

三七复方纳米颗粒剂抑制血栓形成作用及机制初探

张君利¹, 贾 乘², 苑 博¹, 汪 洋¹, 程嘉艺^{1*}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 沈阳医学院奉天医院, 辽宁 沈阳 110031)

[摘要] **目的:**研究三七复方纳米颗粒剂抑制血栓形成作用并探讨其作用机制。**方法:**建立电刺激致大鼠血栓模型, 观察三七复方纳米颗粒剂抗血栓作用以及对血液流变学的影响; 建立肾上腺素加冰浴致大鼠血瘀模型, 观察其对血栓素 A₂ (TXA₂) 和前列环素 I₂ (PGI₂) 的影响。**结果:**与对照组比较, 给予三七复方纳米颗粒剂各剂量组以及阿司匹林组均能明显延长电刺激所致动脉血栓的形成时间, 降低血液黏度, 显著升高血瘀模型大鼠血浆中 6-酮-前列环素 F_{1α} (6-Keto-PGF_{1α}) 的含量 ($P < 0.01$) 和 6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ 值 ($P < 0.01$), 降低 TXB₂ 的含量 ($P < 0.05$)。**结论:**三七复方纳米颗粒剂具有抗血栓作用, 其作用机制与降低血液黏度和改变 PGI₂/TXA₂ 比值有着密切的关系。

[关键词] 三七; 血栓; 血液流变; 血栓素 A₂; 前列环素 I₂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0081-03

The Effect and Mechanism of Radix Notoginseng Compound on Inhibition of Thrombosis

ZHANG Jun-li¹, JIA Cheng², YUAN Bo¹, WANG Yang¹, CHENG Jia-yi^{1*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shengyang 110032, China;

2. Fengtian Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang 110031, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect and mechanism of Radix Notoginseng compound on inhibition of thrombosis. **Methods:** The rat thrombosis model was induced by electric stimulation. The influences of Radix Notoginseng Compound on thrombus formation and hemorheological parameters were investigated. The rat model of blood stasis was established by combined application of epinephrine with ice bath. The influences of the compound on thromboxin A₂ and prostaglandin I₂ were observed for the model. **Results:** Compared with the control group, each dose of Radix Notoginseng Compound and aspirin tablet could extend the latency period for thrombus formation, and decrease blood viscosity. The compound could significantly increase the plasma levels of 6-Keto-PGF_{1α} and the ratio of 6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ for the blood stasis rats (both $P < 0.01$). The level of TXB₂ was significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Radix Notoginseng compound has inhibitive effect on thrombosis, the mechanism of action is closely related with decrease in blood viscosity and change in the PGI₂/TXA₂ ratios.

[Key words] Radix Notoginseng; thrombus; hemorheology; TXA₂; PGI₂

[收稿日期] 2009-07-28

[基金项目] 辽宁省自然科学基金项目(20062055)

[通讯作者] *程嘉艺, Tel: (024) 31207194; E-mail: cjq.61@163.com

血栓形成是冠心病,脑卒中,动脉粥样硬化等致残和致死率高的心脑血管疾病的病理学基础,是一种日益威胁人类健康的慢性病理机制,涉及血管,血液,血流诸因素的病变过程,血栓的形成与凝血系统,内皮细胞功能和细胞黏附功能异常等有关。三七复方纳米颗粒剂由三七、琥珀、红参等药组成,是临床上用于防治中风的常用方药。本实验通过研究三七复方纳米颗粒剂对电刺激大鼠动脉血栓的形成时间、血栓长度、血液流变学以及对肾上腺素血瘀模型大鼠血栓素 A_2 (TXA₂) 和前列环素 I_2 (PGI₂) 的影响,研究其抗栓作用,并探讨其机制。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,体重 180 ~ 250 g 雌雄各半,由沈阳医学院实验动物中心提供。动物合格证号:SCXK(辽)2003-0016。

1.2 药物 中药配方颗粒,由广东一方制药有限公司提供,批号:0708001;阿司匹林片,由沈阳延风制药有限公司生产,批号:20081205;复方丹参片,由沈阳神龙药业有限公司生产,批号:20080503;盐酸肾上腺素注射液,由天津金耀氨基酸有限公司生产,批号:0708041。

1.3 仪器 FASCO-3010A 全自动血液流变快测定仪,重庆大学维多生物工程研究所;KDC-40 低速离心机,科大创新股份有限公司中佳分公司;YLS-14A 小动物血栓生成仪,山东省医学科学院研制;全自动 γ 放免计数器 FJ-2008PS,西安核仪器厂。

2 方法

2.1 对动脉血栓形成的影响 健康大鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组,低剂量组,ig 给予三七复方纳米颗粒剂 0.6 生药 $g \cdot kg^{-1}$;中剂量组,ig 给予三七复方纳米颗粒剂 1.2 生药 $g \cdot kg^{-1}$;高剂量组,ig 给予三七复方纳米颗粒剂 2.4 生药 $g \cdot kg^{-1}$;阳性对照组,ig 给予阿司匹林片 0.015 $g \cdot kg^{-1}$;空白对照组和模型组,ig 给予等容量生理盐水。给药时间为 14 d,最后 1 次给药 2 h 后,用 20% 乌拉坦麻醉,将大鼠仰卧位固定,分离右侧颈动脉,用 1 mA 直流电刺激右侧颈动脉,刺激时间为 5 min。采用红外线检测方式,显示血管的阻塞率,根据仪器记录计算血栓形成时间。

2.2 血液流变学测定 腹主动脉采血,肝素钠抗凝,立即在常温下检测,仪器采用 FASCO-3010A 全自动血液流变快测定仪,它是利用锥和板之间形成一

种内摩擦力的原理进行黏度测定的,切变速率为高切 200 s^{-1} ,中切 50 s^{-1} ,低切 1 s^{-1} 。

2.3 对血瘀模型大鼠血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 水平的影响^[1] 健康大鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,给药组分别 ig 给予三七复方纳米颗粒剂 1.2 生药 $g \cdot kg^{-1}$ 和 2.4 生药 $g \cdot kg^{-1}$;阳性对照组,ig 给予复方丹参片 0.43 $g \cdot kg^{-1}$,空白对照组和模型组,ig 给予等容量的生理盐水;给药时间为 14 d,除正常对照组外,其余各组于给药后第 13 d,sc,1% 肾上腺素 0.08 mg/100 g 体重,共 2 次,间隔 4 h,于第 1 次注射肾上腺素后 2 h,将大鼠置 4 $^{\circ}C$ 冰水中游泳 5 min,取出后擦干动物毛发的水,于第 14 d,ig,2 h 后,用 20% 乌拉坦麻醉,腹主动脉采血,用 EDTANA 抗凝,4 $^{\circ}C$,3 500 $r \cdot min^{-1}$ 离心 15 min 分离血浆,置 -30 $^{\circ}C$ 冰箱保存,按照说明书采用放免法测定 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1 α} 含量(放免试剂盒由北京北方生物技术研究所提供,批号:20090320)。

3 结果

3.1 对血栓形成时间和长度的影响 由表 1 可见,给予三七复方纳米颗粒剂各剂量组及阿司匹林组均能明显延长电刺激所致动脉血栓的形成时间($P < 0.05$),其中阿司匹林组最显著($P < 0.01$)。

表 1 三七复方纳米颗粒剂对电刺激致血栓形成的时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	血栓形成时间(s)
模型组	—	77.11 \pm 27.11
阿司匹林组	0.015	160.40 \pm 72.18 ²⁾
三七复方组	0.6	124.44 \pm 54.53 ¹⁾
	1.2	117.60 \pm 37.20 ¹⁾
	2.4	155.50 \pm 72.18 ¹⁾

注:与模型组相比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

3.2 对血液流变学指标的影响 从表 2 可见,给予三七复方纳米颗粒剂各剂量组以及阿司匹林组均能明显降低红细胞压积($P < 0.05$),其中三七复方高剂量组效果最显著($P < 0.01$);阿司匹林组能明显降低红细胞电泳时间和全血黏度($P < 0.05$),三七复方纳米颗粒剂各剂量组能显著降低细胞电泳时间和全血黏度($P < 0.01$)。

3.3 对血瘀模型大鼠血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 水平的影响 从表 3 可见,复方丹参组能显著升高血浆中的 6-Keto-PGF_{1 α} 含量($P < 0.01$),对 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1 α} /TXB₂ 无显著影响;三七复方纳米颗粒剂 2.4

表 2 三七复方纳米颗粒剂对电刺激致栓大鼠血液流变学影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g · kg ⁻¹)	红细胞压积 (HCT)%	全血黏度 (mPa · s)			红细胞 电泳时间 (s)
			200 s ⁻¹	50 s ⁻¹	1 s ⁻¹	
空白对照组	—	53.00 ± 3.46 ¹⁾	6.76 ± 0.645 ²⁾	8.04 ± 0.73 ²⁾	15.81 ± 0.98 ²⁾	25.34 ± 2.41 ²⁾
模型组	—	60.85 ± 4.74	11.05 ± 2.14	12.70 ± 2.23	21.44 ± 2.71	41.42 ± 8.04
阿司匹林组	0.015	55.13 ± 4.42 ¹⁾	7.58 ± 2.40 ¹⁾	9.00 ± 2.76 ¹⁾	17.41 ± 4.22 ¹⁾	28.42 ± 8.98 ¹⁾
三七复方组	0.6	54.89 ± 4.99 ¹⁾	7.03 ± 1.11 ²⁾	8.34 ± 1.22 ²⁾	16.20 ± 1.40 ²⁾	26.35 ± 4.17 ²⁾
	1.2	54.15 ± 4.38 ¹⁾	6.75 ± 1.15 ²⁾	8.02 ± 1.27 ²⁾	15.78 ± 1.68 ²⁾	23.69 ± 4.28 ²⁾
	2.4	49.25 ± 6.14 ²⁾	6.36 ± 1.57 ²⁾	7.64 ± 1.81 ²⁾	15.91 ± 3.16 ²⁾	23.84 ± 5.88 ²⁾

生药 g · kg⁻¹ 组能显著升高血浆中 6-Keto-PGF_{1α} 的含量 ($P < 0.01$), 三七复方纳米颗粒剂 1.2 生药 g · kg⁻¹ 组能升高血浆中 6-Keto-PGF_{1α} 的含量 ($P < 0.05$), 三七复方纳米颗粒剂各组均能显著升高 6-Keto-PGF_{1α}/TXB₂ 值 ($P < 0.01$), 显著降低 TXB₂ 的含量 ($P < 0.05$)。

表 3 三七复方纳米颗粒剂对血瘀模型大鼠
血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g · kg ⁻¹)	6-Keto-PGF _{1α} (pg · mL ⁻¹)	TXB ₂ (pg · mL ⁻¹)	6-Keto-PGF _{1α} / TXB ₂
空白对照组	-	171.53 ± 61.18 ¹⁾	71.87 ± 36.80 ¹⁾	2.70 ± 1.14 ²⁾
模型组	-	96.22 ± 27.68	214.26 ± 107.92	0.47 ± 0.15
复方丹参组	0.43	133.80 ± 18.63 ²⁾	197.91 ± 53.97	0.64 ± 0.15
三七复方组	1.2	137.93 ± 36.47 ¹⁾	93.03 ± 26.17 ¹⁾	1.74 ± 1.20 ¹⁾
	2.4	160.82 ± 41.29 ²⁾	79.65 ± 31.97 ¹⁾	2.16 ± 0.55 ²⁾

4 讨论

电刺激大鼠颈动脉造成内皮细胞损伤, 其正常的抗血栓和促纤溶作用被削弱, 在炎症、血管内皮损伤等条件下, 会引起 ADP 的大量释放, ADP 能促进血小板聚集和血栓形成。血液黏度是衡量血液流动性的一项综合指标, 在血液循环中又是血液阻力的重要决定因素之一。血液黏度的增高会引起血流变慢, 血流变慢又将促使血栓的发生, 血小板聚集的增加, 也将促使血栓形成^[1~3]。在高切变率和高红细胞压积时, 红细胞可促使血栓形成, 红细胞增多是血栓形成的部分原因, 是由于血液黏度增高, 导致血流减慢, 甚至瘀滞, 红细胞通过释放 ADP 激活血小板^[4], 引起血栓的开始和发展。三七复方纳米颗粒剂能够显著降低电刺激大鼠颈动脉模型红细胞压积, 延长血栓形成时间, 提示其可能是通过降低红细胞压积, 减少 ADP 释放, 抑制血小板聚集, 从而达到抗血栓作用。

TXA₂ 和 PGI₂ 是血小板花生四烯酸的代谢产

物, 是迄今为止发现的调控血小板功能最强的一对内源性物质^[5], 寒冷应激时垂体-肾上腺髓质系统兴奋, 血管收缩, 血流缓慢, 血液黏度增高, 导致组织缺氧, 血管内皮损伤, 血小板黏附于内皮下胶原, 进而释放 TXA₂, 强烈地促进血小板聚集, 在血液中迅速代谢为无活性的 TXB₂^[6]。PGI₂ 能扩张血管并激活血小板膜上腺苷酸环化酶, 使血小板内 cAMP 浓度增加, 钙离子内流减少, 有很强的抑制血小板聚集作用^[7], 在血液中很快地转变成无活性的 6-Keto-PGF_{1α}。三七复方纳米颗粒剂能够显著降低血浆中 TXA₂ 含量, 增加 PGI₂ 含量, 提示其可能是通过改变血小板的花生四烯酸代谢途径, 抑制血小板聚集, 从而达到抗血栓作用。

综上所述, 三七复方的抗血栓作用与其降低血液黏度和调节花生四烯酸代谢、调节血浆 PGI₂/TXA₂ 比值有密切关系。

[参考文献]

- [1] 王振义, 李家增, 阮长耿. 血栓与止血基础理论与临床 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1995: 618.
- [2] 刘涛, 卞慧敏, 张蕊, 等. 改良三甲散活血化瘀作用实验研究 [J]. 实用中医药杂志, 2003, 19(10): 508.
- [3] 邱灿华, 陈健文, 蓝秀健, 等. 赤芍总苷抗血栓的研究 [J]. Journal of Tropical Medicine, 2007, 11(7): 1076.
- [4] Turitto VT, Weiss HJ. Red blood cells; their dual role in thrombus formation [J]. Science, 1980, 207: 541.
- [5] 陈修, 陈维州, 曾贵云. 心血管药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 93.
- [6] 肖文, 李仓霞, 张守信, 等. 寒冷应激对大鼠血浆血栓素 B₂ 和 6-酮-前列腺素 F_{1α} 含量的改变 [J]. 西部医学, 2008, 20(4): 704.
- [7] Haslam RJ. Cyclic nucleotides in platelet function [J]. Thromb Haemost, 1978, 40: 232.