

## 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤患者凝血功能的影响

文丹 何卫东 王缓缓 陈腾飞 王华新 吴晖 吴天生 邵丹 李明 陈宏杰

(福建中医药大学附属人民医院急诊科, 福建 福州 350004)

**【摘要】** 目的 研究中药蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤患者凝血功能障碍的机制。方法 采用前瞻性研究方法, 将 70 例竹叶青蛇伤且符合火毒证诊断标准的患者按随机数字表法分为治疗组和对照组, 每组 35 例。对照组在基础治疗(包括伤口消毒, 肌注破伤风抗毒素 1500 U, 使用常规剂量抗菌药物、地塞米松 10 mg、奥美拉唑 40 mg)的同时口服季德胜蛇药片 10 片, 每天 3 次; 治疗组在基础治疗的同时口服蛇伤胶囊(院内制剂, 由大黄、黄连、山慈菇、土木香、杨梅皮、冰片等组成)5 粒, 每天 3 次; 两组疗程均为 1 周。用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定两组患者治疗前后血清血小板  $\alpha$ -颗粒膜糖蛋白(CD62p)、血栓素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)、血小板第 3 因子(PF3)和血管性血友病因子(vWF)的含量。结果 治疗组和对照组治疗前 CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3、vWF 含量比较差异均无统计学意义[CD62p( $\mu$ g/L): 3.81  $\pm$  1.64 比 3.52  $\pm$  1.43, TXB<sub>2</sub>( $\mu$ g/L): 13.04  $\pm$  1.67 比 13.31  $\pm$  1.14, PF3( $\mu$ g/L): 2.84  $\pm$  1.08 比 2.88  $\pm$  1.23, vWF( $\mu$ g/L): 12.36  $\pm$  2.42 比 11.89  $\pm$  2.08, 均  $P > 0.05$ ]; 两组治疗后 CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3 含量均较治疗前升高, vWF 较治疗前降低, 且以治疗组的变化更显著[CD62p( $\mu$ g/L): 6.73  $\pm$  1.77 比 5.81  $\pm$  1.62, TXB<sub>2</sub>( $\mu$ g/L): 18.65  $\pm$  1.77 比 17.90  $\pm$  1.68, PF3( $\mu$ g/L): 5.61  $\pm$  1.48 比 4.77  $\pm$  1.24, vWF( $\mu$ g/L): 3.87  $\pm$  1.01 比 4.58  $\pm$  1.09,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ]。结论 蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤后的凝血功能障碍可能是通过改善血小板活化功能、减轻血管内皮细胞损伤来实现的。

**【关键词】** 蛇伤胶囊; 竹叶青蛇; 凝血功能障碍; 血小板活化; 血管内皮细胞

**A study on effects of Sheshang capsule on blood coagulation function of patients bitten by Trimeresurus stejnegeri snake** Wen Dan, He Weidong, Wang Huanhuan, Chen Tengfei, Wang Huaxin, Wu Hui, Wu Tiansheng, Shao Dan, Li Ming, Chen Hongjie. Department of Emergency, People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350004, Fujian, China

Corresponding author: He Weidong, Email: hwd968@126.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) Sheshang capsule for treatment of blood coagulation dysfunction in patients bitten by Trimeresurus stejnegeri snake. **Methods** A prospective study was conducted. Seventy Trimeresurus stejnegeri snake envenoming patients whose manifestations conformed to the diagnostic criteria of the fire toxin syndrome in TCM were assigned into therapy group and control group by random number table (each, 35 cases). The basic treatments (including wound disinfection, intramuscular injection of 1500 U tetanus antitoxin, conventional dose of antibiotics, 10 mg dexamethasone, 40 mg omeprazole) and 10 Jidesheng Sheyao tablets three times a day were applied in the control group. In the therapy group, the basic treatments the same as those of the control group were given, and in the mean time 5 Sheshang capsules (the drug was prepared in our hospital including ingredients: rhubarb, coptidis rhizoma, pleione bulbocodioides, elecampane inula root, bayberry bark, borneol and so on) were administered three times a day. The therapeutic course in the two groups was 1 week. The levels of platelet  $\alpha$ -granule membrane protein (CD62p), thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>), platelet factor 3 (PF3) and von Willebrand factor (vWF) in serum were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) before and after treatment. **Results** Before treatment, there were no significant differences in CD62p, TXB<sub>2</sub>, PF3 and vWF between therapy group and control group [CD62p ( $\mu$ g/L): 3.81  $\pm$  1.64 vs. 3.52  $\pm$  1.43, TXB<sub>2</sub> ( $\mu$ g/L): 13.04  $\pm$  1.67 vs. 13.31  $\pm$  1.14, PF3 ( $\mu$ g/L): 2.84  $\pm$  1.08 vs. 2.88  $\pm$  1.23, vWF ( $\mu$ g/L): 12.36  $\pm$  2.42 vs. 11.89  $\pm$  2.08, all  $P > 0.05$ ]. After treatment, the levels of CD62p, TXB<sub>2</sub> and PF3 were increased, while vWF decreased compared with those before treatment in both groups, the level changes in therapy group being more remarkable [CD62p ( $\mu$ g/L): 6.73  $\pm$  1.77 vs. 5.81  $\pm$  1.62, TXB<sub>2</sub> ( $\mu$ g/L): 18.65  $\pm$  1.77 vs. 17.90  $\pm$  1.68, PF3 ( $\mu$ g/L): 5.61  $\pm$  1.48 vs. 4.77  $\pm$  1.24, vWF ( $\mu$ g/L): 3.87  $\pm$  1.01 vs. 4.58  $\pm$  1.09,  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ]. **Conclusion** The Sheshang capsule is capable of treating patients with blood coagulative disorder after Trimeresurus stejnegeri snake bite, and its mechanism is possibly related to the improvement of platelet activation function and amelioration of the damage of vascular endothelial cells.

**【Key words】** Sheshang capsule; Trimeresurus stejnegeri snake; Blood coagulation disorder; Platelet activation; Vascular endothelial cell

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.02.010

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2012Y0036); 福建省中西医结合急诊重点研究室建设项目(闽卫中 2013-445); 福建中医药大学重点学科专项校管课题(X2014033- 学科, X2014034- 学科, X2014035 学科)

通讯作者: 何卫东, Email: hwd968@126.com

竹叶青蛇伤易导致机体凝血功能障碍。本课题组前期研究表明,应用本院院内制剂蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤凝血功能障碍的作用机制与改善出凝血时间和血小板形态及其聚集功能有关<sup>[1-2]</sup>。本研究通过观察蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤患者  $\alpha$ -颗粒膜糖蛋白(CD62p)、血栓素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)、血管性血友病因子(vWF)、血小板第 3 因子(PF3)等指标的影响,从血小板活化功能和血管内皮细胞损伤角度探讨蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤凝血功能障碍的作用机制。

### 1 资料与方法

**1.1 诊断标准:** 竹叶青蛇伤诊断及中医辨证参照《中医病证诊断疗效标准》及中国中西医结合学会急救医学专业委员会蛇伤急救学组 2001 年制订的“毒蛇咬伤的临床分型及严重程度评分标准”<sup>[3]</sup>。

**1.2 纳入标准:** ① 确诊为竹叶青蛇咬伤:有毒蛇咬伤史;患者所述蛇形符合竹叶青蛇特征(通身绿色;腹面稍浅或呈草黄色;眼睛、尾背和尾尖焦红色;体侧常有一条由红白各半或白色的背鳞缀成的纵线;头较大,呈三角形,眼与鼻孔之间有颊窝;尾部较短,具有缠绕性;头背都是小鳞片)或蛇体经医务人员鉴定为竹叶青蛇。② 具有火毒证型特点:局部肿胀疼痛、渗血或有水疱、血疱、瘀斑,严重者局部组织坏死;恶寒发热,口干;烦躁胸闷,心悸;少尿、无尿、尿血、便血,甚者五官、内脏出血;舌红,苔黄,脉弦数或结代。③ 能配合口服中药。

**1.3 排除标准:** ① 不符合竹叶青蛇火毒证诊断标准者。② 原有血液病、肝病或被咬伤前正接受影响凝血功能药物治疗者。③ 原有心脏病及心肌功能损害者。④ 院前已使用具有泻火解毒、消肿止痛、凉血止血功能的相关方药治疗者。⑤ 不能配合检查、治疗和观察,以及资料不全者。

**1.4 一般资料:** 选择 2012 年 4 月至 2013 年 10 月福建中医药大学附属人民医院急诊科留院观察及中医外科收治具有火毒证的 70 例竹叶青蛇伤患者为观察对象。按照随机数字表法将入选病例分为治疗组和对照组,每组 35 例。两组患者性别、年龄、平均病程比较差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ , 表 1)。

表 1 两组一般资料比较

组别	例数 (例)	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	病程 [h, $M(Q_L, Q_U)$ ]
		男性	女性		
对照组	35	19	16	54.97 ± 12.51	8(5, 18)
治疗组	35	20	15	51.60 ± 17.71	11(4, 24)

本研究符合医学伦理学标准,并经医院伦理委员会批准,取得患者或家属知情同意。

### 1.5 治疗方法

**1.5.1 对照组:** 基础治疗为伤口消毒清创处理,肌注破伤风抗毒素 1 500 U,使用常规剂量抗菌药物、地塞米松 10 mg、奥美拉唑 40 mg。另外,服用季德胜蛇药片(精华制药集团股份有限公司,国药准字:Z32020048)10 片,每天 3 次。

**1.5.2 治疗组:** 基础治疗同对照组,另外口服蛇伤胶囊(福建中医药大学附属人民医院的院内制剂,批准文号:闽药制字 Z06106044,组成包括:大黄、黄连、山慈菇、土木香、杨梅皮、冰片等),每次 5 粒,每天 3 次。治疗组及对照组疗程均为 1 周。

**1.6 观察指标及方法:** 治疗前及治疗 1 周后采集血液标本,用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清 CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3、vWF 含量。

**1.7 统计学处理:** 使用 SPSS 19.0 统计软件处理数据,正态分布计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用  $t$  检验,非正态分布计量资料以中位数(四分位数)[ $M(Q_L, Q_U)$ ]表示,采用非参数检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

表 2 结果显示,治疗前两组 CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3、vWF 含量比较差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ );治疗后两组 CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3 均较治疗前增加,vWF 均较治疗前降低,且上述指标的变化以治疗组更显著( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

竹叶青蛇伤引起内外出血与血小板功能障碍和血管内皮细胞损伤密切相关。血小板具有维持生理性止血、维持血管壁完整性的作用<sup>[4-5]</sup>,其前提是促

表 2 两组 CD62p、TXB<sub>2</sub>、vWF、PF3 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数 (例)	CD62p( $\mu\text{g/L}$ )			TXB <sub>2</sub> ( $\mu\text{g/L}$ )			PF3( $\mu\text{g/L}$ )			vWF( $\mu\text{g/L}$ )		
		治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值
对照组	35	3.52 ± 1.43	5.81 ± 1.62	2.29 ± 0.92	13.31 ± 1.14	17.90 ± 1.68	4.58 ± 2.01	2.88 ± 1.23	4.77 ± 1.24	1.89 ± 1.04	11.89 ± 2.08	4.58 ± 1.09	7.31 ± 2.40
治疗组	35	3.81 ± 1.64	6.73 ± 1.77 <sup>a</sup>	2.93 ± 1.17 <sup>a</sup>	13.04 ± 1.67	18.65 ± 1.77	5.61 ± 1.81 <sup>a</sup>	2.84 ± 1.08	5.61 ± 1.48 <sup>a</sup>	2.77 ± 1.07 <sup>b</sup>	12.36 ± 2.42	3.87 ± 1.01 <sup>b</sup>	8.49 ± 2.49 <sup>a</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$

进血小板活化,主要表现为血小板聚集、血小板形态改变及血小板成分的释放<sup>[6]</sup>。蛇毒中的类凝血酶在促凝过程中消耗大量血小板和其他凝血因子,同时抗凝成分又抑制了血小板及多种凝血因子的活性。蛇毒对血小板的抑制作用主要体现在抑制其聚集和活化两个方面。蛇毒中的出血毒素破坏了毛细血管内皮细胞或内皮细胞间的联结,引起出血;破损的内皮细胞可释放出多种血管活性物质,如 vWF、血栓调节蛋白(TM)、E-选择素(ES)等,通过改变血管张力及血流动力学,激活凝血系统和血小板,增加血管通透性等,造成一系列病理变化。本研究显示,CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3、vWF 在机体血小板活化及血管内皮细胞损伤中具有重要作用。

CD62P 又称 GMP-140,是血小板  $\alpha$ -颗粒膜糖蛋白,作为细胞膜表面的黏附分子,能介导血小板与血管内皮细胞间的黏附作用,从而启动止血甚至血栓形成<sup>[7-9]</sup>。CD62P 与血小板活化密切相关,其含量改变可反映血小板的活化程度,并作为其活化的标志物<sup>[10-11]</sup>。竹叶青蛇伤产生的凝血酶初始作为血小板的致聚剂,通过血小板激活因子途径发挥作用。激活的血小板膜里的花生四烯酸游离出来,受血小板膜上酶的作用而形成致聚剂血栓素 A<sub>2</sub>,并很快转化为稳定的 TXB<sub>2</sub><sup>[12-13]</sup>,TXB<sub>2</sub> 反过来又可促进血小板的聚集<sup>[14-15]</sup>。因此,TXB<sub>2</sub> 含量与血小板聚集程度相关,并可反映血小板的活化程度。

PF3 是血小板活化过程中形成的一种膜表面磷脂,是人体凝血的重要组成部分,是凝血因子 V 的固定部位,可加速凝血活酶的生成,促进凝血过程,因此,PF3 是血小板参与凝血过程的重要因子,PF3 的有效性下降,将导致凝血功能障碍<sup>[16-17]</sup>。

vWF 是由血管内皮细胞、巨核细胞合成的大分子糖蛋白,内皮细胞是血液 vWF 的主要来源。vWF 具有黏附因子活性,是介导血小板与血管内皮下组织黏附、形成血栓的主要分子<sup>[18-19]</sup>。血小板受到刺激时,在 vWF 作用下黏附于受损血管处暴露的内皮组织<sup>[20]</sup>;随后,黏附的血小板被内皮下组织或局部形成的凝血酶所活化<sup>[21]</sup>。血浆 vWF 含量升高是反映血管内皮损伤的重要标志之一,可以作为衡量血管内皮细胞功能状态的指标<sup>[22]</sup>。

综上,竹叶青蛇伤患者血小板活化功能受到抑制,血管内皮细胞损伤,因而易发生凝血障碍。蛇伤胶囊通过升高蛇伤患者体内 CD62p、TXB<sub>2</sub>、PF3 含量,降低 vWF 含量,提高血小板活化和保护血管内皮细胞功能,进而改善和治疗凝血障碍。

## 参考文献

- [1] 文丹,何卫东,王缓缓,等.蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔凝血功能的影响[J].中华危重病急救医学,2014,26(3):193-194.
- [2] 文丹,何卫东,王缓缓,等.蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔血小板功能的影响及其作用机制研究[J].中华危重病急救医学,2014,26(8):585-588.
- [3] 中国中西医结合学会急救医学专业委员会蛇伤急救学组.毒蛇咬伤的临床分型及严重程度评分标准(修订稿)[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(1):18.
- [4] Steinhubl SR, Moliterno DJ. The role of the platelet in the pathogenesis of atherothrombosis [J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2005, 5(6):399-408.
- [5] Weyrich AS, Zimmerman GA. Platelets: signaling cells in the immune continuum [J]. Trends Immunol, 2004, 25(9):489-495.
- [6] Gachet C. Molecular mechanisms of platelet activation [J]. Bull Acad Natl Med, 2013, 197(2):361-373.
- [7] Polek A, Sobiczewski W, Matowicka-Karna J. P-selectin and its role in some diseases [J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2009, 63:465-470.
- [8] Xianghong G, Guanping C, Fenghua Y, et al. Changes in platelet functional parameters and CD62 P expression in liver cirrhosis [J]. Afr Health Sci, 2013, 13(4):1079-1083.
- [9] 谭峰,顾卫,黄涛,等.麝香注射液对急性脑梗死患者 CD62P 与 TNF- $\alpha$  的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2003, 10(2):99-101.
- [10] 闻绍云,陈秋月,张丹红.水蛭对脑动脉硬化症患者血小板活化及血液流变学的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(2):91-94.
- [11] 陈江斌,孙小梅,方永有.三七总皂苷对冠心病心绞痛患者血浆内皮素 -1 和血小板功能的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16(2):96-98.
- [12] John F, Kavitha S, Panicker S, et al. Elevated levels of leukotriene B4 and thromboxane B2 distinguish chest pain of cardiac and non cardiac origin [J]. Indian Heart J, 2013, 65(3):295-299.
- [13] DeFilippis AP, Oloyede OS, Andrikopoulou E, et al. Thromboxane A<sub>2</sub> generation, in the absence of platelet COX-1 activity, in patients with and without atherothrombotic myocardial infarction [J]. Circ J, 2013, 77(11):2786-2792.
- [14] 冉秋,何建成.不同中医治法对帕金森病大鼠 6-酮前列腺素、血栓素 B2 和内皮素的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(19):2771-2773.
- [15] 王东生,钟广伟,万玲,等.精制大黄廬虫丸对动脉血栓形成的影响 [J]. 中医杂志, 2013, 54(2):138-141.
- [16] Gupta PK, Charan VD, Saxena R. Spectrum of Von Willebrand disease and inherited platelet function disorders amongst Indian bleeders [J]. Ann Hematol, 2007, 86(6):403-407.
- [17] Naithani P, Mehrotra A, Venkatesh P, et al. Bilateral vitreous hemorrhage in a child due to isolated platelet factor 3 availability defect [J]. J AAPOS, 2008, 12(2):203-204.
- [18] Shiltagh N, Kirkpatrick J, Cabrera LD, et al. Solution structure of the major factor VIII binding region on von Willebrand factor [J]. Blood, 2014, 123(26):4143-4151.
- [19] 黄敏,谢建祥,吴锐,等.血瘀证目征与血管内皮细胞损伤的关系 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(4):781-784.
- [20] 张崧,田苗,官媛,等.心房快速激动对兔心房 P 选择素及血管性血友病因子表达的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(9):912-915.
- [21] 王蕾,田桂玲,李芳.急性脑梗死患者血小板膜糖蛋白与血小板参数的研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14(3):173-175.
- [22] 彭志允,陈利国,贾会欣,等.丹参酮 II A 对高血压病患者血清损伤后的内皮细胞的影响 [J]. 中成药, 2012, 34(2):199-203.

(收稿日期:2014-11-05)(本文编辑:李银平)