

刺参酸性粘多糖抗凝血酶活性及诱导血小板聚集的作用

李家增 包承鑫 陈关珍 张桂珍

(中国医学科学院血液学研究所病理生理学室, 天津 300061)

樊绘曾 陈菊娣

(天津医药科学研究所生物化学室, 天津 300050)

提要 刺参酸性粘多糖 (Sjamp) 引起人和兔血小板聚集, 其聚集曲线与二磷酸腺苷引起者相似。Sjamp 引起血小板聚集的作用依赖介质中的 Ca^{++} , 但与血小板的花生四烯酸代谢无关。Sjamp 的抗凝血酶作用比肝素弱, 但作用方式不同, 因为它的抗凝血酶作用既不依赖抗凝血酶 III 又不被血小板 4 因子所抑制。

关键词 刺参, 酸性粘多糖, 血小板聚集, 抗凝血酶活性

刺参 (*Stichopus japonicus* Selenka) 酸性粘多糖 (acid mucopolysaccharides, Sjamp) 是从刺参体壁提取的一种硫酸粘多糖⁽¹⁾。我们已观察到它有类似肝素的抗凝血酶作用, 可以引起实验动物创面渗血和循环中血小板数下降⁽²⁾。本文报道 Sjamp 的抗凝血酶活性和促血小板聚集作用的特点。

材 料 和 方 法

正常人血由肘静脉采集。正常兔血系以两个注射器法由心脏取血。血液与 3.8% 枸橼酸钠溶液以 9:1 混合抗凝。供测定凝血酶时间用的血浆以 2000 rpm 离心 20 min 取得; 供测定血小板聚集用的富血小板血浆 (PRP) 以 1000 rpm 离心 10 min 取得; 以 3000 rpm 离心 30 min 的血液中取得少血小板血浆, 同一份人血还用 4% EDTA Na_2 抗凝分离富血小板血浆 (EDTA-PRP)。与血液接触的玻璃器具表面均硅化。

Sjamp 临用时以生理盐水溶解配制成不同

浓度的溶液。肝素由 Kabivitrum 厂出品 1000 IU/ml。牛凝血酶由天津生物制品厂出品。纤维蛋白原为 Sigma 厂。胶原悬液是按 O'Brien 法⁽³⁾ 用兔跟腱制备。抗凝血酶 III 人血浆是用亲和层析法⁽⁴⁾ 制备。

凝血酶时间按本所常规方法⁽⁵⁾, 测定血小板聚集用本所研制的 PA-4 型微量血小板聚集仪进行⁽⁶⁾, 每次测定 PRP 用量为 63 μ l, 致聚剂用量为 2 μ l, 计算血小板最大聚集率。血小板计数按草酸铵法。

此外, 给 4 兔一次 po 阿司匹林 0.5 g/kg, 于服药前及服药后 24 h 测定 Sjamp 及胶原诱导的血小板聚集并计数血小板, 随后给这些兔 iv Sjamp 2 mg/kg, 于 iv 后 10 min 从心脏取血再测定血小板聚集及血小板数, 以观察阿司匹林对 Sjamp 诱导血小板聚集的影响。

结 果

抗凝血酶活性 将 Sjamp 与枸橼酸钠抗凝人血浆混合, 加入凝血酶测定凝固时间, 用肝素代替 Sjamp 作平行的观察。从表 1 可见随着 Sjamp 浓度增加, 凝血酶时间逐渐延长, 表明 Sjamp 有抗凝血酶作用但较肝素弱。

抗凝血酶 III (AT-III) 和血小板第 4 因子 (PF 4) 对 Sjamp 抗凝血酶活性的影响 为了观察 Sjamp 的抗凝血酶活性的特点, 将不同浓度 (0.02-3.8 μ l/ml) 的 Sjamp 或肝素分别与缺 AT-III 人血浆, 血小板数为 $25 \times 10^4/\mu$ l 和 $10 \times 10^4/\mu$ l 的 PRP 或 0.2% 纤维蛋白原溶液混

Tab 1. Effects of various final concentrations of Sjamp and heparin on thrombin time (s) in 6 human. $\bar{x} \pm SD$

$\mu\text{g/ml}$	Sjamp	heparin	p
0	14.5±0.8	14.5±0.8	
0.02	15.8±0.4	17.4±2.3	>0.05
0.12	17.3±1.2	22.2±0.3	<0.01
0.24	17.6±1.5	37±14	<0.01
0.48	20.8±2.4	212±87	<0.01
0.95	23±5	>300	
1.90	31.3±1.9	>300	
3.80	45.7±1.6	>300	

合, 随即加入凝血酶测定凝固时间。结果如表 2 所示, Sjamp 在各种血浆及纤维蛋白原溶液中的抗凝血酶作用基本相同, 但是肝素的抗凝血酶作用在缺 AT-III 人血浆, PRP 及纤维蛋白原溶液中均有不同程度的减弱。

Sjamp 诱导血小板聚集的作用 用 Sjamp 诱导的人和兔血小板聚集, 结果如图 1 所示 Sjamp 最终浓度 0.31 $\mu\text{g/ml}$ 时即可引起血小板聚集, 聚集曲线类似 ADP 诱导者, 聚集程度与

Sjamp 浓度有关。

阿司匹林对 Sjamp 诱导血小板聚集作用的影响 4 兔 po 阿司匹林后, 胶原诱导的血小板聚集明显减低或消失, 而 Sjamp 诱导的聚集反应不受影响, 这些兔被 iv Sjamp 2 mg/kg 后循环中血小板数由平均 $420 \times 10^3/\mu\text{l}$ 下降至 $6 \times 10^3/\mu\text{l}$, 以致无法作血小板聚集性测定。

Ca⁺⁺ 对 Sjamp 诱导血小板聚集作用的影响 同一份血标本分别以 3.8% 枸橼酸钠溶液或 4% EDTA-Na₂ 溶液抗凝, 结果 Sjamp 可以诱导枸橼酸钠——PRP 中的血小板聚集, 而 EDTA Na₂-PRP 中的血小板对 Sjamp 的诱导无聚集反应。

讨 论

Sjamp 的抗凝血酶活性虽比肝素弱, 但是肝素的抗凝血酶活性依赖 AT-III, 主要是肝素引起 AT-III 分子构象改变, 从而使 AT-III 与凝血酶结合起到抗凝作用。Sjamp 在缺 AT-III 人血浆及纤维蛋白原溶液中的抗凝作用与

Tab 2. Effect of AT-III and platelet on thrombin time (s) of Sjamp and heparin in 6 humans. $\bar{x} \pm SD$

Final concn ($\mu\text{g/ml}$)	Normal plasma	AT-III deficient plasma	PRP platelet $25 \times 10^4/\mu\text{l}$	PRP platelet $10 \times 10^4/\mu\text{l}$	0.2% Fibrinogen solution
Control	14.5±1.0	15.1±0.4	14.5±0.8	14.1±1.0	15.7±0.5
Sjamp					
0.02	15.8±0.4	18.0±2.6*	15.3±0.5*	15.6±0.5*	17.1±1.2**
0.24	17.6±1.5	19.5±2.4*	16.3±1.3*	16.9±0.9*	22.7±3.1***
0.95	23±5	27±6*	21.7±2.2*	22±4*	39.4±10***
1.90	31.3±1.9	38±6**	30.5±1.3*	31.7±2.8*	46.8±7***
3.80	45.7±1.6	59±9***	41±6*	42±7*	47.1±3*
heparin					
0.02	17.3±2.3	16.7±1.7*	15.3±0.3*	16.5±0.3*	16±0.4*
0.24	37±14	18.1±1.1***	30±7*	32±6*	18.3±0.8***
0.95	>300	27.6±3.5	144±17	>300	29.0±4.0
1.90	>300	38±5	>300	>300	33.0±6.0
3.80	>300	60±10	>300	>300	32.1±0.9

Compared with normal plasma: *p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01.

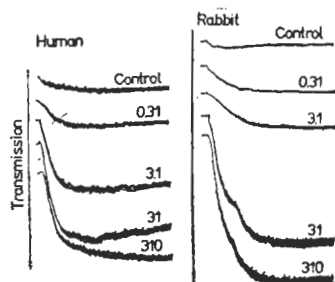


Fig 1. Platelet aggregation induced by Sjamp (final concentration $\mu\text{g/ml}$) in normal human or rabbit's platelet-rich plasma (PRP)

肝素者相反, 不仅不减弱反而稍有增强, 表明 Sjamp 的抗凝血酶作用不依赖 AT-III, 因此 Sjamp 的抗凝血作用机制可能不同于肝素。

Sjamp 的抗凝血酶作用不因血浆中血小板数变化而改变, 而肝素者则有改变, 血小板数不同而引起的这种差异可能与 PRP 中所含的血小板第 4 因子量有关系。已知血小板第 4 因子有抑制肝素的作用, 因此这一结果说明 Sjamp 的抗凝血酶活性不被血小板第 4 因子抑制。

Sjamp 的这种既不依赖 AT-III 又不被血小板第 4 因子抑制的抗凝作用可能有重要的临床意义。在一些高凝状态, 弥散性血管内凝血和重度肝病中常常伴有 AT-III 减少从而影响

肝素的有效应用⁽⁷⁾。

Sjamp 可以直接引起人或兔血小板聚集, 但不能引起 EDTA Na_2 -PRP 中的血小板聚集, 表明 Sjamp 诱导血小板聚集作用需要一定量的 Ca^{++} 。但是似乎不依赖花生四烯酸代谢途径, 因为兔口服阿司匹林抑制花生四烯酸代谢后, 虽则其代谢的中间产物 TXA_2 等受抑制, 而 Sjamp 诱导的血小板聚集作用不受影响, 相反, 肝素诱导的血小板聚集可被乙酰水杨酸所抑制⁽⁸⁾, 说明 Sjamp 诱导的血小板聚集作用是通过不同于肝素的另一途径。

参 考 文 献

- 1 樊绘曾、陈菊娣、林克忠. 药学报 1980; 15: 264
- 2 李家增、包承鑫、陈关珍, 等. 中药通报 1983; 8: 36
- 3 O'Brien JR. *Thromb Diath Haemorrh* 1966; 16: 752
- 4 Wickerhauser M. *Vox Sang* 1979; 36: 281
- 5 输血及血液学研究所. 天津医药杂志输血及血液学附刊 1965; 3: 316
- 6 张桂珍、包承鑫、李家增. 中华医学检验学杂志 1984; 2: 104
- 7 Schipper HG, Ten Cate JW. *Br J Haematol* 1982; 52: 25
- 8 Eika C. *Scand J Haematol* 1972; 9: 248

Acta Pharmacologica Sinica 1985 Jun; 6 (2) : 107-110

ANTITHROMBIN ACTIVITY AND PLATELET AGGREGATION BY ACID MUCOPOLYSACCHARIDES ISOLATED FROM *STICHOPUS JAPONICUS* SELENKA

LI Jia-zeng, BAO Cheng-xin, CHEN Guan-zhen, ZHANG Gui-zhen

(Dept Pathophysiology, Inst Hematology, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300061)

FAN Hui-zeng, CHEN Ju-di

(Dept Biochemistry, Tianjin Medical and Materia Medica Inst, Tianjin 300050)

ABSTRACT Human and rabbit's platelet aggregations were induced by a kind of acid mucopolysaccharide isolated from *Stichopus*

japonicus Selenka (Sjamp). The platelet aggregation curve induced by Sjamp was similar to that induced by ADP. The activity of Sjamp

inducing platelet aggregation was dependent on the presence of Ca^{++} in the medium, but not affected by aspirin. The antithrombin activity of Sjamp was weaker than that of heparin. The mode of action is different since it was neither dependent upon the antithrombin-III nor

inhibited by platelet factor 4.

KEY WORDS *Stichopus japonicus* Selenka, acid mucopolysaccharides; platelet aggregation; antithrombins

* * * * *