

• 综述 •

活血化瘀中药对血小板功能调节的机理

中国协和医科大学(北京 100005) 汪 钟

一个多世纪来,特别是近20多年来,随着生物学和医学的发展,人们对血小板生化、生理、病理和药理等方面进行了愈来愈深入的研究,认识到血小板是一种多功能细胞,在止血、伤口愈合、血栓形成、炎症、器官移植排斥和肿瘤转移等生理和病理过程中起着重要作用。同时,随着对中医中药研究的开展,逐渐认识到血小板在血瘀证的发病学和活血化瘀中药的药理学上也起着重要作用。

一、血小板的生理功能

血小板的生理功能可概括为粘附、聚集和释放三方面。粘附功能是指在某些特定情况下,血小板粘附于血管壁或其他异物表面的功能。当血管受损,内皮下结缔组织和胶原纤维被暴露,血小板则迅速粘附上。有关血小板粘附的机理目前主要有以下几种说法^(1,2)。

1. 血管内皮下胶原通过膜受体糖蛋白Ia(GPIa)与血小板直接结合(GPIa-胶原)。

2. 血管内皮下胶原与血小板结合时,需要有凝血因子Ⅲ的辅因子血管性假血友病因子(vWF)作为中间桥梁。vWF一方面与血小板膜糖蛋白Ib(GPIb)结合,另一方面又与胶原结合(GPIb-vWF-胶原)。有人提出,在Ⅲ型和Ⅰ型胶原中有一小段9肽,由甘-赖-羟脯-甘-谷-羟脯-甘-脯-赖9种氨基酸排列组成,被认为是参与血小板粘附的胶原分子的活性中心⁽¹⁾。

3. 有人用胶原酶实验证明胶原似乎不参与粘附过程,而非胶原的微纤维起着关键作用(GPIb-vWF-内皮下微纤维)。

4. 此外,有人提出血小板膜GPⅡb/Ⅲa复合物及纤维连接蛋白(fibronectin, Fn)可能也参与血小板的粘附过程。

有报道表明,清代汪清任常用的13种活血化瘀药,除大黄外,均显著降低血小板粘附性⁽³⁾。

当血小板粘附于异物表面之后,随即发生变形和聚集。聚集是指血小板之间相互粘附,聚集成团。关于血小板聚集机理,新近提出了双受体的模式,即纤维蛋白原(Fg)一面通过膜受体糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(GPⅡb/Ⅲa)复合物与激活的血小板连结,另一方面,Fg又通过血小板反应素(TSP)受体与TSP连结。现已证实,Fg分子中含有或类似于4肽序列(精氨酸-甘氨酸-

天门冬氨酸-丝氨酸(RGDS))的部位,这一部位被认为是膜GPⅡb/Ⅲa复合物识别或结合Fg的部位。此外,其他粘附蛋白,如VWF、Fn,也可能与GPⅡb/Ⅲa复合物受体结合参与血小板聚集^(1,2)。

血小板被激活后,在粘附和聚集的基础上,将储存在颗粒中的内容物或激活过程中产生的代谢产物释放出来,称为释放反应。目前了解到肌醇磷脂(PI)代谢系统中的蛋白激酶C(PKC)的活化参与了血小板的释放反应⁽⁴⁾。能抑制血小板聚集和释放的中药很多,已有综述⁽⁵⁾。

二、血小板功能的调节

影响血小板功能的环节很多,最重要的有花生四烯酸(AA)系统、环核苷酸系统、肌醇磷脂系统及 Ca^{2+} 和钙调素。这些环节之间关系错综复杂,相互协同,相互制约,但都与 Ca^{2+} 密切相关。因此,本文围绕 Ca^{2+} 讨论各环节对血小板功能的调节。

1. Ca^{2+} 及钙调素在血小板激活中的作用

在血小板内,60%的 Ca^{2+} 储存于致密颗粒中,其余分布于膜、线粒体和致密管道系统(DTS)。当血小板被激活后, Ca^{2+} 出现以下几种转运:(1)由胞外跨膜流入胞内,即 Ca^{2+} 内流。(2)从细胞膜结合部位和DTS释放到胞浆,即细胞内转运。(3)从致密颗粒释放,即部分释放反应。当血小板胞浆游离 Ca^{2+} 浓度升高时,一方面激活肌凝蛋白轻链激酶(MLCK),引起20K蛋白磷酸化,磷酸化的肌凝蛋白粗丝通过ATP酶产生的能量,与肌动蛋白细丝相互滑行,从而引起血小板收缩、变形、颗粒集中。另一方面, Ca^{2+} 与二酯酰甘油(DG)共同激活PKC,催化47K蛋白磷酸化,导致颗粒膜与开放管道系统(OCS)膜融合而引起释放⁽⁴⁾。此外,也有人报道,PKC和一种能被 Ca^{2+} 激活的蛋白酶Calpain也可使20K蛋白磷酸化^(6,7)。总之,血小板激活涉及到与 Ca^{2+} 有关的两种蛋白磷酸化过程。

必须指出, Ca^{2+} 的许多作用都是通过细胞内普遍存在的钙结合蛋白——钙调素而发生的。钙调素本身没有活性,但与 Ca^{2+} 结合,形成钙调素- Ca^{2+} 复合物后则具有活性。钙调素通过激活一系列的酶,如腺苷酸环化酶(AC)、鸟苷酸环化酶(GC)、磷酸二酯酶(PDE)、 Ca^{2+} -ATP酶、MLCK、磷脂酶 A_2 (PLA₂)等,参与了许多依赖 Ca^{2+} 的血小板反应⁽⁸⁾。

花生四烯酸系统与 Ca^{2+}

当诱导剂与膜表面受体结合激活血小板后, AA在 PLA_2 和磷脂酶C(PLC)的作用下, 由膜磷脂释放出来这两种酶均为 Ca^{2+} 依赖性, 但前者对 Ca^{2+} 的敏感性低于后者。AA释放后经环氧酶作用形成前列腺素内过氧化物 PGG_2 和 PGH_2 , 它们在血小板微粒体中, 经血栓素 A_2 (TXA_2)合成酶作用, 形成 TXA_2 。 TXA_2 具有 Ca^{2+} 载体特性, 与 Ca^{2+} 一道移到胞浆, 形成 $\text{TXA}_2\text{-Ca}^{2+}$ 。 TXA_2 很快水解成较稳定的血栓素 B_2 (TXB_2)而将 Ca^{2+} 游离出来。 TXA_2 诱导血小板聚集, 降低环腺苷酸(cAMP)水平。而与 TXA_2 活性相反的前列环素(PGI_2)通过激活AC, 使cAMP水平升高, 降低胞浆 Ca^{2+} 浓度, 从而抑制血小板激活⁽⁸⁾。

3. 环核苷酸系统与 Ca^{2+}

环核苷酸系统包括cAMP和环鸟苷酸(cGMP)。两者既有对抗相互制约的一面, 又有协同彼此调节的一面。目前公认cAMP含量升高可抑制血小板激活, 其机理与 Ca^{2+} 密切相关。(1)cAMP激活蛋白激酶, 使蛋白磷酸化, 加强DTS膜上转运系统即 Ca^{2+} -ATP酶(Ca^{2+} 泵)的活性, 促使 Ca^{2+} 从胞浆摄回到DTS或抑制 Ca^{2+} 从DTS移到胞浆。(2)cAMP通过抑制PI激酶(PIK)和PIP激酶(PIPK), 使磷脂酰肌醇-4', 5'-二磷酸(PIP_2)生成减少, 从而限制引起 Ca^{2+} 释放的信使物质三磷酸肌醇(IP_3)的产生。(3)cAMP通过降低胞浆 Ca^{2+} 水平, 影响 PLA_2 活性, 间接影响AA释放, 同时抑制环氧酶活性, 抑制 TXA_2 生成。(4)反过来 Ca^{2+} 通过抑制AC活性, 激活PDE活性, 降低cAMP水平而激活血小板功能⁽⁹⁾。

关于环核苷酸与血小板功能的关系, 目前有以下两方面尚未阐明:(1)cAMP含量减低是否必定导致血小板激活, 结果不一。例如在用ADP诱导血小板聚集出现前, 血小板cAMP水平下降, 但AC抑制剂 SQ_{22630} 或DDA单独给药, 虽降低cAMP水平, 却不能引起血小板聚集。(2)cGMP对血小板功能是激活还是抑制, 结果不一。早期认为cGMP水平升高, 使血小板激活, 其作用与cAMP相反。但后来发现硝普钠、内皮舒张因子使cGMP升高, 却抑制ADP诱导的聚集。cGMP能抑制凝血酶诱导的血小板激活, 减少 IP_3 的产生, 抑制胞内 Ca^{2+} 浓度的增加。看来目前人们倾向于cGMP可能与cAMP一样, 也是血小板的抑制性介质。

4. 肌醇磷脂系统与 Ca^{2+}

血小板PI代谢途径大致可以归纳为一个双循环, 即“PI循环”和“多磷酸肌醇磷脂(PPI)循环”。PI循环

中PI代谢生成DG, DG磷酸化为磷脂酸(PA), 通过二步酶促反应再合成PI。PPI循环包括磷脂酰肌醇-4'-磷酸(PIP)和 PIP_2 , PI经磷酸化作用生成PIP和 PIP_2 , 由DG连接这两个环。PI代谢过程的关键环节是PLC分解 PIP_2 生成 IP_3 和DG。它们具有信使作用。 IP_3 被公认具有 Ca^{2+} 载体特性, 使血小板内储存的 Ca^{2+} 释放。前已提及, DG的生理作用是激活PKC⁽⁴⁾。此外, 有报道表明, Ca^{2+} -ATP酶活性可能受膜中PI水平的影响, PI¹也许对 Ca^{2+} 泵功能起调节作用。

总之, 血小板内 Ca^{2+} , 同其他几个环节一起对血小板功能进行调节。因此, 凡能干扰 Ca^{2+} 转运或影响AA代谢、环核苷酸和PI系统的药物就可能是有效的抗血小板药物。

三、活血化瘀中药抑制血小板功能的机理

在我国, 系统地研究中药特别是活血化瘀药对血小板功能的影响开始于70年代初期。大量研究表明, 中药对血小板功能影响的机理与西药一样, 都涉及到上述的调节环节。下面以几种代表性药物为例, 介绍有关的进展。

1. 丹参注射液及其水溶成分丹参素、7643

临床已观察到丹参用于治疗冠心病、心肌梗塞、脑血栓等有较好疗效。丹参注射液等能明显抑制多种诱导剂诱导的人富含血小板血浆和凝胶过滤血小板的聚集和5-HT释放。其抑制血小板功能的机理, 一方面是由于丹参能升高血小板cAMP水平, 而升高cAMP是由于抑制了PDE活性⁽¹⁰⁾。另一方面, 丹参水溶成分7643小剂量时, 通过兴奋 PGI_2 合成酶活性, 促进 PGI_2 生成; 但大剂量时, 对 TXA_2 、 PGI_2 生成均有抑制作用。可能是由于抑制了环氧酶活性所致。

此外, 与血小板密切相关的内皮细胞的抗凝和促纤溶功能也与活血化瘀密切相关。丹参和丹参素能明显增加内皮细胞生成 PGI_2 。对内皮细胞分泌的纤溶酶原激活物质和其抑制物质(PA和PAI)的活性分别具有增强和抑制作用, 还能明显促进内皮细胞表面血栓调节蛋白(TM)的活性⁽¹¹⁾。

2. 川芎和川芎嗪

川芎为传统的活血药, 临床多用于治疗冠心病、心绞痛等血瘀证。据报道, 具有血瘀证候的冠心病患者的血小板聚集程度(PAgT)、血小板释放的 TXA_2 、 β 血小板球蛋白(βTG)及血小板第IV因子(PF_4)均较健康对照组显著升高, 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 则显著减低, 表明血瘀证患者血小板功能亢进, 内皮细胞受损。用川芎制成的川芎冲剂在改善患者症状的同时, 减低PAgT、 βTG 、 TXB_2 的生成, 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 也较治疗前升高⁽¹²⁾。

川芎对急性脑梗塞患者的上述指标也有类似的有利影响⁽¹³⁾。

川芎嗪为川芎的有效成分。有报道表明,其抑制血小板聚集和释放的机理是由于抑制了 TXA_2 合成酶的活性⁽¹⁴⁾。

前已提及,PI代谢在血小板激活中起重要作用。首都医学院周以华等用川芎嗪预先与 ^{32}P 标记的血小板温育,然后加入凝血酶,观察几种主要的PI代谢产物变化。结果发现, PIP_2 和PA量均有明显减少,但对PI和 PII 量无影响。 PIP_2 量下降可能是 PIP_2 分解增加,也可能是合成减少,但由于川芎嗪不使PA量增加,看来 PIP_2 减少可能是由于其合成被川芎嗪抑制。

3. 阿魏酸钠

阿魏酸钠为当归抑制血小板聚集的有效成分之一。和川芎嗪一样,阿魏酸钠对环氧酶活性没有影响。而是特异性地抑制 TXA_2 合成酶活性。例如以AA为底物,肺微粒体供给酶,阿魏酸钠对 TXB_2 和6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的生成都无影响,结果与经典的环氧酶抑制剂消炎痛相似。但若以前列腺素内过氧化物为底物,阿魏酸钠对 TXB_2 生成明显抑制,剂量效应相关,但对6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的生成有显著增加作用,与经典的 TXA_2 合成酶抑制剂咪唑相似⁽¹⁵⁾。阿魏酸钠在抑制血小板聚集的同时,既升高血小板cAMP水平,也升高血小板cGMP水平。该药抑制 PIP_2 合成,但与川芎嗪不同,在减低 PIP_2 水平的同时,使PI量升高。

4. 毛冬青甲素

毛冬青甲素是从毛冬青中分离的一种有效成分,对脑血栓、脉管炎等有较好的疗效,能抑制血小板粘附及ADP、胶原和 A_{23187} 所诱导的血小板聚集。由于对血小板聚集的抑制作用可被 Ca^{2+} 翻转,提示该药对血小板功能的影响可能与 Ca^{2+} 有关。实验用荧光探针 Quin^2 标记血小板,用荧光分光光度计测血小板胞浆内游离 Ca^{2+} 水平,以钙离子通道拮抗剂异博定作对照。结果表明,毛冬青甲素明显抑制凝血酶引起的 Ca^{2+} 内流,剂量效应相关,抑制强度与异博定近似。但对凝血酶引起的 Ca^{2+} 释放没有影响。提示毛冬青甲素可能是一种钙拮抗剂,抑制 Ca^{2+} 内流是其抑制血小板功能的机理之一⁽¹⁶⁾。毛冬青甲素还抑制血小板钙调素活性,抑制血小板PDE活性,反转凝血酶降低了的cAMP水平。同时对AA代谢途径中的环氧酶和 TXA_2 合成酶活性也有抑制⁽¹⁷⁾。

此外,海风藤酮和石楠藤木脂素是从草药海风藤和石楠藤中提出的有效成分,体内外给药都能明显抑制血小板激活因子(PAF)引起的血小板聚集,而对

ADP、AA等诱导的兔血小板聚集无影响。用 ^3H 标记PAF,海风藤酮抑制 ^3H -PAF与血小板膜上PAF受体结合⁽¹⁸⁾。这类药物虽不是活血化瘀药,但却是从中药中发现的特异性PAF受体抑制剂。

四、对今后发展的展望

由于血小板的取材和分离都比较容易,膜上又具有两种信息传导系统,功能受多种介质影响,而且现在已有先进方法对这些介质进行检测。因此,用血小板为材料,对血瘀证的发病学和活血化瘀中药的药理学开展研究工作,前景十分广阔。

从已有的资料看,许多问题尚待进一步深入探讨。例如:血瘀证的发病同血小板膜受体异常是否有什么联系,中药包括活血化瘀药对血小板膜受体有什么影响,血瘀证同血小板胞内 Ca^{2+} 浓度的关系,活血化瘀药对血小板胞内 Ca^{2+} 内流和释放以及对磷脂肌醇代谢的影响等。已知PAF是一种强效的血小板活化剂,同时又是炎症、过敏反应过程中的主要化学介质之一,可引起呼吸、循环等系统的一系列病理改变。PAF同血瘀证是否有关,活血化瘀中药中是否有对PAF的特异性抑制作用等等,期望今后能从分子生物学的深度,应用单克隆抗体等先进技术,进一步扩大研究领域,对血瘀证本质和活血化瘀中药的机理进行深入探讨,以期为中西医结合防治疾病作出更大贡献。

参 考 文 献

1. Balduini CL, et al. Surface mechanisms of platelet adhesion and aggregation, *Haematologica* 1987; 72:261.
2. Gerrard JM. Platelet aggregation, cellular regulation and physiologic role. *Hosp Pract* 1985; 23:89.
3. 翁维良,等. 汪清任常用活血化瘀药对红细胞变形性影响的观察. *山西医药杂志* 1987; 16:26.
4. 陈德春,等. 磷酸肌醇代谢与血小板活化. *生理科学进展* 1987; 18:309.
5. 高海泉,等. 中药对血小板功能的影响. *中西医结合杂志* 1984; 4:246.
6. Nishikawa M, et al. Phosphorylation of smooth muscle myosin lightchain kinase by protein kinase C. *J Biol Chem* 1985; 260:8978.
7. Kambayashi J, et al. Possible involvement of Ca^{2+} activated protease (calpain) in myosin light chain phosphorylation in human platelets. *Thrombos Haemostas* 1985; 54:14.
8. 汪 钟. 血小板的分子药理. 金荫昌主编. 分子药理学. 天津: 天津科学技术出版社, 1990: 692.
9. Iasslo A, et al. Interaction dynamic of blood platelets with medicinal agents and other chemical

- entities, In: Lasse A, ed. Blood platelet function and medicinal chemistry, New York: Elsevier, 1984:229.
10. Wang Z, et al. The effect of a medicinal chinese herb on platelet function. Thromb haemostas (Stuttgart) 1982; 48:301.
11. 顾杨洪, 等. 丹参和丹参素对牛内皮细胞抗凝和纤溶功能的影响. 上海第二医科大学学报 1990; 3:208.
12. 余真, 等. 川芎冲剂对冠心病患者血小板功能及前列腺素代谢的影响. 中西医结合杂志 1987; 7(1):8.
13. 刘众, 等. 川芎对急性脑梗塞患者血浆中 β -TG、PF₁及TXB₂、6-酮-PGF₁含量的影响. 中西医结合杂志 1991; 11(11):711.
14. 吴余升, 等. 活血化淤复方和川芎抑制血栓素A₂生物合成研究. 中西医结合杂志 1985; 5(5):169.
15. 汪仲, 等. 阿魏酸钠是一种TXA₂合成酶抑制剂. 中国药理学报 1988; 9:430.
16. 王玲, 等. 毛冬青甲素对血小板激活时钙流动的影响. 中西医结合杂志 1989; 9(9):668.
17. 王玲, 等. 毛冬青甲素调节花生四烯酸代谢的机理探讨. 中国医学科学院学报 1991; 13:148.
18. Shen TY, et al. Characterization of a platelet-activating factor receptor antagonist isolated from haifenteng (piper fatokadsura); specific inhibition of *in vitro* and *in vivo* platelet-activating factor-induced effects. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82:672.

鱼腥草合剂治疗鼻渊400例观察

解放军第82医院(江苏淮阴 223001) 林炎官

慢性鼻炎、鼻窦炎中医谓之“鼻渊”，亦称“脑漏”。我院自备鱼腥草合剂治疗鼻渊已有10余年之久。现将其中资料完备的400例报告如下。

临床资料

治疗组400例中，男220例，女180例，年龄最小6岁，最大66岁，平均42岁。病程最短3个月，最长10年。诊断依据：症状：鼻塞、脓涕、头痛、嗅觉障碍等；体征：鼻甲肿胀、肥大、鼻中道积脓、鼻中甲息肉样变等，配合上颌窦穿刺和X线摄片结果作为诊断依据。50例鼻腔分泌物细菌培养结果：金黄色葡萄球菌16例，白色葡萄球菌12例，肺炎双球菌6例，链球菌8例，卡他球菌6例，类白喉杆菌2例。对照组200例中，男112例，女88例；年龄16~58岁。病程3个月~12年。其中50例鼻腔分泌物细菌培养结果：金黄色葡萄球菌14例，链球菌13例，肺炎双球菌8例，卡他球菌3例，类白喉杆菌4例，无菌生长8例。

治疗方法

鱼腥草合剂制备：鱼腥草9kg，桔梗0.6kg，甘草0.25kg，加水煮沸2次，每次30min，滤液过120目筛，合并两次滤液，浓缩至12000ml，加入防腐剂，静置分装流动蒸气消毒备用。用法：口服20~30ml，每日3次，小儿减半，未合并其他药物治疗。疗程观察：3~5天见效，2~3周为一疗程。对照组常规量口服藜胆丸，疗程同前。

结果

疗效判定标准 痊愈：自觉症状明显好转，鼻腔

脓性分泌物消失，通气改善；好转：自觉症状减轻，鼻腔脓性分泌物减少，通气改善；无效：自觉症状及鼻腔检查无变化。

鱼腥草合剂治疗组与藜胆丸对照组疗效观察：鱼腥草合剂治疗组400例，治愈378例，好转20例，无效2例，有效率99.5%。藜胆丸对照组200例，治愈98例，好转62例，无效40例，有效率80%。按以上标准临床疗效观察比较，统计学处理两组有效率有显著性差异， $P<0.01$ ，鱼腥草合剂优于藜胆丸。

讨论

鼻为呼吸气出入门户，为肺之窍故鼻病与肺关系密切。外感风寒或风热未治疗邪毒滞留于鼻窦，可由鼻而入肺经。肺经伤则气不宣，肺气不宣过久可致气滞血郁鼻症加重以致鼻塞、流浊涕、头额隐痛、嗅觉障碍等。鱼腥草功用主治：清热解毒、利尿消肿；桔梗开宣肺气，祛痰排脓；甘草有和中缓急、润肺解毒调和诸药之功。三者合用有清化湿热、开宣肺气、祛痰排脓之功效。故鱼腥草合剂治疗鼻渊能取得良效，而且优于藜胆丸之功效。药理实验还表明，鱼腥草有效成份鱼腥草素，对卡他球菌、流感杆菌、肺炎双球菌、金黄色葡萄球菌等，有明显的抑制作用。此外尚有抗病毒、镇痛、止血、抑制浆液分泌，促进组织再生等作用。鱼腥草的抗菌谱同我院鼻渊患者鼻腔分泌物培养菌种相似，故临床应用效果满意。鱼腥草药源广，价格低廉，制作方便。合剂无苦味，治疗效果好，无副作用，有推广使用价值。