

• 论著 •

全蝎纯化液对凝血酶所致血液凝固的影响

彭延古, 黄 莺, 易小民, 徐爱良

(湖南中医药大学东塘校区血管生物学实验室, 湖南 长沙 410007)

【摘要】 目的 探讨全蝎纯化液对凝血酶所致凝血/纤溶系统变化的影响。方法 实验 1: 将 18 只 SD 大鼠随机分为对照组、凝血酶组和全蝎纯化液组, 每组 6 只。凝血酶组颈外静脉注射凝血酶 70 U/kg, 15 min 内注完; 全蝎纯化液组于注射凝血酶前腹腔注射全蝎纯化液 20 mg/kg; 对照组给予 16 ml/kg 生理盐水。于注射凝血酶后 10 min 取颈总动脉血, 测定血浆活化部分凝血活酶时间 (APTT)、凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)。实验 2: 将 15 只家兔随机分为对照组、凝血酶组和全蝎纯化液组, 每组 5 只。实验方法同实验 1, 凝血酶剂量为 50 U/kg, 药物均经耳缘静脉注射。于注射凝血酶后 3 h 经颈总动脉取血, 测定血浆血栓素 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F_{1α} (6-keto-PGF_{1α})、组织型纤溶酶原激活物 (tPA) 及其抑制物 (PAI) 含量。结果 全蝎纯化液可明显延长 APTT [(43.6 ± 1.3) s 比 (28.2 ± 0.9) s]、PT [(13.1 ± 0.7) s 比 (9.8 ± 0.3) s]、TT [(19.9 ± 1.1) s 比 (13.9 ± 0.9) s], 明显降低血浆 TXB₂ [(56.8 ± 23.2) ng/L 比 (133.4 ± 21.3) ng/L]、PAI 含量 [(4.9 ± 0.5) kAU/L 比 (8.5 ± 1.1) kAU/L], 增加血浆 6-keto-PGF_{1α} [(35.3 ± 2.5) ng/L 比 (21.4 ± 2.8) ng/L]、tPA 含量 [(4.6 ± 0.9) kU/L 比 (2.3 ± 0.5) kU/L], 与凝血酶组比较差异均有统计学意义 (均 P < 0.01)。结论 全蝎纯化液可降低内、外源性凝血系统因子的活性, 增加纤溶系统活性, 进而抑制凝血酶的作用。

【关键词】 全蝎; 凝血酶; 抑制作用

中图分类号: R285.5; R552 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.03.003

The effect of scorpion anticoagulant refined solution on thrombin-induced blood coagulation PENG Yan-gu, HUANG Ying, YI Xiao-min, XU Ai-liang. *Vascular Biology Laboratory, Hunan Traditional Chinese Medicine University, Changsha 410007, Hunan, China*

【Abstract】 Objective To study the effect of scorpion anticoagulant refined solution on thrombin-induced blood coagulation. **Methods** Experiment one; 18 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups; normal control, thrombin and scorpion solution groups (each, n=6). Thrombin 70 U/kg was injected within 15 minutes through external jugular vein in the thrombin group. Before the injection of thrombin, the scorpion solution 20 mg/kg was intra-peritoneally injected in scorpion solution group, and in the normal control group, 16 ml/kg normal saline (NS) was injected. Ten minutes after the injection of thrombin, the blood was collected from common carotid artery to detect the plasma activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT). Experiment two; 15 rabbits were randomly divided into three groups; normal control, thrombin and scorpion solution groups (each, n=5). The rabbits in the three groups were treated by the same ways as in experiment one. The dose of thrombin was 50 U/kg, and the way of injection was ear vein. Three hours after the injection of thrombin, the common carotid artery blood was obtained, and the level of thromboxane B₂ (TXB₂), 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}), tissue-type plasminogen activator (tPA) and its inhibitor (PAI) were detected. **Results** Scorpion refined solution could obviously prolong the APTT [(43.6 ± 1.3) s vs. (28.2 ± 0.9) s], PT [(13.1 ± 0.7) s vs. (9.8 ± 0.3) s], TT [(19.9 ± 1.1) s vs. (13.9 ± 0.9) s], and significantly decrease the concentration of TXB₂ [(56.8 ± 23.2) ng/L vs. (133.4 ± 21.3) ng/L] and PAI [(4.9 ± 0.5) kAU/L vs. (8.5 ± 1.1) kAU/L], increased the concentration of 6-keto-PGF_{1α} [(35.3 ± 2.5) ng/L vs. (21.4 ± 2.8) ng/L] and tPA [(4.6 ± 0.9) kU/L vs. (2.3 ± 0.5) kU/L], there were significant differences compared with thrombin group (all P < 0.01). **Conclusion** Scorpion refined solution can lower the activities of intrinsic and extrinsic coagulation system factors and enhance the activity of fibrinolytic system, thus it may inhibit the action of thrombin.

【Key words】 Scorpion; Thrombin; Inhibition effect

血栓-栓塞性疾病是严重危害人类健康的疾病, 抗凝、抗血栓药物是治疗此类疾病比较有效的方法^[1]。全蝎是一味传统的中药, 具有熄风镇痉、祛风攻毒等功效^[2], 目前多用于急性惊风、中风面瘫、破伤风痉挛等症, 这类疾病常与体内血小板活化、凝血

酶形成等高凝状态, 乃至血栓形成有密切关系, 因而抗凝、抗血小板成为治疗这类疾病的重要手段。本实验中从凝血、纤溶等方面研究全蝎纯化液对凝血酶所致血液凝固的影响, 报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂: 全蝎购自湖南省医药公司, 经水煮沸沉、凝胶过滤、离子交换层析等分离纯化过程将其制备成注射剂。雄性 SD 大鼠 200~220 g, 新西兰白兔 1.8~2.0 kg, 雌雄不拘, 购自湖南省东

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30772715); 湖南省教育厅重点项目 (07A0543)

作者简介: 彭延古 (1952-), 女 (土家族), 湖南省人, 教授, 硕士生导师, Email: pyg888@163.com.

实验动物科技服务部。活化部分凝血活酶时间 (APTT)、凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、组织型纤溶酶原激活物 (tPA) 及其抑制物 (PAI) 试剂盒购自上海太阳公司; 血栓素 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}) 放射免疫法检测试剂盒购自苏州医学院。

1.2 实验方法

1.2.1 全蝎纯化液对凝血酶所致大鼠凝血指标变化的影响: 将 18 只 SD 大鼠按随机数字表法分为 3 组, 每组 6 只。①凝血酶组: 腹腔内注入生理盐水 16 ml/kg 后 15 min, 颈外静脉注射凝血酶 70 U/kg, 15 min 内注完。②全蝎纯化液组: 腹腔内注射全蝎纯化液 20 mg/kg 后 15 min, 颈外静脉注射凝血酶 70 U/kg, 15 min 内注完。③对照组: 腹腔内和颈外静脉各注射 16 ml/kg 生理盐水。各组注射凝血酶后 10 min, 从颈总动脉插管取血, 测定血浆 APTT、PT 及 TT。

1.2.2 全蝎纯化液对凝血酶所致家兔血浆 TXB₂、6-keto-PGF_{1α}、tPA 及 PAI 变化的影响: 将 15 只家兔按随机数字表法分为 3 组, 每组 5 只。①凝血酶组: 耳缘静脉注射生理盐水 16 ml/kg 后 15 min, 再注射凝血酶 50 U/kg, 15 min 内注完。②全蝎纯化液组: 耳缘静脉注射全蝎纯化液 20 mg/kg 后 15 min, 再注射凝血酶 50 U/kg, 15 min 内注完。③对照组: 耳缘静脉注射 16 ml/kg 生理盐水。各组注射凝血酶后 3 h, 从颈总动脉取血, 用放射免疫法测定血浆 TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 水平, 用发射底物分析法测定血浆 tPA、PAI 水平, PAI 以活性单位 AU 表示。

1.3 统计学方法: 用 SPSS 10.0 软件统计分析, 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 全蝎纯化液对凝血酶所致大鼠凝血指标变化的影响 (表 1): 凝血酶组 APTT、PT 和 TT 均较对照组明显缩短 (均 *P* < 0.01); 而全蝎纯化液组则能使缩短的 APTT、PT 和 TT 明显延长, 与凝血酶组比较差异均有统计学意义 (均 *P* < 0.01)。说明全蝎纯化液对外源性凝血系统和内源性凝血系统均有明显的抑制作用。

2.2 全蝎纯化液对凝血酶所致家兔血浆 TXB₂、6-keto-PGF_{1α}、tPA 及 PAI 变化的影响 (表 2): 家兔注入凝血酶后, 血浆 TXB₂、PAI 含量明显升高, 6-keto-PGF_{1α}、tPA 含量明显降低, 与对照组比较差异有统计学意义 (均 *P* < 0.01); 而全蝎纯化液组

TXB₂、PAI 含量明显低于凝血酶组, 6-keto-PGF_{1α}、tPA 含量明显高于凝血酶组 (均 *P* < 0.01), 且与对照组比较差异无统计学意义 (均 *P* > 0.05)。说明全蝎纯化液对血小板活化具有抑制作用, 并能增强纤溶活性。

表 1 全蝎纯化液对凝血酶所致大鼠 APTT、PT、和 TT 变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	APTT (s)	PT (s)	TT (s)
对照组	6	37.8 ± 1.1	12.6 ± 0.5	16.8 ± 0.7
凝血酶组	6	28.2 ± 0.9 ^a	9.8 ± 0.3 ^a	13.9 ± 0.9 ^a
全蝎液组	6	43.6 ± 1.3 ^b	13.1 ± 0.7 ^b	19.9 ± 1.1 ^b

注: 与对照组比较, ^a*P* < 0.01; 与凝血酶组比较, ^b*P* < 0.01

表 2 全蝎纯化液对凝血酶所致家兔血浆 TXB₂、6-keto-PGF_{1α}、tPA 及 PAI 变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	TXB ₂ (ng/L)	6-keto-PGF _{1α} (ng/L)	tPA (kU/L)	PAI (kAU/L)
对照组	5	40.5 ± 18.2	42.3 ± 3.6	3.9 ± 0.8	5.3 ± 0.7
凝血酶组	5	133.4 ± 21.3 ^a	21.4 ± 2.8 ^a	2.3 ± 0.5 ^a	8.5 ± 1.1 ^a
全蝎液组	5	56.8 ± 23.2 ^b	35.3 ± 2.5 ^b	4.6 ± 0.9 ^b	4.9 ± 0.5 ^b

注: 与对照组比较, ^a*P* < 0.01; 与凝血酶组比较, ^b*P* < 0.01

3 讨论

正常机体内凝血与抗凝血保持动态平衡, 血液成分的改变, 如血小板质和量的变化, 凝血因子的增减或纤溶系统活性的高低, 均可影响这种平衡。当血小板或凝血因子增多或纤溶活性降低时, 可使血流呈高凝状态, 使凝血机制较正常情况时易受到触发, 从而有血栓形成的倾向。目前已经明确, 血栓形成与血管内皮细胞损伤及内皮-血小板功能紊乱的关系密切。

tPA 及 PAI 是反映纤溶的主要指标, 同时可反映血管内皮功能, 是调节纤溶系统功能的关键物质^[3-4]。tPA 使纤溶酶原活化为纤溶酶, 而 PAI 则对 tPA 有快速高效的抑制作用^[5]。tPA 活性降低, PAI 活性升高, 可致血栓形成^[6], 所以 tPA 和 PAI 的平衡决定纤溶系统的功能。TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 是花生四烯酸的两种产物, 在体内具有很高的生物活性^[7]。而反映机体内皮-血小板功能的物质为前列环素 (PGI₂)、TXA₂, 这一对互为拮抗的物质在调节血管舒缩、血小板聚集等方面起着重要的作用。因此, PGI₂/TXA₂ 含量平衡与否, 与血栓形成有极大的联系。本研究表明, 凝血酶刺激时 TXB₂、PAI 含量升高, 血小板处于活化状态, 而全蝎纯化液能明显降低这些物质的含量。这可能与全蝎纯化液可通过抑制血小板活化而起到抗凝、抗血栓形成的作用有关。PGI₂ 具有抑制血小板聚集和扩血管作用, 其代谢产

物为 6-keto-PGF_{1α}。tPA 能使纤溶酶原激活为纤溶酶,继而纤维蛋白水解。研究表明,tPA 的分泌与释放是维持循环中血栓形成和溶解的重要因素^[8-9]。本结果表明,全蝎纯化液能增加血浆中 6-keto-PGF_{1α} 和 tPA 的含量,表明其血管内皮细胞释放抗凝促纤溶生物活性物质的作用增强,从而抑制凝血酶,增加血管内皮细胞抗血栓能力。

凝血过程为一系列的酶促反应,包括内源性凝血系统、外源性凝血系统及其共同途径。内源性凝血系统和外源性凝血系统两者最终都要通过激活因子 X,形成凝血酶激活物,使凝血酶原转变成凝血酶,从而使血液凝固^[10]。故凝血酶的形成成为内源性凝血系统和外源性凝血系统的共同途径,抑制凝血酶活性是防治血栓性疾病的重要方法之一。APTT 和 PT 分别反映内源性凝血系统和外源性凝血系统的活性,而 TT 反映的是凝血酶活性。本研究结果表明,全蝎纯化液具有延长 APTT、PT、TT 的作用,说明其对内源性和外源性凝血途径都具有抑制作用,其作用环节可能是在两者的共同途径,即对抗凝血酶的活性。提示此抑制作用可能在抗血栓中起重要作用。

参考文献

[1] 张文博,史青.抗血栓药物的新进展.滨州医学院学报,2000,23(3):302-304.
 [2] 郝晓元,彭延古,肖长江.全蝎提取液对血液凝固的影响.血栓与止血学,2001,7(4):158-159.
 [3] van Hinsbergh VW, Kooistra T, van den Berg EA, et al. Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. Blood, 1988, 72(5):1467-1473.
 [4] Schneider DJ, Ricci MA, Taatjes DJ, et al. Changes in arterial expression of fibrinolytic system proteins in atherogenesis. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(11):3294-3301.
 [5] 万海同,白海波,杨洁红,等.养阴方对培养人脐静脉内皮细胞抗凝和纤溶功能的影响.中国中西医结合急救杂志,2001,8(6):335-337.
 [6] 郝晓元,苏云,彭延古.僵蚕注射液对凝血酶诱导血管内皮细胞纤溶平衡的影响.中国中西医结合急救杂志,2007,14(2):70-72.
 [7] 刘戈力,初桂兰,丛培荣,等.小儿肺炎及肺炎心衰时血栓素 B₂ 和 6-酮-前列腺素 F_{1α} 的变化.中国危重病急救医学,1993,5(5):292-293.
 [8] 张敬霞,孙根义,陈永利,等.组织型纤溶酶原激活物在急性肺血栓栓塞肺动脉组织中的表达.中国危重病急救医学,2004,16(8):481-483.
 [9] 史卫国,王津文,毕建亭.葛根素对急性冠状动脉综合征患者胰岛素抵抗及纤溶活性的影响.中国中西医结合急救杂志,2004,11(5):307-310.
 [10] 邓常青,柯庆,贺石林.赤芍抗凝作用实验研究.中药药理与临床,1991,7(1):20-23.

(收稿日期:2010-05-10)
(本文编辑:李银平)

• 书评 •

《李恩中西医结合学术思想研究》一书发行

曹尔澄,李银平

《《中国危重病急救医学》杂志社,天津 300050)

近日,由“中共党史人物传编委会”编辑出版的《开国将士风云录》中收录了一位在中国中西医结合领域享有很高声誉的教授事迹,他就是河北医科大学中西医结合研究所所长,中西医结合博士后科研流动站负责人,博士研究生导师,享受政府特殊津贴专家,我国中西医结合学会的创始人之一李恩教授。2009 年 12 月,《李恩中西医结合学术思想研究》一书由北京科学技术出版社出版,该书的首发式在北京人民大会堂举行。

我国的中西医结合经历了半个世纪的风风雨雨,前辈们做了大量工作,季钟朴、邝安、吴咸中、陈可冀、沈自尹、吕维伯、尚天裕、祝湛予、张伯礼等一大批著名专家,都为推动中西医结合学科发展作出了历史性的贡献。虽然前辈们取得的成绩是巨大的,但是,现在医学界仍然还在争论着什么叫中西医结合、中医能不能结合、为什么要中西医结合、怎么搞中西医结合等问题。产生这些争论的根本原因之一就在于把中西医结合看成是一种方法,而不是一门医学学科。方法学可以有所不同,有多种看法是完全正常的。但作为一门医学学科,必须从这个科学的本质和任务来认识它。通过历代中西医结合工作者 50 多年的临床实践和反复认证研究,有些问题得到了比较清晰的回答。《李恩中西医结合学术思想研究》一书也尝试着在这方面做出了一些回答。

《李恩中西医结合学术思想研究》一书在回顾中西医结合 50 年发展历史的同时,也展望了中西医结合未来的发展前景。该书的核心内容为“走上中西医结合之路;中西医结合研究思路与方法论;高等学校教学改革与中西医结合教育;教书与育人;中西医结合科学普及;著书立说,传播医学;中医学与中西医结合医学展望”7 个篇章,共有 209 篇文章。全书的每个篇章开头都有篇首导读,介绍该篇的主旨、内容、背景、意义、目的等。

《李恩中西医结合学术思想研究》是一部科学、全面总结及论述我国中西医结合医学学科领域成就的著作。该书在大量的理论论证、科学研究和长期实践的基础上,在学术界明确提出了中西医结合是完整的医学学科的观点,为我国中西医结合研究提供了重要参考资料。