

实验研究 •

冠心 II 号对家兔血小板释放 5-羟色胺含量和超微结构的影响

中国医学科学院基础医学研究所

药理研究室 时其煌 高海泉 田 民 朱国强

细胞生物学研究室 游美梅

血小板粘附、聚集和释放反应在血栓形成过程中起着重要的作用^(1,2)。血小板功能抑制药物，试用于防治心肌梗塞等血管栓塞症有一定的效果⁽³⁾。以活血化瘀药为主的冠心 II 号治疗冠心病心绞痛具有较好的疗效⁽⁴⁾。在实验研究方面表明能抑制 ADP 和胶原诱导的血小板聚集⁽⁵⁾。本文报道该方对胶原诱导血小板 5-羟色胺 (5-HT) 释放反应及对血小板超微结构的影响。

材料和方法

试剂：1. 冠心 II 号及单味药提取液⁽⁶⁾。2. 家兔跟腱生理盐水提取液 (即胶原)⁽⁵⁾。

方法：1. 富有血小板血浆 (PRP) 制备⁽⁵⁾。2. 胶原诱导血小板聚集程度：用 Born⁽⁷⁾ 的比浊法测定，取 PRP 1 ml 于比色管内，插入用 72 型分光光度计改装的血小板聚集仪，加 0.1 ml 药液或磷酸缓冲液，37°C 搅拌孵育 2 分钟，阿斯匹林为 15 分钟，然后加胶原 0.1 ml，描记 PRP 光密度的变化，4 分钟后加 0.05% 戊二醛 0.05 ml 中止反应。

3. 血小板释放 5-HT 含量测定：胶原诱导血小板聚集后的 PRP，3,000 转/分离心 10 分钟，取上清液，用正丁醇和正庚烷提取 5-HT⁽⁸⁾，加邻苯二甲醛 (o-phthalaldehyde) 后与 5-羟色胺啉啉络合，3, 5 位被取代，生成高荧光物质，用日立 MPF-4 型荧光分光光度计测定，激发光波长 360 nm，荧光波长 480 nm。测得荧光值与标准 5-HT 曲线比较，计算血浆中 5-HT 含量。

4. 血小板超微结构观察：用 5% 戊二醛固定血小板，用 0.1 M 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 洗去戊二醛，再以 1% 锇酸固定，用同样方法将血小板洗净。血小板经脱水，包埋作超薄切片 (厚度为 400—500 Å)，以饱和

醋酸双氧铀和枸橼酸铅染色后，用 JEM-100 B 电子显微镜观察 (分辨率为 20 Å)。

结 果

一、冠心 II 号和阿司匹林对胶原诱导家兔血小板聚集和释放反应的影响

1. 冠心 II 号对胶原诱导血小板聚集的影响：图 1 表示不同浓度的冠心 II 号对胶原诱导血小板聚集的影响。血浆生药浓度 350 mg/ml 能完全抑制血小板聚集，当药物浓度成倍稀释时，抑制率相应减弱。各浓度的抑制率间有显著差异 ($P < 0.001$)，实验批间无显著差异 ($P < 0.25$)。

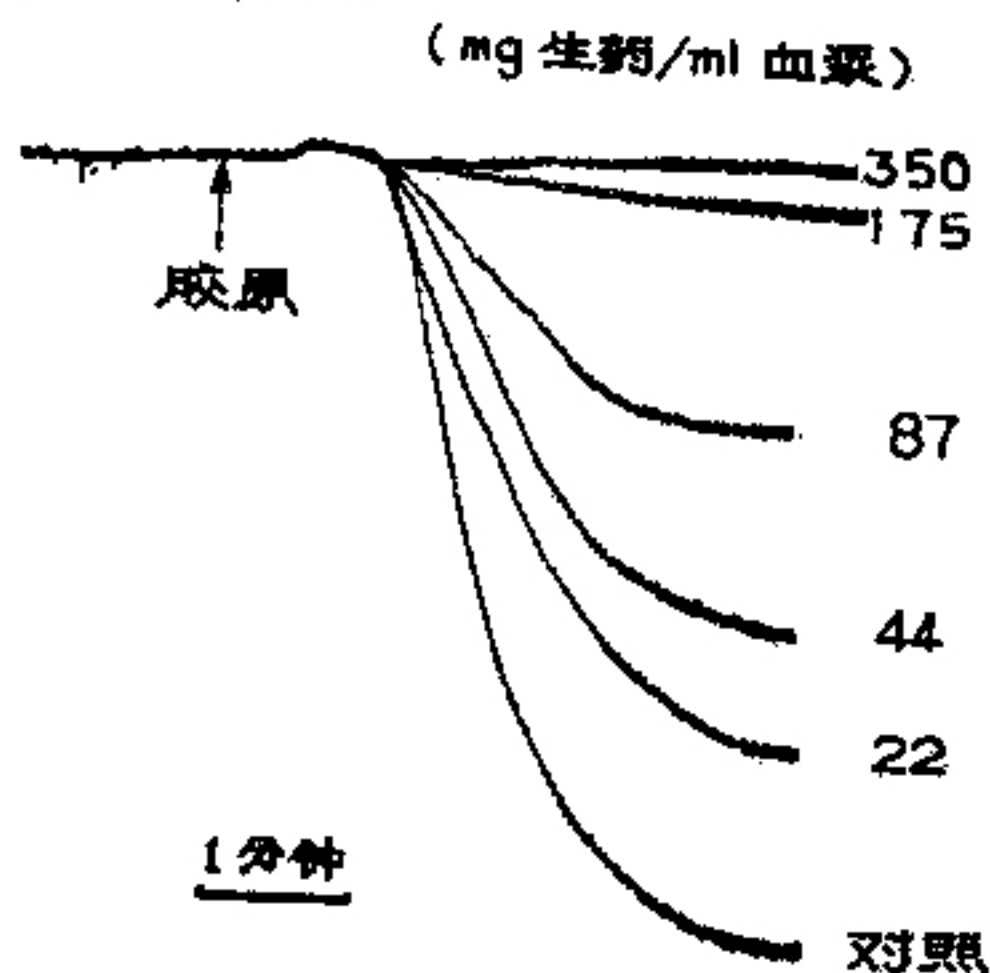


图 1 不同浓度的冠心 II 号提取液对胶原诱导家兔血小板聚集的影响

2. 释放的 5-HT 荧光扫描图谱及冠心 II 号的影响：图 2 表示激发光波长 360 nm 时测得标准 5-HT、血浆 5-HT、胶原诱导血小板聚集后从血浆中提取及冠心 II 号提取液加入血浆后的荧光扫描图谱，结果

表明各样品中的 5-HT 荧光高峰均在 480nm, 血浆 5-HT、血小板释放的 5-HT 图谱与标准 5-HT 一致, 药物对荧光图谱无明显影响。

1. 标准 5-HT
2. 血浆 5-HT
3. 胶原诱导血小板释放的 5-HT
4. 冠心 II 号 (350mg 生药/ml 血浆) + 血浆 5-HT

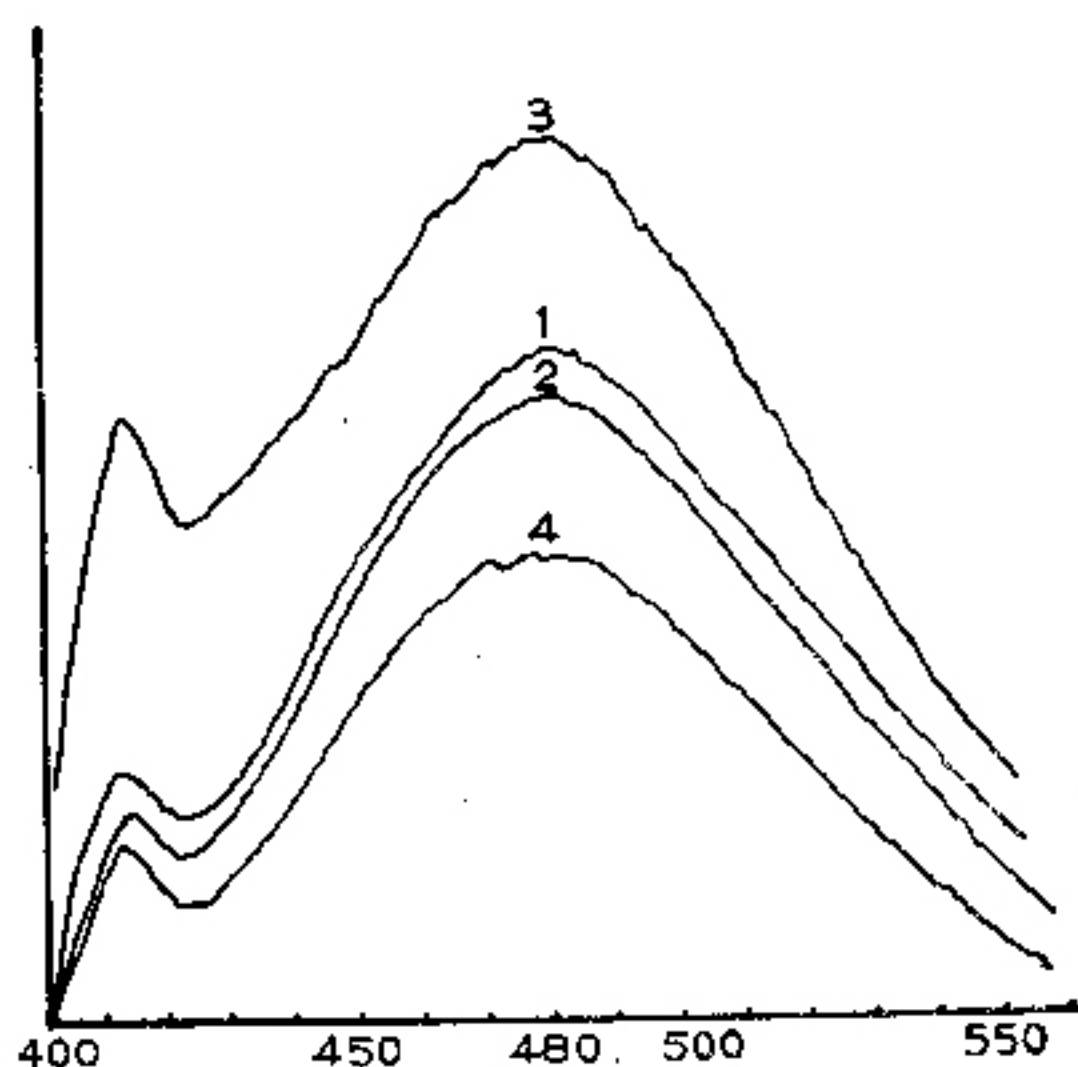


图 2 从不同处理的血浆中提取的 5-HT 的荧光扫描图谱

3. 冠心 II 号对胶原诱导血小板释放 5-HT 含量的影响: 表 1 表示各种不同浓度的冠心 II 号对胶原诱导血小板释放 5-HT 含量的影响, 血浆生药浓度 350mg/ml 时血小板释放 5-HT 量平均为 212 ng/ml, 而对照管平均高达 2047ng/ml, 抑制率为 89.6%。药物浓度成倍稀释时, 抑制程度相应减弱。各浓度间抑制率有显著差异 ($P < 0.005$); 实验批间有显著差异。

表 1 表示不同浓度的冠心 II 号对血小板 5-HT 释放与对聚集的抑制是相关的 ($r = 0.92$)。

表 1 冠心 II 号对胶原诱导家兔血小板 5-HT 释放和聚集程度的影响

冠心 II 号浓度 毫克生药/毫升血浆	5-HT 释放		血小板聚集	
	5-HT 平均 释放量 (ng/ml)	平均抑制 率 (%)	聚集程度 (小格)	平均抑制 率 (%)
0	2047		26.7	
350	212	89.6	0	100
175	437	78.7	1.3	95.1
87	537	73.8	6	77.5
44	766	62.6	15.5	41.9
22	1170	42.8	16.5	38.2

n = 3

4. 阿司匹林对胶原和 ADP 诱导血小板聚集及 5-HT 释放的影响: 阿司匹林 1 mg/ml 血浆浓度能完全抑制胶原诱导的血小板聚集, 对 5-HT 释放的抑制为 96%; 对 ADP 诱导的聚集和 5-HT 的释放无抑制作用。

二、冠心 II 号中单味药提取液对胶原诱导家兔血小板聚集的影响: 单味药浓度均为 350 mg/ml 血浆, 红花、赤芍和川芎提取液能完全抑制胶原诱导的血小板聚集, 降香作用较弱, 丹参无明显抑制作用 (见图 3)。

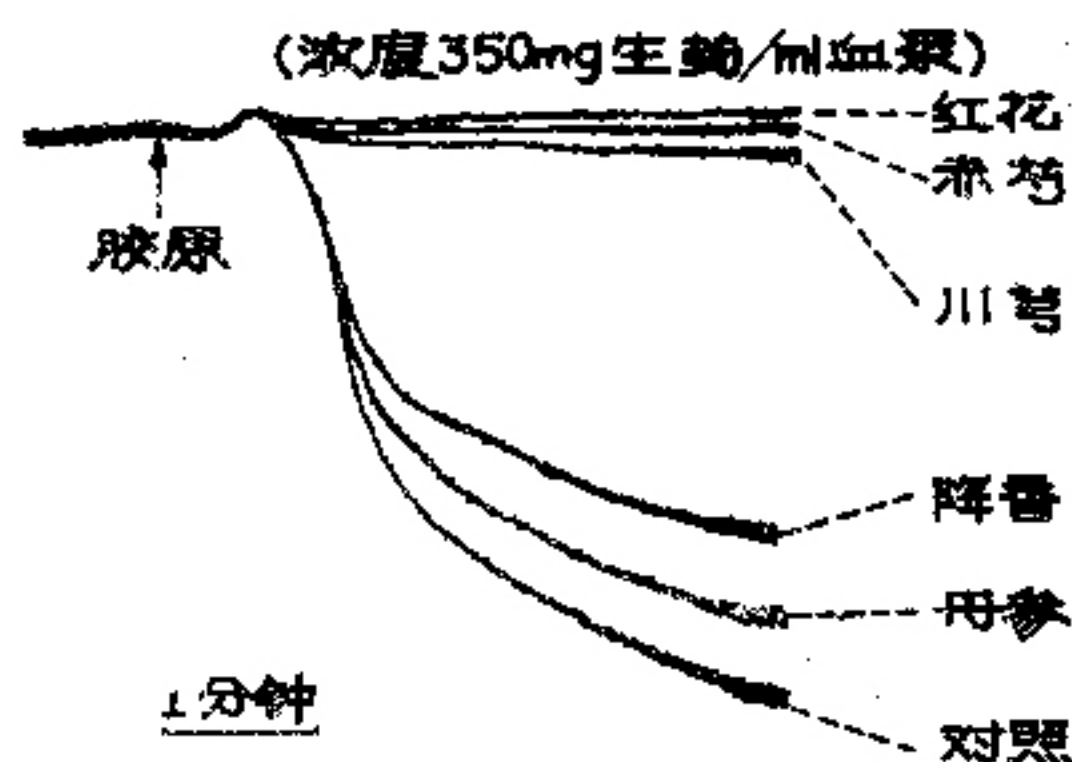


图 3 冠心 II 号提取液中单味药对胶原诱导血小板聚集的影响

三、冠心 II 号对家兔血小板超微结构的影响: PRP 与胶原作用 4 分钟后 (图 4 (2)), 与正常血小板 (图 4 (1)) 比较, 血小板由分散变为明显聚集, 形态不规律, 细胞内颗粒显著减少。冠心 II 号提取液 (350mg/ml 血浆与 PRP 孵育 2 分钟再与胶原作用 4 分钟 (图 4 (3))), 血小板仍呈分散状态, 颗粒依然保留, 但有伪足形成。PRP 仅与冠心 II 号提取液作用 (图 4 (4)), 其形态与正常血小板比较无明显变化。 (图 4 (1)~(4), 见插页 1)

阿司匹林对胶原诱导的血小板聚集和阿司匹林单独对血小板超微结构影响结果和冠心 II 号提取液相似。

讨 论

本实验测定血浆内 5-HT 含量, 并观察血小板超微结构, 结果表明冠心 II 号提取液在抑制胶原诱导家兔血小板聚集的浓度, 也抑制 5-HT 的释放, 从形态上表现抑制致密颗粒和 α 颗粒的释放。血小板聚集抑制程度与 5-HT 释放抑制程度二者平行、密切相关 ($r = 0.92$); 二种抑制作用程度与冠心 II 号的浓度呈正比关系。单味药提取液中, 红花、赤芍和川芎抑

制血小板聚集作用较强,降香作用较弱,丹参无明显的抑制作用。本实验未测定单味药对血小板释放 5-HT 含量的影响。据报道活血化瘀药当归亦能抑制大鼠血小板 5-HT 的释放⁽⁹⁾,研究单味药对血小板释放 5-HT 的影响同样是研究活血化瘀对血小板功能影响的重要方面。

目前初步研究表明冠心 II 号能抑制血小板 cAMP 磷酸二酯酶,升高细胞内 cAMP 含量^(6,10),可能是抑制血小板聚集和释放反应的基础。

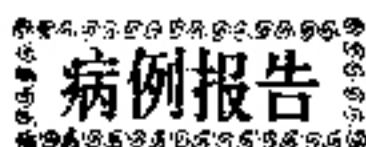
从血小板超微结构的观察获知冠心 II 号能抑制

颗粒的释放,但不能抑制伪足的形成。因为血小板伪足形成与辅肌动蛋白(α -actinin)和肌动蛋白结合的互相作用有关,此反应勿需钙离子参与。冠心 II 号能使血小板 cAMP 含量增高,可能通过影响钙离子水平而抑制颗粒释放。伪足形成并不需要钙离子,故冠心 II 号未能抑制伪足形成。冠心 II 号及其有明显作用单味药的作用机制尚需要深入研究阐明。

(本文在金荫昌教授指导下进行。血浆 5-HT 测定经本所病理生理研究室陈华粹同志指导和协助,谨此感谢。)

参 考 文 献

1. Weiss HJ: Platelet physiology and abnormalities of platelet function. N Engl J Med 293: 531, 1975
2. Mastard JP, et al: Factors influencing platelet function: Adhesion, release and aggregation. Pharmacol Rev 22:97, 1970
3. Packham MA, et al: Clinical pharmacology of platelets. Blood, 50:555, 1977
4. 中国医学科学院阜外医院、中医研究院西苑医院: 冠心 II 号治疗冠心病心绞痛 100 例临床观察。活血化瘀冠心 II 号方药及有关资料汇编第 58 页, 1972
5. 中国医学科学院首都医院基础组、内科心肾组: 冠心 II 号对血小板聚集性的影响。心脏血管疾病 2:259, 1974
6. 时其煌等: 冠心 II 号对家兔血小板内 cAMP 含量的影响。中国医学科学院学报 2:254, 1980
7. Born GVR: Aggregation of blood platelet by adenosine diphosphate and its reversal. Nature (Lond) 194: 927, 1962
8. Moickel RP, et al: Fluorescent products formed by reaction of indole derivatives and O-phthalaldehyde. Anal. Chem. 38:1937, 1966
9. 尹钟冻等: 当归及其成分阿魏酸对大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的影响。药学学报 15:321, 1980
10. 时其煌等: 冠心 II 号对家兔血小板磷酸二酯酶的影响。科学通报 26:183, 1981



病例报告

增液承气汤治愈胃扭转一例报告

福建省龙岩地区第一医院内科 谢金森 林秀月*

患者林××, 55岁,男,农民,住院号102661。主诉4个月前因加餐后出现上腹部持续不适、胀痛,不向他处放射。进食后迅速出现恶心、呕吐,为胃内容物,每次约50~100ml。有时吐出少许白色粘液。口干,口苦。大便5天未解,小便短赤。消瘦,乏力。经当地中西药治疗无效于1981年3月10日收住本科。16年前患过“肝炎”,10年前患过心窝部饥饿性间歇闷痛,经服单方后9年来未复发。有烟酒嗜好。家族中无“肿瘤”病史。查体:体温36.1°C,脉搏82次/分,呼吸22次/分,血压130/80mmHg。神志清楚,倦怠懒言,营养差。五官端正,巩膜无黄染。左锁骨上淋巴结未触及。颈软。胸对称,肋间隙增宽,双肺叩诊过清音,未闻及干湿性罗音。心浊音界缩小,心音遥远,心律齐,无杂音。腹平坦,未见胃型及蠕动波,腹肌软,上腹部轻度压痛,胃振水音阴性,未扪及包块。肝脾无肿大,肠鸣音正常。肾区无叩压痛。未引出神经病理征。肛门指诊无特殊发现。苔黄腻,脉弦数。乙状结肠镜检所见:乙状结肠段粘膜充血,附有少量粘液,有散在性点状出血灶,无赘生物。化验:白细胞8500,中性粒细胞81%。血红蛋白9.5g%。血小板22.4

万/mm³。大小便镜检正常。大便隐血阴性。血沉33mm/1h。肝功能正常, GPT50u以下。总蛋白5.85g%,白蛋白3.83g%,球蛋白2.02g%。尿素氮11mg%。二氧化碳结合力56vol%。血清钠140mEq/L,钾4.2mEq/L,钙5mEq/L氯化物103mEq/L。玫瑰花环形成率50%,淋巴细胞转化率59%。血清免疫球蛋白IgG637mg%, IgA201mg%, IgM79mg%。血FDP低于7.8μg/ml。AFP阴性(对流免疫电泳法及琼脂扩散法)。放射免疫自显象小于25ng/ml。胃液分析(转位后测定):空腹总酸度及游离酸度分别为0与10单位,进试验餐后为20及35单位。X线证(X光片号45823):胃大弯向上翻,小弯形成胃下缘,胃粘膜皱襞走向异常,食道与胃体粘膜皱襞呈交叉状,胃体下缘呈锯齿状,胃之位置高,幽门及十二指肠球部斜向右下,胃内可见2个胃泡,2个液平面。十二指肠冠部充盈欠满意。

诊断: 1. 慢性胃扭转; 2. 慢性结肠炎; 3. 肺气肿。

(下转第105页)

* 本院进修医师

osteopathia, for its part, may lead to the prevention of kidney disorders.

The data collected through a series of endemic investigations have shown that in the etiology of Kaschin-Beck disease a significant role is played by genetic deficiency, the essential factor of which lies in the kidneys. In the 51 cases of osteopathia treated with "crust salt"*, for example, measurements of the contents of 24 hrs urinary 17-ketosteroids revealed that the adrenocortical function had been enhanced by the administration of "crust salt" ($P < 0.05$). This serves not only to prove the efficacy of salt in strengthening the kidney, but also to support the theory of "the kidney's control over the bones", for the cases of osteopathia were shown to have been cured through invigorating the kidneys.

In order to reveal the real nature of this theory, much more remains to be done, for the present study is limited in both its conditions and the number of cases.

*"Crust salt" refers to the crust formed after boiling a salt solution in a pan. The salt used is produced in Shanxi Province.

(Original article on page 87)

Effects of "Coronary Heart II" (CH-2, 冠心 II 号) on the Release of Serotonin and the Ultrastructure of Rabbit Platelets

Shi Qihuang (时其煌), Gao Haiquan (高海泉), et al
*Department of Pharmacology, Institute of Basic Medical Sciences,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing*

Serotonin was measured by fluorspectra. CH-2, at a concentration great enough to inhibit the collagen-induced aggregation of rabbit platelets was found to decrease the amount of serotonin released from the platelets. This effect of CH-2 was concentration-dependent. As confirmed by electronic microscopy, CH-2 inhibited the release of platelet granules, but not the formation of pseudopodia. It is suggested that the inhibition of platelet release reaction may result from the inhibition of cAMP phosphodiesterase.

(Original article on page 90)

The Protective Effect of Chrysanthemum Indicum L Extract (CI-2) on Myocardial Injury in Cultured Neonatal Rat Heart Cells Deprived of Oxygen and Glucose

Li Yingou (李映欧), Li Lianda (李连达), et al
Xiyuan Hospital, Academy of TCM, Beijing

An in vitro model of myocardial cell injury was established with primary monolayer cultures of neonatal rat heart cells by depriving the cultures of oxygen and glucose for 6 hrs. This new experimental model could imitate myocardial ischemia, for oxygen and substrate deprivation was the two important aspects of ischemia. Cellular injury caused by hypoxia and glucose deprivation resulted in ultrastructural changes, decrease in beating activity and significant leakage of lactate dehydrogenase (LDH) from the cells into the culture medium. LDH in medium, which reflected the degree of cellular damage, was used to evaluate protective effects of various drugs. The authors observed that CI-2 reduced the release of LDH from injured heart cells deprived of oxygen and glucose. The results indicated that CI-2 had direct effects in protecting the injured heart cells in cellular level. In addition, it was also observed that 10^{-5} M propranolol showed similar protective effect while 10^{-4} M isoprenaline exacerbated heart cell injury. And 10^{-4} M dexamethasone was found to have no effect in protecting cellular injury in our experiments.

(Original article on page 93)

Effect of Qing Yi Decoction No.1 on the Pancreatic Exocrine Function of Rats

Zhao Liangun (赵连根), et al
Institute of Acute Abdominal Diseases, Tianjin

This study reports the effects of 清胰汤 I 号 (Qing Yi decoction No.1), a common TCM-WM therapeutic prescription for acute pancreatitis on the exocrine pancreas of rat. Under sterile conditions a catheter was