

生血灵联合达那唑治疗原发性免疫性血小板减少症疗效评价及对白细胞端粒长度的影响

吴塔娜¹ 陈海琳² 周永明² 胡明辉² 朱文伟²

(1. 青岛市西海岸新区第三人民医院中医科, 青岛 266427; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院血液科, 上海 200437)

【摘要】目的 观察生血灵联合达那唑方案治疗原发性免疫性血小板减少症 (ITP) 的临床疗效及对白细胞端粒长度变化的影响。**方法** 纳入 ITP 患者 54 例, 其中生血灵联合达那唑组 (试验组) 36 例, 达那唑组 (对照组) 18 例, 4 周为 1 个疗程, 共治疗 4 个疗程。治疗前 54 例患者均采用实时荧光定量 PCR 方法检测外周血白细胞端粒长度, 异常者治疗后复测。入组患者每月行血小板计数检查及出血评分、虚劳证候 (生活质量) 症状积分判定。**结果** 试验组西医疾病疗效总有效率 91.67%, 对照组为 66.67%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 试验组中医证候疗效总有效率 94.44%, 对照组为 66.67%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。54 例患者中 21 例 (38.89%) 治疗前外周血白细胞端粒长度较正常人缩短; 治疗组中 15 例端粒长度缩短患者治疗后有 8 例 (53.33%) 较前有所延长, 对照组中 6 例端粒长度缩短患者治疗后有 3 例 (50.00%) 较前有所延长, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。2 组不良事件发生率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 生血灵联合达那唑方案治疗 ITP 临床疗效明显, 且无明显不良反应。达那唑能够部分改善 ITP 患者外周血白细胞端粒磨损。

【关键词】 原发性免疫性血小板减少症; 生血灵; 达那唑; 端粒长度

DOI: 10.16025/j.1674-1307.2023.06.002

原发性免疫性血小板减少症 (primary immune thrombocytopenia, ITP) 是一种获得性自身免疫性出血性疾病, 以无明确诱因的孤立性外周血血小板计数减少为主要特点。达那唑常用于治疗 ITP, 但其确切作用机理尚不明确。有研究发现, 端粒-端粒酶系统异常与 ITP 发病具有相关性^[1]。本病属中医学“血证”范畴, 中医病名为“紫癜病”^[2]。生血灵是上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院血液科根据“脾肾气火相关”理论研制的治疗紫癜病的有效方剂, 临床应用已 30 余年。本研究观察生血灵联合达那唑治疗 ITP 的临床疗效及其对白细胞端粒长度变化的影响, 现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

本研究选择 2019 年 5 月—2022 年 2 月于上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院门诊及病房就

诊的 ITP 患者 54 例。采用随机数字表法按 2:1 分为 2 组, 生血灵联合达那唑组 (试验组) 36 例, 达那唑组 (对照组) 18 例。试验组男 14 例, 女 22 例; 年龄 12~70 岁, 平均 (51.11±14.83) 岁; 血小板计数 (PLT) (24.75±13.31) ×10⁹/L。对照组男 7 例, 女 11 例; 年龄 10~66 岁, 平均 (48.89±13.72) 岁; PLT (25.56±11.54) ×10⁹/L。2 组患者性别、年龄、PLT 等基线数值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本研究通过上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院伦理委员会批准 (伦理号 2020-020)。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断: 参照中华医学会血液学分会《成人原发性免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识 (2016 年版)》^[3] 诊断标准。

1.2.2 中医辨证: 参照国家中医药管理局《22 个专

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81973798); 周永明全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (国中医药人教函〔2022〕75 号); 上海市“十三五”临床重点专科建设项目 (shslczdk05201); 上海市名老中医学术经验研究工作室建设项目 (SHGZS-2017019); 上海中医药大学高峰高原团队项目 (30304114341)

作者简介: 吴塔娜, 女, 30 岁, 硕士, 住院医师。研究方向: 中西医结合治疗血液病。

通信作者: 朱文伟, E-mail: wwz3006@163.com

引用格式: 吴塔娜, 陈海琳, 周永明, 等. 生血灵联合达那唑治疗原发性免疫性血小板减少症疗效评价及对白细胞端粒长度的影响[J]. 北京中医药, 2023, 42(6): 585-588.

业 95 个病种中医诊疗方案》^[4]紫癜病诊断标准,分为血热妄行型、气不摄血型 and 阴虚火旺型。①血热妄行型:主症:出血(皮肤紫癜、鼻衄、齿衄、或月经过多)量多,色鲜红;次症:起病急骤,发热,烦渴,小便黄赤,大便干燥,舌质红,苔黄或黄腻,脉滑数或弦数。②阴虚火旺型:主症:皮肤紫癜色鲜红或暗红;次症:起病较慢,时发时止,五心烦热,鼻衄,齿衄,月经量多,口干,潮热盗汗,舌红少津,苔薄或剥,脉细数。③气不摄血型:主症:皮肤紫癜色淡稀疏;次症:鼻衄、齿衄、月经量多,病程较长,时发时止,稍劳即发,神疲乏力,头晕,气短,面色不华,食少,便溏或排便无力,舌质淡,苔薄白,脉濡细或沉细。

1.3 纳入标准

①符合 ITP 西医诊断标准;②符合中医证候诊断标准;③入组前 1 个月内未使用利妥昔单抗、免疫抑制剂者;④每位受试者均签署知情同意书。

1.4 排除标准

①病情危重,有脑出血或较严重内脏出血者;②妊娠期或哺乳期妇女。

1.5 剔除和脱落标准

①试验过程中受试者依从性差,未规律服药或使用对试验用药影响较大的药物,影响有效性和安全性判定者;②试验过程中自行退出者(疗效差、不良反应、出现特殊生理变化等)。

2 治疗与观察方法

2.1 治疗方法

参加试验的患者避免使用其他会影响血小板计数的药物。当患者 PLT 重度低下并出现活动性出血时,可输注血小板悬浮液、低温沉淀物、血浆或使用止血药物,但必须详细记录该过程。可以继续口服糖尿病、高血压、痛风等相关治疗药物。2 组患者均需连续服药,4 周为 1 个疗程,共治疗 4 个疗程。用药结束后随访 4 周。

2.1.1 对照组:予达那唑胶囊(江苏联环药业股份有限公司生产,批号 H20023116) 0.2 g, 2 次/d, 口服。

2.1.2 试验组:在对照组基础上采用生血灵治疗。生血灵基本方:黄芪 24 g, 党参 12 g, 炒白术 12 g, 生地黄 15 g, 熟地黄 20 g, 菟丝子 15 g, 牡丹皮 12 g, 大青叶 15 g, 仙鹤草 30 g, 炒黄柏 12 g, 丹参 12 g, 木香 6 g, 炙甘草 6 g。辨证加减:血热妄行型在生血灵基本方基础上加用“治血方”:水牛角 30 g (先煎)、茜草炭 15 g、槐花炭 15 g、血见愁 30 g、白茅根 30 g、三七粉 2 g (冲服);气不

摄血型在生血灵基本方基础上加用“补虚方”:制何首乌 15 g、盐补骨脂 15 g、淫羊藿 15 g、阿胶 9 g (烊化)、炒枳壳 5 g;阴虚火旺型在生血灵基本方基础上加用“滋阴降方”:知母 6 g、玄参 12 g、鳖甲 9 g (先煎)、连翘 15 g。中药 1 剂/d, 浓煎 2 次, 药汁合计 200 mL。每次 100 mL, 2 次/d, 餐后 1 h 服用。

2.2 观察指标

2.2.1 中医症状积分:评分标准参照文献 [4], 在治疗前及每个疗程结束时根据患者中医症状进行评分。

2.2.2 出血评分:采用文献 [3] 中“出血评分系统”, 在治疗前及每个疗程结束时进行评分。

2.2.3 PLT: 在治疗前及每个疗程结束时检测患者 PLT。

2.2.4 外周血白细胞端粒长度:所有患者在治疗前均采用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 方法, 分别测定外周血白细胞端粒和内参基因 RPLPO (核糖体大亚基 PO 蛋白基因) 的 Ct 值, 每次反应均设定标准曲线, 计算端粒 (T) 的重复拷贝数与单拷贝基因 (S) 的比率 (T/S)。由于 T/S 比率与端粒长度成正比关系, 因此计算出 T/S 比值后即可得出端粒的相对长度。T/S 计算公式: $T/S = [2CT(\text{telomeres}) / 2CT(\text{single copy gene})] = 2^{-\Delta CT}$ 。检测异常者治疗结束后复测。

(1) 主要试剂: SYBR Green PCR 试剂盒 (Thermo, 货号 #K0223), 无水乙醇 (国药集团, 货号 100092680), DNA 提取试剂盒 (TIANGEN BIOTECH, 货号 DP304)。

(2) 仪器及耗材: Real-time 检测仪 (ABI 公司, ABI-7300), 离心机 (上海卢湘仪离心机仪器有限公司, TG-16M), 移液枪 (吉尔森 P 型移液器公司, P2、P10、P20、P100、P200、P1000), 漩涡振荡器 (青浦沪西仪器厂, K30), 电动匀浆机 (FLUKO, PRO200)。

(3) 检测步骤:①采用密度梯度离心法提取外周血白细胞;②按规程操作提取组织 DNA;③将制备好的 DNA 进行 PCR 扩增。反应条件: (95°C, 15 s; 60°C, 45 s; 72°C, 1 min) × 40 个循环。采用仪器自带软件 (ABI Prism 7300 SDS Software) 进行数据分析。

2.2.5 安全性指标: 2 组患者于治疗前、4 个疗程结束后各检测 1 次肝肾功能及心电图, 全程记录患者不适反应, 观察是否有不良事件发生。若发生

不良事件, 则及时记录相关情况以及所采取的措施和转归情况等。

2.2.6 统计学方法: 使用 SPSS 22.0 统计软件分析和处理本研究数据。计量资料符合正态分布的以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述, 采用两独立样本 t 检验; 不符合正态分布的以中位数 $M (P_{25}, P_{75})$ 表示, 采用秩和检验。计数资料使用 χ^2 检验。检验结果以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 疗效观察

3.1 疗效评定标准

3.1.1 西医疾病疗效标准: 按照文献 [3] 疗效标准评定疗效。①完全反应 (CR): 治疗后 PLT $\geq 100\times 10^9/L$, 且无出血征象。②有效 (R): 治疗后 PLT $\geq 30\times 10^9/L$, 且 PLT 较治疗前增加 2 倍, 且无出血征象。③无效 (NR): 治疗后 PLT $<30\times 10^9/L$, 或者 PLT 增加不到基础值的 2 倍或者有出血。

3.1.2 中医证候疗效标准: 采用《中药新药临床研究指导原则》^[5] 中标准, 用尼莫地平法进行中医证候疗效判定。

3.2 结果

3.2.1 2 组西医疾病疗效比较: 试验组总有效率 91.67% 高于对照组总有效率 66.67%, 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.75, P=0.03$)。见表 1。

表 1 2 组西医疾病疗效比较[例(%)]

分组	例数	CR	R	NR	总有效率
试验组	36	10	23	3	(91.67%)*
对照组	18	2	10	6	(66.67%)

与对照组比较, * $P<0.05$

3.2.2 2 组中医证候疗效比较: 试验组总有效率 94.44% 高于对照组总有效率 66.67%, 差异有统计学意义 ($\chi^2=9.59, P=0.02$)。见表 2。

表 2 2 组中医证候疗效比较[例(%)]

分组	例数	显效	有效	无效	加重	总有效率
试验组	36	20	14	2	0	94.44%*
对照组	18	4	8	6	0	66.67%

与对照组比较, * $P<0.05$

3.2.3 2 组 PLT 比较: 与治疗前比较, 2 组治疗 1 个月、2 个月、3 个月、4 个月的 PLT 均升高, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 2 组治疗前、治疗 1 个月、2 个月、3 个月 PLT 差异均无统计学意义 (治疗前 $Z=-0.27, P=0.79$, 治疗 1 个月 $Z=-0.51, P=0.61$, 治疗 2 个月 $Z=-0.42, P=0.67$, 治疗 3 个月 $Z=-0.13, P=0.90$); 治疗 4 个月试验组 PLT 高于对照组, 差异有统计学意义 ($Z=0.54, P=0.04$)。见表 3。

表 3 2 组 PLT、出血评分、中医症状积分比较[$M (P_{25}, P_{75})$]

分组	例数	时间点	PLT($\times 10^9/L$)	出血评分(分)	中医症状积分(分)
试验组	36	治疗前	23(13,37)	3(2,5)	45(41,49)
		治疗 1 个月	31(20,51) $\Delta\Delta$	3(2,3)** $\Delta\Delta$	36(31,40) $\Delta\Delta$
		治疗 2 个月	44(33,60) $\Delta\Delta$	2(1,2)** $\Delta\Delta$	28(24,35)** $\Delta\Delta$
		治疗 3 个月	57(37,77) $\Delta\Delta$	2(1,2)** $\Delta\Delta$	24(23,27)** $\Delta\Delta$
		治疗 4 个月	79(48,97) $\Delta\Delta^*$	0(0,1)** $\Delta\Delta$	19(18,22)** $\Delta\Delta$
对照组	18	治疗前	24(14,36)	4(3,5)	44(42,47)
		治疗 1 个月	31(23,52) $\Delta\Delta$	4(3,4) $\Delta\Delta$	35(32,40) $\Delta\Delta$
		治疗 2 个月	44(29,58) $\Delta\Delta$	4(3,4) $\Delta\Delta$	30(29,38) $\Delta\Delta$
		治疗 3 个月	54(34,76) $\Delta\Delta$	4(2,4) $\Delta\Delta$	28(26,32) $\Delta\Delta$
		治疗 4 个月	65(48,89) $\Delta\Delta$	4(2,4) $\Delta\Delta$	25(23,29) $\Delta\Delta$

与对照组比较, * $P<0.05$; 与治疗前比较, $\Delta\Delta P<0.01$

3.2.4 出血评分: 2 组治疗前的出血评分差异无统计学意义 ($Z=-0.92, P=0.36$)。与治疗前比较, 2 组治疗 1 个月、2 个月、3 个月、4 个月的出血评分均降低, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 试验组治疗 1 个月、2 个月、3 个月、4 个月的出血评分均低于对照组 ($P<0.01$)。见表 3。

3.2.5 中医症状积分比较: 与治疗前比较, 2 组治疗 1 个月、2 个月、3 个月、4 个月的中医症状积分均下降, 差异均有统计学意义 ($P<0.01$); 2 组治疗前、治疗 1 个月的中医症状积分差异无统计学意义 ($P>0.05$)。试验组治疗 2 个月、3 个月、4 个月中医症状积分均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见表 3。

3.2.6 复发情况：试验组复发 3 例 (8.33%)，对照组复发 6 例 (16.67%)，但差异无统计学意义 ($\chi^2=3.74$, $P=0.49$)。

3.2.7 白细胞端粒长度：试验组 36 例患者中，治疗前有 15 例 (41.67%) 外周血白细胞端粒长度短于同年龄段正常人，治疗后有 8 例 (53.33%) 患者外周血白细胞端粒长度较治疗前延长；对照组 18 例患者中，治疗前有 6 例 (33.33%) 外周血白细胞端粒长度短于同年龄段正常人，治疗后有 3 例 (50.00%) 患者外周血白细胞端粒长度较治疗前延长，治疗前与治疗后，2 组间比较，差异均无统计学意义 ($\chi^2=0.00$, $P=1.00$)。

3.2.8 安全性评价：试验组在治疗过程中发生 3 例肝功能异常，经加用保肝降酶药物后恢复正常；1 例心电图异常（考虑与合并疾病相关）。对照组在治疗过程中发生 2 例肝功能异常，加用保肝降酶药物后恢复正常；1 例胃肠道不适（胃脘部胀闷感）、1 例汗出异常，对症治疗均明显改善。2 组不良反应发生率比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

4 讨论

既往研究^[6]认为，达那唑治疗 ITP 的机制可能为调节淋巴免疫、减少血小板破坏、促进蛋白同化、增加血小板生成。2013 年，有研究发现 ITP 患者存在端粒酶活性增高、端粒长度缩短的现象^[1]。雄激素能够上调端粒酶逆转录酶基因表达和端粒酶活性，因此，作为弱雄激素的蛋白同化激素，达那唑可能通过延长端粒长度而对 ITP 患者起到治疗作用。

ITP 中医证候多采用气血辨证的分型方法。同时，还应结合脏腑辨证等其他辨证方法^[7]。生血灵是在 ITP “脾肾气火失调”病机理论指导下，经临床试验研究及反复药物筛选而创的治疗 ITP 的有效处方。生血灵脾肾双补、气血两调，通过“开源截流，双向调节”的方式发挥治疗作用。“开源”指生血灵可促进骨髓巨核细胞分化成熟，增加血小板生成；“截流”是指生血灵能有效降低血

小板抗体产生，减少血小板破坏。本研究结果表明，生血灵联合达那唑治疗 ITP 的有效率为 91.67%，明显高于单药达那唑的 66.67%，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；复发率 8.33%，低于单药达那唑的 16.67%，差异无统计学差异 ($P>0.05$)。

端粒的稳定对免疫系统非常重要，本研究结果提示，部分 ITP 患者存在外周血白细胞端粒长度缩短，达那唑能够部分改善 ITP 患者外周血白细胞端粒磨损，但未发现生血灵联合达那唑对于改善白细胞端粒长度具有协同作用。本研究仅对 ITP 患者端粒长度进行了定性测定，例数有限，证据等级较弱，今后可扩大样本量，结合 ITP 中医体质类型，采用定量方法对 ITP 患者端粒长度、端粒酶活性、端粒酶基因表达进行联合测定，以全面了解端粒-端粒酶系统在 ITP 发病中的作用，为 ITP 的中西医优选治疗提供依据。

参考文献

- [1] QI A, ZHOU H, ZHOU Z, et al. Telomerase activity increased and telomere length shortened in peripheral blood cells from patients with immune thrombocytopenia [J]. J Clin Immunol, 2013,33(3):577-585.
- [2] 陈信义,杨文华主编. 中医血液病学[M]. 北京:中国中医药出版社,2019.
- [3] 中华医学会血液学分会止血与血栓学组. 成人原发性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识(2016 年版)[J]. 中华血液学杂志,2016,37(2):89-93.
- [4] 国家中医药管理局医政司. 22 个专业 95 个病种中医诊疗方案(合订本)[M]. 北京:中国中医药出版社,2010:331-335.
- [5] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:184.
- [6] 高学熙,王信琪,时昊,等. 特发性血小板减少性紫癜患者血清雌激素水平及其与达那唑疗效的关系[J]. 临床内科杂志,1997(4):192.
- [7] 吴晓勇,王云龙,毕莲,等. 基于“脾主肌肉”理论治疗免疫性血小板减少症相关性疲劳[J]. 北京中医药,2022,41(1):45-46.

Clinical evaluation of Shengxueling combined with Danazol in the treatment of primary immune thrombocytopenia and its effect on telomere length of leukocytes

WU Ta-na, CHEN Hai-lin, ZHOU Yong-ming, HU Ming-hui, ZHU Wen-wei

(收稿日期: 2023-04-28)