基于 PI3K/AKT/GSK3 通路探讨三七总皂苷抑制大鼠肠缺血再灌注后血小板活化的作用机制*

陈宇，马腾，关梓鹏，徐佳

北京中医药大学第三附属医院普外科，北京 100029

摘要：目的：观察三七总皂苷（panax notoginseng saponins，PNS）对大鼠肠缺血再灌注后血小板功能的影响，并基于磷脂酰肌醇 3 - 激酶（phosphatidylinositol 3 - kinase，PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B，PKB，又称 AKT）/糖原合成酶激酶 - 3（glycogen synthase kinase - 3，GSK3）通路探讨相关作用机制。方法：将 50 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、PNS 低剂量组（PNS - L，30 mg · kg^{-1}）、PNS 中剂量组（PNS - M，60 mg · kg^{-1}）及 PNS 高剂量组（PNS - H，90 mg · kg^{-1}），每组 10 只。各组大鼠以生理盐水或药物灌胃，连续 7 d。除假手术组外，其余大鼠采用微型无创动脉夹夹闭肠系膜上动脉 1 h，再灌注 2 h 后得到肠缺血再灌注模型。采用 TEG 仪检测大鼠全血 R、Angle、MA、ADP - MA 以及巴曲霉 - MA，ANYSIS 分析仪测量迁移距离（migration distance，MD），并计算血小板抑制率。采用 RT - PCR 法、Western blot 法检测大鼠小肠组织 *PI3K*、*AKT*、*GSK3* 基因和蛋白表达水平。结果：与假手术组比较，模型组大鼠 R 和 MD 减少，Angle 和 MA 增加（$P<0.05$）。与模型组比较，PNS - L、PNS - M、PNS - H 组大鼠 R 和 MD 增加，Angle 和 MA 减少（$P<0.05$）。与 PNS - L 组比较，PNS - M、PNS - H 组大鼠血小板抑制率升高（$P<0.05$）。与假手术组比较，模型组大鼠小肠 *PI3K*、*AKT*、*GSK3* 基因和蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与模型组比较，PNS - M、PNS - H 组大鼠小肠 *PI3K*、*AKT*、*GSK3* 基因和蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。结论：PNS 可抑制大鼠肠缺血再灌注后血小板活化，其机制可能与调控 PI3K/AKT/GSK3 信号通路有关。

关键词：三七总皂苷；肠缺血再灌注损伤；PI3K/AKT/GSK3 通路；血小板活化

DOI：10.16368/j.issn.1674 - 8999.2025.03.105

中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674 - 8999(2025)03 - 0642 - 06

Action Mechanism of Panax Notoginseng Saponins in Inhibiting Platelet Activation After Intestinal Ischemia - reperfusion in Rats Based on PI3K/AKT/GSK3 Pathway

CHEN Yu，MA Teng，GUAN Zipeng，XU Jia

Department of General Surgery，The Third Affiliated Hospital to Beijing University of Chinese Medicine，Beijing China 100029

Abstract：Objective：To observe the effects of panax notoginseng saponins (PNS) on platelet function after intestinal ischemia - reperfusion in rats，and to investigate the effects of PNS on platelet activation after intestinal ischemia - reperfusion in rats，based on the results of the study of phosphatidylinositol 3 - kinase (PI3K)/protein kinase B (PKB，also known as AKT)/glycogen synthase kinase - 3 (GSK3) pathway to explore the related mechanism of action. Methods：Fifty SD rats were randomly divided into a sham operation group，a model group，a PNS low - dose group (PNS - L，30 mg · kg^{-1})，a PNS medium - dose group (PNS - M，60 mg · kg^{-1})，and a PNS high - dose group (PNS - H，90 mg · kg^{-1})，with 10 rats in each group. Rats in each group were gavaged with saline or drugs for 7 d. Except for the sham - operated group，the intestinal ischemia - reperfusion model was obtained by using miniature noninvasive arterial clips to clip the superior mesenteric artery for 1 h and then reperfusing artery for 2 h. The rats in the sham - operated group were

* **基金项目**：中医养生学教育部重点实验室建设项目（2024 - JYB - KYPT - 02）

then subjected to the same procedure as the sham – operated group. Whole blood R, Angle, MA, ADP – MA, and bacitracin – MA were detected by TEG instrument, and migration distance (MD) was measured by ANYSIS analyzer, and platelet inhibition rate was calculated. *PI3K*, *AKT*, *GSK3* mRNA and protein expression levels in rat small intestine tissues were detected by RT – PCR and Western blot. Results: Compared with the sham – operated group, R and MD were decreased and Angle and MA were increased in the model group of rats ($P<0.05$). Compared with the model group, rats in the PNS – L, PNS – M, and PNS – H groups had increased R and MD and decreased Angle and MA ($P<0.05$). Compared with the PNS – L group, platelet inhibition increased in rats in the PNS – M and PNS – H groups ($P<0.05$). Compared with the sham – operated group, the expression levels of *PI3K*, *AKT*, *GSK3* genes and proteins in the small intestine of rats in the model group were elevated ($P<0.05$). Compared with the model group, the small intestinal *PI3K*, *AKT*, *GSK3* gene and protein expression of rats in the PNS – M and PNS – H groups decreased ($P<0.05$). Conclusion: PNS inhibits platelet activation after intestinal ischemia – reperfusion in rats, and its mechanism may be related to the regulation of PI3K/AKT/GSK3 signaling pathway.

Key words: panax notoginseng saponins; PI3K/AKT/GSK3 pathway; intestinal ischemia – reperfusion injury; platelet activation

肠缺血再灌注损伤(intestinal ischemia – reperfusion, I/R)是临床常见的病理生理过程,多继发于创伤、手术、移植等情况,造成肠黏膜损伤、肠道菌群易位、自由基产生、炎症反应以及凝血功能紊乱等并发症,最终导致全身多器官、多系统损伤以及功能障碍[1]。I/R 的病理机制包括肠黏膜屏障破坏、肠道菌群易位、自由基生成、钙离子超载、凝血功能障碍以及氧化应激等[2]。其中,凝血功能障碍在 I/R 中发挥重要作用,但其具体机制尚未明确[3-4]。在生理状态下,机体的凝血功能处于动态平衡,促凝系统、抗凝系统与纤溶系统相互协调、相互制约,以维持凝血功能平衡[5]。二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)是一种重要的血小板激活因子,其通过与血小板表面的 P2Y12 受体结合从而影响血小板活化,该受体属于 G 蛋白耦联受体家族成员[6]。ADP 与 P2Y12 受体结合后,影响血小板内外的钙离子平衡、降低环磷酸腺苷(cAMP)水平,削弱对血小板的抑制作用[7],同时增强整合素的配体结合功能,并通过磷脂酰肌醇 – 3 激酶(PI3K)、丝氨酸 – 苏氨酸蛋白激酶(AKT)、糖原合成酶激酶 – 3(GSK3)通路增加血小板颗粒释放,从而调节血小板的形态、分泌、黏附与聚集功能及其稳定性,进而诱导血小板活化[8-9]。

近年来,缺血再灌注损伤中凝血系统功能的变化备受关注,但其分子机制仍处于探索阶段,且临床上缺乏有效及时的治疗手段。中医药治疗缺血再灌注损伤的研究颇多,三七作为治伤圣药,具有活血化瘀、止血的功效。三七总皂苷(panax notoginseng saponins, PNS)是三七的主要活性成分之一,其对冠心病大鼠的血小板活化、黏附、聚集具有明显的抑制作用[10-11]。因此,本研究建立大鼠 I/R 模型,运用血栓弹力图仪(thrombelasto – graph analyzer, TEG)与 ANYSIS 血小板功能分析仪观察血小板功能变化,并基于 PI3K/AKT/GSK3 通路探索 PNS 治疗大鼠 I/R 的作用机制。

1　材料

1.1　动物　健康雄性 SD 大鼠 50 只,7 ~ 8 周龄,体质量 220 ~ 300 g,由北京维通利华公司提供,许可证号为 SCXK(京)2021 – 0011。所有大鼠适应性饲养 1 周,温度(23 ± 1)℃,湿度 45% ~ 55%,光/暗循环 12 h/12 h。所有实验操作经过中研子创生物科技有限公司实验动物福利伦理委员会审查,伦理审查编号:JMY – 2023 – 1003 – 10。

1.2　主要仪器　血栓弹力图仪(深圳瑞沃德生命科技有限公司);ANYSIS 凝血与血小板功能分析仪[瑞奥(天津)医疗科技有限公司];荧光定量 PCR 仪(美国 Applied biosystems 公司);SDS – PAGE 电泳系统(美国 Bio – Rad 公司);凝胶成像系统(美国 UVP 公司,型号:GelDoc – It310);ChemiDoc MP 化学发光成像系统(上海 CLINX 勤翔公司,型号:ChemiScope6100)。

1.3　主要试剂　三七总皂苷(成都曼斯特生物科技有限公司,货号:A0760);蛋白提取液、蛋白酶抑制剂、蛋白二抗、DEPC(加拿大 MDL 公司,货号:MDL91201、MD912893、MD912565、MD911875);中等蛋白分子量 marker(美国 ThermoFisher Scientific 公司,货号:MD911919);Actin 抗体(Affinity,货号:AF7018);PI3K p85 抗体、AKT 抗体、GSK3 抗体(博奥龙公司,货号:BD – PN5488、RM1116、BD – PA4400);蛋白裂解液(碧云天生物科技有限公司,货号:P0013);TRIZOL、UltraPure Agarose、SuperScript Ⅲ RT 逆转录 kit、Sybr qpcr mix(美国 ABI – Invitrogen 公司,货号:10296028、16500100、11752050、4472920);活化凝血检测试剂盒(美国血液技术公司,货号:07 – 004);血栓弹力图试验试剂盒(深圳

瑞沃德生命科技有限公司，货号：1. 021. 2051）；P2Y12 受体相关血小板聚集功能测试盒（天津瑞奥医疗科技有限公司，货号：Anysis－02）。

2　方法

2.1　分组与给药　将 50 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、PNS 低剂量组（PNS－L，30 mg·kg^{-1}）、PNS 中剂量组（PNS－M，60 mg·kg^{-1}）、PNS 高剂量组（PNS－H，90 mg·kg^{-1}），每组 10 只。各药物组大鼠以相应剂量连续灌胃 7 d，每日 1 次[12]，假手术组和模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃，且在造模前 2 h 追加灌胃 1 次。

2.2　模型制备　各组大鼠连续灌胃 7 d 后，禁食禁水 12 h；最后 1 次灌胃 2 h 后，从大鼠右下腹外侧注射 1% 戊巴比妥钠溶液（40 mg·kg^{-1}）进行麻醉。大鼠腹部备皮，沿腹白线开腹，仔细分离腹部组织，从右肾上方找到肠系膜上动脉（superior mesenteric artery，SMA），用微型无创动脉夹夹闭 SMA，直到肉眼观察小肠由红润变为苍白，肠蠕动减弱，证明造模成功。在实验过程中若遇大鼠造模失败或意外死亡，则补足大鼠后再行造模。造模成功后，回纳小肠并简易关腹，用生理盐水纱布覆盖大鼠伤口处；将大鼠置于恒温垫上，夹闭 SMA 1 h 后，松开微型动脉夹，恢复灌注 2 h 后处死大鼠，经腹主动脉取血[13]。假手术组大鼠开腹后仅分离 SMA，随即回纳小肠关腹。

2.3　TEG 凝血功能与血小板抑制率检测　预启动 TEG 测试仪 10 min，待机器预热至 37 ℃。在 4% 柠檬酸钠抗凝管（1∶10 稀释）、肝素抗凝管中加入腹主动脉血，倾斜静置样本 15 min，观察血液未发生凝固沉淀等现象，用移液枪抽取 1 mL 枸橼酸抗凝全血到高凝土试杯中，上下颠倒 5 次，取出 340 μL 激活全血于 TEG 测试杯，加入 0. 2 mol·L^{-1} 氯化钙 20 μL，上机检测；同样方法取 340 μL 肝素抗凝全血分别加入 ADP 杯与巴曲霉杯中。记录 TEG 测试的 R、Angle、MA、ADP－MA 以及巴曲霉－MA 值。血小板抑制率＝MA－MA（ADP）/MA－MA（巴曲霉）×100%[14－15]。

2.4　ANYSIS 血小板功能检测　在 4% 柠檬酸钠抗凝管（1∶10 稀释）中加入腹主动脉血，室温下倾斜静置样本 30 min 后，观察血液未发生凝固沉淀等现象，轻轻颠倒抗凝管 5 次，使用移液枪吸取 200 μL 样本，加至 P2Y12 途径测试芯片的样本井中，开始测试并记录样本的迁移距离（migration distance，MD）。

2.5　RT－PCR 法检测小肠组织 *PI3K*、*AKT*、*GSK3* 基因表达量　采血结束后取小肠组织，研磨、离心、洗涤、沉淀，提取 RNA 样本。测定样本 RNA 浓度和纯度，逆转录合成 cDNA。PCR 反应体系：cDNA 2 μL、PCR 反应聚合酶 10 μL、正向引物与反向引物各 1 μL、双蒸水 6 μL；85 ℃反应 10 min，灭活逆转录酶。95 ℃预变性 5 min，95 ℃变性 10 s，58 ℃退火 20 s，72 ℃延伸 20 s，共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因的相对表达量，引物序列见表 1。

表 1　引物序列

目标基因		引物序列（5′－3′）	长度/bp
Actin	F	CTGAACGTGAAATTGTCCGAGA	145
	R	TTGCCAATGGTGATGACCTG	
PI3K	F	GAAGAGTCTCGAGCAGTGGC	114
	R	ATGCCCTAGGTGACCTGACA	
AKT	F	GCCTCTGCTTTGTCATGGAG	96
	R	AGCATGAGGTTCTCCAGCTT	
GSK3	F	ATGCCCTAGGTGACCTGACA	90
	R	GTTAGCCGGGCGGTAGGT	

2.6　Western blot 法检测小肠组织 PI3K、AKT、GSK3 蛋白表达量　小肠组织匀浆后加入缓冲液离心 5 min，取上清加入细胞裂解液，离心取上清液，测量蛋白浓度。根据蛋白定量结果，加入相应体积的总蛋白样品与蛋白质凝胶电泳上样缓冲液混合，95 ℃变性 10 min 后进行电泳，然后转移至 NC 膜。封闭后，加入 PI3K p85 抗体（1∶1 000）、AKT 抗体（1∶1 000）、GSK3 抗体（1∶1 000）、β－actin 抗体（1∶3 000），4 ℃反应过夜；洗涤后加入二抗工作液（1∶3 000），反应 60 min，洗涤后将其放入化学发光成像系统成像。以 β－actin 作为内参蛋白，使用 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值。

2.7　统计学方法　采用 SPSS 27.0 软件分析数据，计量资料以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。若数据服从正态分布，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较若方差齐时用 *LSD* 检验，方差不齐采用 *Tamhane's* T^2 检验。若数据不符合正态分布，采用非参数秩和检验。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　PNS 对大鼠凝血功能的影响　TEG 仪检测显示，与假手术组比较，模型组大鼠全血 R 减少，Angle 和 MA 增加（$P<0.05$）。与模型组比较，PNS－L、PNS－M、PNS－H 组大鼠全血 R 增加，Angle 和 MA 减少（$P<0.05$）。与 PNS－L 组比较，PNS－M、PNS－H 组大鼠全血 R 增加，Angle 和 MA 减少（$P<0.05$）。各组大鼠全血巴曲霉－MA、ADP－MA 比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。与 PNS－L 组比

较，PNS－M、PNS－H 组大鼠血小板抑制率升高（$P<0.05$）；与 PNS－M 组比较，PNS－H 组大鼠血小板抑制率升高（$P<0.05$）。

ANYSIS 分析仪检测显示，与假手术组比较，模型组大鼠 MD 减少（$P<0.05$）；与模型组比较，PNS－L、PNS－M、PNS－H 组大鼠 MD 增加（$P<0.05$）；与 PNS－L 组比较，PNS－M、PNS－H 组大鼠 MD 增加（$P<0.05$），见表 2。

表 2　各组大鼠凝血功能指标比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	R（t/min）	Angle/度	MA（l/mm）	巴曲霉－MA（l/mm）	ADP－MA（l/mm）	血小板抑制率/%	迁移距离（l/mm）
假手术组	10	2.36±0.21	68.80±1.34	67.56±1.53	－	－	－	255.20±12.59
模型组	10	1.43±0.15[a]	81.87±1.48[a]	76.01±1.10[a]	－	－	－	118.10±4.58[a]
PNS－L 组	10	1.76±0.08[b]	79.71±1.53[b]	73.25±0.84[b]	14.08±1.91	41.40±3.40	53.80±5.32	125.90±3.63[b]
PNS－M 组	10	1.96±0.11[bc]	78.65±0.94[bc]	71.96±1.08[bc]	13.36±1.22	34.37±2.71	63.60±4.95[c]	137.00±3.94[bc]
PNS－H 组	10	2.11±0.17[bc]	76.26±2.37[bc]	70.03±1.57[bc]	12.74±1.45	28.44±1.92	72.67±3.30[cd]	162.60±12.21[bc]

注：与假手术组比较，a$P<0.05$；与模型组比较，b$P<0.05$；与 PNS－L 组比较，c$P<0.05$；与 PNS－M 组比较，d$P<0.05$。

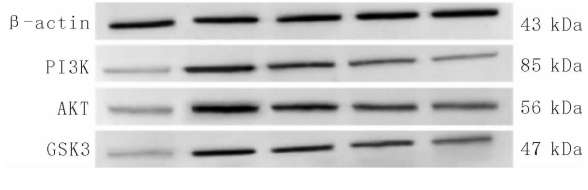
3.2　PNS 对大鼠小肠组织 *PI3K*、*AKT*、*GSK3* 基因表达水平的影响　RT－PCR 显示，与假手术组比较，模型组大鼠小肠组织 *PI3K* mRNA、*AKT* mRNA、*GSK3* mRNA 水平升高（$P<0.05$）。与模型组比较，PNS－L、PNS－M、PNS－H 组大鼠小肠组织 *PI3K* mRNA、*AKT* mRNA、*GSK3* mRNA 水平降低（$P<0.05$）。与 PNS－L 组比较，PNS－M、PNS－H 组大鼠小肠组织 *PI3K* mRNA、*AKT* mRNA、*GSK3* mRNA 水平降低（$P<0.05$），见表 3。

表 3　各组大鼠小肠组织 *PI3K*、*AKT*、*GSK3* 基因表达水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	*PI3K* mRNA	*AKT* mRNA	*GSK3* mRNA
假手术组	10	1.00±0.08	1.00±0.08	1.00±0.10
模型组	10	4.10±0.17[a]	4.03±0.20[a]	3.21±0.20[a]
PNS－L 组	10	3.55±0.13[b]	3.51±0.16[b]	2.90±0.11[b]
PNS－M 组	10	3.02±0.17[bc]	3.08±0.18[bc]	2.25±0.15[bc]
PNS－H 组	10	2.08±0.15[bc]	2.04±0.09[bc]	1.68±0.14[bc]

注：与假手术组比较，a$P<0.05$；与模型组比较，b$P<0.05$；与 PNS－L 组比较，c$P<0.05$。

3.3　PNS 对大鼠小肠 PI3K、AKT、GSK3 蛋白表达水平的影响　Western blot 显示，与假手术组比较，模型组大鼠小肠组织 PI3K、AKT、GSK3 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与模型组比较，PNS－M、PNS－H 组大鼠小肠组织 PI3K、AKT、GSK3 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。与 PNS－L 组比较，PNS－M、PNS－H 组大鼠小肠组织 PI3K、AKT、GSK3 蛋白表达水平降低（$P<0.05$），见图 1、表 4。



注：A：假手术组；B：模型组；C：PNS－L 组；D：PNS－M 组；E：PNS－H 组。

图 1　各组大鼠小肠组织 PI3K、AKT、GSK3 蛋白条带图

表 4　各组大鼠小肠组织 PI3K、AKT、GSK3 蛋白表达水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	PI3K	AKT	GSK3
假手术组	10	0.38±0.04	0.48±0.06	0.43±0.08
模型组	10	0.88±0.05[a]	0.95±0.07[a]	1.01±0.12[a]
PNS－L 组	10	0.74±0.06	0.85±0.08	0.86±0.07
PNS－M 组	10	0.66±0.05[bc]	0.75±0.07[bc]	0.73±0.06[bc]
PNS－H 组	10	0.56±0.06[bc]	0.68±0.06[bc]	0.64±0.08[bc]

注：与假手术组比较，a$P<0.05$；与模型组比较，b$P<0.05$；与 PNS－L 组比较，c$P<0.05$。

4　讨论

肠缺血再灌注损伤是指肠道缺血后，尽管血液灌注及供氧得以恢复，但组织损伤加重的病理生理过程，常继发于严重休克、创伤、肠系膜血管栓塞等情况。由于肠道黏膜对缺血非常敏感，缺血可导致肠道黏膜破坏、菌群移位，进而诱发剧烈炎症反应。血液再灌注后，机体补体系统激活，氧自由基产生，炎症介质如 TNF－α、IL－1、IL－6 等释放。这些炎症介质通过介导凝血系统激活，打破凝血系统的平衡，造成严重的凝血功能紊乱。研究发现，TNF－α 可直接作用于单核细胞，增加组织因子（tissue factor，TF）表达。TF 作为经典的外源性凝血途径激活物，不仅启动外源性凝血途径，同时通过共同通路造成外源性凝血途径与内源性凝血途径共同激活[16]。据研究报道，IL－6 可通过活化 NF－κB 通路，使 TF 表达增加，加速由脓毒症介导的外源性凝血途径激活[17]。生理条件下，机体的促凝系统与抗凝系统相互制约、相互协调，共同维持凝血系统的平衡。生理抗凝系统包括抗凝血酶系统（AT）、蛋白 S 与蛋白 C 系统以及组织因子途径抑制物系统（tissue factor pathway inhibitor，TFPI）等。研究表明，严重炎症不仅直接造成凝血激活，而且抑制生理抗凝系统的功能。机体发生炎症反应时，IL－1、IL－6 等炎症介质

作用于血管内皮细胞表面，抑制糖胺聚糖合成，导致抗凝血酶 AT 功能下降[18]。TNF－α、IL－1 导致血栓调节蛋白水平下降，从而影响蛋白 S、蛋白 C 系统功能[19]。炎症反应和凝血系统之间的作用是双向的，凝血因子Ⅹ、凝血因子Ⅲ能激活内皮细胞释放 IL－6、IL－8 等炎症介质，加重炎症反应[20-21]。这种炎症因子和凝血因子的相互作用形成正反馈过程，导致炎症反应和凝血反应不断加剧，从而造成弥散性血管内凝血等严重后果。

血小板在炎症凝血网络中起到主要作用，不仅参与生理性止血过程，还通过释放 ADP 形成正反馈效应。此外，血小板通过整合素介导的由外向内的信号传导过程，引发血小板黏附、聚集，从而导致病理性血栓形成[22]。PI3K 是细胞内信号传导的重要中介，共有 3 种亚型[23]。PI3K 及其下游分子的过度激活在肿瘤、炎症、血栓中较为常见[24]，使其成为血栓治疗的潜在靶点[25]。ADP 与 P2Y12 受体结合后，激活下游 P13K，PI3K 通过产生磷脂酰肌醇 3，4－二磷酸和磷脂酰肌醇 3，4，5－三磷酸，导致下游信号通路如 AKT 通路的激活。AKT 的激活导致 GSK3 磷酸化，GSK3 家族包含两种相似的激酶即 GSK3β 与 GSK3α，两者在 PI3K 途径介导的血小板活化中都是关键的下游信号分子[26]。研究表明，PI3K/AKT 信号的过表达在血小板异常激活中起重要作用。O′Brien 等[27]研究发现，PI3K/AKT/GSK3 通路与整合素介导的血小板扩散密切相关，且 ADP 与 PI3K/AKT 通路存在特殊联系。Chen 等[28]研究证实，PI3K/AKT 通路在非生理性剪切力作用诱导的血小板活化中起重要作用。此外，抑制 PI3K/AKT 通路可以防止 COVID－19 患者血清中血小板对纤维蛋白原的活化和黏附以及血栓形成[29]。

中医将 I/R 归于“腹痛”范畴，常用三七、红花、姜黄等中药治疗。三七的活血化瘀作用可能与 PNS 密切相关，PNS 已被证实对多种组织器官具有保护作用。Wang 等[30]发现，PNS 通过调节氧化应激和内质网应激相关信号通路，清除自由基，减少脂质过氧化，增加抗氧化酶活性，从而减少心肌再灌注损伤。此外，PNS 作为激活 Nrf2 抗氧化信号传导的调节因子，可减轻脑缺血再灌注引起的血脑屏障破坏[31]。Muller 等[32]研究表明，PNS 可通过 PI3K/AKT 通路抑制缺血诱导的心肌细胞凋亡。本研究中，PNS 可通过抑制 PI3K/AKT 及下游信号分子 GS3K 的过表达，从而抑制 I/R 后血小板活化，与上述研究结果一致。

本研究显示，TEG 中 R 降低、MA 升高，ANLYS-IS 中 MD 降低，提示肠缺血再灌注后大鼠凝血系统激活，血小板活化。PNS 预处理后，PI3K/AKT/GSK3 通路相关蛋白和基因的表达均受到抑制，血小板活化抑制明显。综上所述，PNS 可抑制大鼠肠缺血再灌注后血小板活化，改善凝血功能，减轻缺血再灌注损伤，其机制可能与调控 PI3K/AKT/GSK3 信号通路有关。本研究为治疗缺血再灌注损伤及早期干预凝血功能紊乱提供新思路，也为利用中药三七开发新型抗血小板药物奠定基础。未来可使用基因敲除大鼠进行验证，并确定 PNS 的最佳作用浓度。

参考文献：

[1] CASTELLINO F J，DONAHUE D L，NAVARI R M，et al. An accompanying genetic severe deficiency of tissue factor protects mice with a protein C deficiency from lethal endotoxemia[J]. Blood，2011，117(1)：283－289.

[2] 刘霞，王猛，朱鹏飞，等. 中医药治疗肠缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志，2020，26(1)：173－175.

[3] OLANDERS K，BRJESSON A，ZHAO X，et al. Effects of anticoagulant treatment on intestinal ischaemia and reperfusion injury in rats[J]. Acta Anaesthesiol Scand，2005，49(4)：517－524.

[4] GHARISHVANDI F，ABDOLLAHI A，SHAFAROODI H，et al. Involvement of 5－HT1B/1D receptors in the inflammatory response and oxidative stress in intestinal ischemia/reperfusion in rats[J]. Eur J Pharmacol，2020，882：173265.

[5] YANG L，GUO Y，FAN X，et al. Amelioration of coagulation disorders and inflammation by hydrogen－rich solution reduces intestinal ischemia/reperfusion injury in rats through NF－κB/NLRP3 pathway[J]. Mediators Inflamm，2020，2020：4359305.

[6] GACHET C. ADP receptors of platelets and their inhibition[J]. Thromb Haemost，2001，86(1)：222－232.

[7] KAHNER B N，SHANKAR H，MURUGAPPAN S，et al. Nucleotide receptor signaling in platelets[J]. J Thromb Haemost，2006，4(11)：2317－2326.

[8] KIM S Y，KIM S，YUN－CHOI H S，et al. Wnt5a potentiates U46619－induced platelet aggregation via the PI3K/Akt pathway[J]. Mol Cells，2011，32(4)：333－336.

[9] PELZL L，SINGH A，FUNK J，et al. Antibody－mediated procoagulant platelet formation in COVID－19 is AKT dependent[J]. J Thromb Haemost，2022，20(2)：387－398.

[10] 冯磊，马秋玲，石琳，等. 三七皂甙R1 抑制 PI3K/AKT 通路对 AML 小鼠存活和 Caspase－3，VEGF 表达水平的影响[J]. 中国实验血液学杂志，2020，28(2)：394－399.

[11]张令春,褚延乐,王梦妮. 三七总皂苷对脑损伤模型大鼠神经行为学损伤区 VEGF 及 FGF 表达影响的研究[J]. 中国实用神经疾病杂志,2018,21(7):697 - 701.
[12]GAO J L,YAO M J,ZHANG W,et al. Panax notoginseng saponins alleviates inflammation induced by microglial activation and protects against ischemic brain injury via inhibiting HIF - 1α/PKM2/STAT3 signaling[J]. Biomed Pharmacother,2022,155:113479.
[13]DONG H,QIANG Z Z,CHAI D D,et al. Nrf2 inhibits ferroptosis and protects against acute lung injury due to intestinal ischemia reperfusion via regulating SLC7A11 and HO - 1[J]. Aging,2020,12(13):12943 - 12959.
[14]CHEN S X,LIU J L,LIU X Y,et al. Panax notoginseng saponins inhibit ischemia - induced apoptosis by activating PI3K/Akt pathway in cardiomyocytes[J]. J Ethnopharmacol,2011,137(1):263 - 270.
[15]杨建业,秦磊磊,李飞龙,等. 血栓弹力图临床应用的研究进展[J]. 重庆医学,2020,49(1):149 - 154.
[16]LEVI M,VAN DER POLL T,TEN CATE H,et al. The cytokine - mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia[J]. Eur J Clin Invest,1997,27(1):3 - 9.
[17]LEVI M,KELLER T T,VAN GORP E,et al. Infection and inflammation and the coagulation system[J]. Cardiovasc Res,2003,60(1):26 - 39.
[18]KOBAYASHI M,SHIMADA K,OZAWA T. Human recombinant interleukin - 1 beta - and tumor necrosis factor alpha - mediated suppression of heparin - like compounds on cultured porcine aortic endothelial cells[J]. J Cell Physiol,1990,144(3):383 - 390.
[19]FAUST S N,LEVIN M,HARRISON O B,et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis[J]. N Engl J Med,2001,345(6):408 - 416.
[20]SOWER L E,FROELICH C J,CARNEY D H,et al. Thrombin induces IL - 6 production in fibroblasts and epithelial cells. Evidence for the involvement of the seven - transmembrane domain (STD) receptor for alpha - thrombin[J]. J Immunol,1995,155(2):895 - 901.
[21]VAN DER POLL T,DE JONGE E,LEVI M. Regulatory role of cytokines in disseminated intravascular coagulation[J]. Semin Thromb Hemost,2001,27(6):639 - 651.
[22]MUMFORD A D,FRELINGER A L,GACHET C,et al. A review of platelet secretion assays for the diagnosis of inherited platelet secretion disorders[J]. Thromb Haemost,2015,114(1):14 - 25.
[23]HAWKINS P T,STEPHENS L R. PI3K signalling in inflammation[J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Biol Lipds,2015,1851(6):882 - 897.
[24]FRESNO VARA J A,CASADO E,DE CASTRO J,et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer[J]. Cancer Treat Rev,2004,30(2):193 - 204.
[25]THORPE L M,YUZUGULLU H,ZHAO J J. PI3K in cancer:divergent roles of isoforms,modes of activation and therapeutic targeting[J]. Nat Rev Cancer,2015,15(1):7 - 24.
[26]MOORE S F,AGBANI E O,WERSLL A,et al. Opposing roles of GSK3α and GSK3β phosphorylation in platelet function and thrombosis[J]. Int J Mol Sci,2021,22(19):10656.
[27]O'BRIEN K A,KENT GARTNER T,HAY N,et al. ADP - stimulated activation of Akt during integrin outside - in signaling promotes platelet spreading by inhibiting glycogen synthase kinase - 3β[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2012,32(9):2232 - 2240.
[28]CHEN Z S,LI T L,KAREEM K,et al. The role of PI3K/Akt signaling pathway in non - physiological shear stress - induced platelet activation[J]. Artif Organs,2019,43(9):897 - 908.
[29]KHEZRI M R,VARZANDEH R,GHASEMNEJAD - BERENJI M. The probable role and therapeutic potential of the PI3K/AKT signaling pathway in SARS - CoV - 2 induced coagulopathy[J]. Cell Mol Biol Lett,2022,27(1):6.
[30]WANG Y P,ZHENG J D,XIAO X Y,et al. Ginsenoside rd attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting inflammation and apoptosis through PI3K/Akt signaling pathway[J]. Am J Chin Med,2024,52(2):433 - 451.
[31]HU S N,WU Y L,ZHAO B,et al. Panax notoginseng saponins protect cerebral microvascular endothelial cells against oxygen - glucose deprivation/reperfusion - induced barrier dysfunction via activation of PI3K/Akt/Nrf2 antioxidant signaling pathway[J]. Molecules,2018,23(11):2781.
[32]MULLER M C,MEIJERS J C M,VROOM M B,et al. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis:a systematic review[J]. Crit Care,2014,18(1):R30.

收稿日期:2024 - 11 - 21
作者简介:陈宇(2000 -),男,四川泸州人,硕士研究生,研究方向:中西医结合治疗普外科疾病。
通信作者:徐佳(1976 -),北京人,医学博士,主任医师,副教授,研究方向:中西医结合治疗普外科疾病。E - mail:Xujia19760130@163.com

编辑:刘凯歌