

黄芩素抑制大鼠深静脉血栓形成及作用机制

侯梦雨, 尹航, 刘骏, 吴竞轩, 张美娟, 李江硕, 董瑞华*

首都医科大学附属北京友谊医院 研究型病房, 北京 100050

摘要: **目的** 评估黄芩素在大鼠体内抑制深静脉血栓形成的活性并探索作用机制。**方法** 将72只雄性SD大鼠随机分为对照组、模型组、华法林(0.27 mg/kg)组与黄芩素(5、10、20 mg/kg)组。除对照组以外, 每日ig给药1次, 连续给药4 d。应用大鼠下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型造模, 测定各组大鼠下腔静脉内形成的血栓质量; 通过HE染色病理切片观察下腔静脉的形态与静脉壁厚度; ELISA测定大鼠血浆P-选择素和白细胞介素-6(IL-6)水平, 以及大鼠血小板糖蛋白IIb/IIIa含量; 同时测定出血时间与凝血时间。**结果** 与模型组比较, 黄芩素10、20 mg/kg组形成的血栓质量显著降低, 下腔静脉血管壁厚度减小, 血浆P-选择素水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01); 与模型组比较, 黄芩素20 mg/kg组IL-6水平和血小板GPIIb/IIIa含量显著降低($P<0.01$); 与模型组比较, 黄芩素5、10、20 mg/kg组大鼠尾出血时间显著延长($P<0.05$ 、 0.001)。**结论** 黄芩素具有抑制体内深静脉血栓形成的活性, 其作用机制可能与其降低体内炎症反应相关因子, 以及影响血小板的功能有关。

关键词: 黄芩素; 深静脉血栓; 血栓质量; P-选择素; 白细胞介素-6; 尾出血时间

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2024)12-3007-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.12.002

Effects of baicalein on inhibition of deep vein thrombosis in rats

HOU Mengyu, YIN Hang, LIU Jun, WU Jingxuan, ZHANG Meijuan, LI Jiangshuo, DONG Ruihua

Department of Research Ward, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Abstract: **Objective** To evaluate the inhibition effect of baicalein on deep vein thrombosis in rats, and explore the mechanism. **Methods** 72 Male SD rats were randomly divided into the control group, model group, warfarin (0.27 mg/kg) group, and baicalein group (5, 10, 20 mg/kg). Except for the control group, each group was administered by gavage once daily for 4 days. The rat complete stasis model of inferior vena cava thrombosis was used, and the weight of thrombus formed in the inferior vena cava of each group was determined. The morphology and venous wall thickness of the inferior vena cava were observed by HE stained pathological sections. The plasma levels of P-selectin and IL-6, and the content of platelets GPIIb/IIIa in rats were determined by ELISA. Meanwhile, the rat tail bleeding time and clotting time were measured. **Results** Compared with the model group, baicalein 10 and 20 mg/kg group reduced the weight of thrombus formed in inferior vena cava, the thickness of the inferior vena cava vessel wall, and the P-selectin level ($P<0.05$, 0.01). Compared with the model group, baicalein 20 mg/kg group reduced the IL-6 level and the content of glycoprotein IIb/IIIa on platelet ($P<0.01$). Compared with the model group, baicalein 5, 10, and 20 mg/kg group prolonged the bleeding time of rat tail ($P<0.05$, 0.001). **Conclusion** Baicalein has the activity of inhibiting venous thrombosis *in vivo*, and its mechanism may be related to its reduction of inflammatory factors, and affecting the function of platelets.

Keywords: baicalein; deep vein thrombosis; thrombus weight; P-selectin; IL-6; bleeding time

深静脉血栓是一种发病率和致死率都相对较高的静脉血栓栓塞性疾病。我国每年约有1 000万患者被确诊为深静脉血栓^[1], 深静脉血栓急性期引发的肺栓塞导致患者在30 d内的死亡率高达5%^[2]。

而在深静脉血栓慢性期, 有23%~60%的患者发生血栓后综合征(PTS), 可严重影响患者的生存质量^[3]。近年来, 炎症反应已经被证明在深静脉血栓和血栓后综合征的发生过程中起到了关键作用^[4-5],

收稿日期: 2024-09-25

基金项目: 北京市卫生健康科技成果和适宜技术推广项目(BHTPP2022049); 首都卫生发展科研专项项目(2022-2Z-20215)

作者简介: 侯梦雨, 女, 药师, 博士, 主要研究方向为临床药理学、抗血栓药物、药物化学。E-mail: mengyu_hou@163.com

*通信作者: 董瑞华, 男, 研究员, 博士, 主要研究方向为临床药理学、临床毒理学。E-mail: Ruihua_Dong_RW@163.com

被认为是治疗深静脉血栓的潜在靶点,具有抗炎活性的化合物则有成为新型深静脉血栓治疗药物的潜力^[6]。黄芩素是提取自黄芩的一种黄酮类化合物,已被证明具有抗炎^[7]、抗氧化、抗病毒和免疫调节等药理活性^[8-11]。黄芩素通过抑制巨噬细胞、肥大细胞和小神经胶质细胞中炎症因子^[12]、趋化因子^[9]和黏附分子^[13]等促炎分子的表达而表现出抗炎活性。在体外试验中,黄芩素被证明可抑制血小板聚集^[13-14]、减弱纤维蛋白原与血小板 GPIIb/IIIa 的结合,并抑制血小板促炎分子的释放^[13]。本研究评价了黄芩素的大鼠体内抗深静脉血栓形成活性,探究了其潜在的抗血栓形成作用机制,从而分析了黄芩素作为新型深静脉血栓治疗药物的潜力。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 72 只,7~8 周龄,体质量 200~240 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2020-0004。实验动物饲养于北京华远时代科技有限公司实验动物屏障环境,实验动物使用许可证号 SYXK(京)2021-0040。动物饲养的环境温度为 21~25 ℃,相对湿度 40%~70%,昼夜光变化周期为 12 h 光照/12 h 黑暗,提供常规饲料与饮用水,动物摄食与饮水自由。按首都医科大学附属北京友谊医院实验动物管理与使用委员会规定进行(伦理批号 24-1007)。

1.2 主要试剂

黄芩素(质量分数≥98%,上海麦克林生化科技有限公司,货号 B802462),华法林钠(质量分数 98%,北京百灵威科技有限公司,货号 419960),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,国药集团化学试剂有限公司,货号 30036328),大鼠白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫试剂盒(华美生物 Cusabio®,货号 CSB-E04640r),大鼠 P-选择素(P-selectin)酶联免疫试剂盒(华美生物 Cusabio®,货号 CSB-E07399r),大鼠血小板膜糖蛋白 IIb/IIIa(GPIIb/IIIa)酶联免疫试剂盒(华美生物 Cusabio®,货号 CSB-E08776r),血小板提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号 EX1210),0.9%氯化钠注射液(规格 250 mL:2.25 g,武汉滨湖双鹤药业有限责任公司,批号 231008H03),多聚甲醛(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,货号 C104188)。

1.3 主要仪器

BioTek Epoch 2 微孔板分光光度计(美国伯腾

仪器有限公司),BioTek 50TS 微孔板全自动洗板机(美国伯腾仪器有限公司),BE-9010 微孔板恒温振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司),XPR105 1/100000 精密天平(梅特勒-托利多集团),Adventurer™ AX 1/10000 精密天平(美国奥豪斯仪器有限公司),3-18KS 台式冷冻离心机(Sigma Laborzentrifugen GmbH),JT-12S 组织脱水机(武汉俊杰电子有限公司),JB-P7 组织包埋机(武汉俊杰电子有限公司),RM2016 轮转切片机(Leica Biosystems),ST5010 Autostainer XL 全自动染色机(Leica Biosystems),KF-PRO-120 数字切片扫描系统(宁波江丰生物信息技术有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药方法

将 72 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、华法林组、黄芩素(5、10、20 mg/kg)组,每组 12 只。除对照组之外,每组大鼠每日 ig 给药 1 次,连续给药 4 d 后进行下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型造模。模型组大鼠 ig 0.5% CMC-Na 水溶液,给药量为 3 mL/kg;华法林组大鼠根据《种属间等效剂量的折算表》^[15]ig 华法林钠 0.27 mg/kg。黄芩素组大鼠 ig 5、10、20 mg/kg 黄芩素^[8,10]。

2.2 大鼠下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型的建立

除对照组外,各组大鼠 ip 氨基甲酸乙酯(20%,给药量为 5 mL/kg)麻醉,备皮后于剑突下 1 cm 处沿腹白线使用手术刀做 2 cm 的切口,暴露腹腔。在创口处放置 0.9%氯化钠注射液浸泡的纱布(6 cm×5 cm),从腹腔中取出部分肠道放置于纱布左侧,暴露下腔静脉。钝性分离下腔静脉与伴行的腹主动脉,在下腔静脉与左肾静脉交界处使用 3-0 外科缝合线结扎下腔静脉。结扎后,将纱布上的肠道重新放回腹腔,分别缝合腹壁与皮肤,而后将大鼠放置于鼠笼中静置 4 h,期间注意保暖^[16]。造模 4 h 后,打开大鼠腹腔,取出下腔静脉中的血栓块,称量血栓湿质量作为评价指标。

2.3 苏木精-伊红(HE)染色病理切片观察大鼠下腔静脉形态

每组随机选取 8 只大鼠取出下腔静脉,使用 0.9%氯化钠注射液浸泡、清洗后,浸泡于 4%多聚甲醛中固定 24 h。固定后的下腔静脉经自动脱水处理后使用石蜡包埋,于结扎点下 2 mm 处切片至 5 μm 厚,HE 染色制备病理切片,观察各组大鼠下腔静脉形态与血管壁厚度。

2.4 酶联免疫吸附实验 (ELISA) 测定大鼠血浆 P-selectin 与 IL-6 水平

大鼠下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型结束后, 各组大鼠由心脏采集全血 2 mL, 使用 3.8% 柠檬酸钠抗凝 (抗凝剂与全血的体积比为 1:9)。全血在 4 °C, 1 000×g 条件下离心 15 min 后, 取上层血浆, 按照 ELISA 试剂盒说明书中操作步骤分别测定 P-selectin 与 IL-6 的水平。

2.5 大鼠鼠尾出血时间与凝血时间测定

大鼠进行下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型造模前, 将处于麻醉中的各组大鼠用手术刀片从距离鼠尾末端 4 mm 处切断尾部。将切断的鼠尾立即置于 50 mL 0.9% 氯化钠注射液 (37 °C) 中, 并开始计时。鼠尾出血时间为大鼠尾部置于 0.9% 氯化钠注射液中开始, 至尾端不再溢出血液的时间^[17-18]。

应用玻片法测定大鼠凝血时间。大鼠在测定鼠尾出血时间切断尾部时, 使用载玻片接取尾部滴落的血液。载玻片接取 1 滴直径约 5 mm 的血滴后开始计时, 每隔 10 s 用 1 mL 注射器针头由血滴边缘向中心轻轻挑动 1 次, 观察是否有血丝挑起。凝血时间为开始计时至观察到有血丝被挑起的时间^[19]。

2.6 酶联免疫吸附实验 (ELISA) 测定大鼠血小板 GPIIb/IIIa 含量

大鼠下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型结束后, 各组大鼠由心脏采集全血 2 mL, ACD 液抗凝 (抗凝剂与全血的体积比为 1:6), 25 °C, 200×g, 离心 10 min 后取上层血浆, 而后于 25 °C, 200×g 条件下离心 5 min, 取上层血浆。将该上层血浆于 25 °C, 3 000×g 条件下离心 10 min 后, 弃去上清。使用缓冲液洗涤沉淀物后, 于 25 °C, 3 000×g 条件下离心 10 min, 弃去上清, 并在沉淀中加入 200 μL 蛋白提取液和 2 μL 蛋白酶抑制剂混合物, 吹打混匀后, 在 4 °C 条件下振荡 20 min。上述提取液在 4 °C, 14 000×g 条件下离心 15 min 后, 取上清液 150 μL, 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤测定血小板中 GPIIb/IIIa 含量。

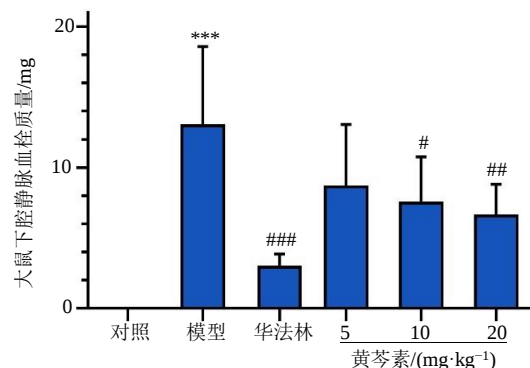
2.7 统计学分析

所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组数据使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行分析, 分析方法为单因素方差分析和 *t* 检验。

3 结果

3.1 黄芩素对大鼠体内深静脉血栓形成的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组血栓质量



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 1 大鼠下腔静脉形成的血栓质量 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 1 Weight of thrombus formed in the inferior vena cava of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

均明显升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 黄芩素 10、20 mg/kg 组的血栓质量均明显降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.2 黄芩素对大鼠下腔静脉血管壁厚度的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组在造模后血管壁厚度显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芩素 10、20 mg/kg 组的血管壁厚度均有明显减少 ($P < 0.01$)。

3.3 黄芩素对大鼠血浆 P-selectin 与 IL-6 水平的影响

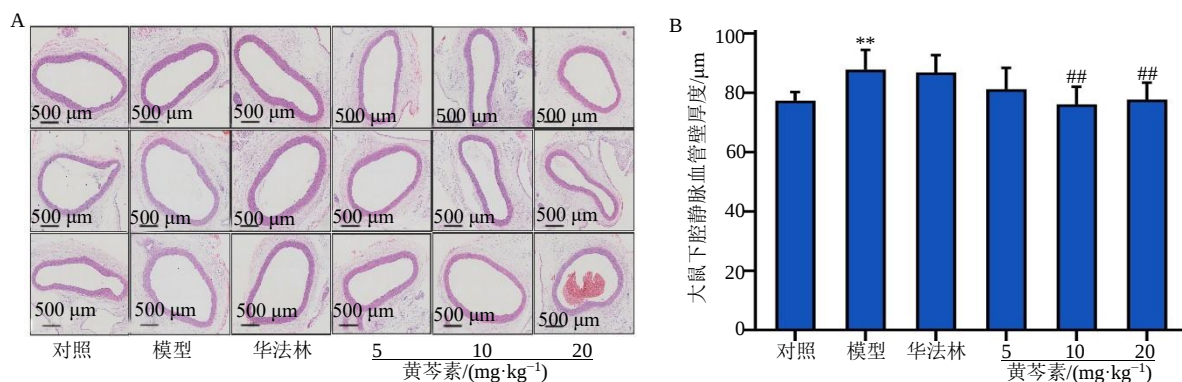
如图 3 所示, 与模型组比较, 黄芩素 10、20 mg/kg 组的血浆 P-selectin 水平明显降低 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组大鼠血浆 IL-6 水平明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芩素 20 mg/kg 组的血浆 IL-6 水平明显降低 ($P < 0.01$)。

3.4 黄芩素对大鼠鼠尾出血时间与凝血时间的影响

如图 4 所示, 与模型组比较, 黄芩素 5、10、20 mg/kg 组的鼠尾出血时间有所延长 ($P < 0.05$), 且黄芩素 10、20 mg/kg 组的出血时间均显著延长 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 黄芩素各剂量组的凝血时间没有显著性差异。说明黄芩素存在延长大鼠鼠尾出血时间的作用效果, 但对大鼠鼠尾凝血时间没有影响。

3.5 黄芩素对大鼠血小板 GPIIb/IIIa 含量的影响

如图 5 所示。与模型组比较, 黄芩素 20 mg/kg 组的血小板 GPIIb/IIIa 含量显著下降 ($P < 0.01$)。提

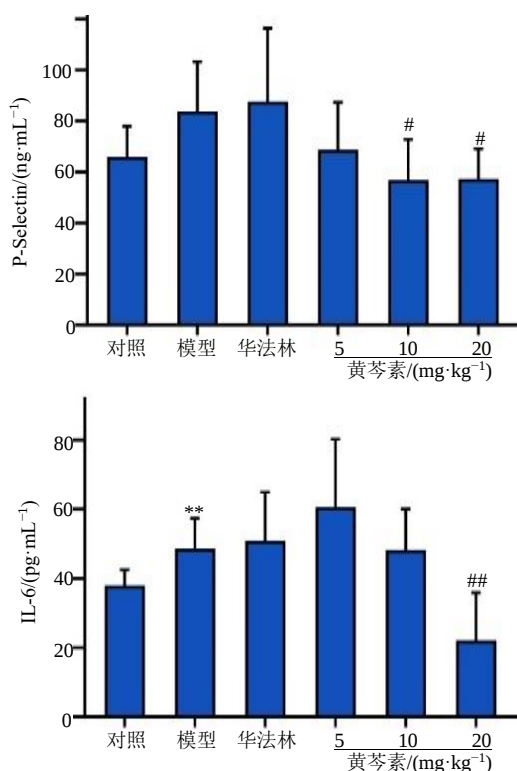


与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图 2 大鼠下腔静脉 HE 染色病理切片 (A, $\times 340$)、血管壁厚度 (B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 2 HE staining pathological examination (A, $\times 340$), inferior vena cava wall thickness (B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 3 大鼠血浆炎症相关因子水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 3 Plasma levels of inflammation-related factor in rats

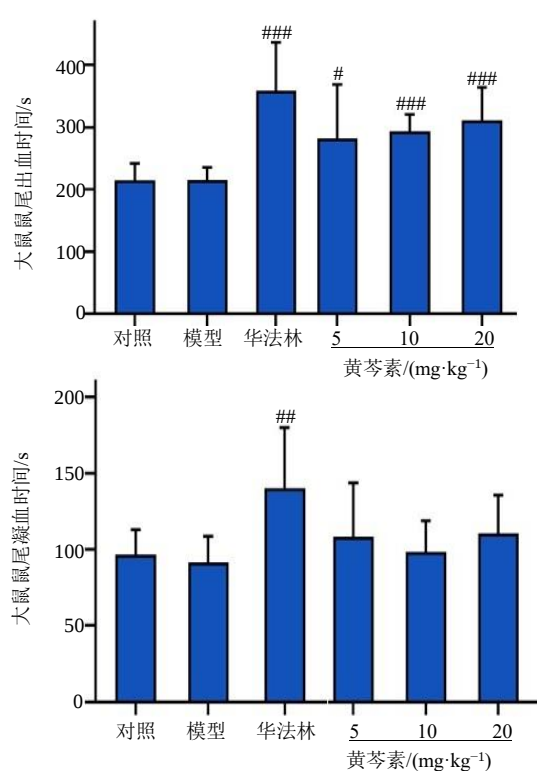
($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

示黄芩素可能存在下调大鼠血小板 GPIIb/IIIa 表达的活性, 但黄芩素 5、10 mg/kg 组该作用不明显。

4 讨论

4.1 黄芩素对炎症反应参与的深静脉血栓形成存在抑制作用

近年来, 炎症反应、先天免疫系统和内皮细胞



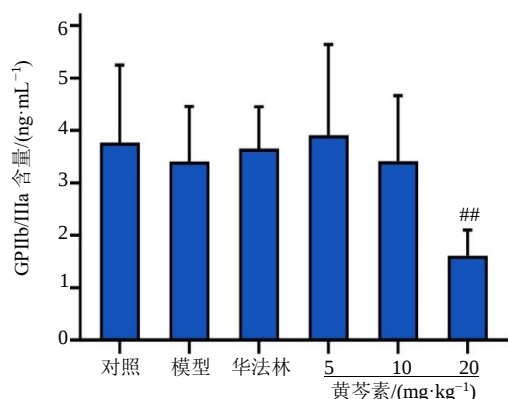
与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 4 黄芩素对大鼠鼠尾出血时间与凝血时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 4 Effects of baicalin on bleeding time and clotting time in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

激活与深静脉血栓之间的密切联系已经被确定^[20]。在血流淤滞的情况下, 静脉内的缺氧环境导致静脉血管内皮细胞和炎症细胞活化, 表达以 P-selectin 为代表的参与白细胞募集与血小板聚集的分子。白细胞通过结合 P-selectin 迅速黏附并聚集在血流淤滞



与模型组比较: ^{##} $P < 0.01$ 。

^{##} $P < 0.01$ vs model group.

图5 黄芩素对大鼠血小板 GPIIb/IIIa 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 5 Effect of baicalein on platelet GPIIb/IIIa content in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

的部位^[21],产生的中性粒细胞胞外陷阱(NETs)为血栓形成提供了“支架”。另一方面,血小板在深静脉血栓的发展过程中存在重要的促炎作用,血小板被募集到静脉壁后暴露 HMGB1,不仅促进 NETs,还诱发了组织因子介导的外源性凝血过程^[22]。

本研究应用的大鼠下腔静脉完全瘀滞血栓形成模型是一种常用的动物体内静脉血栓形成模型,在研究静脉壁从急性炎症到慢性炎症的发展过程中与血栓之间的相互作用以及静脉壁的重塑方面具有重要价值^[23]。在该模型的操作下,下腔静脉完全闭塞,结扎引发的血管壁损伤促使内皮细胞和白细胞表达促血栓形成的炎症因子,反映了深静脉血栓急性期炎症对闭塞性血栓形成的影响^[16,23]。本研究结果显示,黄芩素 10、20 mg/kg 明显抑制了大鼠下腔静脉血栓的形成,说明给予黄芩素预防炎症环境下静脉血栓的形成。但黄芩素 5 mg/kg 组无法观察到该效果,提示黄芩素的抗深静脉血栓形成活性可能存在剂量-效应关系。

随着深静脉血栓的进展,血管内皮被破坏,在免疫细胞的作用下血管壁增厚,最终可导致血栓后综合征^[20]。目前有研究将血管壁的大小和厚度作为评估血栓后综合征的生物标志物^[24]。除此之外,在动脉粥样硬化的早期过程中,炎症细胞和炎症相关分子向血管内膜的募集可导致动脉血管壁增厚^[25];另外,下腔静脉壁厚度的增加也是白塞病患者存在静脉壁炎症的标志之一^[26-27]。因此,本研究通过观察血栓形成部位静脉壁的厚度评估黄芩素对血栓

形成部位炎症反应的影响。结果显示,给予黄芩素 10、20 mg/kg 组的大鼠下腔静脉壁厚度较模型组有明显降低,且与对照组相当,说明黄芩素可有效预防深静脉血栓形成过程中由炎症引起的血管壁增厚,提示黄芩素可能缓解了血栓形成部位的炎症损伤,进一步说明黄芩素预防体内深静脉血栓形成的作用机制可能与其抗炎活性有关。

4.2 黄芩素通过降低 P-selectin 和 IL-6 的水平抑制深静脉血栓的形成

深静脉血栓的发生与发展过程中,P-selectin 与 IL-6 是关键的促炎分子。由 P-selectin 介导的先天免疫细胞的募集对深静脉血栓是不可或缺的。深静脉血栓形成初期,内皮细胞 Weibel-Palade 小体和血小板 α -颗粒分泌的 P-selectin 不仅促进白细胞和血小板的滚动和粘附,还触发了促凝微粒的释放、增加单核细胞中组织因子的表达,且稳定了血小板-纤维蛋白之间的相互作用^[28]。IL-6 则是调节炎症反应的主要细胞因子。高水平的 IL-6 可导致内皮活化、内皮细胞损伤、血小板聚集增加、对凝血酶敏感性增加以及血管壁白细胞的募集和活化,从而导致血栓形成^[12]。研究发现深静脉血栓患者血浆中 IL-6 蛋白表达显著上调,而当小鼠被注射抗 IL-6 抗体后,其深静脉血栓的形成率和血栓质量都显著下降^[1]。

尽管黄芩素的抗炎作用在多种细胞的体外试验中得到证实^[29],其在血栓形成过程中对炎症反应的影响仍需进一步测定,本研究中,与模型组相比,深静脉血栓经典治疗药物华法林组的血浆 P-selectin 及 IL-6 水平未见明显变化。本研究中,连续 ig 黄芩素 10、20 mg/kg 后,大鼠血浆 P-selectin 水平较对照组明显降低,其中黄芩素 20 mg/kg 组还存在降低大鼠血浆 IL-6 水平的作用,说明黄芩素存在体内抗炎活性,并且黄芩素在大鼠体内抗血栓形成的作用机制与华法林有所不同,同时黄芩素在大鼠体内的抗血栓形成作用可能与其降低 P-selectin 与 IL-6 的水平有关。

4.3 黄芩素通过抑制血小板 GPIIb/IIIa 的表达发挥抗血栓形成作用

为了探究黄芩素的潜在作用机制,本研究测定了黄芩素对鼠尾出血时间与凝血时间的影响。鼠尾出血时间模型是衡量血小板在血管损伤部位聚集和局部血管收缩程度的可靠测量方法,这一阶段是止血过程的最初阶段^[30]。另一方面,玻片法凝血时间测定模型能够反应 FVIII、FVII 和 FX 等凝血因

子的含量和功能是否正常^[31-32]。本研究结果显示,黄芩素延长了大鼠鼠尾出血时间,但对凝血时间没有影响。说明黄芩素对凝血因子的正常功能没有影响,但可能影响血小板的功能。

GPIIb/IIIa 是血小板特异性表达的 α Ib β 3 整合素,在血小板参与血栓形成的各个阶段都起到了重要作用:血小板活化时,GPIIb/IIIa 介导血小板与纤维蛋白原的连接;血栓形成的过程中,血小板借助 GPIIb/IIIa 将白细胞募集至血栓生成的部位;血栓块形成后,GPIIb/IIIa 与血小板产生的 CD40L 结合,促进血栓块的收缩和稳定^[33],高剂量的 GPIIb/IIIa 拮抗剂能够抑制血小板-白细胞聚集和 CD40L 的释放^[34]。因此,为了进一步探究黄芩素对血小板功能的影响,本研究测定了造模后各组大鼠血小板中 GPIIb/IIIa 的水平。在本研究的实验条件下,黄芩素高剂量 20 mg/kg 组下调了大鼠血小板 GPIIb/IIIa 的表达,这提示黄芩素可能通过 GPIIb/IIIa 抑制了血小板参与的深静脉血栓。有研究发现黄芩素可通过抑制 JNK1 而导致血小板表面 GPIIb/IIIa 活性改变,从而影响血小板的功能^[13],这是本研究后续深入讨论黄芩素抗血栓作用机制的方向之一。

5 结论

本研究发现黄芩素具有体内抗深静脉血栓形成的作用,并且能改善炎症引发的静脉血管壁的增厚,是潜在的新型深静脉血栓治疗药物。黄芩素的抗血栓形成作用可能与其降低 P-selectin 和 IL-6 的水平而表现出的体内抗炎活性和降低血小板 GPIIb/IIIa 的含量有关,但具体分子机制仍需进一步探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhang Y H, Zhang Z, Wei R, *et al.* IL (Interleukin)-6 contributes to deep vein thrombosis and is negatively regulated by miR-338-5p [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(2): 323-334.
- [2] Midulla M, Chevallier O, Comby P O, *et al.* Endovascular management of the deep venous thrombosis: A new challenging role for the endovascular specialist in 2020 [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2021, 98(4): 748-755.
- [3] Appelen D, van Loo E, Prins M H, *et al.* Compression therapy for prevention of post-thrombotic syndrome [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 9(9): CD004174.
- [4] Roumen-Klappe E M, den Heijer M, van Uum S H, *et al.* Inflammatory response in the acute phase of deep vein thrombosis [J]. *J Vasc Surg*, 2002, 35(4): 701-706.
- [5] ten Cate-Hoek A J, Henke P K, Wakefield T W. The post thrombotic syndrome: Ignore it and it will come back to bite you [J]. *Blood Rev*, 2016, 30(2): 131-137.
- [6] Borgel D, Bianchini E, Lasne D, *et al.* Inflammation in deep vein thrombosis: A therapeutic target? [J]. *Hematology*, 2019, 24(1): 742-750.
- [7] 贺一凡, 张行行, 唐长杰, 等. 黄芩素-冰片抗脑缺血后内皮功能障碍的作用及机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(22): 7455-7465.
- [8] Pan L, Cho K S, Yi I, *et al.* Baicalein, baicalin, and wogonin: Protective effects against ischemia-induced neurodegeneration in the brain and retina [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8377362.
- [9] Liao H F, Ye J, Gao L L, *et al.* The main bioactive compounds of *Scutellaria baicalensis* Georgi. for alleviation of inflammatory cytokines: A comprehensive review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 110917.
- [10] Sabry K, Jamshidi Z, Emami S A, *et al.* Potential therapeutic effects of baicalin and baicalein [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2024, 14(1): 23-49.
- [11] 单慧, 杜胤骁, 白鹤群, 等. 黄芩素的研发进展及其临床药理学 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2020, 25(6): 701-708.
- [12] Nakamura N, Hayasaka S, Zhang X Y, *et al.* Effects of baicalin, baicalein, and wogonin on interleukin-6 and interleukin-8 expression, and nuclear factor-kappaB binding activities induced by interleukin-1beta in human retinal pigment epithelial cell line [J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77(2): 195-202.
- [13] Kim S D, Lee Y J, Baik J S, *et al.* Baicalein inhibits agonist-and tumor cell-induced platelet aggregation while suppressing pulmonary tumor metastasis via cAMP-mediated VASP phosphorylation along with impaired MAPKs and PI3K-Akt activation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 92(2): 251-265.
- [14] Huang W H, Lee A R, Chien P Y, *et al.* Synthesis of baicalein derivatives as potential anti-aggregatory and anti-inflammatory agents [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57(2): 219-225.
- [15] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1698.
- [16] Wroblewski S K, Farris D M, Diaz J A, *et al.* Mouse complete stasis model of inferior vena cava thrombosis [J]. *J Vis Exp*, 2011(52): e2738.
- [17] Ma R S, Fu W W, Zhang J, *et al.* TMAO: A potential mediator of clopidogrel resistance [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6580.

- [18] Tanaka T, Ito S, Higashino R, *et al.* A new thromboxane receptor antagonist, Z-335, ameliorates experimental thrombosis without prolonging the rat tail bleeding time [J]. *Thromb Res*, 1998, 91(5): 229-235.
- [19] 张秀萍, 李厚忠, 孙达辰, 等. 温经汤药材不同炮制方法组方对小鼠出血时间和凝血时间的影响 [J]. *中国药物经济学*, 2020, 15(9): 36-38.
- [20] Audu C O, Gordon A E, Obi A T, *et al.* Inflammatory biomarkers in deep venous thrombosis organization, resolution, and post-thrombotic syndrome [J]. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord*, 2020, 8(2): 299-305.
- [21] Zeng G W, Li X, Li W C, *et al.* A nomogram model based on the combination of the systemic immune-inflammation index, body mass index, and neutrophil/lymphocyte ratio to predict the risk of preoperative deep venous thrombosis in elderly patients with intertrochanteric femoral fracture: a retrospective cohort study [J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1): 561.
- [22] Budnik I, Brill A. Immune factors in deep vein thrombosis initiation [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(8): 610-623.
- [23] Diaz J A, Obi A, Myers Jr D D, *et al.* Critical review of mouse models of venous thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(3): 556-562.
- [24] Henke P K, Comerota A J. An update on etiology, prevention, and therapy of postthrombotic syndrome [J]. *J Vasc Surg*, 2011, 53(2): 500-509.
- [25] Sonaglioni A, Esposito V, Caruso C, *et al.* Association between neutrophil to lymphocyte ratio and carotid artery wall thickness in healthy pregnant women [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2020, 255: 98-104.
- [26] Ağaçkiran S K, Sünbül M, Doğan Z, *et al.* Increased inferior vena cava wall thickness as a sign of extensive venous inflammation in Behçet's disease [J]. *Clin Rheumatol*, 2024, 43(4): 1355-1362.
- [27] Ambrose N, Pierce I T, Gatehouse P D, *et al.* Magnetic resonance imaging of vein wall thickness in patients with Behçet's syndrome [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2014, 32(4 Suppl 84): S99-S102.
- [28] Von Brühl M L, Stark K, Steinhart A, *et al.* Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice *in vivo* [J]. *J Exp Med*, 2012, 209(4): 819-835.
- [29] Zhang Z Z, Yu X H, Tan W H. Baicalein inhibits macrophage lipid accumulation and inflammatory response by activating the PPAR γ /LXR α pathway [J]. *Clin Exp Immunol*, 2022, 209(3): 316-325.
- [30] Buczko W, Gambino M C, De Gaetano G. Prolongation of rat tail bleeding time by ketanserin: Mechanisms of action [J]. *Eur J Pharmacol*, 1984, 103(3-4): 261-268.
- [31] Zhou W T, Abdurahman A, Umar A, *et al.* Effects of *Cydonia oblonga* Miller extracts on blood hemostasis, coagulation and fibrinolysis in mice, and experimental thrombosis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(1): 163-169.
- [32] 王萃. 异常黑胆质成熟剂提取物对正常大鼠凝血时间及TXB₂和6-keto-PGF₁ α 水平的影响 [J]. *中国血液流变学杂志*, 2008, 18(4): 484-485.
- [33] Giordano A, Musumeci G, D'Angelillo A, *et al.* Effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists: Anti platelet aggregation and beyond [J]. *Curr Drug Metab*, 2016, 17(2): 194-203.
- [34] Li N, Hu H, Lindqvist M, *et al.* Platelet-leukocyte cross talk in whole blood [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(12): 2702-2708.

[责任编辑 高源]