

微米大黄炭对大鼠血小板功能和纤溶活性的影响

时昭红, 张书, 郝建军, 王日权

时昭红, 张书, 郝建军, 武汉市第一医院消化内科 湖北省武汉市 430022

王日权, 湖北中医学院中医系 湖北省武汉市 430061

作者贡献分布: 时昭红与张书对此文所作贡献均等; 此课题由时昭红, 张书, 郝建军及王日权设计; 研究过程由时昭红, 张书及王日权操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张书, 王日权提供; 数据分析由张书, 王日权完成; 本论文写作由时昭红, 张书, 郝建军及王日权完成。

通讯作者: 时昭红, 430022, 湖北省武汉市中山大道215号, 武汉市第一医院消化内科。 zhaohshi@sohu.com

电话: 027-85855908-428

收稿日期: 2007-08-20 修回日期: 2007-11-23

Effects of micron rhubarb charcoal on the platelet function and fibrinolytic activity in rats

Zhao-Hong Shi, Shu Zhang, Jian-Jun Hao, Ri-Quan Wang

Zhao-Hong Shi, Shu Zhang, Jian-Jun Hao, Department of Gastroenterology, Wuhan the First Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Ri-Quan Wang, Hubei Provincial Traditional Chinese Medicine College, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Correspondence to: Zhao-Hong Shi, Department of Gastroenterology, Wuhan the First Hospital, 215 Zhongshan Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. zhaohshi@sohu.com

Received: 2007-08-20 Revised: 2007-11-23

Abstract

AIM: To study the effects of micron rhubarb charcoal on platelet function and fibrinolytic activity in rats.

METHODS: SD rats were divided into control group, Yunan Baiyao group [0.9 g/(100 g·d)] and high [0.8 g/(100 g·d)], normal [0.4 g/(100 g·d)] and low [0.2 g/(100 g·d)] micron rhubarb charcoal dosage groups (ig for six days). The effects of micron rhubarb charcoal on platelet aggregation, TXB₂, 6-keto-PGF_{1α} and the activity of tissue fibrinolytic activating factor (t-PA) and its inhibitors (PAI-1) in SD rats were studied.

RESULTS: Compared with normal rats treated with Yunan Baiyao, the platelet aggregation and TXB₂ level were increased while the 6-keto-PGF_{1α} level was decreased in rats treated with

micron rhubarb charcoal ($P<0.05$), suggesting that high micron rhubarb charcoal dosage had a better effect than Yunan Baiyao on platelet function and fibrinolytic activity in rats ($64.19\% \pm 8.79\%$ vs $56.82\% \pm 4.78\%$, 273.35 ± 24.86 ng/L vs 238.35 ± 47.30 ng/L, 15.21 ± 2.71 μg/L vs 13.12 ± 3.09 μg/L, $P<0.05$). However, micron rhubarb charcoal had no effect on the activity of t-PA and its inhibitor PAI.

CONCLUSION: Micron rhubarb charcoal regulates platelet aggregation by decreasing the level of TXB₂ and 6-Keto-PGF_{1α} and its effects on hemostasis are better than Yunan Baiyao.

Key Words: Micron rhubarb charcoal; Platelet aggregation; TXB₂; 6-keto-PGF_{1α}; Fibrinolytic activity; ELISA

Shi ZH, Zhang S, Hao JJ, Wang RQ. Effects of micron rhubarb charcoal on the platelet function and fibrinolytic activity in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(3): 311-313

摘要

目的: 研究微米大黄炭对大鼠血小板功能和纤溶活性的影响。

方法: 以SD大鼠为研究对象, 将其分为微米大黄炭大[0.8 g/(100 g·d)]、中[0.4 g/(100 g·d)]、小剂量组[0.2 g/(100 g·d)], 阳性对照组云南白药[0.9 g/(100 g·d)]和空白对照组5组, 给药6 d, 测定大鼠血小板聚集性, 血栓素B₂(TXB₂)和6-酮前列腺素F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})的含量, 并测定大鼠组织型纤溶酶原激活物(t-PA)及其抑制剂(PAI-1)活性。

结果: 微米大黄炭能够明显提高血小板聚集性和TXB₂水平, 而下调6-keto-PGF_{1α}水平, 较空白对照组有统计学意义, 而微米大黄炭大剂量组作用优于云南白药($64.19\% \pm 8.79\%$ vs $56.82\% \pm 4.78\%$, 273.35 ± 24.86 ng/L vs 238.35 ± 47.30 ng/L, 15.21 ± 2.71 μg/L vs 13.12 ± 3.09 μg/L, $P<0.05$); 微米大黄炭各剂量组对t-PA和PAI-1活性无明显影响。

■背景资料

上消化道出血是临床常见病和多发病, 同时也是内科急重症之一。发病率成年人中大约为1/1000, 占内科住院患者数的2.43%, 其死亡率约为8%-14%, 而由消化性溃疡引起的出血占40%-50%, 因此研究一种行之有效的止血方法、止血药物是治疗消化性溃疡出血患者的迫切需要。

■研发前沿

戴冬秋, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

■研发前沿

目前西药治疗消化性溃疡出血已经发展到一个新的水平,各种新的药物和方法不断出现,传统的内科静脉给药疗效差、止血慢、费用高。近年来,临床和实验研究表明,中医药对消化性溃疡出血等疾病的治疗具有很大潜力。

结论:微米大黄炭可能通过影响TXB₂和6-keto-PGF_{1α}的含量来实现对血小板活化作用的调节。

关键词:微米大黄炭;血小板聚集率;血栓素B₂;6-酮前列腺素F_{1α};纤溶活性;酶联免疫吸附双抗体夹心法

时昭红, 张书, 郝建军, 王曰权, 微米大黄炭对大鼠血小板功能和纤溶活性的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16(3): 311-313
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/311.asp>

0 引言

微米大黄炭是采用现代微米技术与中医炒炭止血理论相结合研制而成的新型中药制剂,我院临床运用于治疗消化性溃疡出血,疗效显著。本文着重探讨其止血作用机制,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠50只,雌雄各半,体质量200-250 g,由同济医科大学动物中心提供,微米大黄炭由武汉市中西医结合医院制剂室制备,云南白药由云南白药集团股份有限公司生产,碘^[125I]-6-酮前列腺素F_{1α}(6-keto-PGF_{1α})放射免疫分析药盒和碘^[125I]-血栓素B₂(TXB₂)放射免疫分析药盒为北京科美东雅生物技术有限公司产品, LBY-NJ2血液凝聚仪为北京普利生公司生产, MK3型Thermo酶标仪为上海热电仪器有限公司生产, DFM-96型多管放射免疫计数器为合肥众成机电技术公司生产,大鼠组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)、纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1) ELISA试剂盒为大连泛邦化工有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 分组及给药: 50只大鼠随机分为微米大黄炭小、中、大剂量组,阳性对照组和空白对照组5组,每组10只。ig给药,1次/d。微米大黄炭组剂量分别为0.2 g/(100 g·d)、0.4 g/(100 g·d)、0.8 g/(100 g·d)的剂量灌服,阳性对照组给予云南白药,剂量为0.9 g/(100 g·d) (以生药量计,为临床剂量的20倍),空白对照组给予等量生理盐水。连续给药6 d,1次/d。

1.2.2 血小板聚集功能测定: 末次给药30 min后, ip 30 g/L戊巴比妥钠0.01 mL/g麻醉,背位固定,心脏穿刺取血1.8 mL。按说明书要求^[1],分离富血小板血浆(PRP)和乏血小板血浆(PPP),分别置于比色杯中,调整好透光度后,将诱导剂ADP 2 μmol(1 nmol/L)加入PRP中,记录浊度改变曲线,

记录其最大聚集率(%)。

1.2.3 TXB₂和6-keto-PGF_{1α}的测定: 末次给药30 min后,按0.02 mL/kg体质量腹腔内注射20 g/L戊巴比妥钠麻醉,心脏穿刺取血2 mL,用消炎痛EDTANA2抗凝备检,以3000 r/min离心10 min,分离血浆,严格按试剂盒说明书步骤操作,用放射免疫法测TXB₂和6-keto-PGF_{1α}的含量。

1.2.4 t-PA及PAI-1活性测定: 末次给药后1 h, ip 30 g/L戊巴比妥钠0.01 mL/g麻醉,背位固定,心脏穿刺取血2 mL,用EDTANA2抗凝备检,3500 r/min离心15 min,分离血浆,用酶联免疫吸附双抗体夹心法(ELISA法)测定t-PA和PAI-1水平。

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件对数据进行方差分析(*F*检验;*q*检验),实验数据以mean ± SD表示。

2 结果

2.1 各组大鼠血小板聚集率 与空白对照组比较,用药各组均明显提高血小板聚集性(*P*<0.05),其中微米大黄炭大、中剂量组作用有显著统计学差异(*P*<0.01);与云南白药组相比,微米大黄炭大剂量组提高血小板聚集性有统计学意义(*P*<0.05)(表1)。

2.2 各组大鼠TXB₂和6-keto-PGF_{1α}水平 微米大黄炭大、中、小剂量组均能明显提高大鼠TXB₂的含量,与空白对照组比较有统计学差异(*P*<0.05),其中微米大黄炭大剂量组有显著统计学差异(*P*<0.01);与云南白药组比较,微米大黄炭大剂量组作用更强(*P*<0.05)。实验各用药组均能降低大鼠6-keto-PGF_{1α}的含量,与空白对照组比较有统计学差异(*P*<0.05),其中微米大黄炭大、中剂量组有显著统计学差异(*P*<0.01);与云南白药组比较,微米大黄炭大剂量组有显著性差异(*P*>0.05)(表1)。

2.3 各组大鼠t-PA和PAI-1的活性(μg/L) 云南白药组能降低大鼠组织纤溶酶原激活物(t-PA)的活性(*P*<0.05),提高PAI-1的活性(*P*<0.05);而微米大黄炭各组对t-PA及PAI-1含量变化无影响(表1)。

3 讨论

大黄止血最早记载于汉代张仲景《伤寒论》,其中“血自下,下者愈”的精辟见解,为大黄止血创立了理论基础。大黄的药理学研究发现^[2-4],大黄能促进血小板生成、黏附和聚集,缩短凝血时间,降低毛细血管通透性等。生大黄^[5]苦寒泻下,久服易伤脾胃。根据中药“烧炭存性”

■创新盘点

微米大黄炭是采用现代微米技术与中医炒炭止血理论相结合研制而成的新型中药制剂,该药将大黄炭制成微米大小的颗粒制剂,使其在保存原有药性的同时,最大限度的提高了药物的生物利用度,而将大黄制成大黄炭,使其泻下作用减弱,而止血作用增强。

表 1 各组大鼠血小板聚集率, TXB₂和6-keto-PGF_{1α}(pg/mL) 水平以及t-PA和PAI-1的活性(mean ± SD, n = 10)

	最大聚集率(%)	TXB ₂ (ng/L)	6-keto-PGF _{1α} (ng/L)	t-PA (μg/L)	PAI-1 (μg/L)
空白对照组	49.68 ± 4.75	199.87 ± 13.17	334.91 ± 37.36	15.43 ± 1.24	5.61 ± 0.94
云南白药组	56.82 ± 4.78 ^a	238.35 ± 47.30 ^a	300.03 ± 32.54 ^a	13.12 ± 3.09 ^a	6.94 ± 1.60 ^a
微米大黄炭(小)	58.96 ± 5.76 ^a	238.90 ± 30.92 ^a	291.06 ± 35.97 ^a	15.55 ± 2.72	5.41 ± 1.73
微米大黄炭(中)	62.13 ± 7.36 ^b	243.20 ± 37.36 ^a	279.75 ± 47.69 ^b	15.54 ± 2.08	5.49 ± 1.44
微米大黄炭(大)	64.19 ± 8.79 ^{bc}	273.35 ± 24.86 ^{bc}	262.52 ± 37.21 ^{bc}	15.21 ± 2.71	5.80 ± 1.82

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 空白对照组; ^cP<0.05 vs 云南白药组.

的原理”^[6-8], 将大黄制成大黄炭, 使其泻下作用减弱, 而止血作用增强. 我们采用现代中药制备技术制成微米大黄炭颗粒, 是在保持原有药物特性的基础上, 又最大限度的提高药物的吸收和生物利用度, 同时又缩短了药物的起效时间.

正常止血与凝血机制包括血管壁、血小板和凝血因子等多方面的作用, 而血小板的黏附、聚集作用在止血初期具有重要意义^[9]. TXA₂是目前已发现的最强的缩血管物质与血小板聚集剂之一^[10]. PGI₂则是较强的血小板功能的抑制剂, 具有抑制血小板的黏附、聚集和释放反应, 抑制血小板的促凝活性等作用^[11]. PGI₂和TXA₂之间的动态平衡是维持正常止血功能的基础, 血小板与血管壁接触时被激活, 合成和释放TXA₂并促进血小板聚集, 而血管壁利用自身或外源性的花生四稀酸合成PGI₂. 由于TXA₂和PGI₂的半衰期很短, 一般将TXA₂和PGI₂稳定的代谢产物TXB₂和6-keto-PGF_{1α}作为判断其浓度的指标^[12].

在纤溶系统中, 产生于血管内皮细胞的t-PA及其PAI-1发挥重要作用^[13]. t-PA能选择性地激活纤溶酶原形成纤溶酶, 继而催化纤维蛋白水解. PAI-1是t-PA活性主要的生理性抑制剂, PAI-1能快速与t-PA结合, 形成1:1复合物而使t-PA失活. t-PA与PAI-1在纤溶系统激活过程中起着相互拮抗的作用^[14].

实验研究表明, 微米大黄炭能明显提高ADP诱导的大鼠血小板聚集性, 且大剂量组作用最为明显, 效果优于云南白药. 通过对TXB₂和6-keto-PGF_{1α}含量的检测证实, 微米大黄炭大剂量组能明显提高大鼠TXB₂的含量同时下调6-keto-PGF_{1α}的含量, 且调节作用优于云南白药, 说明微米大黄炭活化血小板的作用优于云南白

药. 在对t-PA及PAI-1活性的检测中发现, 微米大黄炭组对大鼠t-PA及PAI-1活性无影响, 提示微米大黄炭的止血作用机制与纤溶活性无关. 因此, 我们认为微米大黄炭可能是通过对TXB₂、6-keto-PGF_{1α}含量的影响来实现对血小板活化作用的调节, 血小板活化后增强血小板的聚集功能, 起到止血作用.

4 参考文献

- Meduri G, Bausero P, Perrot-Applanat M. Expression of vascular endothelial growth factor receptors in the human endometrium: modulation during the menstrual cycle. *Biol Reprod* 2000; 62: 439-447
- 段景文, 彭建国. 大黄止血合剂治疗急性上消化道出血64例. *中国中医急症* 2005; 9: 895-896
- 焦东海, 苏雪生, 沈学敏, 王翹楚. 单味大黄治疗急性胰腺炎临床与基础研究报告. *新消化病杂志* 1995; 3: 5-7
- 柳崇典, 薛芳芳, 王福玲, 张春香, 朱高华. 单味大黄汤治疗上消化道出血86例. *新消化病杂志* 1995; 3: 59-60
- 雷载权, 陈松育, 高学敏. 中药学. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 98
- 马规划. 中药制炭止血理论的现代认识. *中医研究* 2004; 17: 15-18
- 钟凌云, 龚千锋, 张的风. 中药炒炭的炮制机理. *时珍国医国药* 2002; 13: 19
- 王永泉, 于冰露. 中药制炭品作用原理浅析. *实用中医药杂志* 2001; 17: 46
- 王振义. 止血与血栓基础理论与临床. 第2版. 上海科学技术出版社, 1996: 104
- 庞爱明, 阮长耿. 绿茶的主要成分表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对血小板功能影响的研究. *中国血液流变学杂志* 2004; 14: 37-39
- 刘耀武, 马腾飞, 蒋新颖, 谷淑玲. 盐酸戊乙奎醚对高黏血症大鼠微循环和血液流变性的影响. *中国微循环* 2006; 10: 415-419
- 杨月艳. 老年上消化道出血患者PGI₂及TXA₂检测及其临床意义. *现代中西医结合杂志* 2003; 12: 1483-1484
- 张晓平, 柳春. TNF-α、t-PA/PAI-1在2型糖尿病血管并发症中的意义. *辽宁医学杂志* 2006; 20: 13-14
- 韩纪举, 魏然, 陈彬, 任道凌, 杨明峰, 夏作理. 血液t-PA和PAI-1水平及活性与血液流变学指标的相关性分析. *中国血液流变学杂志* 2004; 14: 160-164

■应用要点

大黄在我国分布广泛, 且炒炭工艺成熟, 将其制成微米大小的颗粒制剂, 使其在保存原有药性的同时, 最大限度的提高药物的生物利用度. 如能有效开发利用, 不仅可以改善目前消化性溃疡出血患者的生存质量, 更减轻患者的家庭负担, 具有较高的实用价值.

■同行评价

本文选题较好, 研究方法与技术可行, 结果可信, 为药物的临床应用提供了理论依据.

编辑 李军亮 电编 李军亮