

# 一个筛选和评价血小板 活化抑制药物的模式——烙铁头 蛇毒血小板聚集素(TMVA)

王婉瑜 熊郁良 杨长久 杨上川

(中国科学院昆明动物研究所)

## 摘 要

本文报道一个新的筛选和评价血小板活化抑制药物的模式——TMVA。用兔子和人血小板实验结果表明,目前国内外临床治疗冠心病的抗血小板活化药物,凡能抑制TMVA诱导的血小板聚集的药物,均能对原有的血小板活化途径的ADP,花生四烯酸(AA)或胶原等多种诱导剂引起血小板聚集起抑制作用,因此该模型是目前筛选和评价血小板活化抑制药物较理想的模式。

**关键词** 血小板抑制药物 烙铁头蛇毒 血小板活化

近年来作为抗血栓形成的抑制血小板药物已在临床上广泛应用,但评价不一,过去评价血小板活化的药物主要是用ADP、AA、肾上腺素(Adr)、胶原等为模型。但仅能评价血小板的环腺苷酸(cAMP),环氧化酶,血栓噁烷 $A_2$ , (TXA $_2$ )及前列腺环素(PGI $_2$ )作用的某个方面。TMVA诱导血小板活化是多方面的,它既能诱导血小板释放ADP形成AA代谢产物TXA $_2$ ,也能不依赖ADP、AA的代谢途径诱导血小板聚集,具有较全面的评价血小板抑制药物的功效,是一个理想的筛选和评价抗血小板活化抑制药物的模式,本文报道了有关实验结果。

## 材 料 和 方 法

TMVA按王婉瑜等方法分离纯化,ADP Sigma公司产品,AA瑞士包装,Ristocelin、PAF sigma公司产品,胶原中国医学科学院血研所赠送,Adr国内产品。

实验用抗血小板活化药物:潘生丁、维生素、阿卞明、保泰松、心得安、氢化可的松、乳酸心可定、硝酸异山梨醇、消炎痛、异博定、罂粟碱、Stugeron、阿斯匹林、咪

唑、复方丹参、三七冠心灵、川芎嗪、羧苄青霉素钠、炎痛喜康均为国产或进口临床用药（针、片剂）。

PRP 制备：家兔血液采自心脏，正常人血液采自肘静脉，血液与3.8%枸橼酸钠抗凝剂按9:1比例混合，1000转/分离心10分钟，取上清液得PRP，剩余血液3500转/分离心30分钟得贫血小板血浆(PPP)。用PPP稀释PRP计数，兔子血小板数 $60 \pm 5$ 万/ $\text{mm}^3$ ，人血小板数 $20 \pm 2$ 万/ $\text{mm}^3$ 供试验用。

血小板聚集实验：按Ouyang 1978的方法，采用BS 631型血小板聚集仪（北京生化仪器厂）测定。

## 结 果

1. 兔子PRP实验结果：用TMVA测定评价目前主要治疗血栓、冠心病等临床药物，并以国内外原有评价该类药物的模型ADP、AA、PAF为对照，结果表明除心得安（ $\beta$ 受体抑制药）外，凡能抑制TMVA诱导的血小板活化药物，均能抑制ADP、AA诱导的血小板聚集。而抑制ADP、AA（第一、二条活化途径）的药物，阿斯匹林，消炎痛等，在小剂量时对TMVA、PAF的抑制作用低于ADP。抑制 $\text{TXA}_2$ 合成的选择抑制剂咪唑能完全抑制AA诱导的聚集，而对TMVA、PAF的抑制较ADP为弱。这表明TMVA的作用可能还经过一条不依赖ADP、 $\text{TXA}_2$ 诱导血小板活化的第三条途径。实验结果表明罂粟碱，心得安，复方丹参，异博定是该类药物中较好的抗血小板活化药物。见表1。

2. 人的PRP实验结果：表明用诱导内源性ADP释放的诱导剂胶原，并以必须依赖因子Ⅲ的聚集剂Ristocetin作用于cAMP系统的肾上腺素进行比较，结果证明凡能抑制TMVA诱导的抗血小板活化药物，均能抑制其它模型诱导的聚集。只能抑制某条途径的药物，则不一定能抑制TMVA的聚集。这一结果表明TMVA可以作为筛选和评价抗血小板活化药物的一个新模式。见表2。

## 讨 论

血小板活化聚集研究是血栓与止血研究的一个重要方面，血小板抑制药物作为抗血栓形成剂，已在临床上广泛应用，但评论不一，主要原因是缺乏对血小板活化的广谱性模型来正确评价抗血小板活化药物的实验效果。PAF和TMVA都能引起血小板的AA代谢，形成 $\text{TXA}_2$ 进而转代 $\text{TXB}_2$ ，用放射免疫法测定结果则表明PAF、TMVA虽然能引起 $\text{TXB}_2$ 生成，但作用不如AA强。用阿斯匹林阻断 $\text{TXB}_2$ 的生成，AA的血小板聚集作用完全消失，而PAF、TMVA仍能诱导血小板聚集。这表明PAF和TMVA都能刺激血小板的AA代谢形成 $\text{TXB}_2$ 。虽然它们的活化作用不依赖AA途径，但也能通过这条途径作用于血小板。TMVA诱导的血小板聚集不受ASA、CP/CPK的抑制，TMVA在诱导聚集的同时引起血小板致密体5-HT的释放，释放强度与聚集强度成正比。同时TMVA诱导的血小板聚集依赖纤维蛋白原的存在。因此TMVA对血小板的活化作用是多方面的，用TMVA评价血小板抑制药物，能综合体现对血小板活化的不同途径的抑制作用，

是一个较理想的模式。

兔子和人的血小板聚集实验结果表明, 主要作用于环氧化酶的抑制剂阿斯匹林, 消炎痛, 保泰松等, 当达到完全抑制ADP诱导的聚集剂量时, 仅部分抑制TMVA诱导的聚集。其它一些药物, 例如咪唑, 羧苄青霉素, 维生素E等也得到类似结果。但另一方面罂粟碱,  $\beta$ -受体抑制剂心得安,  $Ca^{++}$ 通道阻断剂异搏定, 当达到基本抑制TMVA的诱导剂量时, 则完全抑制ADP诱导的聚集。因此TMVA作为评价血小板活化抑制药物, 不仅能代替经典模式ADP, 而且具有多方面评价血小板活化途径的优点。

我们曾观察到两例用保泰松、潘生丁、右旋糖酐治疗的患者, ADP诱导聚集率明显降低, 而TMVA诱导的聚集率仍很高时, 心绞痛和心肌梗塞症状未缓解, 在改用大剂量复方丹参, 使TMVA诱导的聚集率降低后, 症状显著改善。因此TMVA作为一个评价血小板活化药物模式, 在体外实验和临床应用中结果是一致的。应用这一模式将有希望筛选和评价出更理想的治疗冠心病, 心绞痛, 血栓, 心肌梗塞等疾病的有效药物。

Table. 1 Effect of the platelet inhibition drugs on the rabbits platelet aggregation

Drugs	Dose	Platelet aggregation %			
		TMVA (0.15 $\mu$ M)	ADP (15 $\mu$ M)	AA (500 $\mu$ g)	PAF (1 $\mu$ g)
Normal		65	61	62	64
Vitamins E	0.5mg/ml	62	50		
Indomethacin	0.625	45	30	0	44
Verapamil	0.2	33	35		
	0.4	11	28		
	1.0	0	13	0	0
Dipyridamole	0.05	63	23	0	46
Propranolol	0.25	30	0	0	28
Fufang danshen	0.25	55	0	0	
	0.5	0			0
Piroxicam	3.0	45	0	0	32
Aspirin	0.2	45	10	0	
	0.5	0	0		
Phenylbutazone	3.0	67	43	0	44
Rusuanxinkeding	0.75	70	44	0	42
Hydrocortisone	0.15	67	30		
	2.0	21	16	36	44
Stugeron	1.0	2.0	22	15	25
Papaverine	0.1	0	0	0	0
Sanqi Guan Xin Ning	1.0	0	0	0	0
Aicamin	2.5	28	33		25
Imidazolyl	0.3	70	41	0	
	1.0	46	28		43
Fugacillin	2.0	57	35		

Table. 2 Effect of the platelet inhibition drugs on the human platelet aggregation

Drugs	Dose	Platelet aggregation %					
		TMVA (0.15 $\mu$ M)	ADP (2 $\mu$ M)	Ad (55 $\mu$ M)	AA (100 $\mu$ M)	Risto (1.5mg)	Collagen (30 $\mu$ l)
Normal		63	61	54	62	57	48
Vitami E	0.625mg/ml	58	11	28	61	38	23
Indomethacin	0.625	42	13	11	10	0	0
Dipyridamole	0.2	61	28	31			
	0.625	52	11	11	65	31	18
Phenylbutazone	0.1	70	68	49	60	37	42
	0.625	52	17	29	70	17	40
	1.0	53	22	23			
Isosorbide dinitrate	0.625	75	68	10	49	56	0
Aicamin	0.625	47	31	41	41	27	0
Propranolol	0.05	22	11	11	34	21	0
	0.313	0	0	0	21	14	0
Hydrocortisone	0.625	59	38	42	0	44	0
	2.0	38	19	24	0	12	0
Rusuanxinkeding	0.625	67	18	52	65	19	0
Sanqi Guan Xin Ning	1.3	66	23	27	54		
	2.6	38	11	22	65	11	0
	5.2	23	0	11	47	0	0
Papaverine	0.25	10	0	0	20	10	0
	0.5	0	0	0	0	10	0
Singeron	0.625	73	58	60	71	20	38
Fufang danshen	1.0	0	0	13	0	0	0
Aspirin	1.5	78	11	43	20	10	0
	3.0	72	0	31	0	0	0
Fugacillin	1.25	61	17	75	32	12	0
Imidazolyl	0.5	44	13	43	0	65	0
Verapamil	0.5	14	0	0	10	0	0

### 参 考 文 献

- 王婉瑜等 1983年 烙铁头 (*Trimeresurus mucrosquamatus*) 蛇毒的研究 (I) 柱层析分离 动物学研究 4(4):329—332
- 王鸿利等 1982 血小板抑制药在抗血栓形成中的应用 (血栓与止血) 研究工作汇编。上海第二医院编
- 熊郁良等 1984 烙铁头蛇毒血小板聚集素的研究 两栖爬行动物学报 3(4):61—66
- M. Chignard *et al.*, 1980 Platelet-Activating Factor (PAF-Acether) Secretion from platelets, Effect of aggregating agents. *British Journal of Haematology* 46:455—464
- Ouyang, C, & Teng, C-M. 1978 The effect of *Trimeresurus mucrosquamatus* snake venom on platelet aggregation. *Toxicon* 16:575—582
- Ouyang, C, *et al.*, 1980 A potent aggregation inducer purified from *T. mucrosquamatus* snake venom B. *B. A.* 630:246—253
- Wautier, J. L, Caen T, P 1979 血小板抑制药的药理学“血栓形成和止血”学术会议论文汇编。中国医学科学院血研所包承鑫译

## A NEW MODEL FOR SCREENING AND EVALUATING DRUGS FOR THE INHIBITION OF PLATELET AGGREGATION—TMVA—

Wang Wanyu Xiong Yuliang Yang Changjiu Yang Shangchuan

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)

This paper deals with a new screening and evaluating model for drugs of inhibition of platelets aggregation—TMVA—

Results of experiments on rabbit and human platelets show: Those drugs can inhibit the platelet aggregation induced by TMVA, Possess also the inhibition effect of those original inducers such as ADP, Adrachidonic acid, Adrenaline, Collagen and Ristocetin.

Thus this is an ideal model for screening and evaluating the inhibition effect of platelet aggregation at present both in our country and abroad.

\* *Triemeresurus mucrosquamatus* venom platelet aggregation.

Key words Drugs of inhibition of platelet aggregation Platelet activation  
*Triemeresurus mucrosquamatus* venom