

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

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

【摘要】 目的 探讨蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔凝血功能的影响及机制。方法 通过 0.75、1.50、2.25、3.00 mL/kg 竹叶青蛇毒液染毒 72 h 兔实验,观察竹叶青蛇伤兔血小板聚集率的变化。将 50 只新西兰大白兔按照随机数字表法分为 5 组,每组 10 只。采用皮下注射 0.75 mL/kg 竹叶青蛇毒液制备兔中毒模型;假伤组注射 0.75 mL/kg 生理盐水;6 h 后蛇伤胶囊低、中、高剂量组分别灌胃 5、10、15 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 蛇伤胶囊药液,假伤组和模型组灌胃 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 生理盐水。连续灌胃 1 周后取血,测定血小板聚集率、血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板压积(PCT)、血小板分布宽度(PDW)和血清环磷酸腺苷(cAMP)、蛋白激酶 A(PKA)含量。结果 ① 随着蛇毒浓度增加,1、3、5 min 及最大血小板聚集率均呈逐渐下降趋势。② 模型组 5 min 血小板聚集率和最大血小板聚集率均较假伤组明显下降[35.5(24.2, 42.5)%比 43.0(38.2, 58.5)%, 39.5(29.0, 45.0)%比 46.5(39.2, 60.2)%,均 $P < 0.05$];与模型组比较,蛇伤胶囊中剂量组 5 min 血小板聚集率和最大血小板聚集率明显升高[44.0(39.8, 45.0)%比 35.5(24.2, 42.5)%, 45.5(43.5, 46.2)%比 39.5(29.0, 45.0)%,均 $P < 0.05$],其余各组间比较差异均无统计学意义。与假伤组比较,模型组 PLT 明显减少($\times 10^9/L$: 410.3 \pm 155.3 比 724.5 \pm 220.7, $P < 0.01$), MPV、PCT 明显缩小[MPV(fl): 5.11 \pm 1.09 比 6.34 \pm 1.16, $P < 0.01$; PCT: 21.9(18.6, 26.8)%比 34.8(24.8, 45.4)%, $P < 0.05$]。与模型组比较,蛇伤胶囊低、中、高剂量组 PLT、PCT 均明显增加[PLT($\times 10^9/L$): 702.4 \pm 166.3、648.5 \pm 160.2、789.3 \pm 86.2 比 410.3 \pm 155.3, PCT: 38.8(35.7, 42.9)%, 36.0(29.8, 44.4)%, 43.1(40.5, 48.8)%比 21.9(18.6, 26.8)%,均 $P < 0.01$];蛇伤胶囊中剂量组 MPV 明显增大(fl: 6.26 \pm 1.05 比 5.11 \pm 1.09, $P < 0.01$)。各组 PDW 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与假伤组比较,模型组血清 cAMP(nmol/L: 47.57 \pm 12.76 比 36.67 \pm 10.54)、PKA($\mu\text{g/L}$: 14.68 \pm 5.80 比 9.23 \pm 4.05)均明显升高(均 $P < 0.05$);与模型组比较,蛇伤胶囊各剂量组 cAMP、PKA 均有所降低,其中蛇伤胶囊低剂量组 cAMP[(36.33 \pm 11.08) nmol/L]、中剂量组 PKA[(10.21 \pm 5.31) $\mu\text{g/L}$]下降差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 在竹叶青蛇毒液 0 ~ 3 mL/kg 浓度范围内,其浓度越大,抑制血小板聚集的作用越强。蛇伤胶囊可以升高血小板聚集率、PLT,并增加 MPV 和 PCT,从而对抗竹叶青蛇毒对血小板聚集的抑制作用,改善血小板止血功能。蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤凝血障碍可能是通过调控 cAMP/PKA 通路实现的。

【关键词】 蛇伤胶囊; 竹叶青蛇; 凝血障碍; 血小板; 血小板聚集

Effect of Sheshang capsule on platelet function of rabbits bitten by Trimeresurus stejnegeri and its mechanism 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 effect of the Sheshang capsule on coagulation of the rabbits bitten by Trimeresurus stejnegeri and its mechanism. **Methods** The changes in platelet aggregation rate was observed after the establishment of rabbits model by subcutaneously injection with 0.75, 1.50, 2.25, and 3.00 mL/kg of Trimeresurus stejnegeri venom for 72 hours. Fifty New Zealand white rabbits were randomly divided into five groups, 10 rabbits in each group. Rabbit model was reproduced by subcutaneously injection with 0.75 mL/kg of Trimeresurus stejnegeri venom. The rabbits in sham group were injected with 0.75 mL/kg normal saline(NS). The rabbits were gavaged with 5, 10, 15 mL·kg⁻¹·d⁻¹ of the Sheshang concoction to the low, intermediate and high dose groups respectively after 6 hours, and 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ NS was fed in the sham group and model group. The platelet aggregation rate, platelet count (PLT), mean platelet volume (MPV), plateletcrit (PCT), platelet distribution width (PDW), cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and protein kinase A (PKA) were determined after 1 week. **Results** ① With the increase in the concentration of Trimeresurus stejnegeri venom, 1-min, 3-min, 5-min and maximum platelet aggregation rates showed a gradual declining trends. ② Compared with the sham group, 5-min and maximum platelet aggregation rate in the model group

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.08.013

基金项目:福建省自然科学基金(2012J01379);国家自然科学基金(81302978,81241118);陈可冀中西医结合发展基金资助项目(CKJ2011029)

作者单位:350004 福州,福建中医药大学附属人民医院急诊科 通信作者:何卫东,Email:hwd968@126.com

were significantly decreased [35.5 (24.2, 42.5)% vs. 43.0 (38.2, 58.5)%, 39.5 (29.0, 45.0)% vs. 46.5 (39.2, 60.2)%, both $P < 0.05$]. Compared with the model group, 5-min and maximum platelet aggregation rate in the intermediate dose group were significantly increased [44.0 (39.8, 45.0)% vs. 35.5 (24.2, 42.5)%, 45.5 (43.5, 46.2)% vs. 39.5 (29.0, 45.0)%, both $P < 0.05$]. There was no significant difference in platelet aggregation rate among the other groups. Compared with the sham group, PLT count in model group was obviously reduced ($\times 10^9/L$: 410.3 ± 155.3 vs. 724.5 ± 220.7 , $P < 0.01$), so as MPV and PCT done [MPV (fl): 5.11 ± 1.09 vs. 6.34 ± 1.16 , $P < 0.01$; PCT: 21.9 (18.6, 26.8)% vs. 34.8 (24.8, 45.4)%, $P < 0.05$]. Compared with the model group, PLT and PCT in the low, intermediate and high dose groups were significantly increased [PLT ($\times 10^9/L$): 702.4 ± 166.3 , 648.5 ± 160.2 , 789.3 ± 86.2 vs. 410.3 ± 155.3 , PCT: 38.8 (35.7, 42.9)%, 36.0 (29.8, 44.4)%, 43.1 (40.5, 48.8)% vs. 21.9 (18.6, 26.8)%, all $P < 0.01$], and MPV in the intermediate dose group was significantly increased (fl: 6.26 ± 1.05 vs. 5.11 ± 1.09 , $P < 0.01$). There was no significant difference in PDW among groups ($P > 0.05$). Compared with the sham group, cAMP (nmol/L: 47.57 ± 12.76 vs. 36.67 ± 10.54) and PKA ($\mu g/L$: 14.68 ± 5.80 vs. 9.23 ± 4.05) in the model group were significantly increased (both $P < 0.05$). Compared with the model group, cAMP and PKA of each dose group were decreased, while cAMP in low dose group [(36.33 \pm 11.08) nmol/L] and PKA in the intermediate dose group [(10.21 \pm 5.31) $\mu g/L$] were significant decreased (both $P < 0.05$). **Conclusions** In the range of experimental concentration (0–3 mL/kg), the higher the concentration, and the stronger the inhibition of platelet aggregation rate was. The Sheshang capsule can raise platelet aggregation rate and PLT, increase MPV and PCT, and act against inhibition of platelet aggregation effect of the venom, thus improve the haemostatic function of platelet. Sheshang capsule can be used to treat the coagulopathy induced by *Trimeresurus stejnegeri* venom through regulating cAMP/PKA pathways.

[Key words] Sheshang capsule; *Trimeresurus stejnegeri*; Coagulation disorder; Platelet; Platelet aggregation

中药蛇伤胶囊是福建省蛇伤救治中心治疗竹叶青蛇咬伤的代表方,本课题组前期基础研究表明,蛇伤胶囊可以改善竹叶青蛇伤凝血功能障碍^[1];临床研究表明,蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤凝血障碍有良好的临床疗效^[2-4],但具体作用机制尚未完全明了。血小板及其聚集功能在凝血过程中具有重要的作用^[5-7],环磷酸腺苷/蛋白激酶 A(cAMP/PKA)通路是调控血小板聚集功能的重要途径^[8]。本研究通过观察蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔 cAMP/PKA 通路相关因子、血小板及其聚集功能的影响,阐明蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤凝血障碍的相关靶点和机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂:健康普通级新西兰大白兔 65 只,体质量 2.0~2.5 kg,购自福建中医药大学动物实验中心,许可证号:SYXK(闽)2009-0001。蛇伤胶囊由黄连、大黄、土木香、山慈菇、白芷、杨梅皮等药物组成(福建中医药大学附属人民医院院内制剂,闽药制字 Z06106044),按照动物剂量换算表^[9]计算给药剂量为 $348 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。临用时以生理盐水将蛇伤胶囊稀释为 34.8 g/L 的药液,即灌胃量为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。竹叶青蛇毒冻干粉购自福州万隆生物技术有限公司。cAMP、PKA 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自上海拜沃生物科技有限公司。

1.2 模型制备:参照文献[1,9-10]复制竹叶青蛇伤兔模型。以适量灭菌注射用水将竹叶青蛇毒冻干粉稀释成浓度为 1 g/L 的竹叶青蛇毒液,经兔右后腿皮下注射 0.75 mL/kg 竹叶青蛇毒液制模。

本实验动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 实验方法与检测指标

1.3.1 实验一:15 只健康新西兰大白兔,按计算机生成的随机数字表法分为 5 组,每组 3 只。分别经兔右后腿皮下注射 0.75、1.50、2.25、3.00 mL/kg 竹叶青蛇毒液或 0.75 mL/kg 生理盐水。常规饲养 72 h 后,经耳缘静脉采血,用血小板聚集功能检测仪检测二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率。

1.3.2 实验二:50 只健康新西兰大白兔,按计算机生成的随机数字表法分为 5 组,每组 10 只。假伤组经兔右后腿皮下注射 0.75 mL/kg 生理盐水,6 h 后灌胃 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 生理盐水。模型组和蛇伤胶囊低、中、高剂量组经兔右后腿皮下注射 0.75 mL/kg 竹叶青蛇毒液,6 h 后分别灌胃 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 生理盐水或 5、10、15 mL \cdot kg $^{-1} \cdot$ d $^{-1}$ 蛇伤胶囊药液。各组均每日灌胃 1 次,连续灌胃 1 周。分别于末次灌胃后 24 h 经耳缘静脉采血,用血小板聚集功能检测仪检测血小板聚集率;五分类血球计数仪测定血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板压积(PCT)、血小板分布宽度(PDW);采用 ELISA 法测定血清 cAMP、PKA 含量。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 19.0 软件处理数据,正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA);非正态分布的计量资料则以中位数(四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示,组间比较采用非参数检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度竹叶青蛇毒对血小板聚集率的影响(表 1):染毒后 72 h 发现,随着竹叶青蛇毒浓度增加,1、3、5 min 及最大血小板聚集率均呈逐渐下降趋势。表明在实验浓度范围内(0~3 mL/kg),竹叶青蛇毒浓度越大,对机体凝血功能的抑制作用越强。

2.2 蛇伤胶囊对血小板聚集率的影响(表 2):假伤组、模型组、蛇伤胶囊各剂量组间 1 min、3 min 血小板聚集率比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。与假伤组比较,模型组 5 min 血小板聚集率和最大血小板聚集率均明显下降(均 $P<0.05$);与模型组比较,蛇伤胶囊各剂量组 5 min 血小板聚集率和最大血小板聚集率均有所升高,但仅蛇伤胶囊中剂量组升高有统计学差异(均 $P<0.05$)。

2.3 蛇伤胶囊对 PLT、MPV、PCT、PDW 的影响(表 3):与假伤组比较,模型组 PLT 明显下降,MPV、PCT 明显缩小($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,蛇伤胶囊各剂量组 PLT、PCT 均显著升高,仅中剂量组 MPV 明显增大(均 $P<0.01$);各组 PDW 比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

2.4 蛇伤胶囊对血清 cAMP、PKA 含量的影响(表 3):与假伤组比较,模型组 cAMP、PKA 含量均明显升高(均 $P<0.05$)。

与模型组比较,仅蛇伤胶囊低剂量组的 cAMP 含量、中剂量组的 PKA 含量均显著下降(均 $P<0.05$)。

3 讨论

竹叶青蛇毒属于血循毒,易导致机体凝血功能障碍,引起内脏器官广泛出血或弥散性血管内凝血(DIC)而死亡^[11-14]。

西医救治毒蛇咬伤主要是注射抗蛇毒血清、对症处理和支持治疗^[15-16],病情严重者可采用血液净化治疗^[17-19]。祖国医学认为竹叶青蛇伤属火毒,火毒之邪可迫血妄行、耗血动血;治当泻火解毒、凉血止血,已有较多学者在竹叶青蛇伤中医药治疗方面开展了相关研究,并收到了较好的疗效^[20-23]。

血小板具有黏附、聚集、释放、收缩及吸附等生理特性,可以形成凝血块堵塞血管破损口,同时收缩血管,有助于机体止血^[5-7]。MPV 可用于判断出血倾向,是血小板的一个重要指标^[24];PCT 可反映血小板之间相互聚集和血小板与受损血管的黏附,参与止血过程;PDW 可反映血液内血小板容积变异情况,与 MPV、PCT 共同反映血小板功能^[25]。

相关研究表明,血小板在竹叶青蛇伤凝血障碍中具有重要作用。一方面,蛇毒中的类凝血酶在促凝过程中消耗了大量的血小板^[26-28],从而显示出抗凝血效应;另一方面,竹叶青蛇毒中的抗凝成分抑制了血小板及多种凝血因子的活性,使受伤机体出血不止。竹叶青蛇毒对血小板功能的抑制作用主要体现在抑制血小板聚集和血小板活化两方面。竹叶青蛇毒中的多种成分可通过抑制血小板聚集而影响凝血过程。竹叶青蛇毒中的 ADP 酶或 5'-核苷酸酶通过

表 1 不同浓度竹叶青蛇毒对兔血小板聚集率的影响[M(Q₁, Q₃)]

组别	动物数(只)	1 min 聚集率(%)	3 min 聚集率(%)	5 min 聚集率(%)	最大聚集率(%)
0 mL/kg 组	3	31.6(31.3, 32.8)	40.6(34.5, 45.2)	46.1(42.3, 50.8)	52.6(50.6, 54.3)
0.75 mL/kg 组	3	26.9(24.2, 28.1)	33.8(29.6, 35.6)	36.2(34.5, 39.1)	39.5(38.3, 41.6)
1.50 mL/kg 组	3	15.7(13.9, 18.4)	25.3(23.6, 28.2)	31.4(29.6, 33.8)	34.9(33.1, 37.6)
2.25 mL/kg 组	3	9.1(8.3, 10.8)	20.3(18.9, 22.6)	26.1(24.8, 28.6)	30.1(27.7, 33.4)
3.00 mL/kg 组	3	6.1(5.2, 7.6)	15.2(13.9, 17.1)	20.5(19.3, 22.6)	25.1(21.9, 29.8)

表 2 不同剂量蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔血小板聚集率的影响[M(Q₁, Q₃)]

组别	动物数(只)	1 min 聚集率(%)	3 min 聚集率(%)	5 min 聚集率(%)	最大聚集率(%)
假伤组	10	34.0(31.5, 38.0)	35.5(35.0, 48.8)	43.0(38.2, 58.5)	46.5(39.2, 60.2)
模型组	10	32.0(18.5, 35.0)	33.5(21.5, 41.5)	35.5(24.2, 42.5) ^a	39.5(29.0, 45.0) ^a
蛇伤胶囊低剂量组	10	32.5(31.8, 35.0)	40.0(33.8, 45.0)	41.5(36.8, 50.0)	45.0(40.0, 52.2)
蛇伤胶囊中剂量组	10	31.5(30.8, 35.2)	39.0(37.8, 42.2)	44.0(39.8, 45.0) ^b	45.5(43.5, 46.2) ^b
蛇伤胶囊高剂量组	10	36.0(31.8, 39.5)	40.0(34.8, 43.0)	41.5(36.0, 52.8)	44.5(39.5, 56.5)

注:与假伤组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

表 3 不同剂量蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔 PLT、MPV、PCT、PDW、cAMP、PKA 的影响

组别	动物数(只)	PLT ($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	MPV (fL, $\bar{x} \pm s$)	PCT [% M(Q ₁ , Q ₃)]	PDW [% M(Q ₁ , Q ₃)]	cAMP (nmol/L, $\bar{x} \pm s$)	PKA ($\mu g/L, \bar{x} \pm s$)
假伤组	10	724.5 \pm 220.7	6.34 \pm 1.16	34.8(24.8, 45.4)	15.5(15.4, 17.0)	36.67 \pm 10.54	9.23 \pm 4.05
模型组	10	410.3 \pm 155.3 ^a	5.11 \pm 1.09 ^a	21.9(18.6, 26.8) ^b	16.4(15.7, 17.2)	47.57 \pm 12.76 ^b	14.68 \pm 5.80 ^b
蛇伤胶囊低剂量组	10	702.4 \pm 166.3 ^c	5.42 \pm 0.53	38.8(35.7, 42.9) ^c	16.4(15.4, 16.9)	36.33 \pm 11.08 ^d	11.68 \pm 4.17
蛇伤胶囊中剂量组	10	648.5 \pm 160.2 ^c	6.26 \pm 1.05 ^c	36.0(29.8, 44.4) ^c	16.8(15.7, 17.6)	40.61 \pm 11.22	10.21 \pm 5.31 ^d
蛇伤胶囊高剂量组	10	789.3 \pm 86.2 ^c	5.60 \pm 0.52	43.1(40.5, 48.8) ^c	17.0(16.2, 17.6)	40.84 \pm 10.63	11.37 \pm 4.13

注:PLT 为血小板计数,MPV 为平均血小板体积,PCT 为血小板压积,PDW 为血小板分布宽度,cAMP 为环磷酸腺苷,PKA 为蛋白激酶 A;与假伤组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$;与模型组比较,^c $P<0.01$,^d $P<0.05$

选择性水解作用,能把 ADP 水解成腺苷和磷酸而抑制血小板聚集;竹叶青蛇毒中的纤维蛋白溶解酶及凝血酶样酶通过水解纤维蛋白原(FIB)以降低血中 FIB 含量,抑制血小板聚集^[29-30]。cAMP 作为第二信使信号通路的主要效应是通过活化 cAMP 依赖的 PKA,使下游靶蛋白磷酸化,从而影响细胞代谢和细胞行为;腺苷酸环化酶被激活后可使血小板内 cAMP 水平升高,进而通过 cAMP/PKA 通路阻碍血小板收缩,减弱或防止激活剂诱导血小板活化,抑制血小板聚集^[8,31-33]。本研究拟解决蛇毒成分能否通过影响上述相关因子而影响凝血功能,蛇伤胶囊能否调控上述因子而发挥治疗凝血障碍的问题。

蛇伤胶囊是本院治疗竹叶青蛇咬伤的代表方,本课题组前期研究表明,蛇伤胶囊可以缩短凝血时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT),升高 FIB,具有改善凝血功能的作用^[1],但具体作用途径尚不清楚。本研究表明,竹叶青蛇毒对血小板聚集具有抑制作用并与浓度相关,其浓度越大,抑制作用越强;竹叶青蛇毒可导致实验兔 PLT 减少,使 MPV 和 PCT 缩小,从而导致机体易出血。蛇伤胶囊可升高血小板聚集率,以对抗竹叶青蛇毒对血小板聚集的抑制作用;同时,蛇伤胶囊可升高 PLT 并增加 MPV 和 PCT,因此具有改善血小板止血功能的作用。竹叶青蛇毒可导致实验兔 cAMP、PKA 增多;而蛇伤胶囊对 cAMP、PKA 则具有下调作用,表明蛇伤胶囊可能是通过调控 cAMP/PKA 通路影响血小板及其聚集功能,从而对竹叶青蛇伤所致凝血障碍发挥治疗作用。

参考文献

- [1] 文丹,何卫东,王缓缓,等.蛇伤胶囊对竹叶青蛇咬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] 王华新,文丹,何卫东.蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇咬伤 63 例[J].福建中医药,2011,42(1):33-34.
- [3] 黄小宾,王世军,杨旭,等.蛇伤胶囊治疗毒蛇咬伤 500 例临床观察[J].内蒙古中医药,2013,32(3):60-62.
- [4] 杨旭,黄小宾,江山.中西医结合治疗毒蛇咬伤 563 例[J].福建中医学院学报,2003,13(6):6-7.
- [5] Gachet C. Molecular mechanisms of platelet activation [J]. Bull Acad Natl Med,2014,197(2):361-373.
- [6] 刘晓惠,廖华伟,张捷.蛇伤患者凝血、抗凝、纤溶系统的变化及临床意义[J].华西医学,2009,24(5):1163-1164.
- [7] 乐冬友,徐自强,王志英.血小板计数在五步蛇咬伤中的临床意义[J].蛇志,2010,22(2):110-111.
- [8] Yan R, Li SP, Dai KS. The critical roles of cyclic AMP/cyclic AMP-dependent protein kinase in platelet physiology [J]. Front Biol China,2009,4(1):7-14.
- [9] 陈奇.中药药理研究方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2011:1262-1263.
- [10] 蓝海,陈远聪.中国毒蛇及蛇伤救治[M].上海:上海科学技术出版社,2008:281.
- [11] 郑武,邹荣生,戴春山.500 例蛇伤患者流行特征分析[J].中国中西医结合急救杂志,2008,15(5):285.
- [12] 庞家善,邓海平.竹叶青蛇咬伤致 DIC 的救治体会[J].蛇志,2011,23(3):275-276.
- [13] Wan SG, Jin Y, Lee WH, et al. Cloning of two novel P-III class metalloproteinases from *Trimeresurus stejnegeri* venom gland [J]. Toxicon,2006,47(4):465-472.
- [14] Peng L, Xu X, Shen D, et al. Purification and partial characterization of a novel phosphodiesterase from the venom of *Trimeresurus stejnegeri*: inhibition of platelet aggregation [J]. Biochimie,2011,93(9):1601-1609.
- [15] 游剑明,何炳贵.银环蛇咬伤患者的救治[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(4):201.
- [16] 余清声,黄劭,朱柳,等.眼镜王蛇伤抗蛇毒血清治疗的实验研究[J].中国危重病急救医学,2000,12(2):76-79.
- [17] 韩蜀莲,关天俊,黄德秋,等.连续性肾脏替代治疗抢救蛇咬伤中毒 1 例报告[J].中国危重病急救医学,2010,22(1):7.
- [18] 黄杨清.并用血液净化成功抢救蛇咬伤并发呼吸衰竭 1 例[J].中国危重病急救医学,2006,18(2):77.
- [19] 李俊生,夏梨萍,陆莲英.血液灌流联合血液透析治疗重症毒蛇咬伤合并肾功能衰竭疗效比较 [J].中国危重病急救医学,2009,21(4):244.
- [20] 李景新,林天辅,余佩琦.中西医结合治疗毒蛇咬伤 773 例[J].中国中西医结合急救杂志,2000,7(4):215.
- [21] 钱金方,庄连奎.中西医结合治疗 532 例毒蛇咬伤疗效分析[J].中国中西医结合急救杂志,2003,10(1):33.
- [22] 王晓燕,王允生.毒蛇咬伤的中医药治疗[J].中国中西医结合急救杂志,2005,12(2):122-124.
- [23] 梁子敬,李平.竹叶青蛇咬伤的临床特点与处理方法[J].广东医学,2008,29(6):970-971.
- [24] Khaspekova SG, Ziuriev IT, Iakushkin VV, et al. Mean platelet volume: interactions with platelet aggregation activity and glycoprotein IIb-IIIa and Ib expression levels [J]. Biomed Khim,2014,60(1):94-108.
- [25] De Luca G, Secco GG, Verdoia M, et al. Combination between mean platelet volume and platelet distribution width to predict the prevalence and extent of coronary artery disease: results from a large cohort study[J]. Blood Coagul Fibrinolysis,2014,25(1):86-91.
- [26] Rojnuckarin P, Muanpasitporn C, Chanhom L, et al. Molecular cloning of novel serine proteases and phospholipases A2 from green pit viper (*Trimeresurus albolabris*) venom gland cDNA library [J]. Toxicon,2006,47(3):279-287.
- [27] 覃永安.竹叶青蛇咬伤致凝血功能损害[J].蛇志,2008,20(3):211-215.
- [28] 苏雪娥,林俊敏,郭敏军.竹叶青毒蛇咬伤致 DIC 临床特征及其本质的探讨[J].血栓与止血学,2003,9(3):122-124.
- [29] Muanpasitporn C, Rojnuckarin P. Expression and characterization of a recombinant fibrinolytic serine protease from green pit viper (*Trimeresurus albolabris*) venom [J]. Toxicon,2007,49(8):1083-1089.
- [30] 李其斌,余奇松,黄光武,等.毒蛇咬伤病人的血小板聚集功能初探[J].蛇志,2005,17(3):145-148.
- [31] Sim DS, Merrill-Skoloff G, Furie BC, et al. Initial accumulation of platelets during arterial thrombus formation in vivo is inhibited by elevation of basal cAMP levels [J]. Blood,2004,103(6):2127-2134.
- [32] Bodnar RJ, Xi X, Li Z, et al. Regulation of glycoprotein IIb-IX-von Willebrand factor interaction by cAMP-dependent protein kinase-mediated phosphorylation at Ser 166 of glycoprotein IIb (beta) [J]. J Biol Chem,2002,277(49):47080-47087.
- [33] Dai K, Bodnar R, Berndt MC, et al. A critical role for 14-3-3zeta protein in regulating the VWF binding function of platelet glycoprotein IIb-IX and its therapeutic implications [J]. Blood,2005,106(6):1975-1981.

(收稿日期:2014-06-17)

(本文编辑:李银平)