

银丹心脑血管通软胶囊对 2 型糖尿病患者血小板活化因子、血液流变学和血管内皮细胞功能的影响

刘强¹, 邓华聪^{2*}, 何辉¹, 刘瑾瑜¹, 周礼¹, 李永玲³(1.成都市第七人民医院内分泌科, 成都 610041; 2.重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016; 3.四川省人民医院内分泌科, 成都 610072)

摘要: 目的 探讨银丹心脑血管通软胶囊对 2 型糖尿病患者血小板活化因子、血液流变学和血管内皮细胞功能的影响。方法 按随机数字表法将 104 例 2 型糖尿病患者分成对照组(51 例)及治疗组(53 例)。2 组均控制饮食等基础上给予降糖治疗, 使血糖持续达标, 治疗组在此基础上加用银丹心脑血管通软胶囊(每次 1.2 g, 3 次·d⁻¹)连续治疗 12 周。比较 2 组患者治疗前后血小板膜糖蛋白 PAC-1、CD62p 表达, 血液流变学指标和血浆 NO、ET-1 水平的变化。结果 与治疗前比较, 治疗后, 治疗组血小板膜糖蛋白 PAC-1、CD62p 和血液流变学各项指标及血浆 ET-1 均明显下降($P < 0.05$), 血浆 NO 显著升高($P < 0.05$), 且明显优于对照组治疗后($P < 0.05$); 而对照组治疗前后上述指标变化不显著。结论 银丹心脑血管通软胶囊可以抑制血小板活化, 降低血液黏稠度, 升高 NO 和降低 ET-1 的水平, 从而改善糖尿病患者血管内皮细胞功能。

关键词: 银丹心脑血管通软胶囊; 2 型糖尿病; 血小板活化; 血液流变学; 血管内皮功能

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)01-0086-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.01.022

Effects of Yindan Xinnaotong Capsule on Platelet Activating Factors, Blood Rheology and Endothelial Function in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

LIU Qiang¹, DENG Huacong^{2*}, HE Hui¹, LIU Jinyu¹, ZHOU Li¹, LI Yongling³(1.Department of Endocrinology, the Seven People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610041, China; 2.Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 3.Department of Endocrinology, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of Yindan Xinnaotong capsule on platelet activating factors, blood rheology and endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. **METHODS** A total of 104 patients with type 2 diabetes mellitus were randomly arranged into the two groups, receiving glucose-lowering drug only(control group, 51 cases) or glucose-lowering drug plus with Yindan Xinnaotong capsule(treatment group, 53 cases) respectively. The therapeutic course for all were 12 weeks. The expression of membrane glycoprotein PAC-1 and CD62p, the parameters of blood rheology, NO and ET-1 were detected in 2 groups before and after treatment. **RESULTS** Compared with before treatment, the expression of platelet membrane glycoprotein PAC-1 and CD62p, the parameters of blood rheology and ET-1 were significantly lower ($P < 0.05$), NO were significantly higher in the treatment group($P < 0.05$), meanwhile the changes of datas in the treatment group were more significantly than those in the control group($P < 0.05$). There was no significant differences of datas between before and after treatment in control group. **CONCLUSION** Yindan Xinnaotong capsule can decrease the platelet activation, blood viscosity, ET-1 and imcrease NO, and also improve the vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus.

KEY WORDS: Yindan Xinnaotong capsule; type 2 diabetes mellitus; platelet activation; blood rheology; endothelial function

糖尿病血管并发症的病理生理涉及到血管内皮功能损害、血小板活化及血液流变学异常等多种因素^[1-3]。因此, 抑制血小板活性、纠正血液高凝状态并保护血管内皮细胞功能可能是减少或延缓糖尿病血管并发症的有效措施之一。银丹心脑

通软胶囊是根据苗医药“两病两纲”的理论基础研制的复方制剂, 具有活血化瘀、行气止痛、消食化滞等功能, 临床主要用于气滞血瘀引起的冠心病心绞痛、高脂血症等^[4]。本研究旨在探讨银丹心脑通软胶囊对糖尿病患者血小板活性和血液流

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771038)

作者简介: 刘强, 男, 硕士, 主治医师 Tel: 13402804047 E-mail: lq33165@sina.com *通信作者: 邓华聪, 女, 博士, 博导 Tel: 15608081980 E-mail: deng_hua_cong@yahoo.com.cn

变学以及血管内皮细胞功能的影响。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

根据 1999 年世界卫生组织(WHO)公布的糖尿病诊断及分型标准,具备以下 3 项之一:①糖尿病症状(多饮、多食、多尿、体质量下降)+任意时间点血浆葡萄糖 $\geq 11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;②空腹葡萄糖 $\geq 7.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;③口服葡萄糖耐量试验 2 h 血浆葡萄糖(2h PG) $\geq 11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.2 纳入标准

① $18.0 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ <身体质量指数(BMI)< $25.0 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$;②无吸烟史和长期大量饮酒史;③心肝肾功能正常,无其他严重器质性病变及糖尿病急性并发症;④患者依从性好,能积极配合治疗并定时用药;⑤患者签署知情同意书。

1.3 排除标准

①近期有急慢性感染;②妊娠、哺乳期妇女以及近期服用雌激素的女性;③近 3 个月应用可能影响血小板活化的药物(如:肾上腺素、5-羟色胺、阿司匹林或氯吡格雷等)和抗凝血药物(如:肝素、华法林等);④呕血、咯血等急性出血者;⑤凝血功能异常、血管畸形、自身免疫性疾病、恶性肿瘤者。

1.4 脱落及终止试验的标准

脱落病例为试验过程中出现病情迅速恶化或严重并发症不宜继续接受试验者、发生严重的不良事件(如与试验用药无关的死亡)执行退出或未能完成整个疗程者、试验过程中出现严重的肝肾功能损害或者心力衰竭者终止试验。

1.5 分组及治疗方法

选取 2013 年 1 月—2014 年 2 月在笔者所在医院内分泌科门诊或住院的 104 例 2 型糖尿病患者,按随机数字表法分成对照组(51 例)和治疗组(53 例)。2 组均在控制饮食、糖尿病知识教育、运动等基础性上给予降糖治疗(降糖措施不限),目标血糖 $\text{FPG} \leq 7.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{HbA1c} \leq 7\%$ 。治疗组在此基础上基础治疗上,加用银丹心脑通软胶囊(贵州百灵制药有限公司,批准文号:国药准字 Z20027144),每次 1.2 g,3 次 $\cdot\text{d}^{-1}$ 。上述 2 组均以 12 周为 1 个试验周期。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 一般临床资料 由专人负责测定 2 组患者身高、体质量、收缩压(SBP)、舒张压(DBP),并

计算 $\text{BMI} = \text{体质量}(\text{kg}) / \text{身高}(\text{m})^2$ 。

1.6.2 血液流变学指标测定 所有患者分别在治疗前后抽取肘前静脉空腹血(禁食 8 h、不扎止血带、弃去前混有组织液的 2 mL 血液)2 份各 5 mL 分别置于肝素抗凝管和乙二胺四乙酸二钠(EDTA)抗凝管中充分混匀。EDTA 抗凝管中血样立即送检血小板活性指标测定。肝素抗凝管中血样送医院实验室检测血液流变学指标,由全自动血流仪(普利生 LBY-N6C 型)测定。标本必须在 4 h 内完成检测。

1.6.3 血小板活性指标测定 异硫氰酸荧光素标记的抗血小板活化 GP II b/IIIa(PAC-1 FITC)、藻红蛋白标记的 P-选择素(CD62p PE)、叶绿素蛋白标记的血小板糖蛋白 IIIa(CD61-PerCP)、PE 标记的鼠 IgG(MIgG-PE)、FACSCalibur 型流式细胞仪均购自美国 BD 公司。同型对照 RGDS($5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 美国 Sigma 公司)。将 EDTA 抗凝管中血样分别加入对照管和试验管各 5 μL ,对照管中加入 PAC-1 FITC、RGDS、MIgG-PE、CD61-PerCP 各 10 μL ;试验管中加入 PAC-1 FITC、CD62p PE、CD61-PerCP 各 10 μL ,混匀,避光室温下放置 20 min,加入预冷 5°C 1%多聚甲醛的 PBS 2 mL 终止反应(以上步骤均在 1 h 内完成),在流式细胞仪上测定。按阴性对照管做 PAC-1 FITC 对 CD62p PE 的双参数分析,从而计算出 CD62p 和 PAC-1 阳性血小板百分数。

1.6.4 一氧化氮(NO)、内皮素(ET-1)的测定 另留取 5 mL 空腹静脉血,置于 EDTA 抗凝管中, 4°C $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,收集上层血浆 1 mL 备用。NO 采用比色法检测(检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,按说明书操作,批号:20131223);ET-1 采用放射免疫法检测(试剂盒购置于解放军总医院科技开发中心,按说明书操作,批号:20071228)

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件包进行统计处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料比较

对照组 51 例,男性 28 例,女性 23 例;年龄 45~74 岁,平均(59.33 ± 11.25)岁;病程 4~15 年,平均(9.54 ± 5.66)年;SBP 为(130.81 ± 5.42)mmHg, DBP 为(76.2 ± 8.22)mmHg。治疗组 53 例,男性 31 例,女性 22 例;年龄在 42~77 岁,平均($58.35 \pm$

13.97)岁; 病程 5~17 年, 平均(8.04±6.78)年; SBP 为 (129.65 ± 5.09)mmHg; DBP 为 (74.98 ± 9.5)mmHg。2 组年龄、性别构成、病程和 SBP 及 DBP 比较差异均无统计学意义, 具有可比性。治疗过程中, 对照组脱落 1 例, 终止 1 例, 最终纳入有效病例 49 例; 治疗组脱落 3 例, 终止 2 例,

最终纳入有效病例 48 例。

2.2 治疗前后血液流变学指标的比较

治疗后, 与对照组和治疗前比较, 治疗组血液流变学各项指标明显下降, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。但对照组治疗前后上述指标降低不显著, 结果见表 1。

表 1 两组患者治疗前后血液流变学指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of the parameters of blood rheology in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	全血黏度/ $\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$			血浆黏度/ $\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$	红细胞 压积/%	纤维蛋白原/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
		高	中	低			
对照组	治疗前	5.16±1.6	8.09±1.38	17.66±3.97	1.55±0.57	48.14±4.19	3.38±0.84
	治疗后	4.72±1.1	7.60±1.21	16.25±3.53	1.40±0.40	46.82±2.76	3.20±0.70
治疗组	治疗前	4.89±1.6	8.01±1.63	17.27±3.40	1.48±0.37	46.78±3.27	3.16±0.82
	治疗后	3.85±1.02 ¹⁾²⁾	6.89±1.14 ¹⁾²⁾	14.31±3.24 ¹⁾²⁾	1.22±0.23 ¹⁾²⁾	43.79±2.72 ¹⁾²⁾	2.77±0.67 ¹⁾²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与治疗前比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with pre-treatment, ²⁾ $P<0.05$ 。

2.3 治疗前后血小板活性指标与 NO、ET-1 变化的比较

与治疗前比较, 治疗组患者治疗后血小板活化指标 PAC-1、CD62p 及 ET-1 明显下降, 而 NO

则比治疗前显著升高, 且差异均具有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗组治疗后 PAC-1、CD62p 和 ET-1 及 NO 较对照组治疗后也有明显改变 ($P<0.05$); 但对照组治疗前后上述指标变化不显著, 结果见表 2。

表 2 2 组患者治疗前后 PAC-1、CD62p 及 NO、ET-1 变化的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of the levels of PAC-1, CD62p, NO and ET-1 in two groups before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	PAC-1/%	CD62p/%	NO/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	ET-1/ $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
对照组	治疗前	31.18±7.87	23.60±4.59	44.57±6.35	114.60±16.28
	治疗后	29.36±6.10	21.97±3.42	46.79±5.52	107.74±18.01
治疗组	治疗前	30.56±7.82	22.18±4.38	43.13±5.09	112.54±12.84
	治疗后	24.25±4.59 ¹⁾²⁾	18.81±3.34 ¹⁾²⁾	57.05±7.89 ¹⁾²⁾	97.38±9.36 ¹⁾²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与治疗前比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with pre-treatment, ²⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

银丹心脑血管通软胶囊的主要成分为银杏叶、丹参、灯盏细辛、绞股蓝等药物, 具有活血化瘀、行气止痛等功效, 临床主要用于冠心病心绞痛、高脂血症、脑动脉硬化、中风及中风后遗症等。现代中药药理学研究发现, 银杏提取物中所含的有效成分黄酮类和萜内酯类化合物, 能清除氧自由基、调节超氧化物歧化酶活性、对抗脂质过氧化反应^[5], 并能通过抑制血小板磷酸二酯酶活性, 提升血小板 cAMP 水平, 从而抑制血小板黏附和聚集, 降低血液黏度、延缓血栓形成^[6]; 丹参能明显增加心脏冠状动脉血流量, 促进心肌梗死后缺血心肌血管新生^[7], 并降低急性梗死心肌细胞凋亡

相关蛋白的表达水平, 对抑制急性心肌梗死细胞凋亡有着重要意义^[8-9]; 灯盏细辛可明显降低血液黏滞度、改善血液流动性, 扩张微细动脉, 改善缺氧, 减轻脑组织缺血缺氧性损伤^[10]; 绞股蓝可调节血脂异常、抗血栓形成, 改善微循环障碍^[11], 还有明显的降血糖作用^[12]。

PAC-1 主要反映纤维蛋白原受体的表达情况, 特异性识别血小板膜上 GP II b/IIIa 复合物抗原决定簇, 形成血小板-纤维蛋白原-血小板结合状态, 导致血小板聚集, 是早期血小板活化的重要标志物。CD62p 是一种跨膜蛋白, 黏附分子选择素家族成员之一, 主要分布在静止的血小板 a 颗粒和血管内皮细胞的 weibel-palade 体中。在刺激因素作

用下, CD62p 迅速在血小板和血管内皮细胞表面表达, 介导血小板和血管内皮细胞与中性粒细胞、单核细胞表面的配体结合, 促进白细胞聚集和黏附, 启动并放大血栓形成和发展。因此, 血小板表面 CD62p 的表达或其阳性的血小板百分率增加是活化血小板的特异性标志。流行病学及临床研究发现, 2 型糖尿病患者血小板具有显著黏附、聚集及成分释放等活化表现, 血液呈现出高凝高黏, 导致血液流变学改变和微循环障碍的血栓前状态, 甚至在糖耐量异常阶段就已经出现血液流变学的改变^[13], 异常的血液流变学变化在糖尿病慢性血管并发症的发生和发展中起着重要的作用^[14-15]。本研究结果显示, 常规控制血糖达标对糖尿病患者血小板活性及血液流变学影响不显著, 而在此基础上加用银丹心脑血管通软胶囊治疗 12 周后, 血小板活性指标 PAC-1 和 CD62p 以及血液流变学各项指标均较治疗前明显下降。表明银丹心脑血管通软胶囊可以通过抑制血小板活化, 对抗血小板黏附、聚集, 明显降低血液黏稠度, 有效改善糖尿病患者微循环障碍。

血管内皮功能障碍是糖尿病血管并发症发生、发展的基础, NO 和 ET-1 是一对与血管内皮功能密切相关的生物活性物质, NO 具有强力的扩张血管作用, ET-1 是一种强的缩血管因子, 两者在体内保持动态平衡共同维护血管张力。糖尿病长期的糖脂代谢紊乱、氧化应激反应等多种因素引起 NO 浓度的下调, ET-1 过量表达和释放, 最终导致 NO/ET-1 比例动态失衡, 是引起血管内皮功能不全的主要致病机制^[16]。血管内皮细胞功能不全可促进血小板活化和聚集, 在内皮细胞损伤处形成微血栓, 导致组织缺血、缺氧; 而微循环障碍又可进一步加重血管内皮细胞障碍, 使内皮细胞进一步减少 NO 生成, 增加 ET-1 释放, 形成恶性循环。银丹心脑血管通软胶囊显著升高糖尿病患者血 NO 水平、降低 ET-1 水平, 改善 NO/ET-1 动态平衡, 从而达到保护血管内皮细胞功能的作用。

本研究表明, 银丹心脑血管通软胶囊能够抑制血小板活化, 降低血液黏稠度, 升高 NO 和降低 ET-1 水平, 从而保护糖尿病患者血管内皮细胞功能; 对预防和延缓糖尿病血管并发症的发生、发展有积极的临床应用价值。

REFERENCES

- [1] SENA C M, PEREIRA A M, SEIÇA R. Endothelial dysfunction-a major mediator of diabetic vascular disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(12): 2216-2231.
- [2] REINHART W H. Platelets in vascular disease [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2013, 53(1/2): 71-79.
- [3] VELCHEVA I, DAMIANOV P, ANTONOVA N, et al. Hemorheology and vascular reactivity in patients with diabetes mellitus type 2 [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2011, 49(1-4): 505-511.
- [4] 郑莉. 银丹心脑血管通软胶囊的临床应用分析[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(2): 248-250.
- [5] REN M, REN S P, YANG S J, et al. Effects of Ginkgo biloba extract on the oxidative stress in diabetic rats [J]. *Chin J Lab Diagn*(中国实验诊断学), 2010, 14(2): 199-201.
- [6] TAN P, HAO Y, DING S J, et al. Mechanism of platelet anti-aggregation with Ginkgo biloba extract [J]. *Chin J Neuromed*(中华神经医学杂志), 2011, 10(3): 260-263.
- [7] ZHANG S J, WANG Z T, HAN L H, et al. Effect of Salvia Miltiorrhiza injection on angiogenesis in ischemic myocardium of myocardial infarction rats [J]. *J Tradit Chin Med*(中医杂志), 2011, (18): 1590-1592.
- [8] REN H Q, ZHAO L, WANG Z, et al. Effect of compound Danshen Dripping pill on apoptosis of cardiac muscle cells and apoptosis-related gene expression in rats with acute myocardial infarction [J]. *Chin J Arterioscler*(中国动脉硬化杂志), 2013, 21(12): 1084-1088.
- [9] ZHANG H H, HUANG S W, WANG L L, et al. Myocardium protection of tanshinone on ischemia reperfusion injury of rabbits with acute myocardial infarction [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2013, 30(10): 1062-1066.
- [10] 林小娟, 王梅平, 刘钦华. 灯盏细辛注射液对脑梗死患者血液流变学的影响[J]. *临床神经病学杂志*, 2003, 16(6): 375.
- [11] MA P B, ZHU Q H, HUANG Z W. Effects of *Gynostemma pentaphyllum* on the blood-lipid and hemorheology in hyperlipidemia rabbits [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2005, 22(6): 454-455.
- [12] DU X P, HOU Y, TAN H, et al. Hypoglycemic activity of polysaccharide from *Gynostemma pentaphyllum* on type 2 diabetic rats and its mechanism [J]. *Sci Tech Eng*(科学技术与工程), 2011, 11(24): 5754-5758.
- [13] RICHARDS R S, NWOSE E U. Blood viscosity at different stages of diabetes pathogenesis [J]. *Br J Biomed Sci*, 2010, 67(2): 67-70.
- [14] TAMARIZ L J, YOUNG J H, PANKOW J S, et al. Blood viscosity and hematocrit as risk factors for type 2 diabetes mellitus: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study [J]. *Am J Epidemiol*, 2008, 168(10): 1153-1160.
- [15] CERBONE A M, MACARONE-PALMIERI N, SALDALA-MACCHIA G, et al. Diabetes, vascular complications and antiplatelet therapy: open problems [J]. *Acta Diabetol*, 2009, 46(4): 253-261.
- [16] MONTEZANO A C, TOUYZ R M. Reactive oxygen species and endothelial function-role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2012, 110(1): 87-94.

收稿日期: 2014-04-22