

蚓激酶对实验性血栓的影响*

朱 燕 何执中¹ 孙可迪² 王少飞²

(中国药科大学药理学教研室,¹生物化学教研室, 南京 210009)

摘 要 蚓激酶十二指肠给药可使家兔颈外静脉血栓溶解变小, 并可缩短优球蛋白溶解时间, 灌胃给药可延长大鼠颈动脉电损伤血栓模型的堵塞时间。结果表明蚓激酶具有抗血栓和溶血栓作用。

关键词 蚓激酶; 抗血栓; 溶血栓

蚓激酶是从蚯蚓中提取的含酶复合物。1983年日本宫琦医科大学美原恒教授首次证明蚓激酶具有溶解纤维蛋白的作用。80年代后期, 国内学者先后对蚓激酶进行了提取、纯化及鉴定工作^[1~3], 并进行了许多体内体外试验, 观察到蚓激酶具有抗凝、纤溶、抗血栓及溶血栓作用^[1, 4~8]。临床研究表明, 蚓激酶可使体内外血栓形成时间延长, 既抗凝又不影响止血, 有利于血栓的防治^[9]。国内临床已用于脑梗塞的治疗, 取得一定的疗效^[10, 11]。为了直接观察蚓激酶对体内血栓的溶解作用, 本文采用家兔颈外静脉血栓模型对蚓激酶在体内的溶栓作用进行了直接观察, 并采用大鼠颈动脉电损伤血栓模型对蚓激

酶在体内的抗栓作用进行了进一步的观察。

1 材料及仪器

蚓激酶粗酶粉, 由本校生物制药学院何执中教授提取纯化制成, 为褐色粉末, 经活性测定比活为 100 U/mg^[3], 临用时用蒸馏水配制成所需浓度。

青紫蓝家兔, 体重 2~2.5 kg, 雌雄兼用, 由本校动物中心提供; SD 大鼠, 体重 200~270 g, 雄性, 由南京医科大学动物中心提供。

BT 87-2 型实验性体内血栓形成测定仪, 包头医学院心血管研究室制造。

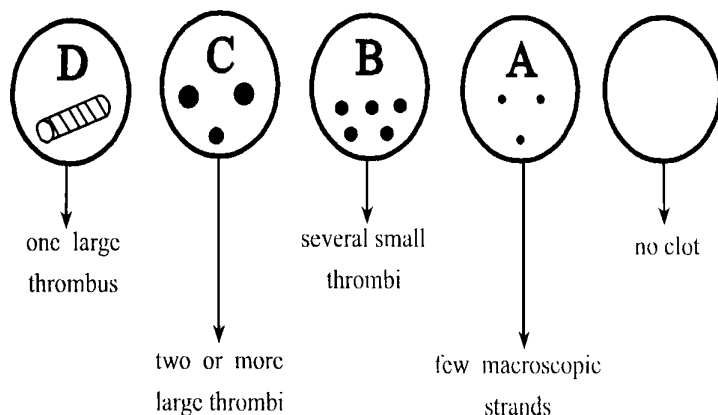


Fig 1. Evaluation of the thrombolytic effect of Lumbrokinase in rabbit thrombus model

2 方法与结果

2.1 对家兔颈外静脉血栓的溶解作用^[12]

家兔 18 只, 随机分成 3 组, 分别为生理盐水对照组, 蚓激酶低、高剂量组即 25 mg/kg 和 50 mg/kg。3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 左侧耳缘静脉

注射麻醉, 手术分离右侧颈外静脉约 2 cm, 结扎侧支。由右侧耳缘静脉注射预热的人血清(血清 1.32 ml/kg, 用生理盐水稀释至 5 ml, 37℃ 预热 15 min), 15 s 内注完, 其后 20~30 s 内用动脉夹夹住颈外静脉两端, 两个动脉夹间的静脉段约长 1 cm, 阻断血流 30 min 后取下远心端动脉夹, 在近

心端的动脉夹内夹一垫片, 以使血流通畅, 并使血栓不致移动。腹腔手术找出十二指肠, 按组分别给予生理盐水和蚓激酶, 2 h 后将静脉段剪下, 检查血栓并评分, 评分标准见图 1。分离左侧颈总动脉, 取血 5 ml (血液与 3.8% 枸橼酸钠之比为 9:1), 3500 r/min 离心 10 min, 测定优球蛋白溶解时间(euglobulinlysis time, ELT)^[13]。

结果表明, 蚓激酶 25 mg/kg 和 50 mg/kg 均可使血栓溶解变小, 并随着剂量的增加溶解作用增强; 蚓激酶 50 mg/kg 可缩短 ELT, 说明纤维蛋白溶解酶的活性增强(见表 1)。

Tab 1. Effect of lumbrokinase on thrombus of external jugular vein in rabbits ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Group	Dose(mg/kg)	Thrombus score	ELT(h)
Control		3.8±0.4	4.81±1.29
Lumbrokinase	25	3.0±0.6 **	3.73±0.71
	50	0.3±0.5 ***	1.33±0.52 ***

** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ compared with control

2.2 对大鼠颈动脉电流损伤血栓模型的影响^[12]

大鼠 24 只, 随机分成 3 组, 分别为生理盐水对照组, 蚓激酶低、高剂量组即 100 mg/kg 和 200 mg/kg, 灌胃给药。3% 戊巴比妥钠 30 mg/kg ip 麻醉, 分离右侧颈总动脉约 1.5 cm, 将血栓形成测定仪的刺激电极和温度探头钩在血管上, 给药 1.5 h 后, 用 1.5 mA 的直流电持续刺激 7 min, 当动脉内形成血栓堵塞血流时, 血管远心端的温度会突然下降, 仪器报警。记录从刺激开始到温度突然下降所需的时间, 即堵塞时间。

结果表明, 蚓激酶 100 mg/kg 和 200 mg/kg 均可延长堵塞时间, 并随着剂量的增加, 作用增强, 说明蚓激酶可有效地抑制血栓形成(见表 2)。

Tab 2. Effect of lumbrokinase on carotid thrombosis in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Group	Dose(mg/kg)	Obstruction time(min)
Control		11.32±0.26
Lumbrokinase	100	14.44±0.97
	200	19.26±1.63 ***

*** $P < 0.01$ compared with control

3 讨 论

家兔颈外静脉血栓法操作简便, 不需特殊仪器, 在国内外均有研究室采用, 是研究药物溶血栓作用的可行方法。颈动脉电流损伤法所形成的血栓为混合型血栓, 与人体动脉血栓相似, 且方法简

便, 重复性好, 误差小, 是一种较好的研究药物抗动脉血栓的方法。其机理为: 动脉内膜受损后, 激活血小板和凝血系统, 诱导血小板释放 ADP 等, 同时使损伤的内皮细胞 PGI_2 释放减少, 致使动脉血栓形成^[14]。目前尚未见有用这两种动物模型进行蚓激酶抗血栓、溶血栓作用研究的报道。作者采用这两种方法, 分别证实了蚓激酶有抑制血栓形成和促进血栓溶解的作用。

根据文献报道, 蚓激酶在 pH 5~10 范围内, 活力保持稳定^[1], 而在 pH 1.5 的胃液中会丧失部分活力, 所以我们在家兔颈外静脉血栓溶解实验中, 采用十二指肠给药。以上实验显示灌胃给药的有效剂量明显高于十二指肠给药, 说明十二指肠给药可以避免酶蛋白被胃酸破坏。

致 谢 本室李耐三、李晖教授对本文给予指导和帮助。

参 考 文 献

- 路英华, 金汝成. 蚯蚓纤溶酶的提取、性质鉴定和溶解血栓的研究. 兰州大学学报, 1986, 22(1): 95
- Xiong Y, Liu XY, Li LY, *et al.* Purification and determination of partial sequence of earthworm fibrinolytic enzyme. *The Abstract of the International Symposium on the Frontiers of Protein Chemistry and Biotechnology*. Yangzhou, China, 1995. 24
- 何执中, 何执静, 宗瑜琮等. 高活力蚯蚓纤溶酶的纯化及性质研究. 中国药科大学学报, 1997, 28(6): 362
- 王洪武, 李次芬, 王士雯. 蚓激酶对凝血、纤溶功能的影响. 天津医药, 1991, 19(2): 73
- 韩彩芝, 余素清, 李秀芳等. 蚯蚓提取液纤溶及抗凝作用的实验研究. 中国生化药物杂志, 1997, 18(5): 252
- 郑国平, 程牛亮, 牛勃等. 双胸蚯蚓溶酶对家兔实验性血栓的抑制作用. 山西医药杂志, 1996, 25(3): 207
- 张世玲, 肖义海, 梁绪国等. 蚯蚓纤溶酶对溶栓、纤溶及抗凝作用的影响. 生化药物杂志, 1987, 8(3): 10
- 金鸣. 蚯蚓溶栓作用研究进展. 中草药, 1994, 25(1): 45
- Jang J, Yang S, Li LG, *et al.* Comparative studies on fibrinolytic enzymes from earthworm. *The Abstracts of the 6th FAOB Congress*. Guilin, China, 1992. 120
- 丁铭臣, 庆式琪, 谢淑萍等. 蚓激酶胶囊剂治疗脑梗塞 1500 例临床总结. 中华神经精神科杂志, 1995, 28(Suppl): 5
- 王立波. 百奥一蚓激酶胶囊治疗脑梗塞临床观察. 首都医药, 1998, 5(12): 37
- 李晓祥, 赵挺, 李耐三. 低分子量肝素对血凝及动、静脉血栓形成的影响. 中国药科大学学报, 1996, 27(2): 115
- 徐叔云, 卞如濂, 陈修主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 838~839
- 董尔丹, 石山. 血栓的实验方法与评价. 中国药理学通报, 1992, 8(6): 422

Effect of Lumbrokinase on Experimental Thrombus

ZHU Yan, HE Zhi-Zhong¹, SUN Ke-Di, WANG Shao-Fei

Department of Pharmacology, ¹Department of Biochemistry, China Pharmaceutical University, Nan-jing 210009

Abstract Lumbrokinase could significantly prolong the obstruction time in the model of carotid thrombosis induced by electrical stimulation in rats by oral administration. Lumbrokinase could significantly dissolve thrombi in external jugular vein of rabbits by duodenal administration and could significantly shorten euglobulinlysis time. The results confirmed that lumbrokinase possessed actions on anti-thrombosis and thrombolysis.

Key words Lumbrokinase; Anti-thrombosis; Thrombolysis