \pm s$ )

Group	6-Keto-PGF <sub>1</sub> $\alpha$ (ng/L)	TXB <sub>2</sub> (ng/L)	ratio of 6-Keto-PGF <sub>1</sub> $\alpha$ /TXB <sub>2</sub>	AT-III (%)	vWF (%)
Control	24.94 $\pm$ 1.36	286.45 $\pm$ 26.14	0.087 $\pm$ 0.004	32.50 $\pm$ 1.88	19.64 $\pm$ 1.34
Model	15.06 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	736.08 $\pm$ 18.65 <sup>b</sup>	0.027 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	<8 <sup>b</sup>	39.60 $\pm$ 1.08 <sup>b</sup>
QDTMT <sub>H</sub>	23.84 $\pm$ 0.36 <sup>d</sup>	341.85 $\pm$ 19.15 <sup>d</sup>	0.070 $\pm$ 0.003 <sup>d</sup>	24.10 $\pm$ 1.48 <sup>d</sup>	22.24 $\pm$ 0.95 <sup>d</sup>
QDTMT <sub>M</sub>	21.96 $\pm$ 1.12 <sup>f</sup>	466.29 $\pm$ 11.50 <sup>f</sup>	0.047 $\pm$ 0.002 <sup>f</sup>	17.60 $\pm$ 1.23 <sup>f</sup>	30.14 $\pm$ 1.44 <sup>f</sup>
QDTMT <sub>L</sub>	16.27 $\pm$ 1.14	735.14 $\pm$ 14.18	0.023 $\pm$ 0.007	<8	38.51 $\pm$ 1.12
Herbesser	20.35 $\pm$ 1.29 <sup>f</sup>	483.71 $\pm$ 19.09 <sup>f</sup>	0.042 $\pm$ 0.003 <sup>f</sup>	16.05 $\pm$ 0.75 <sup>f</sup>	30.91 $\pm$ 1.91 <sup>f</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs control, <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs model, <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs QDTMT<sub>H</sub>; <8: Beyond measure.

## 3 讨论

内皮细胞覆盖在血管内腔表面,不仅仅是血管内外物质交换和主动运输的通透性屏障,而且具有分泌功能,调节血管张力,参与血小板功能调节,血浆促凝因子激活、活化凝血因子的清除及纤溶过程,介导炎症和免疫反应及促进血管修复等作用<sup>[6]</sup>。其中,内皮细胞抗血栓形成作用是指血管内皮细胞的抗血栓功能和止血功能。内皮细胞受损后抗血栓形成作用减弱、消失,以及凝血过程的充分表达,启动了病理血栓形成,参与多种与血管相关的生理、病理过程,因此内皮细胞抗血栓形成作用在血栓栓塞性疾病中的作用备受关注。

已知花生四烯酸在环氧化酶的作用下转变成过氧化物(PGG<sub>2</sub>,PGH<sub>2</sub>),血小板有血栓烷合成酶,可将

其转变为血栓素 A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>);内皮细胞无血栓烷合成酶,因此它只合成前列环素(PGI<sub>2</sub>),但外源性花生四烯酸极少被内皮细胞转变成 PGI<sub>2</sub>,而由血小板花生四烯酸代谢所产生的内过氧化物 PGH<sub>2</sub> 60%~80% 可被内皮细胞合成 PGI<sub>2</sub>,这表明血小板与内皮细胞的花生四烯酸代谢之间存在着一定的动态平衡,PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> 的比值保持在一定的平衡水平,防止血小板在血管表面聚集,形成血栓。TXA<sub>2</sub> 很不稳定,很快转变成稳定的无活性的 TXB<sub>2</sub>,测定 TXB<sub>2</sub> 可反映 TXA<sub>2</sub> 的生成量,是血小板活化的分子标志物,其主要功能是促进血小板聚集和收缩血管;PGI<sub>2</sub> 也极不稳定,迅速转变为稳定而无活性的 6-Keto-PGF<sub>1</sub> $\alpha$ ,可反映血管内皮细胞生成前列环素的情况,是内皮细胞损伤的标志物之一,其功能与 TXB<sub>2</sub> 功能相反,血管内皮细胞的抗凝作用

与 AT-Ⅲ 有关,血管内皮细胞也合成 AT-Ⅲ,它是血浆中最重要生理性抗凝物质,通过与凝血酶等凝血因子形成共价化合物从而灭活凝血因子产生抗凝作用。因此血浆 AT-Ⅲ 的活性、6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 和 TXB<sub>2</sub> 的含量及 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TXB<sub>2</sub> 的比值可衡量内皮细胞的抗血栓功能;内皮细胞损伤时,表现出止血功能与 vWF 密切相关,它是一种大分子糖蛋白,由血管内皮细胞合成,并储存在 Weibel-Palade 小体中,可与血小板膜糖蛋白 IIb/IIIa 等复合物结合,促使血小板黏附在血管内皮下,从而启动血栓形成,是形成血栓的基本条件,也是血管内皮损伤的一个敏感指标。

QDTMT 是根据中医整体观念、辨证论治思想,在传统中医理论气血相关学说的指导下,结合临床实践与现代科学研究创建的以益气活血为主要治则的复方制剂,由黄芪、丹参、当归、红花、桂枝组成,既能补气以治本,又能活血以治标,具有降血液黏度,抑制血小板聚集等作用<sup>[7,8]</sup>。本试验结果表明:该实验动物模型大鼠血浆 vWF 活性, TXB<sub>2</sub> 含量明显升高;AT-Ⅲ 活性 β-Keto-PGF<sub>1α</sub> 含量 β-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TXB<sub>2</sub> 比值明显降低,预防性给予益气活血中药复方制剂 QDTMT 可显著提高血管内皮细胞损伤大鼠血浆 AT-Ⅲ 活性, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 水平和 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TXB<sub>2</sub> 比值,降低血浆 vWF 活性和 TXB<sub>2</sub> 的水平,提示 QDTMT 对内皮细胞损伤具有保护作用,增强血管内皮细胞抗血栓功能和减低止血功能,促进内皮细胞抗血栓形成作用充分发挥,这可能是 QDTMT 益气活血化痰的作用机制之一,同时为临床应用 QDTMT 防治心脑血管缺血性疾病及糖尿病血管并发症等血栓栓塞性疾病提供实验依据。

## 【参考文献】

- [1] 陈云波,王奇.从血管内皮功能改变看血瘀证实质及活血化瘀机理[J].中国中医基础医学杂志,1996,2(1):37-38.  
Chen YB, Wang Q. Study on blood stasis syndrome and the mechanism of reinforcing qi and activating blood circulation to remove blood stasis from vascular endothelial cell function[J]. *Chin J Tradit Chin Basic Med*, 1996, 2(1): 37-38.
- [2] 顾杨洪,张彩英,黄桂秋,等.丹参和丹参素对牛内皮细胞抗凝和纤溶功能的影响[J].上海第二医科大学学报,1990,10(3):208-211.  
Gu YH, Zhang CY, Huang GQ, et al. The influence of radix salviae miltiorrhizae and Danchensu on the anticoagulation and fibrinolysis in bovine endothelial cells[J]. *Acad J Shanghai Second Med Univ*, 1990, 10(3): 208-211.
- [3] 阎维维,康毅.黄芪注射液保护血管内皮细胞的实验研究[J].天津医科大学学报,2002,8(3):320-321.  
Yan WW, Kang Y. Study on the protective effects of a stragale injection on vascular endothelial cells in rats with blood stasis syndrome [J]. *J Tianjing Med Univ* 2002, 8(3): 320-321.
- [4] 李凤文,张力石,刘红,等.水蛭、丹参及其复方对血瘀大鼠血管内皮细胞保护作用的研究[J].中国中药杂志,2001,26(10):703-706.  
Li FW, Zhang LS, Liu H, et al. Study of protective effect of leech, radix salviae miltiorrhizae and its composite recipe on vascular endothelial cells in rats with blood stasis syndrome[J]. *Chin J Tradit Chin Med* 2001, 26(10): 703-706.
- [5] 李雁,周林瑛,姚祖武,等.血管内皮损伤大鼠动物模型的制作[J].福建医科大学学报,2002,36(3):299-301.  
Li Y, Zhou LY, Yao ZW, et al. Establishment of a rat model of vascular endothelial injury[J]. *J Fujian Med Univ*, 2002, 36(3): 299-301.
- [6] 李家增,贾石林,王鸿利,等.血栓病学[M].北京:科学出版社,1998:81-91.
- [7] 王宗仁,马世平,夏天,等.复方中药降粘抗栓片 I 号对急性心肌缺血犬的血液流变学影响[J].第四军医大学学报,1997,18(3):231-234.  
Wang ZR, Ma SP, Xia T, et al. Effect of Jingniankangshuan tablet I on hemorrheology in dogs with the acute myocardial ischemia injury[J]. *J Fourth Mil Med Univ*, 1997, 18(3): 231-234.
- [8] 龙翎,刘莉,王宗仁,等.中药芪丹通脉片对心肌损伤大鼠血小板功能的影响[J].第四军医大学学报,2003,24(5):406-408.  
Long Y, Liu L, Wang ZR, et al. Protective effects of qidatongmai tablet on platelet function in rats with myocardial injury[J]. *J Fourth Mil Med Univ* 2003, 24(5): 406-408.

编辑 甄志强