

大剂量尖吻蝥蛇凝血酶对家兔血浆纤维蛋白原的影响

傅若秋, 孟德胜, 胡大强, 徐靖(第三军医大学大坪医院野战外科研究所药剂科, 重庆 400042)

摘要: 目的 探讨大剂量尖吻蝥蛇凝血酶对家兔血浆纤维蛋白原的影响, 为临床应用提供参考。方法 家兔耳缘静脉注射不同剂量的尖吻蝥蛇凝血酶, 并于给药后不同时间检测其血浆纤维蛋白原含量。结果 $0.2\sim 1.0\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的尖吻蝥蛇凝血酶可导致家兔血浆纤维蛋白原明显下降($P<0.05$), 下降速度及下降幅度与剂量成正相关。剂量 $\geq 0.4\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时家兔血浆纤维蛋白原开始出现耗竭, 剂量 $\geq 0.8\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时所有家兔血浆纤维蛋白原均出现耗竭。结论 大剂量尖吻蝥蛇凝血酶具有明显降低家兔血浆纤维蛋白原的作用。

关键词: 尖吻蝥蛇凝血酶; 纤维蛋白原; 家兔

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)03-0197-03

Effect of Large Doses Hemocoagulase Agkistrodon Acutus on the Plasma Fibrinogen Level in Rabbits

FU Ruoguo, MENG Desheng, HU Daqiang, XU Jing(Department of Pharmacy, Institute of Surgery Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of large doses hemocoagulase Agkistrodon acutus on the fibrinogen level in rabbit, to provide a reference for clinical application. **METHODS** The 30 rabbits were randomly divided into 5 groups and were injected with different doses of hemocoagulase Agkistrodon acutus respectively, the plasma fibrinogen level were examined after administration. **RESULTS** The hemocoagulase Agkistrodon acutus with $0.2\sim 1.0\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ doses resulted in the significant decrease of the plasma fibrinogen level of rabbits. The depletion of plasma fibrinogen was first occurred in individual rabbit at $0.4\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ doses, and while the doses were increased above $0.6\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ (include $0.6\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$). The depletion of plasma fibrinogen was occurred in all rabbits. **CONCLUSIONS** The large doses hemocoagulase Agkistrodon acutus have significant effects of decreasing the plasma fibrinogen level of rabbits.

KEY WORDS: hemocoagulase Agkistrodon acutus; fibrinogen; rabbit

尖吻蝥蛇凝血酶为广州顺峰药业有限公司研制的一类新药, 是一种从华南地区的尖吻蝥蛇(Agkistrodon acutus)中提取的蛇毒凝血酶。临床前药理和毒理实验表明, 该酶具有较强的止血作用, 临床拟用剂量为 $1\sim 2\text{ U}$ 。由于蛇毒毒素具有双重作用, 小剂量止血, 大剂量可以降解纤维蛋白原

(Fib)^[1], 为给临床安全用药提供参考, 本试验考察了大剂量尖吻蝥蛇凝血酶对家兔血浆纤维蛋白原的影响。

1 材料

1.1 实验试剂

尖吻蝥蛇凝血酶(广州顺峰药业有限公司, 批

作者简介: 傅若秋, 男, 硕士, 主管药师

Tel: 13452373837

E-mail: zxmfrq@163.com

号 2005312)。

1.2 实验仪器

ACL-ADURANCE 测定仪(美国 BECKMAN 公司), CLAUSS 法配套试剂盒(美国 LE 公司), GS-15R 低温高速离心机(美国 BECKMAN 公司)。

1.3 实验动物

新西兰白兔 30 只, 体重(2.5 ± 0.4)kg, ♀ ♂ 兼用(由第三军医大学野战外科研究所实验动物中心提供动, 动物质量合格证号 SCXK-(军)2002-008)。

2 方法与结果

2.1 方法

表 1 给药后家兔血浆 Fib 含量变化($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The change of the plasma fibrinogen level of rabbits ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

剂量/ $\text{U} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前 (0 h)/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	给药后家兔血浆 Fib 含量/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$							
		0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	6 h	12 h	24 h
0.2	2.54 ± 0.49	2.52 ± 0.41	2.25 ± 0.43	2.53 ± 0.43	2.54 ± 0.54	2.43 ± 0.48	$2.16 \pm 0.40^{1)}$	$1.96 \pm 0.16^{1)}$	$1.78 \pm 0.35^{1)}$
0.4	2.36 ± 0.72	1.97 ± 0.72	2.16 ± 0.55	2.02 ± 0.63	$1.77 \pm 0.69^{1)}$	$1.47 \pm 0.64^{1)}$	$1.25 \pm 0.48^{1)}$	$1.01 \pm 0.62^{1)}$	1.80 ± 1.02
0.6	1.91 ± 0.57	1.81 ± 0.42	1.67 ± 0.36	1.48 ± 0.30	$1.21 \pm 0.23^{1)}$	$0.96 \pm 0.36^{1)}$	$0.97 \pm 0.54^{1)}$	$0.30 \pm 0.48^{1)}$	$0.65 \pm 0.56^{1)}$
0.8	2.22 ± 0.28	2.61 ± 0.61	2.39 ± 0.76	$1.55 \pm 0.44^{1)}$	$1.17 \pm 0.30^{1)}$	$0.58 \pm 0.65^{1)}$	$0.17 \pm 0.41^{1)}$	$0.11 \pm 0.27^{1)}$	$0.97 \pm 0.58^{1)}$
1.0	2.33 ± 0.62	2.39 ± 1.02	1.79 ± 0.47	$0.94 \pm 0.74^{1)}$	$0.00 \pm 0.00^{1)}$	$0.00 \pm 0.00^{1)}$	$0.00 \pm 0.00^{1)}$	$0.00 \pm 0.00^{1)}$	$0.34 \pm 0.52^{1)}$

注: 与给药前比较, $^{1)}P < 0.05$

Note: Compared with the plasma fibrinogen level of rabbits before administration, $^{1)}P < 0.05$

表 2 给药后家兔 Fib 耗竭出现时间及数量($n=6$)

Tab 2 The time and numbers of the rabbits with Fib exhausted after administration ($n=6$)

剂量/ $\text{U} \cdot \text{kg}^{-1}$	家兔 Fib 耗竭数量/只					合计
	2 h	3 h	4 h	6 h	12 h	
0.2	0	0	0	0	0	0
0.4	0	0	0	0	1	1
0.6	0	0	0	3	2	5
0.8	0	0	3	2	1	6
1.0	2	4	—	—	—	6

由表 1 可见, $0.2 \sim 1.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的尖吻蝮蛇凝血酶使家兔的 Fib 明显下降($P < 0.05$), 且随着剂量的增大, 下降速度越快, 下降程度亦越大。但给药 24 h 后降低的 Fib 开始出现升高的趋势。

由表 2 可见, 当给药剂量 $\geq 0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 个别家兔开始出现 Fib 耗竭, 当剂量 $\geq 0.8 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 所有家兔均出现 Fib 耗竭, 且随剂量的增大, Fib 耗竭出现的时间越早。

3 讨论

蛇毒凝血酶具有小剂量止血, 大剂量降低纤

家兔 30 只随机分为 5 组, 每组 6 只, 分别耳缘静脉注射 $0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的尖吻蝮蛇凝血酶(分别相当于 60 kg 体重的人用 $4.4, 8.7, 13.1, 17.4, 21.9 \text{ U}$)^[2], 于给药前(0 h)及给药后 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24 h 于另一侧耳缘静脉取血 1 mL , 枸橼酸钠抗凝, $2700 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分取血浆采用 clauss^[3]法检测 Fib 含量。

2.2 结果

给药后家兔血浆 Fib 含量变化及 Fib 耗竭情况见表 1, 表 2。

维蛋白原的特征; 如目前临床广泛使用的从美洲矛头蝮蛇分离的类凝血酶——立芷雪, 即具此特征, 其小剂量($1 \sim 8$ 克氏单位, KU)作止血药, 而大剂量(50 克氏单位, KU)用作抗凝药^[4], 但其作用机制还不完全清楚。

本试验中的尖吻蝮蛇凝血酶是从华南地区的尖吻蝮蛇中发现的一种蛇毒凝血酶, 其分子量为 29076.1 D , 系由 2 个分子量为 14.8 kD 和 16.0 kD 的亚基构成的糖蛋白, 以二硫键连接, 含 209 个氨基酸。先前的动物研究表明其在低剂量时具有良好的止血作用, 而本试验探明了其在较大剂量时具有降低甚至耗竭 Fib 的作用, 符合蛇毒凝血酶的一般特征。

本试验表明大剂量的尖吻蝮蛇凝血酶对家兔 Fib 有较大的影响, 其 Fib 耗竭的起始剂量为 $0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ (相当于 60 kg 体重的人用 8.7 U), 完全耗竭剂量为 $0.8 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ (相当于 60 kg 体重的人用 17.4 U), 这为该药进行人体临床试验的剂量设计及今后的临床应用提供了参考。

REFERENCES

- [1] KANG Z W, SHI K, HUANG G Z. The history and application of reptilase [J]. J Snake(蛇志), 2000, 4(12): 62-64.
 - [2] XU S Y. Experimental Methods of Pharmacology (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982: 1184.
 - [3] NACKIE I J, KITCHEN S, MACHIN S J, et al. Guidelines on fibrinogen assays [J]. Foreign Med Sci (Blood Transfus Hematol), 2004, 2(27): 97-101.
 - [4] RONG J C, LIAO X L. The pharmaceutical effect, clinical application and safety of Reptilase [J]. Jiangxi Med J (江西医药), 1994, 5(29): 312-315.
- 收稿日期: 2009-07-24