

丹七胶囊对健康人血小板黏附、活化、聚集功能的影响*

凌莉琴¹, 廖娟², 张崇唯², 牛倩², 江虹², 周静^{2△}

1. 四川大学华西临床医学院(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 实验医学科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨中药丹七胶囊对健康人血小板功能的影响,为该中药的进一步开发和利用提供依据。**方法** 16名健康志愿者随机均分为低剂量和高剂量(4粒/次和6粒/次,3次/日)两组,连续口服丹七胶囊2周,于服药前1周、服药后1周、2周三个时间点采集空腹静脉血,检测血常规、凝血常规、肝肾功指标、血浆游离P-选择素和血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)以及血小板最大聚集率(maximum aggregation, MA)。**结果** 服用丹七胶囊后,两个剂量组的血常规、凝血常规、肝肾功指标和血浆vWF水平,与服药前相比差异均无统计学意义($P>0.05$),而两个剂量组的血浆游离P-选择素和血小板MA出现下降,与服药前相比,差异均有统计学意义($P<0.05$);服药2周与服药1周相比,血浆游离P-选择素和血小板MA差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 口服丹七胶囊可抑制血小板活化,降低血小板聚集功能,对正常受试者凝血、肝肾功能和vWF水平无明显影响。

【关键词】 丹七胶囊 血小板功能 P-选择素 vWF

Effects of Danqi Capsule on Platelet Function in Healthy People LING Li-qin¹, LIAO Juan², ZHANG Chong-wei², NIU Qian², JIANG Hong², ZHOU Jing^{2△}. 1. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: zhoujinghuaxi@163.com

【Abstract】 Objective To study the effects of Danqi Capsule on platelet function in healthy people. **Methods** Sixteen healthy volunteer were divided into low dose (4 capsules/time, 3 times/d) and high dose group (6 capsules/time, 3 times/d), and received Danqi Capsule by orally administration for 2 weeks. The venous blood were collect at 3 time points; one week before taking Danqi Capsule (control), one week after taking Danqi Capsule (1 week), two week after taking Danqi Capsule (2 weeks). Blood samples were used for the measurements of conventional coagulation examination, complete blood count, liver and kidney function test, platelet aggregation test, the plasma levels of P-selectin and von Willebrand factor (vWF), and maximum aggregation (MA). **Results** In both dosage group, Danqi capsule (1 week/2 weeks) administration showed no difference in conventional coagulation examination, complete blood count, liver and kidney function test, or the plasma level of vWF ($P>0.05$), but showed difference (decreased) in platelet aggregation test and the plasma level of P-selectin (vs. control, $P<0.05$). **Conclusion** Danqi Capsule inhibits platelet activation and platelet aggregation, but not affects the plasma level of vWF, the coagulation function or the hepatorenal function in normal subjects.

【Key words】 Danqi Capsule Platelet function P-selectin vWF

在血栓及动脉粥样硬化的形成过程中,血小板黏附、活化、聚集发挥着重要作用^[1]。丹七胶囊由何首乌、丹参、三七粉组成,具有防治血栓、调节血脂、防止动脉硬化、改善周围血管病变的作用,临床上主要用于心血管疾病的预防和治疗^[2]。已有研究表明丹七能抑制动物血小板的聚集功能^[3],本实验探讨丹七胶囊对健康人血小板黏附、活化、聚集功能的影响,为该药的临床应用提供药理学实验依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取16例健康志愿者,20~28岁,排除严重心律失常和肝、肾、血液系统疾病患者。

1.2 给药方式

将健康志愿者随机分为低、高2个剂量组,两组志愿者性别、年龄等资料差异无统计学意义($P>0.05$)。低剂量组受试者给予口服丹七胶囊4粒/次,3次/d;高剂量组受试者给予口服丹七胶囊6

* 国家自然科学基金(No. 81171651 和 No. 81371878)资助

△ 通信作者, E-mail: zhoujinghuaxi@163.com

粒/次,3 次/d。连续服用 2 周。

1.3 检测指标及方法

分别于服药前 1 周、服药后 1 周、2 周三个时间点采集受试者空腹静脉血标本,采用 Sysmex XE-5000 全自动血液细胞分析仪检测血常规,采用 Sysmex CS-5100 全自动血凝分析仪检测凝血常规,采用 Roche Cobas 8000 全自动生化分析仪检测肝肾功 能指标,应用 Human P-Selectin ELISA Kit(武汉博士德生物工程有限公司)ELISA 法检测血浆游离 P-选择素,应用 Von Willebrand Factor Human ELISA Kit (Abcam 香港有限公司)检测血管性假血友病因子(von Willebrand factor,vWF)水平,采用 Chrono-log 700 血小板聚集分析仪检测由二磷酸腺苷(ADP,购买于 Hyphen Biomed 公司)诱导的血小板聚集功能,计算血小板最大聚集率(MA)。

1.4 统计学方法

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较用单

因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 用药前后血常规、凝血常规、肝肾功能等检查指标的比较

见表 1。服用丹七胶囊(1 周、2 周)后,低剂量组和高剂量组的血常规、凝血常规和肝肾功能指标,与服药前相比差异均无统计学意义($P>0.05$);服用丹七胶囊后 1 周与 2 周后相比,差异也无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 用药前后血浆 vWF、游离 P-选择素及血小板 MA 比较

见表 2。服用丹七胶囊(1 周、2 周)后,低剂量组和高剂量组血浆 vWF 水平,与服药前相比差异均无统计学意义($P>0.05$);服用丹七胶囊 1 周后与 2 周后相比,差异也无统计学意义($P>0.05$)。而服用丹七胶囊(1 周、2 周)后,低剂量组、高剂量组

表 1 低、高剂量组服药前后常规检查结果比较($\bar{x} \pm s$)

Item	Low-dose group (n=8)			High-dose group (n=8)		
	-1 week	1 week	2 weeks	-1 week	1 week	2 weeks
RBC/($10^{12} \cdot L^{-1}$)	4.7±0.6	4.8±0.6	4.7±0.6	4.7±0.5	4.8±0.5	4.6±0.4
HGB/(g/L)	142.5±18.3	145.3±18.3	142.6±12.3	142.3±13.9	144.9±15.0	137.6±12.2
WBC/($10^9 \cdot L^{-1}$)	5.1±1.2	5.7±0.7	5.3±0.7	5.7±1.1	5.5±0.6	5.5±1.0
PLT/($10^9 \cdot L^{-1}$)	224.1±44.2	243.4±52.4	226.5±46.1	227.5±37.4	224.1±41.0	233.6±46.6
PT/s	11.1±0.5	11.4±0.5	11.4±0.3	11.7±0.6	11.7±0.9	11.4±0.7
APTT/s	27.4±2.6	27.5±1.5	27.0±1.0	29.4±2.8	29.4±3.1	29.7±3.8
TT/s	18.6±0.7	19.5±0.4	19.0±0.7	18.3±1.0	18.2±2.2	18.4±0.6
FIB/(g/L)	2.4±0.6	2.3±0.2	2.3±0.3	2.4±0.5	2.4±1.0	2.2±0.5
TB/(μ mol/L)	13.5±4.1	13.6±4.3	16.5±3.4	11.7±5.7	14.5±4.7	12.7±3.7
DB/(μ mol/L)	4.6±1.4	4.8±1.6	5.2±0.9	4.3±1.8	5.1±1.7	4.7±1.3
AST/(IU/L)	19.1±3.6	17.9±2.8	17.9±3.2	19.8±6.9	18.1±4.5	16.5±4.3
ALT/(IU/L)	15.5±9.1	15.3±6.0	15.5±6.2	17.1±7.2	14.3±3.8	14.3±2.9
BUN/(mmol/L)	4.0±1.0	4.1±1.1	4.1±1.1	4.1±1.3	4.6±1.2	3.6±1.4
CREA/(μ mol/L)	71.5±16.7	72.7±13.5	72.5±14.9	73.1±19.2	76.0±17.1	71.9±15.3
TG/(mmol/L)	0.7±0.2	0.9±0.4	0.7±0.3	0.8±0.2	0.7±0.2	0.7±0.3
CHOL/(mmol/L)	3.6±0.5	4.0±0.5	4.1±0.6	4.1±0.4	4.3±0.5	3.9±0.4
HDL-C/(mmol/L)	1.5±0.3	1.5±0.3	1.6±0.3	1.5±0.2	1.6±0.3	1.5±0.2
LDL-C/(mmol/L)	2.0±0.6	2.2±0.6	2.2±0.6	2.4±0.3	2.6±0.4	2.3±0.3

RBC: Red blood cell; HGB: Hemoglobin; WBC: White blood cell; PLT: Platelet; PT: Prothrombin time; APTT: Activated partial thromboplastin time; TT: Thrombin time; FIB: Fibrinogen; TB: Total bilirubin; DB: Direct bilirubin; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; BUN: Blood urea nitrogen; CREA: Creatinine; TG: Triglyceride; CHOL: Cholesterol; HDL-C: High density lipoproteincholesterol; LDL-C: Low density lipoproteincholesterol

表 2 低、高剂量组服药前后血浆 vWF、游离 P-选择素及血小板最大聚集率比较($\bar{x} \pm s$)

Time	Low-dose group (n=8)			High-dose group (n=8)		
	vWF/(mU/mL)	P-selectin/(pg/mL)	MA/%	vWF/(mU/mL)	P-selectin/(pg/mL)	MA/%
-1 week	700.3±254.4	2 187.3±2 290.4	67.5±10.2	641.3±135.9	3 000.6±439.2	73.6±6.9
1 week	656.4±119.5	475.0±63.0*	40.6±8.7**	654.6±143.5	549.2±96.1***	64.5±9.1*
2 weeks	644.3±187.1	544.4±130.7*	51.8±10.9*	689.6±180.1	727.6±106.5***	61.8±8.4*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, vs. controls (-1 week)

的血浆游离 P-选择素和血小板 MA 均出现下降,与服药前相比差异均有统计学意义($P < 0.05$)。服药 2 周与服药 1 周相比,低剂量组和高剂量组的血浆游离 P-选择素含量和血小板 MA 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

血栓或血管阻塞在脑卒中、冠心病、肺栓塞等临床严重疾病的发病机制中起至关重要的作用。血栓的形成是血液在流动状态下,止血机制过度的一种病理学表现,是白细胞、血小板、内皮细胞等细胞间相互作用的结果。而血小板的黏附、活化、聚集是其中最重要的始动因素^[4]。研究药物对血小板的黏附、活化和聚集的影响,对于疾病的防治至关重要。目前,许多研究表明血浆游离 P-选择素不仅能作为血小板活化的标志物,还能作为血栓栓塞性疾病的风险预测指标^[5-6]。中药是中华民族的瑰宝,但因其成分复杂,药理机理不够明确而限制了其国际化进程,国内外对丹七活血化瘀、理气止痛功效机制的研究很少。本研究发现健康人连续服用丹七胶囊 1 周后,血浆游离 P-选择素水平及 ADP 诱导的血小板 MA 较服药前下降,提示丹七胶囊可能通过抑制血小板的活化而降低血小板聚集,达到活血化瘀、改善血液循环的作用。

vWF 由内皮细胞和巨核细胞合成分泌,是一种具有黏附功能的大分子量糖蛋白。它介导活化血小板黏附内皮细胞,进而形成血小板血栓,其血浆水平与血小板黏附功能密切相关。内皮细胞合成 vWF 后,有两种分泌途径,一种是组成式(又称持续性,体制性)释放,即合成后立即持续分泌到细胞外;另一种是调节式(又称刺激后)释放,即 vWF 合成后先以 Weibel-Palade 小体的形式储存,受到刺激后再分泌到细胞外^[7]。血管内皮细胞受损,vWF 刺激后释放增多在心脑血管疾病的发生发展中起重要作用^[8-9]。有研究证实丹七中主要成分丹参酮 II A 可下调高血压病患者损伤后的血管内皮细胞 vWF 的表达(刺激后释放),起到保护血管内皮细胞,避免血栓形成的作用^[10]。而本研究发现服药前后 vWF 的变化差异无统计学意义,表明丹七胶囊不影响健康人内皮细胞 vWF 的表达水平,即不影响血小板黏附内皮细胞的功能。其原因可能是研究对象为健康

人内皮细胞正常,vWF 的释放以组成式为主,而缺乏刺激后释放。vWF 介导的血小板-内皮细胞黏附是机体一期止血的重要环节^[11],丹七胶囊不影响正常人的 vWF 水平对于机体正常止血功能的发挥具有重要意义。

尽管已有研究证实丹七能下调动脉粥样硬化家兔模型的血脂水平^[12],但本研究发现丹七胶囊并不影响健康人血脂水平。本研究为丹七胶囊预防及治疗血栓性疾病提供了初步的实验依据。

参 考 文 献

- [1] MORRELL CN, AGGREY AA, CHAPMAN LM, *et al.* Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. *Blood*, 2014, 123(18): 2759-2767.
- [2] 吴符火, 刘雪酶, 贾 钊. 丹七胶囊的药效学研究. *中国中药杂志*, 2005, 30(23): 1869-1873.
- [3] 徐懿乔, 刘 杰, 谢笑龙. 丹七片对动物血小板聚集的抑制作用及其机制研究. *华西药理学杂志*, 2012, 27(3): 267-269.
- [4] 李家增, 贺石林, 王鸿利. *血栓病学*. 北京: 科学出版社, 1998: 5-16.
- [5] 王 峰, 范存亮, 蔡尚郎. 血浆可溶性选择素在急性冠脉综合征诊疗中的应用. *人民军医*, 2005, 48(4): 225-228.
- [6] ANDRE P, HARTWELL D, HRACHOVINOVA I, *et al.* Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P selectin in blood. *PNAS*, 2000, 97(25): 13835-13840.
- [7] PEYVANDI F, GARAGIOLA I, BARONCIANI L. Role of von Willebrand factor in the haemostasis. *Blood Transfus*, 2011, 9(Suppl 2): s3-s8.
- [8] KOZUKA K, KOHRIYAMA T, NOMURA E, *et al.* Endothelial markers and adhesion molecules in acute ischemic stroke-sequential change and differences in stroke subtype. *Atherosclerosis*, 2002, 161(1): 161-168.
- [9] DENIS CV, LENTING PJ. von Willebrand factor: at the crossroads of bleeding and thrombosis. *Int J Hematol*, 2012, 95(4): 353-361.
- [10] 彭志允, 陈利国, 范志勇, 等. 丹参酮 II A 对血管内皮细胞损伤后 vWF 和 TM mRNA 表达的影响. *中华中医药杂志*, 2014, 29(3): 708-710.
- [11] 许文荣, 王建中. *临床血液学检验*. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 298-300.
- [12] 贾晓俊, 黄修涛, 敖明章, 等. 复方丹七胶囊对动脉粥样硬化家兔血脂及内皮细胞功能的影响. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2006, 4(2): 132-134.

(2016-07-19 收稿, 2016-11-20 修回)

编辑 沈 进