

胰蛋白酶治疗蝰科蛇毒中毒的研究

熊郁良 邹汝金 叶智章 陈锡兰

(中国科学院昆明动物研究所)

提要 本文提供了一种局部注射胰蛋白酶治疗蛇伤的方法, 在给小白鼠皮下注射致死剂量的竹叶青蛇毒后, 立即注射胰蛋白酶可提高存活率 68%, 注射蝮蛇毒后, 立即注射胰蛋白酶可提高存活率 67%, 注射尖吻蝮蛇毒后立即注射胰蛋白酶可提高存活率 57%。临床观察 207 例, 均获治愈, 无不良后遗症。该药生产、保存方便, 并可装在随身携带的急救注射器中, 是蛇伤急救的一个较好药物。为蛇伤治疗增加一种新的方法。

毒蛇蛇毒中的毒性成分是蛋白质, 可为蛋白酶所分解, 当其注入人畜体后, 在注毒部位注入胰蛋白酶; 即可将毒液中的毒性蛋白分解, 使人畜免于中毒。我们曾报道胰蛋白酶对眼镜蛇科蛇毒中毒动物具有显著的保护作用^[1], 临床也证明了这点^[2]。

为进一步研究其对蝰科蛇毒的治疗效果, 我们又开展了实验室和临床工作, 现将有关结果报道于下:

材 料 和 方 法

蛇毒 蝮蛇(*Agkistrodon halys*)毒由南通医学院及浙江医科大学提供, 尖吻蝮(*A. acutus*)蛇毒由湖南及广西医学院提供; 竹叶青蛇毒系我们用咬皿法自取的, 为竹叶青(*Trimeresurus stejnegeri*)与白唇竹叶青(*T. albolabris*)两种蛇的混合毒; 眼镜蛇(*Naja naja*)神经毒, 心脏毒, 尖吻蝮出血毒素系本所生化组提供。

胰蛋白酶 上海生物化学研究所 1972 年及上海生物制品所 1975 年制的结晶注射用胰蛋白酶。

小白鼠 体重 18~22 克, 本所动物房提供。

家兔 自繁普通兔。

小白鼠皮下注射试验 于小白鼠鼠蹊部皮下注射溶于 0.1 ml 蒸馏水中的致死量蛇毒: 小于蝮蛇毒 180 $\mu\text{g}/20\text{g}$ 体重, 尖吻蝮蛇毒 450 $\mu\text{g}/20\text{g}$ 体重, 竹叶青蛇毒 700 $\mu\text{g}/20\text{g}$ 体重, 神经毒 10 $\mu\text{g}/20\text{g}$ 体重, 心脏毒 600 $\mu\text{g}/20\text{g}$ 体重, 注毒后立即或间隔一定时间, 在注毒部位皮下注射胰蛋白酶溶液每鼠 180 单位。

对照组注毒后不给酶, 也不注射其它溶液。

混合保温试验 将小白鼠皮下注射用的致死剂量蝮蛇毒, 尖吻蝮蛇毒, 竹叶青蛇毒分别同 100 单位注射用结晶胰蛋白酶混合摇匀于 37°C 保温 24 小时后注射给小白鼠。上两项体内试验观察 48 小时死亡率用(χ^2)法计算其差异显著性。

出血毒素测定 参照 Omori 等^[3]方法, 于家兔背部脱毛后皮下分别注射尖吻蝮出血毒素 1

或 2 (400 μg , 溶于 0.4 ml), 加胰蛋白酶 400 单位或单注胰蛋白酶 400 单位/0.4 ml, 生理盐水 0.4 ml; 出血毒素 1 或 2, 400 μg /0.4 ml 等各点对照。观察 24 小时, 处死家兔, 剥离皮肤测量各点最长径与最短径乘积(cm^2), 比较出血斑大小。

结 果

从表 1 的结果可见, 在给小白鼠皮下注射致死剂量的蝮蛇毒, 尖吻蝮蛇毒, 竹叶青蛇毒后立即在注毒部位注射胰蛋白酶, 能显著地提高动物的存活率($P < 0.001$)。

表 1 小白鼠皮下注射蛇毒后立即在注毒部位注射胰蛋白酶 180u 的实验结果

蛇毒种类	注毒量 $\mu\text{g}/20\text{g}$	实验次数	实 验 组			对 照 组			P
			动物总数 (只)	死亡数 (只)	死亡率 (%)	动物总数 (只)	死亡数 (只)	死亡率 (%)	
竹叶青蛇毒	700	2	40	13	32	40	40	100	< 0.001
尖吻蝮蛇毒	450	2	60	22	37	60	56	94	< 0.001
蝮蛇毒	180	2	40	10	25	40	37	92	< 0.001

毒蛇咬伤后如能立即救治效果最好, 但往往因各种原因延误治疗时间。为进一步确定长时间给酶是否有效, 我们在注射尖吻蝮蛇毒或蝮蛇毒后 10 分钟, 30 分钟或 60 分钟, 再于注毒部位注射胰蛋白酶, 结果仍有一定的治疗效果如表 2 所示:

表 2 小鼠皮下注射尖吻蝮蛇毒(450 $\mu\text{g}/20\text{g}$ 体重)后不同时间皮下注射胰蛋白酶(160u/鼠)对小鼠的保护作用(实验进行两次, 每次每组小鼠 20 只, 共用 40 只)

注毒后的时间 分钟	死 亡 动 物 数	P
对 照	38	
10	7	< 0.001
30	9	< 0.001
60	13	< 0.001

在另一实验里, 注射蝮蛇毒 (180 $\mu\text{g}/20\text{g}$) 的 40 只小鼠死亡 36 只; 注射蝮蛇毒后 10 分钟皮下注射胰蛋白酶的 40 只小鼠只死亡 14 只。

实验尚证明如将蛇毒与胰蛋白酶混合保温后则毒力全部丧失, 再注给小白鼠无一死亡。体内实验尚证明于注毒部位立即注射 160 单位的胰蛋白酶可使注射 3 倍以上全数致死量小鼠免于死亡。尚证明它能抑制尖吻蝮出血毒素 II。

实验取得结果后, 我们进行了临床验证, 从云南、广东、湖南有关医院收治 207 例蝮科毒蛇咬伤病人均获治愈, 无后遗症。

治疗方法 以注射用结晶胰蛋白酶 2000~4000 单位 (1~2 安瓿) 用 0.25%~0.5% 的普鲁卡因或注射用水稀释, 稀释量视注射部位酌定, 一般 4~6 ml, 以蛇咬的牙痕为中心, 在伤口周围作浸润注射, 如肿胀已蔓延, 同时在肿胀部位上方环形封闭, 每日一次, 可反复使用 3~5 日。用药 30 分钟后可同时行切开伤口排毒, 晚期危重病人除用本法消除残留于局部的毒液外, 需同时采用中西医结合治疗。

治疗结果 本组共收治 207 例, 均获治愈, 无后遗症, 治疗时间平均 2.5 天, 危重型配合中西治疗, 疗程 8 天, 见表 3:

表 3 治 疗 结 果

毒 蛇 种 类	病例 (人)	单用胰蛋白酶治疗 (人)	胰蛋白酶与其它蛇药、抗 血清合治 (人)	平均治疗时间(天)	
				轻、中、重型	危 型
蝾 蛇	8	2	6	4.8	10
尖吻蝾	13	6	7	2.6	11
蝾 蛇	45	36	9	2.3	
烙铁头 山烙铁头	15	11	4	3.1	6
菜花蕲蛇	3	2	1	1.3	
竹叶青、白唇竹叶青	123	98	25	2.1	5
合 计	207	136	51	2.6	8

治愈标准 全身症状消失，局部肿胀消退，伤口愈合，劳动力基本恢复。

胰蛋白酶治疗毒蛇咬伤，就诊时间越早疗效越好。207 例中 1 小时内就诊的 96 例，平均治疗时间 2.2 天，仅 13 例采用综合治疗，2~3 天就诊的 28 例，平均治疗时间 3.7 天，均配合中西医治疗，3 天以上 19 例，治疗时间 8~9 天，均用中西医结合。其余病例未行统计时间。

讨 论

在咬伤部位注射胰蛋白酶，可以认为是治疗毒蛇咬伤的一种新方法，这样可直接分解破坏蛇毒蛋白。根据我们过去工作^[1,2]，及本文报告的蝾科毒蛇中毒的研究和临床结果证明，胰蛋白酶是一种“高效、速效、广效”的蛇伤治疗药物，于 1976 年鉴定推广使用。至今临床反映较好。

本研究还说明胰蛋白酶治疗蛇伤，用药越早效果越好，所以适用于早期急救。对晚期蛇伤患者的治疗同样需用，据报道^[4]有一人被虎蛇咬伤 4 天后死亡，尸检时将咬伤部位组织提取液给豚鼠皮下注射，豚鼠仍全数麻痹死亡。广西医学院对银环蛇咬伤 3 天死亡患者进行类似工作亦证明这点。我们对狗和小白鼠注射竹叶青，尖吻蝾蛇毒 24~48 小时死亡后，吸取局部组织液用琼脂平板扩散方法同样证明伤口有残毒，这说明“毒库”在咬伤部位残存时间较长，因此晚期病人使用胰蛋白酶治疗，可消除残留的蛇毒，提高疗效，避免组织坏死后遗症。

参 考 文 献

- [1] 熊郁良等：胰蛋白酶处理眼镜蛇科蛇毒中毒动物的实验研究，中国科学 (5):505, 1975.
- [2] 熊郁良等：胰蛋白酶治疗毒蛇咬伤 336 例临床结果，中华医学杂志 59:141, 1979.
- [3] Omori T, et al: Relationship between the haemorrhagic and lethal activities of Hapanese mambushi (*Agkistrodon halys blomhoffii*) venom, *Toxicon*, 2:1, 1964.
- [4] Russell, et al: Snake Venoms & Envenomation, p 99, Marcel Dekker Inc, New York, 1971.
- [5] Yang, C C: Chemistry and evolution of toxins in snake venoms, *Toxicon*, 12:1, 1974.

EXPERIMENTAL STUDIES ON TREATMENT OF VIPERIDAE SNAKE BITE WITH TRYPSIN

Xiong Yuliang, Zou Rnjin, Ye Zhizhang and Cheu Xilang
(Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)

ABSTRACT

The local injection of trypsin can be used in clinical practice as a new and effective therapy for snakebite.

Our experiments indicate that when a lethal dose of crotalinae snake venom was injected into mice subcutaneously, survival rate increased significantly if a dose of trypsin had been injected locally and promptly.

When lethal doses of the venoms (*Trimeresurus* 700 μg , *Aghistrodon acutus* 450 μg , *A. halys* 180 μg) were injected into mice and trypsin is given, the survival rate is 68%, 57%, 67%.

We've treated 207 cases of snakebite without death. The production of trypsin is rather simple and its preservation needs no special condition. Trypsin can be put into portable first-aid auto-injector and can be used after snakebite at the earliest possible time.