

舒血宁注射液对脑梗塞患者血小板活化状态的影响

柯俊龙 许志恩[△] 何来鹏 陈 军 梁 维

(广东医学院附属医院神经内科 广东 湛江 524001)

摘要 目的 观察舒血宁注射液(成分 银杏提取物)对脑梗塞患者血小板活化的影响。方法 将 63 例脑梗塞患者随机分为两组,其中拜阿司匹灵组(aspirin group) 31 例,单用拜阿司匹灵治疗,舒血宁注射液 + 拜阿司匹灵组(Ginkgo+aspirin group) 32 例,予拜阿司匹灵联合舒血宁注射液治疗,并设立健康对照组 30 名,测定两组脑梗塞患者急性期和恢复期及健康对照组的 PAC1、CD62P 表达率,所测结果进行比较。结果 两组脑梗塞经分别治疗后,舒血宁注射液 + 拜阿司匹灵组 PAC1、CD62P 表达率较拜阿司匹灵组降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 舒血宁注射液联合拜阿司匹灵可更好的抑制血小板活化。

关键词 脑梗塞;血小板活化;舒血宁注射液

中图分类号 R743 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)02-324-03

The Effect of Shuxuening Injection on the Platelet Activation in the Patient with Cerebral Infraction

KE Jun-long, XU Zhi-en[△], HE Lai-peng, CHEN Jun, LIANG wei

(Department of Neurology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Guangdong, Zhanjiang 524001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of Shuxuening Injection (component Ginkgo extraction) on cerebral infarction. **Methods:** 63 cases of cerebral infarction were randomly divided into two groups, They included 31 cases of bay aspirin group (aspirin group), treated with bay aspirin; 32 cases of Shuxuening Injection combination with bay aspirin group (Ginkgo+aspirin group), treated combination with Shuxuening Injection and bay aspirin; and 30 normal persons were served as healthy control group, determine the positive rate of PAC1, CD62P on the acute stage and recovery stage in the two groups and healthy control group, and researchers were compared. **Results:** After treatment respectively, Expression of PAC1 and CD62P in the Shuxuening Injection combination with bay aspirin group were lower than those in bay aspirin group, suggesting the difference has statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusions:** Treatment by Shuxuening Injection combination with bay aspirin can inhibit the platelet activity better.

Key words: Cerebral infraction; Platelet activation; Shuxuening Injection

Chinese Library Classification(CLC): R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)02-324-03

在脑梗塞血栓形成过程中,血小板起着关键的作用,它除了是血栓的主要组成成分,还能由平滑、非黏性状态转变成黏性的、有突起的状态,释放和表达生物活性物质,促进血栓形成,此过程称为血小板活化,干扰血小板活化在一定程度上可阻止脑血栓形成^[1-3]。舒血宁注射液为银杏提取物,为我国治疗脑梗塞常用中成药,但其对血小板活化的影响没有展开深入研究,作者对脑梗塞患者进行血小板活化指标的检测,并分别给予拜阿司匹灵、拜阿司匹灵 + 舒血宁注射液干预,观察两组直接血小板活化的差异,了解舒血宁注射液对脑梗塞患者血小板活化的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2009 年 11 月--2010 年 12 月在我院神经内科住院脑梗塞患者 63 例,根据全国第四届脑血管会议制定的诊断标准,全部病例均经头颅 CT 或 MRI 扫描确诊。随机单盲法分成两组,拜

阿司匹灵组(aspirin group) 31 例,男性 17 例,女性 14 例,年龄 59~79 岁,平均年龄 68.05 ± 6.57 岁,舒血宁注射液 + 拜阿司匹灵组(Ginkgo+aspirin group) 32 例,男性 16 例,女性 16 例,年龄 57~83 岁,平均年龄 67.33 ± 7.27 岁。另将 30 名健康体检者作为健康对照组,年龄 55~80 岁,平均年龄 67.5 ± 6.76 岁。脑梗塞发病时间均在 3 天内,所有入选者排除高血压,糖尿病,脑栓塞,恶性肿瘤患者,两周内曾服用影响血小板活化药物者,三组年龄及性别构成比无显著性差异, ($P > 0.05$)。

1.2 主要试剂和仪器

CD41-PC5、IgG-FITC、IgM-PE、CD41-PC5、PAC1-FITC、CD62p-PE 均购自美国 BD 公司。拜阿司匹灵,100mg/片,拜耳公司。舒血宁注射液,2ml/支,北京双鹤公司。

1.3 方法

1.3.1 标本收集 全部病例于急性期(发病 3 天以内)和恢复期(治疗第 14 天)采血,均于清晨空腹采血,采用 9 号针头,从肘静脉采血 15ml,加入 1:9 枸橼酸钠抗凝,轻轻摇混,避免震荡,立即送检。在对照管中加入 CD41-PC5、IgG-FITC、IgM-PE 各 5 μ l,在试验管中加入 CD41-PC5、PAC1-FITC、CD62p-PE 5 μ l,在对照管和试验管中各加入血标本 5 μ l,轻轻混匀,室温暗处孵育 15 分钟。每管中分别加入 4%的多聚甲醛 1ml 充分混匀,

作者简介 柯俊龙,男,主治医师,神经病学硕士,主要方向脑血管病和干细胞研究。电话 07592387427 Email: adressor@163.com

[△]通讯作者 许志恩,Email: zjxuzhien@126.com

(收稿日期 2011-07-03 接受日期 2011-07-28)

固定约 10 余分钟。30 分钟内上机分析。计算 PAC1、CD62p 阳性细胞百分数。

1.3.2 治疗方法 拜阿司匹灵组入院当天予拜阿司匹灵 100mg 口服,1 次/d;舒血宁注射液+拜阿司匹灵组当天给予舒血宁注射液 20ml 加入 0.9%氯化钠注射液 250ml 静脉滴注,1 次/d,同时给予拜阿司匹灵 100mg 口服,1 次/d。两组疗程均为 14d。余按常规处理血压、血糖等并发症,未用可能影响 PAC1、CD62P 药物。

1.4 统计学处理

所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较采用最小有意义差异法,两组间比较采用 t 检验进行统计学处理,以 P<0.05 作为检验水准,用 SAS 统计分析系统完成处理过程。

2 结果

- 2.1 健康对照组与拜阿司匹灵组急性期 PAC1、CD62P 表达率比较,P<0.01,差异有统计学意义 健康对照组与舒血宁注射液+拜阿司匹灵组急性期 PAC1、CD62P 表达率比较,P<0.01,差异有统计学意义。
- 2.2 拜阿司匹灵组急性期与恢复期 PAC1、CD62P 表达率比较,P<0.01,差异有统计学意义 舒血宁注射液+拜阿司匹灵组急性期与恢复期 PAC1、CD62P 表达率比较,P<0.01,差异有统计学意义。
- 2.3 拜阿司匹灵组恢复期与舒血宁注射液+拜阿司匹灵组恢复期 PAC1、CD62P 表达率比较,P<0.01,差异有统计学意义。

表 1 健康对照组与拜阿司匹灵组急性期和舒血宁注射液+拜阿司匹灵组急性期 PAC1、CD62P 表达率比较($\%, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Expression of PAC1 and CD62P in healthy control group; therapap with aspirin and Shuxuening Injection combination with bay aspirin on the acute stage($\%, \bar{x} \pm s$)

Group	PAC1	CD62P
Healthy control group	5.38± 3.26	7.16± 3.57
Aspirin group on the acute stage	12.11± 3.84	12.85± 4.10
Gingko+aspirin group on the acute stage	12.49± 3.76	12.70± 3.77

表 2 拜阿司匹灵组急性期和恢复期 PAC1、CD62P 表达率比较($\%, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Expression of PAC1 and CD62P by therapy with aspirin on the acute stage and recovery stage($\%, \bar{x} \pm s$)

Group	PAC1	CD62P
Aspirin group on the acute stage	12.11± 3.84	12.85± 4.10
Aspirin group on the recovery stage	9.73± 3.71	9.62± 4.13

表 3 舒血宁注射液+拜阿司匹灵组急性期和恢复期 PAC1、CD62P 表达率比较($\%, \bar{x} \pm s$)

Tab.3 Expression of PAC1 and CD62P by therapy with Shuxuening Injection combination with bay aspirin on the acute stage and recovery stage($\%, \bar{x} \pm s$)

Group	PAC1	CD62P
Gingko+aspirin group on the acute stage	12.49± 3.76	12.70± 3.77
Gingko+aspirin group on the recovery stage	6.47± 4.51	7.91± 3.95

表 4 拜阿司匹灵组恢复期和舒血宁注射液+拜阿司匹灵组恢复期 PAC1、CD62P 表达率比较($\%, \bar{x} \pm s$)

Tab.4 Expression of PAC1 and CD62P by therapy with Shuxuening Injection combination with bay aspirin and aspirin on the recovery stage($\%, \bar{x} \pm s$)

Group	PAC1	CD62P
Aspirin group on the recovery stage	9.73± 3.71	9.62± 4.13
Gingko+aspirin group on the recovery stage	6.47± 4.51	7.91± 3.95

3 讨论

血小板活化是血栓形成的重要环节。一旦被活化后,血小板和纤维蛋白原将聚集成团,引起血管内血栓形成,造成血管闭塞,这是大多数血栓性疾病发生和发展的机制。血小板膜内、膜表面及血浆中特定的血小板糖蛋白成分发生改变是血小板被活化的重要过程,临床上对血小板膜糖蛋白的监测可辅助观察抗栓治疗效果,监控血栓性疾病的进展,对临床疾病的诊断、

预防与治疗尤为重要。

GPIIb/GPIIIa 复合物(CD41/CD61) 又称 PAC1 是血小板含量最多的糖蛋白,存在于血小板内,包括 α 颗粒、致密颗粒和 OCS 膜上。当激动剂诱导血小板活化时,由膜内向膜外的信号转导促使 GPIIb/GPIIIa 复合物通过开放的管道系统和 α 颗粒释放转向膜外,突出于血小板表面。较强的活化激活剂还可使贮存池内的 GPIIb/GPIIIa 复合物释放。GPIIb/GPIIIa 突出血小板膜后与配体结合后引发产生一系列血小板功能。GPIIb/GPI-

IIa 的结构和空间构象及周围微环境的改变,使纤维蛋白原受体位点暴露,产生受体活性,与纤维蛋白原等多种粘附蛋白配基及相应的受体结合,形成血小板--纤维蛋白原--血小板结合状态,导致血小板聚集^[4-7]。此外,GPIIb/GPIIIa 复合物还可通过精氨酸-天冬氨酸-天冬酰胺(RDN)序列与纤维连接蛋白(FN)、血凝酶敏感蛋白(TSP)、玻联蛋白(Vn)等结合,介导血小板的聚集^[2]。另外多种血小板聚集剂最终都必须通过血小板 GPIIb/GPIIIa 复合物受体途径才能引起血小板聚集。因此,GPIIb/GPIIIa 复合物是多种诱导剂诱导血小板聚集的最终途径,它在血小板膜上的大量表达是血小板活化的一个显著标志,流式细胞仪检测血小板表面的 GPIIb 和 GPIIIa 其量的变化借以反映其血小板活化程度。GMP-140 亦称血小板活化依赖性颗粒膜蛋白(PADGEM),又称 P-Selectin 或 CD62p,血小板活化时,CD62p 大量表达于血小板膜表面。CD62p 具有介导活化血小板和内皮细胞与中性粒细胞和单核细胞粘附的功能^[8-11],介导白细胞在内皮细胞上滚动促进炎症反应。炎症过程中释放的炎症因子如白细胞介素-1、白细胞介素-6 反过来可促进 CD62p 释放,引起血栓形成^[12-14]。有关研究表明 GMP-140 与血浆黏度、纤维蛋白原浓度呈正相关^[15]。因此 CD62p15 在血小板质膜上的表达的增加被认为是血小板活化的特异性标志物^[16]。

实验中观察到两组脑梗塞患者急性期 PAC1、CD62P 表达率较健康对照组明显增高,说明在脑梗塞急性期,由于血管粥样斑块的突然破裂或者血流动力学的改变,使血小板粘附、聚集,从而从安静状态转化为活化状态,使血小板表面受体增多、构型改变,传导信号至膜内,促使更多的血小板活化。因此 PAC1、CD62P 表达率反映了血小板活化的程度,可作为判断脑梗塞病情的指标之一。

舒血宁注射液的有效成分是银杏叶提取物,它的主要成份为银杏黄酮甙、银杏内酯和白果内酯^[17-19]。它具有抑制血小板聚集、降低血液粘度、抗血栓形成等作用。目前已广泛应用于心脑血管疾病治疗。实验中观察到,两组脑梗塞患者恢复期 PAC1、CD62P 表达率均较急性期时下降,但舒血宁注射液+拜阿司匹灵组较单用拜阿司匹灵组明显,差异有统计学意义。说明舒血宁注射液联合拜阿司匹灵可更好的抑制血小板活化,减少血小板聚集,从而达到改善微血管循环,减少脑梗塞再发的目的。

参考文献(References)

- [1] Martin Quinn,Desmond Fitzgerald.Platelet Function Assessment,Diagnosis,andTreatment[M]Beijing Science Press,2008:3-10
- [2] Marczewski MM, Postula M, Kosior D. Novel antiplatelet agents in the prevention of cardiovascular complications--focus on ticagrelor [J]. Vasc Health Risk Manag,2010,6:419-429
- [3] Ombrello C, Block RC, Morrell CN. Our expanding view of platelet functions and its clinical implications [J]. J Cardiovasc Transl Res,

2010,3(5):538-546

- [4] Calvete JJ. On the structure and function of platelet integrin alpha II b beta 3, the fibrinogen receptor[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1995, 208: 346
- [5] Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B. Cell adhesion mechanisms in platelets[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2008,28(3):403-412
- [6] Papathanasiou AI, Goudevenos JA, Mikhailidis DP. Acute and long-term antiplatelet therapy [J]. Drugs Today (Barc),2008,44(5): 331-352
- [7] Seitz RJ, Siebler M. Platelet GPIIb/IIIa receptor antagonists in human ischemic brain disease[J]. Curr Vasc Pharmacol,2008,6(1):29-36
- [8] Nomura S. Function and clinical significance of p latelet2 derived microparticles[J]. Int J Hematol, 2001, 74: 397-404
- [9] Polek A, Sobiczewski W, Matowicka-Karna J. P-selectin and its role in some diseases [J]. Postepy Hig Med Dosw (Online),2009,19;63: 465-470
- [10] Maugeri N, Manfredi AA, Maseri A. Clinical and experimental evidences on the prothrombotic properties of neutrophils [J]. Srp Arh Celok Lek,2010,138 Suppl 1:50-52
- [11] Afshar-Kharghan V, Thiagarajan P. Leukocyte adhesion and thrombosis[J]. Curr Opin Hematol,2006,13(1):34-39
- [12] Tocchetti EV, Fiower RL, Lloyd JV. Assessment of in vitro generated platelet particles using a modified cytometric strategy [J]. Thromb Res, 2001, 103: 47-55
- [13] Ault KA. The clinical utility of flow cytometry in the study of platelet s[J]. Semin Hematol, 2001, 38: 160-168
- [14] 施寅铨,潘伟民.冠心病患者血小板膜糖蛋白 CD62p 表达和血黏度的临床研究[J]. 临床中老年保健,2003,3 (1) :11-13
Shi YQ,Pang WM .Clinical study on assessing platelet activation and blood viscosity in coronary heart disease [J]. Journal Of Clinical Healthcare, 2003,3 (1) :11-13
- [15] Barry OP,Pratico D,Fitz Gerald G. Platelet microparticles enhance adhesive interactions between monocytes and endothelial cells [J]. J clin Invest, 1997, 45: 271
- [16] Storey RF,Heptiusrall S. Laboratory investigation of platdet unction [J]. Clin Lab Haom, 1999, 219-317
- [17] 白炯. 舒血宁的临床应用评价 [J]. 临床医药实践,201019(3): 339-341
Bai Jiong. Clinical Evaluation of Shuxuening Injection [J] Clinical Pharmacy Practice,2003,19,3B:339-341
- [18] Bornhöft G, Maxion-Bergemann S, Matthiessen PF. External validity of clinical trials for treatment of dementia with ginkgo biloba extracts [J]. Z Gerontol Geriatr,2008,41(4):298-312
- [19] Zeng X, Liu M, Yang Y. Ginkgo biloba for acute ischaemic stroke[J]. Cochrane Database Syst Rev,2005,19(4):CD003691