

ระดับ tissue-type Plasminogen Activator

ในผู้ป่วยงูเห่าทางไหมกัด



นาย พลภัทร โรจนันครินทร์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาอายุรศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-429-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17057437

**TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR LEVELS  
IN GREEN PIT VIPER BITE PATIENTS**



**Mister Ponlapat Rojnuckarin**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**

**for the Degree of Master of Science**

**Department of Medicine**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University**

**1996**

**ISBN 974-634-429-3**

Thesis Title            TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR LEVELS IN  
GREEN PIT VIPER BITE PATIENTS  
by                            Mister Ponlapat Rojnuckarin  
Department            Medicine  
Thesis Advisor        Associate Professor Tanin Intragumthornchai, M.D.

---

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment  
of the Requirements for the Master's Degree

*Santi Thoongsuwan*

..... Dean of Graduate School

(Associate Professor Santi Thoongsuwan)

Thesis Committee

*Chaivej Nuchprayoon*

..... Chairman

(Professor Chaivej Nuchprayoon)

*Tanin Intragumthornchai*

..... Thesis Advisor

(Associate Professor Tanin Intragumthornchai)

*Suebsen Mahasandana*

..... Member

(Associate Professor Suebsen Mahasandana)

*Kammant Phanthumchinda*

..... Member

(Professor Kammant Phanthumchinda)

## พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว



พลภัทร โรจน์นครินทร์ : ระดับ tissue-type plasminogen activator ในผู้ป่วยงูเห่าหางไหม้กัด (TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR LEVELS IN GREEN PIT VIPER BITE PATIENTS) อ. ที่ปรึกษา : รศ. นพ. ธานีพร อินทรกำธรชัย, 72 หน้า. ISBN 974-634-429-3

ภาวะงูเห่าหางไหม้กัดเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย การศึกษาในอดีตพบว่าพิษงูมีฤทธิ์ทำให้เลือดแข็งตัวอย่างแรงและมีฤทธิ์ละลายลิ่มเลือดอย่างอ่อนในหลอดทดลอง แต่การศึกษาในผู้ป่วยพบว่าจะมีไฟบริโนเจนต่ำจากการละลายลิ่มเลือดอย่างมาก ผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่า tissue-type plasminogen activator (t-PA) ซึ่งหลังจากเซลล์บุผิวหลอดเลือด เป็นสาเหตุของฤทธิ์ละลายลิ่มเลือดอย่างแรงในคน จุดประสงค์ของการวิจัยคือ เพื่อวัดระดับแอนติเจนและ activity ของ plasminogen activator ในผู้ป่วยงูเห่าหางไหม้กัด

ผู้ป่วยงูเห่าหางไหม้กัด 32 รายซึ่งได้รับการวินิจฉัยโดยการตรวจซากงูที่ผู้ป่วยนำมา และกลุ่มควบคุม 30 ราย ได้รับการตรวจเลือดเพื่อดูเวลาการแข็งตัวของเลือด, ระดับไฟบริโนเจน, fibrinopeptide A และปัจจัยในการละลายลิ่มเลือดชนิดต่างๆ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่มผู้ป่วยจะมีระดับไฟบริโนเจนต่ำกว่า, euglobulin lysis time สั้นกว่า, ระดับ plasminogen และ antiplasmin ต่ำกว่า แสดงถึงการกระตุ้นระบบละลายลิ่มเลือด plasminogen activator activity ในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมเป็น (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)  $0.253 \pm 0.276$  IU/ml และ  $0.116 \pm 0.051$  IU/ml ตามลำดับ ( $p=0.0095$ ) บ่งถึงภาวะที่มีการละลายลิ่มเลือดมากเกินไป ระดับ t-PA ในกลุ่มผู้ป่วยก็สูงกว่ากลุ่มควบคุม ( $8.48 \pm 7.05$  ng/ml และ  $4.75 \pm 3.75$  ng/ml ตามลำดับ,  $p=0.0123$ ) นอกจากนี้ ระดับ t-PA ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกระตุ้นระบบละลายลิ่มเลือดก็สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการกระตุ้นระบบนี้ ซึ่งบ่งว่า t-PA อาจเป็นสาเหตุของภาวะที่มีการละลายลิ่มเลือดมากเกินไป แต่ plasminogen activator activity ที่เพิ่มขึ้น ไม่สัมพันธ์กับ ระดับไฟบริโนเจน ที่ต่ำลง และไม่สัมพันธ์กับ t-PA ที่สูงขึ้น ซึ่งบ่งว่าอาจมีกลไกสำคัญอื่นอีกที่ทำให้เกิดการละลายลิ่มเลือดในคน

สรุปว่าระดับแอนติเจนและ activity ของ plasminogen activator สูงขึ้นในผู้ป่วยงูเห่าหางไหม้กัด ความสำคัญทางคลินิกและกลไกของการหลัง t-PA ยังต้องมีการศึกษาต่อไป

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา อายurved ศาสตร์ .....  
สาขาวิชา อายurved ศาสตร์ (โณหิตวิทยา) .....  
ปีการศึกษา ๒๕๓๘ .....

ลายมือชื่อนิติพลภัทร โรจน์นครินทร์ .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

# #C 747023 : MAJOR MEDICINE (Hematology)  
KEY WORD: VIPER VENOM, FIBRINOLYSIS, PLASMINOGEN ACTIVATOR  
PONLAPAT ROJNUCKARIN : TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR LEVELS IN  
GREEN PIT VIPER BITE PATIENTS. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. TANIN  
INTRAGUMTHORNCHAI, M.D. 72 pp. ISBN 974-634-429-3

Green pit viper bite is an important health problem in Thailand. Previous *in vitro* studies revealed a strong cogulant effect and a weak fibrinolytic effect of the venom. In contrast, *in vivo* studies found defibrination syndrome with prominent fibrinolysis. Tissue-type plasminogen activator (t-PA) released from endothelium is hypothesized to be the cause of strong *in vivo* fibrinolysis. The objective of this research is to determine the plasminogen activator antigen and activity in the patients.

Thirty two cases of Green pit viper bites diagnosed by identification of the snakes brought with the patients as well as 30 healthy control subjects were tested for platelet count, coagulogram, fibrinopeptide A and various fibrinolytic parameters. Compared with the control group, the case group had lower fibrinogen, shorter euglobulin lysis time, lower plasminogen and antiplasmin activity suggesting fibrinolytic activation. Plasminogen activator activity of case and control group was (mean  $\pm$  SD)  $0.253 \pm 0.276$  and  $0.116 \pm 0.051$  IU/ml respectively ( $p=0.0095$ ) indicating hyperfibrinolytic states. Tissue-type plasminogen activator levels were also higher in case group than in control group ( $8.48 \pm 7.05$  and  $4.75 \pm 3.75$  ng/ml respectively,  $p=0.0123$ ). In addition, t-PA levels of patients with fibrinolytic activation were significantly higher than those of patients without the activation suggesting that t-PA is a cause of hyperfibrinolysis. However, plasminogen activator activity elevation was not correlated with fibrinogen levels and not correlated with t-PA levels suggesting that there may be the other mechanism playing a role in fibrinolysis.

In conclusion, plasminogen activator antigen and activity were elevated in green pit viper bites. Its clinical significance and the mechanism of t-PA release have to be further elucidated.

ศูนย์วิจัยทรัพยากรชีวภาพ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาอายุรศาสตร์  
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ (โลหิตวิทยา)  
ปีการศึกษา ๒๕๓๘

ลายมือชื่อนิติ พงษ์ ธรานันท์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ณัฏฐ์ ธรรม  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## Acknowledgement

I would like to express my sincere gratitude to all of the following persons who contribute greatly to this study.

Associate Professor Tanin Intragumthornchai, M.D. the thesis advisor who gives invaluable suggestions and support

Associate Professor Suebsan Mahasandana, M.D. who set up snake bite clinic at Hematology division and thus resulted in our study material

Professor Chit Sithiamorn, M.D. who taught me about Research Methodology and Statistics

Miss Roong Settapiboon who did most of the laboratory tests

Miss Chuanchom Muanprasitporn who did all the ELISA tests

All persons in Hematology division especially Miss Suptawee Wanaying and Mister Soonthorn Som-ngam for their kind help

All snake bite patients

This project is received full financial support from Rachadapiseksompoch research fund.

## Table of Contents

	page
Abstract ( Thai ).....	iv
Abstract ( English ).....	v
Acknowledgement.....	vi
List of Tables.....	ix
List of Figures.....	x
Abbreviations.....	xi
Chapter	
1 LITERATURE REVIEW.....	1
Introduction.....	1
Effect of Green Pit Viper Venom on Hemostatic system.....	2
Physiology of Fibrinolytic System.....	4
Fibrinolysis in Various Models of DIC.....	6
2 RATIONALE AND OBJECTIVE.....	9
Research Questions.....	11
Objectives.....	12
Hypothesis.....	11
Clinical Implication of the Study.....	12
3 METHODOLOGY.....	14
Research Design.....	14
Research Methodology.....	14
Sample Size Justification.....	14
Patient Group.....	15
Diagnostic Criteria.....	15
Exclusion Criteria.....	16
Control Group.....	16
Data Collection.....	17
Outcome Measurement.....	19
Methods.....	19

	page
Quality Control.....	20
Interpretation of the results.....	20
Statistical Analysis.....	21
Ethical Consideration.....	21
Limitations of the Study.....	21
4 RESULTS.....	22
Control Group.....	22
Patient Group.....	22
Comparison between Case and Control Group.....	30
Response to Antivenin.....	50
5 DISCUSSION.....	52
6 CONCLUSION.....	57
REFERENCES.....	58
Appendix	
APPENDIX I.....	66
APPENDIX II.....	68
APPENDIX III.....	69
Biography.....	72

ศูนย์วิจัยทันตสุขภาพ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## Lists of Tables

Table	page
Table 1 Parameters in Control Group.....	23
Table 2 Correlation coefficients between Parameters in Control Group.....	24
Table 3 Differences between Sex in Control Group.....	25
Table 4 Abnormal Findings in Case Group.....	28
Table 5 Means of Parameters in Case Group.....	29
Table 6 Differences of Parameters between Sex in Case Group.....	31
Table 7 Differences of Parameters between early and Late Specimen Collections in Case Group.....	32
Table 8 Differences of Parameters between Two Snake Species in Case Group.....	33
Table 9 Correlation Coefficients between Parameters in Case Group.....	34
Table 10 Differences of Parameters in Green Pit Viper Bite Patient with and without fibrinolytic activation.....	35
Table 11 Differences between Case and Control Group.....	36
Table 12 Differences between Case and Control Group (Only in Cases with Morning Sample Collection).....	51

ศูนย์วิจัยพิษวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Lists of Figure

Figure	page
Figure 1 Bitten Sites.....	26
Figure 2 Correlation between Fibrinogen and Plasminogen/Antiplasmin.....	37
Figure 3 Correlation between FDPs and Plasminogen/Antiplasmin.....	38
Figure 4 Correlation between t-PA and Fibrinogen.....	39
Figure 5 Correlation between FDPs and t-PA.....	40
Figure 6 Correlation between Fibrinogen and PA activity.....	41
Figure 7 Correlation between FDPs levels and PA activity.....	42
Figure 8 Correlation between t-PA and PA activity.....	43
Figure 9 Correlation between Platelet Count and Fibrinogen Levels.....	44
Figure 10 Plasminogen Levels in Case and Control Group.....	45
Figure 11 Antiplasmin Activity in Case and Control Group.....	46
Figure 12 t-PA Antigen Levels in Case and Control Group.....	47
Figure 13 Plasminogen Activator Activity in Case and Control Group.....	48
Figure 14 Fibrinopeptide A levels in Case and Control Group.....	49

  
 ศูนย์วิจัยทันตสุขภาพ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Abbreviations

$\alpha$	=	Alpha
APTT	=	Activated Partial Thromboplastin Time
CBC	=	Complete Blood Count
$^{\circ}\text{C}$	=	Degree Celcius
DIC	=	Disseminated Intravascular Coagulation
EACA	=	Epsilon Amino Caproic Acid
ELISA	=	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ELT	=	Euglobulin Lysis Time
FDPs	=	Fibrin-Fibrinogen Degradation Products
FpA	=	Fibrinopeptide A
FpB	=	Fibrinopeptide B
IU	=	International Unit
mg	=	milligram
mg%	=	milligram per 100 milliliters
min	=	minute
ml	=	milliliter
$/\text{mm}^3$	=	per cubic millimeter
$\mu\text{g}$	=	microgram
ng	=	nanogram
NS	=	not significant
PA	=	Plasminogen Activator
PAI	=	Plasminogen Activator Inhibitor
PAI-1	=	Plasminogen Activator Inhibitor 1
PT	=	Prothrombin Time
p value	=	probability value
rpm	=	round per minute
SD	=	Standard Deviation
Spp.	=	Species

<i>T. albolabris</i>	=	<i>Trimeresurus albolabris</i>
<i>T. erythrurus</i>	=	<i>Trimeresurus erythrurus</i>
<i>T. macrops</i>	=	<i>Trimeresurus macrops</i>
<i>T. popeorum</i>	=	<i>Trimeresurus popeorum</i>
t-PA	=	tissue-type Plasminogen Activator
TT	=	Thrombin Time
u-PA	=	urokinase-type Plasminogen Activator
VCT	=	Venous Clotting Time



ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย