

# 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔血小板活化功能影响的研究

邵丹 吴晖<sup>△</sup> 梁志奇 吴丹 陈宏杰 王榕  
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 研究蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔血小板活化功能的影响。方法 选取 24 只新西兰大白兔随机分为正常对照组、模型组、蛇伤胶囊组, 每组各 8 只, 雌雄各半, 根据前期研究方法模型组和蛇伤胶囊组以兔耳缘静脉注射 0.75 mg/kg 竹叶青蛇毒液建立竹叶青蛇伤兔模型, 正常对照组注射等量生理盐水。注射 6 h 后予正常对照组和模型组 10 ml/(kg·d) 生理盐水灌胃, 蛇伤胶囊组予 10 ml/(kg·d) 蛇伤胶囊所配药液灌胃。以上 3 组连续灌胃 1 周后兔耳缘静脉采血 5 ml, 血小板分离提取后应用实时荧光定量聚合酶链式反应技术 (qPCR) 检测各组血小板活化指标  $\alpha$  II b 整合素 (CD41)、整合素  $\beta$  链 III (CD61)、血小板 P 选择素 (CD62P)、溶酶体颗粒膜糖蛋白 (CD63) 信使核糖核酸 (mRNA) 表达, 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测膜糖蛋白 II b/III a (GP II b/III a) 水平。分析比较各组血小板活化指标 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达及 GP II b/III a 水平差异。结果 各组血小板细胞 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达及 GP II b/III a 水平组间比较, 差异均有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ )。两两组间比较, 与正常对照组比较, 模型组 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达及 GP II b/III a 水平显著降低, 差异有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 蛇伤胶囊组 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达显著降低, 差异有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ), GP II b/III a 水平显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 蛇伤胶囊组 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达显著增加, 差异有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ), GP II b/III a 水平显著增加, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 竹叶青蛇伤时血小板活化功能受抑制, 蛇伤胶囊可通过提高 CD41、CD61、CD62P、CD63、GP II b/III a 水平, 减轻血小板活化功能抑制, 改善血小板活化功能。

[关键词] 竹叶青蛇; 蛇伤胶囊; 模型建立; 血小板活化; 凝血障碍

[中图分类号] R269 [文献标识码] A [文章编号] 2095-0616 (2024) 07-0025-05

DOI:10.20116/j.issn2095-0616.2024.07.06

## Study on the effect of Sheshang Capsule on platelet activation function in rabbits injured by *Trimeresurus stejnegeri*

SHAO Dan WU Hui LIANG Zhiqi WU Dan CHEN Hongjie WANG Rong

Emergency Department, Fujian People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian, Fuzhou 350004, China

[Abstract] **Objective** To study the effect of Sheshang Capsule on platelet activation function in rabbits injured by *Trimeresurus stejnegeri*. **Methods** A total of 24 New Zealand white rabbits were randomly divided into a normal control group, a model group, and a Sheshang Capsule group, with 8 rabbits in each group, half male and half female. According to the previous research method, the model group and the Sheshang Capsule group were injected with 0.75 mg/kg *Trimeresurus stejnegeri*'s venom into the rabbit ear vein to establish a rabbit injured by *Trimeresurus stejnegeri* model, while the normal control group was injected with an equal amount of physiological saline. After 6 hours of injection, the normal control group and the model group were gavaged with 10 ml/(kg·d) physiological saline, while the Sheshang Capsule group was gavaged with 10 ml/(kg·d) solution with Sheshang Capsule content. After continuous gavage of the above three groups for one week, 5 ml of blood was collected from the rabbit ear vein respectively. After platelet separation and extraction, real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect platelet activation indicators, i.e., integrin  $\alpha$  II b (CD41), integrin  $\beta$  III chain (CD61), platelet P-selectin (CD62P), and lysosomal membrane glycoprotein (CD63) messenger RNA (mRNA) expression, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect membrane glycoprotein II b/III a (GP II b/III a) levels

[基金项目] 福建省自然科学基金 (2020J011047)。

<sup>△</sup>通讯作者

in each group. The differences in platelet activation indicators CD41, CD61, CD62P, CD63 mRNA expression, and GP II b/ III a levels was analyzed and compared among different groups. **Results** There were significant differences in CD41, CD61, CD62P, CD63 mRNA expression and GP II b/ III a levels between groups ( $P < 0.01$ ). Compared with the normal control group, the expression of CD41, CD61, CD62P, CD63 mRNA, and GP II b/ III a levels in the model group were significantly reduced, with the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ), while the expression of CD41, CD61, CD62P and CD63 mRNA in the Sheshang Capsule group was significantly reduced, with the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ), and GP II b/ III a levels in the Sheshang Capsule group were significantly reduced, with the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the expression of CD41, CD61, CD62P, and CD63 mRNA in the Sheshang Capsule group was significantly increased, with the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ), and the level of GP II b/ III a in the Sheshang Capsule group was significantly increased, with the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** When injured by *Trimeresurus stejnegeri*, the platelet activation function is inhibited. The Sheshang Capsule can reduce the inhibition of platelet activation function and improve platelet activation function by increasing the levels of CD41, CD61, CD62P, CD63, and GP II b/ III a.

**[Key words]** *Trimeresurus stejnegeri*; Sheshang Capsule; Model establishment; Platelet activation; Coagulation disorders

竹叶青蛇是我国常见的一种血循毒类毒蛇,被竹叶青蛇咬伤的患者表现为咬伤处出血,皮肤可见散在的血水疱或瘀斑,伤肢肿痛明显。前期研究<sup>[1-2]</sup>表明具有泻火解毒作用的蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤临床疗效显著,其作用机制与改善血小板形态及其聚集功能密切相关。血小板发生变形、黏附、聚集及活性物质释放反应是血小板活化的重要表现,是机体止血、凝血和血栓形成过程的重要环节<sup>[3]</sup>。 $\alpha$  II b 整合素(CD41)、整合素  $\beta$  链 III(CD61)、血小板 P 选择素(CD62P)、溶酶体颗粒膜糖蛋白(CD63)、膜糖蛋白 II b/ III a(GP II b/ III a)是血小板活化的特异性指标,本研究拟通过观察蛇伤胶囊对上述血小板活化相关指标的影响,探寻其纠正竹叶青蛇伤相关凝血障碍的可能机制。

## 1 实验材料

### 1.1 实验动物

选取24只雄性新西兰大白兔,体重2.0 kg,厂家:杭州医学院,许可证号码:SCXK(浙)2019-0002。本研究经福建安布瑞实验动物伦理委员会审核批准(审批号:IACVC FJABR2022021001)。

### 1.2 实验药物

蛇伤胶囊(闽药制字 Z06106044,规格:0.37 g $\times$ 50粒/瓶)为福建中医药大学附属人民医院院内制剂,组成:大黄、黄连、山慈菇、土木香、白芷、雄黄、冰片等,成人用量5粒/次,4次/d。竹叶青蛇毒冻干粉由鹰潭志远蛇业科技有限公司提供(批号:BS114-10g)。

### 1.3 实验试剂

血液 RNA 提取试剂盒由北京百泰克生物技术有限公司提供(批号:RP4001), Plus All-in-one 1st

Strand cD DNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge)、SYBR qPCR SuperMix Plus 由苏州近岸蛋白科技股份有限公司提供(批号分别为 E047-01A、E096-01B); DEPC 处理水由大连美仑生物技术有限公司提供(批号:MA0018); GP II b/ III a 由上海化邦生物科技有限公司提供(批号:HB-T21367P)。

### 1.4 实验仪器

DW-HL340 超低温冷冻储存箱(中科美菱低温科技股份有限公司), WTL-4K 低速迷你离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), Microfuge-22R 微量冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司), 7300 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司), MultiskanFC 型号酶标仪(赛默飞世尔科技公司)。

## 2 方法

### 2.1 药剂制备及动物用量

实验中新西兰大白兔给药剂量依据实验动物与人体每公斤体重剂量折算系数表<sup>[4]</sup>换算,结合既往实验结果<sup>[2]</sup>确定所用蛇伤胶囊适宜的剂量为 348 mg/(kg $\cdot$ d)。临用时用蒸馏水配成适当浓度药液,一般按 20 ~ 25 ml/(只 $\cdot$ d)灌胃,即 10 ml/(kg $\cdot$ d)(成年兔子体重 2 ~ 2.5 kg),对照组用等量蒸馏水灌胃。

### 2.2 模型建立及实验分组

竹叶青蛇伤兔模型参照前期实验<sup>[2]</sup>进行复制,健康新西兰大白兔,体重 2.0 ~ 2.5 kg,常规饲养 1 周。将冻干竹叶青蛇毒用灭菌生理盐水先配制成 1 mg/ml 的蛇毒生理盐水母液,按每公斤体重 0.75 mg 计算出所需的母液体积,然后用灭菌生理盐水稀释至总量 20 ml,由兔耳缘静脉缓慢注入。局部出现红肿提示造模成功。

24 只实验兔常规饲养 1 周,按随机数表法根据体重分为 3 组,每组各 8 只,雌雄各半。①正常对照组:兔耳缘静脉注射 0.75 mg/kg 生理盐水,6 h 后予 10 ml/(kg·d)生理盐水灌胃。②模型组:兔耳缘静脉注射 0.75 mg/kg 竹叶青蛇毒液,6 h 后予 10 ml/(kg·d)生理盐水灌胃。③蛇伤胶囊组:兔耳缘静脉注射 0.75 mg/kg 竹叶青蛇毒液,6 h 后予 10 ml/(kg·d)蛇伤胶囊所配药液灌胃。以上 3 组连续灌胃 1 周。

### 2.3 血小板分离提取

用肝素抗凝管兔耳缘静脉采血 5 ml,分装至离心管中,加入台氏缓冲液(Tyrode-Buffer)3 ml,后按照 1:1000 的比例加入 PGE<sub>1</sub>,在 160×g 离心力条件下离心 12 min,接着移取富含血小板的上层血浆至新的离心管中,按 1:1000 的体积加入 PGE<sub>1</sub>,在 475×g 离心力条件下离心 10 min,倒掉上清,每管加入 1 ml 缓冲液,轻柔地用巴氏吸管吹打重悬血小板。

2.4 实时荧光定量聚合酶链式反应技术(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)检测 CD41、CD61、CD62P、CD63 信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)表达

上述血小板重悬后,采用 Trizol 法提取细胞总 RNA 并反转录为互补脱氧核糖核酸(complementary deoxyribonucleic acid, cDNA),根据 NovoStart<sup>®</sup> SYBR qPCR 试剂盒说明书制备 qPCR 反应体系,反应参数为 95℃ 1 min、95℃ 20 s、56℃ 20 s、72℃ 38 s,40 个循环。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)上游引物 5'-CATCAAGAAGGTGCTGAAGCA-3',下游引物 5'-AGCATCGAAGGTAGAGGAGTG-3',CD41 上游引物 5'-CCTCAAAGTGGAGCACACCT-3',下游引物 5'-GTGGCAGCCTCCAGTTTAT-3',CD61 上游引物 5'-AGCAGTGACTTCGGCAAGAT-3',下游引物 5'-GTCCAGTCGGAGTCACACAG-3',CD62P 上游引物 5'-TGTCCTGTAGGCACCATCTG-3',下游引物 5'-CTGCTGTCCATTGTCCTGAAG-3',

CD63 上游引物 5'-GCCATTGCTGGTTACGTGTT-3',下游引物 5'-GCCCAGTCCGTGTAGTTAGC-3',以 GAPDH 为内参,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup>方法计算 CD62P 的 mRNA 表达量。引物合成由福州尚亚生物公司完成。

2.5 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测 GP II b/III a 水平

按试剂盒说明书标准操作,完成后根据标准曲线公式计算样品浓度,得出 GP II b/III a 水平。

### 2.6 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD-t 检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。P < 0.05 为差异有统计学意义,P < 0.01 为差异有显著统计学意义。

## 3 结果

各组血小板细胞 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达及 GP II b/III a 水平组间比较,差异均有显著统计学意义(P < 0.01)。与正常对照组比较,模型组 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达及 GP II b/III a 水平显著降低,差异有显著统计学意义(P < 0.01),蛇伤胶囊组 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达显著降低,差异有显著统计学意义(P < 0.01),GP II b/III a 水平显著降低,差异有统计学意义(P < 0.05);与模型组比较,蛇伤胶囊组 CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA 表达显著增加,差异有显著统计学意义(P < 0.01),GP II b/III a 水平显著增加,差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 1。

## 4 讨论

全球每年约有 540 万人被毒蛇咬伤,年死亡人数近 10 万人<sup>[5]</sup>。毒蛇咬伤具有起病急、进展快、并发症多等特点,如果未能进行有效早期救治,致残率和致死率较高。福建省是毒蛇咬伤高发省份,竹叶青蛇是主要伤人的蛇种之一<sup>[6]</sup>,血循毒素是其毒液有效成分,其中蛇毒蛋白酶通过直接或间接地作用于血管壁,破坏血管壁的结构,诱导缓激肽、组胺、5-羟色胺等物质的释放,直接破坏毛细血管内皮细

表1 各组血小板细胞CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA表达及GP II b/III a水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CD41	CD61	CD62P	CD63	GP II b/III a
正常对照组	8	1.01 ± 0.08	1.00 ± 0.07	0.99 ± 0.05	1.00 ± 0.06	0.66 ± 0.11
模型组	8	0.34 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.06 <sup>a</sup>
蛇伤胶囊组	8	0.68 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.66 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.74 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.46 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.56 ± 0.09 <sup>cd</sup>
F 值		347.758	377.362	412.102	1058.374	9.289
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.001

注 与正常对照组比较,<sup>a</sup>P < 0.01、<sup>c</sup>P < 0.05;与模型组比较,<sup>b</sup>P < 0.01、<sup>d</sup>P < 0.05;CD41: α II b 整合素;CD61: 整合素 β 链 III;CD62P: 血小板 P 选择素;CD63: 溶酶体颗粒膜糖蛋白;GP II b/III a: 膜糖蛋白 II b/III a



胞,阻断血小板聚集而导致出血<sup>[7]</sup>。血循毒素在抑制血小板的聚集的同时,又促进血小板凝固,并且在促凝过程中消耗大量血小板,引起急性皮下广泛出血<sup>[8]</sup>,表现为伤口局部肿胀、疼痛、出血,皮肤可见散在血水疱和瘀斑,患肢明显肿痛。

骨髓中巨核细胞质脱落下来的无核细胞就是血小板,其在出血和凝血过程中起重要作用。正常情况下,在循环血液中,血小板以一种非活化的静息状态存在,在各种因素刺激作用下,血小板被活化,发生形态转变,介导血小板黏附、聚集、释放反应<sup>[9]</sup>。CD41(GP II b)、CD61(GP III a)归属于细胞黏附受体整合素家族,可与纤维蛋白原、血管性血友病因子(von willebrand factor, vWF)等相结合,发挥促进血小板黏附、聚集等作用<sup>[10]</sup>。在静止状态的血小板中,CD41和CD61各自分布于血小板膜表面,血小板活化后,二者相结合形成GP II b/III a复合物存在于血小板膜表面,作为一种跨膜的糖蛋白信号受体,其可在质膜上进行双向传递生物信息。“由内向外”的信号转导引起GP II b/III a与纤维蛋白原等物质的亲和力增加,并促进“由外向内”的信号放大,在血小板与纤维蛋白原的连接过程中发挥桥梁作用,进而引起血小板功能发生一系列变化,在血小板功能、止血和血栓形成中发挥重要作用<sup>[11-12]</sup>。研究提示血小板被激活后,GP II b/III a表达水平与出血程度呈负相关,血小板活化反应越弱,出血风险越高<sup>[13]</sup>。CD62P及CD63均属于血小板的膜糖蛋白,其中CD62P是位于血小板 $\alpha$ 颗粒内的膜糖蛋白、CD63是血小板溶酶体膜上的颗粒糖蛋白,在未激活的血小板表面很少表达。当血小板被激活后,CD62P、CD63能够随着血小板脱颗粒在血液中大量表达,当其表达过高,则能迅速促进血栓形成,是体现血小板活化情况的重要指标<sup>[14-15]</sup>。杨家慧等<sup>[16]</sup>研究分析了CD62P、CD63表达水平与血栓弹力图相关参数的关联,发现CD62P水平与血小板聚集率呈正相关、CD63水平与凝血反应时间R呈负相关。温军祥等<sup>[17]</sup>研究发现血小板活化因子CD62P、CD63与血小板计数呈负相关,说明血小板活化与血液凝血异常有关。

《普济方·蛇伤》云:“夫蛇,火虫也。热气炎极,为毒至甚”。竹叶青蛇伤以局部红肿热痛为主要表现,属中医毒蛇咬伤火毒证范畴,火毒之邪迫血妄行、耗血动血,腐败肌肤,因此火毒损络是竹叶青蛇伤的主要病机,泻火解毒法是治疗竹叶青蛇伤的基本治法。

临床研究<sup>[18-19]</sup>发现应用具有泻火解毒作用的蛇伤凉血合剂、黄连解毒汤合犀角地黄汤均可有效抑制竹叶青蛇伤所致的凝血酶时间、凝血酶原时间、

活化部分凝血活酶时间延长及纤维蛋白减少,增加血小板计数,有效防治竹叶青蛇伤导致的机体凝血功能障碍,缓解患肢肿胀疼痛等症状。蛇伤胶囊由大黄、黄连、山慈菇、杨梅皮、土木香、京大戟、白芷、冰片等药物组成,可直降其火,散脏腑经气之热邪,清解气血的火毒以平热,具有泻火解毒的功效,切合竹叶青蛇伤火毒损络的病变特点,组方用药体现了《黄帝内经》“热者寒之”的正治之法,在临床应用中能够明显缓解患处疼痛与肿胀症状,改善血小板水平,临床应用疗效肯定<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,竹叶青蛇伤模型中血小板细胞CD41、CD61、CD62P、CD63 mRNA表达及GP II b/III a水平显著降低,提示竹叶青蛇伤时血小板活化功能受抑制,蛇伤胶囊可通过提高CD41、CD61、CD62P、CD63、GP II b/III a水平减轻竹叶青蛇伤导致的小血小板活化功能抑制,促进血小板活化,减轻叶青蛇伤所致的凝血障碍,蛇伤胶囊调控血小板活化功能具体机制还有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 文丹,何卫东,王缓缓,等.蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤患者凝血功能的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(2):151-153.
- [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杂志,2014,26(3):595-598.
- [3] Van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(3):166-179.
- [4] 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.
- [5] Bolon I, Finat M, Herrera M, et al. Snakebite in domestic animals: First global scoping review[J]. Prev Vet Med, 2019, 170:104729.
- [6] 施婉玲,史超,翁楠,等.福建省2458例毒蛇咬伤流行病学分析[J].医学理论与实践,2023,36(12):2126-2129.
- [7] 李其斌,吕传柱,梁子敬,等.2018年中国蛇伤救治专家共识[J].蛇志,2018,30(4):561-567.
- [8] 苏秋香.犀角地黄汤化裁方治疗火毒证毒蛇咬伤致凝血功能异常的临床疗效观察[D].福州:福建中医药大学,2023:16.
- [9] 胡丽红.妊娠期肝内胆汁淤积症血小板活化标志物的观察与研究[D].杭州:杭州师范大学,2020:15-16.
- [10] Burdorf L, Riner A, Rybak E, et al. Platelet

- sequestration and activation during GalTKO.hCD46 pig lung perfusion by human blood is primarily mediated by GPIIb/IIIa, and VWF[J]. *Xenotransplantation*, 2016, 23 (3): 222-236.
- [11] Huang J, Li X, Shi X, et al. Platelet integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3: signal transduction, regulation, and its therapeutic targeting[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12 (1): 26.
- [12] 陈云, 周元林, 蒋辉华, 等. 血小板膜糖蛋白 CD41/CD61 基因多态性及其表达率与动脉粥样硬化性急性脑梗死的关系 [J]. *浙江医学*, 2019, 41 (14): 1501-1504.
- [13] 邱宏春, 刘倩, 孔荣, 等. ITP 患者二磷酸腺苷激活前后血小板活化指标表达对患者出血风险的预测作用研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27 (4): 1236-1240.
- [14] Hindle MS, Spurgeon BEJ, Cheah LT, et al. Multidimensional flow cytometry reveals novel platelet subpopulations in response to prostacyclin[J]. *J Thromb Haemost*, 2021, 19 (7): 1800-1812.
- [15] Mirlashari MR, Vetlesen A, Nissen-Meyer LSH, et al. HLA class I depletion by citric acid, and irradiation of apheresis platelets for transfusion of refractory patients[J]. *Transfusion*, 2021, 61 (4): 1222-1234.
- [16] 杨家慧, 罗霄鹏, 唐兰英, 等. CD62p、CD63 联合血栓弹力图检测在氯吡格雷治疗复发性脑梗死的临床意义 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2021, 48 (5): 471-475.
- [17] 温军祥, 陈红芬, 史有奎, 等. 血必净注射液对脓毒症患者血小板活化因子 CD62P 和 CD63 的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31 (19): 88-93.
- [18] 张燕, 刘强, 黄培颖, 等. 以中药制剂蛇伤凉血合剂为主治疗竹叶青蛇咬伤的回溯性分析 [J]. *中国中医急症*, 2020, 29 (4): 675-677.
- [19] 沈芳华, 张勇, 张美吉, 等. 黄连解毒汤合犀角地黄汤治疗竹叶青蛇咬伤致凝血功能障碍的临床观察 [J]. *中外医学研究*, 2021, 19 (29): 57-59.
- [20] 何少华, 梁志奇, 游杰. 蛇伤胶囊在竹叶青蛇咬伤规范化治疗中的应用效果 [J]. *临床合理用药杂志*, 2022, 15 (26): 156-159.
- (收稿日期: 2023-09-04)

(上接第7页)

- [4] 刘君, 呼圣娟, 郭建阳, 等. 乙型肝炎病毒相关性肝硬化肝癌与非肝硬化肝癌临床特点比较分析 [J]. *临床消化病杂志*, 2022, 34 (2): 115-119.
- [5] BARRETO SG, BROOKE-SMITH M, DOLAN P, et al. Cirrhosis and microvascular invasion predict outcomes in hepatocellular carcinoma[J]. *ANZ Journal of Surgery*, 2013, 83 (5): 331-335.
- [6] 赵洪韬, 吴伟莉, 金凤, 等. 外周血 NLR 及 LMR 对局部晚期鼻咽癌长期生存预后的评估价值 [J]. *贵州医科大学学报*, 2023, 48 (5): 561-567, 573.
- [7] 胡俊泽, 谢权, 马建伟, 等. 食管癌患者血清 NLR LMR 与预后的关系研究 [J]. *河北医学*, 2023, 29 (2): 254-259.
- [8] 王慧, 余嘉文, 朱晨, 等. NLR、PLR、LMR 与乳腺癌新辅助化疗疗效及预后的关系研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23 (16): 3118-3122.
- [9] CUI H, LI Y, LI S, et al. Prognostic utility of preoperative inflammatory markers in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma after hepatic resection: A systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Medicine*, 2023, 12 (1): 99-110.
- [10] 赵双强, 梁好迪, 吴胜源, 等. 基于四种炎症指标的肝癌合并微血管侵犯影响因素探讨 [J]. *肿瘤基础与临床*, 2023, 36 (3): 226-231.
- [11] DING Y, LIU K, XU Y, et al. Combination of inflammatory score/liver function and AFP improves the diagnostic accuracy of HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9 (9): 3057-3069.
- [12] YU Z, CHEN D, ZHENG Y, et al. Development and validation of a diagnostic model for AFP-negative hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2023, 149 (13): 11295-11308.
- [13] 刘万田. 超声造影联合血清 GP73、AFP 检测对肝癌复发及微血管侵犯的早期预测价值 [J]. *现代实用医学*, 2022, 34 (6): 724-727.
- [14] 林宵, 李晨阳, 范泽宇, 等. 肝细胞癌合并微血管侵犯的术前预测模型及临床应用 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2023, 30 (9): 527-537.
- [15] ZHANG C, ZHAO R, CHEN F, et al. Preoperative prediction of microvascular invasion in non-metastatic hepatocellular carcinoma based on nomogram analysis[J]. *Translational Oncology*, 2021, 14 (1): 100875.
- (收稿日期: 2023-08-15)