

小檗碱对糖尿病模型大鼠血清血小板糖蛋白 GPVI 表达的影响

陆雷¹, 张怀勤², 陈国荣², 吴建波², 陈智理¹, 周雪英¹, 姜昌浩¹

(1. 浙江省义乌市中心医院, 322000; 2. 温州医学院第一附属医院, 325000)

[摘要] 目的 探讨血小板糖蛋白 VI 在糖尿病模型大鼠的表达情况, 以及小檗碱对其影响。方法 将雄性 SD 大鼠 40 只随机分成正常对照组、高脂组、糖尿病模型组和小檗碱治疗组, 每组 10 只。正常组大鼠喂以普通饲料, 其余 30 只大鼠喂养高脂饲料。8 周后糖尿病模型组和小檗碱治疗组采用 STZ 制作糖尿病模型, 正常组和高脂组给予相同剂量 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 值为 4.5 的柠檬酸缓冲液腹腔注射。两周后定期剪尾测血糖, 血糖 $> 7.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 者表示糖尿病模型制作成功。继续原饮食, 小檗碱治疗组待模型制作成功后灌胃给予 $20.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 小檗碱, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。其余 3 组灌胃给予等体积纯化水, 持续 8 周后处死各组大鼠, 观察各预定指标。结果 流式细胞仪测定结果: 糖尿病模型组大鼠 GPVI、GP II b、CD40L 表达均高于正常组 (均 $P < 0.05$)。以上指标小檗碱治疗组与糖尿病模型组差异无显著性。GPVI 与血糖值、CD41、CD40L 均呈正相关。扫描电子显微镜显示, 糖尿病模型组大鼠主动脉内皮正常纹理消失, 粘附较多血小板, 较多网状纤维和胶原暴露。小檗碱治疗组主动脉内皮有较多血小板聚集, 粘附在内皮上, 与内皮粘连紧密。结论 糖尿病大鼠血小板 GPVI 表达明显增加, 血小板活化, 血小板在动脉内皮的粘附增加诱导内皮炎症加剧和血栓形成。GPVI 与糖尿病组大鼠的动脉粥样硬化和血栓形成有关。小檗碱治疗能抑制 GPVI 的表达, 但差异无显著性, 可能与样本较小有关。

[关键词] 小檗碱; GPVI; CD40L; 糖尿病; 动脉粥样硬化; 血小板; 血管内皮

[中图分类号] R286; R965

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2007)11-1287-05

Effects of Berberine on the Expression of GPVI on Platelets of Diabetes Rats

LU Lei¹, ZHANG Huai-qin², CHEN Guo-rong², WU Jian-bo², CHEN Zhi-li¹, ZHOU Xue-ying¹, JIANG Chang-hao¹ (1. Yiwu City Center Hospital, Zhejiang Province, Yiwu 322000, China; 2. The First Hospital Affiliated with the Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT Objective To investigate the expression of GPVI on platelets of diabetes rats induced by STZ and effects of berberine on it. **Methods** Forty male rats were randomly divided into four groups: control group, fat enriched diet group, diabetes group, diabetes rats treated with berberine, 10 rats in each group. Except for normal rats, 30 others were fed with lipid enriched food. After fed with fat enriched diet for 8 weeks, the rats in diabetic groups were i. p. injected with 1% STZ, others were i. p. injected with the same volume of citrate buffer vehicles. After successful establishment of diabetic model two weeks later, one group of rats was treated with berberine at the dose of $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ for 8 weeks. **Results** Expression of GPVI (CD32), GP II b (CD41), CD40L (CD154) was higher in the diabetic group than that in normal control group ($P < 0.05$ for all) by FCM analysis. And no significant difference in all above expressions was found between berberine therapeutic and diabetic model group. There was a direct correlation between GPVI and blood glucose, CD41, CD40L. Scanning electron microscope indicated that the normal lamination of artery endothelial cell disappeared in diabetic models, accompanied with many platelets adhesion, and much netted fibres and collagen exposed. In the berberine treatment group, a few platelets aggregated to artery endothelials. **Conclusion** The expression of GPVI on platelets of diabetic rats was significantly increased and platelets were activated, which induced inflammation of endothelial tissues and the formation of thrombus. GPVI may contribute to atherosclerosis and thrombus formation in diabetic rats. Berberine could inhibit the expression of GPVI, but couldn't reach to the statistics difference, which may be due to small samples.

KEY WORDS Berberine; GPVI; CD40L; Diabetes; Atherosclerosis; Platelets; Thrombus

血小板糖蛋白 VI (Glycoprotein VI, GPVI) 是近年来发现的血小板膜糖蛋白, 1989 年首次发现 GPVI 缺乏患者^[1]。GPVI 主要参与血小板与胶原黏附后的信

号转导和血小板活化过程, 最近研究表明 GPVI 是最主要的胶原粘附受体。

CD40 和 CD40L 系统^[2]在动脉粥样硬化炎症信号传导过程中起着重要作用。阻断 CD40 及其配体的相互作用后, 可减少鼠粥样斑块的形成及进展, 并能稳定动脉粥样斑块^[3]。SAIKKU 等^[4]提出抗菌药物治疗 ACS 有效果, 随后大型临床试验 ROXIS、CLARIFY、

[收稿日期] 2007-01-25

[作者简介] 陆雷 (1970 -), 男, 浙江金华人, 主治医师, 硕士, 主要从事心血管内科临床与基础研究。电话: 0579 - 85209860, E-mail: LULEI - jh@126.com。

AZACS^[5]分别开展了大环内酯类抗菌药物罗红霉素、克拉霉素、阿奇霉素治疗 ACS 的相关研究,结论不一。

盐酸小檗碱是从植物黄连根茎中提取的一种季胺类化合物,临床和实验研究证实,小檗碱不仅可以防止感染,还能够显著增强糖尿病大鼠的胰岛素敏感性^[6],能降低血小板 TXA₂ 的分泌和细胞内 Ca²⁺ 而抑制血小板活化,对心血管具有保护作用^[7]。小檗碱对 GPVI 有无影响,能否抑制炎症递质 CD40L 从而抑制动脉内皮炎症,笔者尚未见报道。

本研究观察糖尿病大鼠糖脂代谢紊乱时在高糖和高脂状态下血小板胶原受体 GPVI 的表达,并探讨盐酸小檗碱对血小板粘附及内皮炎症的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康 SD 清洁级大鼠 40 只(温州医学院实验动物中心提供),体重 120~160 g,日龄 28~42 d,雄性,4~6 只装一笼,室温 15~25 ℃,光照昼夜节律控制,自由饮水。

1.2 药品试剂与仪器 STZ(美国 Sigma 公司),小檗碱(纯度 99.8%,东北制药总厂生产);GPVI(CD32-B) Integrin IIb (CD41) CD40L (CD154) (Santa cruz biotechnolgy. USA; Affinity purified Atibody fluorescent Labeled (美国 KPL 公司);微量血糖测定仪(美国强生公司);FACSort 流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司);S-3500N 型扫描电镜(日本 HITACHI);微量进样器(法国 Glison 公司)。

1.3 分组及模型的制作 将雄性 SD 大鼠适应性饲养一周后按体重随机分为 4 组,每组 10 只:即正常组、高脂组、糖尿病模型组和小檗碱治疗组。每只大鼠按 20 g·d⁻¹ 饲喂,自由饮水。实验期间正常组大鼠喂以普通饲料,其余 30 只大鼠喂养高脂饲料(配方:10% 猪油,2.5% 胆固醇,20% 蔗糖,67.5% 常规饲料)。喂养 8 周后糖尿病模型组和小檗碱治疗组造模:用纯化水、枸橼酸、磷酸二氢钠,配制成 pH 值为 4.5 的 0.1 mol·L⁻¹ 枸橼酸缓冲液,称取一定量 STZ 溶解于枸橼酸缓冲液中,配制成 1% STZ 溶液,在冰浴中配制,即配即用。造模大鼠腹腔内注射 STZ(25 mg·kg⁻¹),正常组和高脂组给予相同剂量 0.1 mol·L⁻¹ pH 值为 4.5 的柠檬酸缓冲液腹腔注射,两周后定期剪尾测血糖,血糖 >7.8 mmol·L⁻¹ 提示糖尿病模型制作成功^[8]。继续原来饮食,小檗碱治疗组在造模成功后用纯化水配成小檗碱浓度为 20.25 g·L⁻¹ 的溶液,大鼠按 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 体重剂量灌服,上午 8:30~9:30 灌胃 1 次,其余 3 组灌服等体积纯化水,持续药物干预 8 周。股动脉处死各组大鼠,观察各预定指标。

1.4 实验方法 各组大鼠切开股动脉放血,采血管加入 38 g·L⁻¹ 枸橼酸钠抗凝,采血 2 mL,800 r·min⁻¹ 离心 5 min。取上清液,在显微镜下计数血小板,用 PBS 调整血小板计数到 2×10⁸。Falcon 管添加一抗兔抗鼠 CD32,CD154,CD41 各 5 μL,加入血小板 PRP 各 5 μL。室温暗处孵育 15~20 min。1 000 r·min⁻¹ 离心,PBS 洗涤 1 次。各管中各加入荧光素标记二抗羊抗兔抗体 IG5 μL。室温避光孵育 30 min。再次 1 000 r·min⁻¹ 离心,PBS 洗涤一次。1% 多聚甲醛(2~8 ℃)固定,24 h 内上机获取各管的试验数据。

1.5 观察指标 GPVI (CD32), GP II b (CD41), CD40L 阳性血小板百分率和荧光强度统计结果。扫描电镜观察大鼠胸主动脉血小板黏附情况。

1.6 统计学方法 采用 SPSS10.0 软件包分析。实验数据采用均数±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),方差齐性者两两比较采用 LSD 法,方差不齐者进行 Game-Howell 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。两变量的相关分析采用 Bivariate 过程的 Pearson 等级相关法。

2 结果

2.1 各组大鼠症状体征比较 糖尿病模型组大鼠出现多尿、消瘦,2 只大鼠出现白内障,2 只大鼠因高血糖死亡。小檗碱治疗组大鼠消瘦、毛发差、腹胀、便秘,1 只大鼠出现白内障,2 只大鼠死亡。高脂组大鼠体态硕大肥胖,体重明显增加。正常组无上述症状。

2.2 大鼠血糖、血脂与体重测定结果 高脂组大鼠体重显著高于正常对照组与糖尿病模型组,血三酰甘油显著高于正常对照组,血糖及血脂与正常对照组比较差异无显著性;糖尿病模型组大鼠血糖、三酰甘油显著高于正常对照组与高脂组,但体重与正常对照组差异无显著性(均 $P < 0.05$),高脂组大鼠体重明显高于正常组($P < 0.05$)。小檗碱治疗组大鼠血糖、三酰甘油、体重与糖尿病模型组比较均差异无显著性,详见表 1。高脂组大鼠三酰甘油均 >1.7 mmol·L⁻¹,糖尿病模型组大鼠有多尿、消瘦、血脂 >1.7 mmol·L⁻¹,血糖均大于 7.8 mmol·L⁻¹,模型制作成功。

2.3 GPVI(CD32) GP II b(CD41), CD40L(CD154) 阳性血小板计数结果 结果详见表 2。

2.4 流式细胞仪荧光强度分析 各组血小板表面 GPVI(CD32) 的荧光强度见图 1,各组血小板表面 GP II b (CD41) 的荧光强度见图 2,各组血小板表面 CD40L 的荧光强度见图 3。

2.5 相关性分析 各组大鼠血小板表达 GPVI 与血糖呈显著正相关($r = 0.65, P < 0.01$),见图 4。各组大

表 1 4 组大鼠各观测指标测定结果

$\bar{x} \pm s$

组别	大鼠数/ 只	血糖/ (mmol · L ⁻¹)	三酰甘油/ (mmol · L ⁻¹)	胆固醇/ (mmol · L ⁻¹)	体重/ g
小檗碱治疗组	10	18.78 ± 1.97	9.56 ± 6.54	2.34 ± 0.65	435.32 ± 45.11
糖尿病模型组	10	25.69 ± 2.27	10.94 ± 5.54	2.64 ± 0.64	410.21 ± 36.21
高脂组	10	3.29 ± 0.48	2.86 ± 0.21	1.45 ± 0.28	558.33 ± 45.12
正常组	10	3.05 ± 0.69	1.15 ± 0.26	1.48 ± 0.30	425.64 ± 48.13

表 2 各组大鼠 GPVI, GP II b 与 CD40L 测定结果

$\bar{x} \pm s$

组别	大鼠数/只	GPVI	GP II b	CD40L
小檗碱治疗组	8	21.49 ± 10.61	23.17 ± 18.99	20.02 ± 8.84
糖尿病模型组	8	28.73 ± 13.95	45.52 ± 20.19	26.59 ± 10.24
高脂组	10	5.22 ± 2.41	12.43 ± 5.72	17.49 ± 11.78
正常组	10	2.82 ± 1.5	86.18 ± 4.45	5.88 ± 4.13

鼠血小板表达 GP II b 与 GPVI 呈显著正相关 ($r = 0.80, P < 0.01$), 见图 5。各组大鼠血小板表达 GPVI 与 CD₄₀L 呈显著正相关 ($r = 0.84, P < 0.01$), 见图 6。

2.6 扫描电子显微镜观察结果 正常大鼠主动脉内皮呈条索状, 排列整齐, 无血小板粘附, 见图 7。高脂组大鼠主动脉内皮上血小板少量粘附, 见图 8。糖尿病模型组大鼠主动脉内皮结构紊乱, 血小板粘附聚集变形, 网状纤维暴露, 见图 9。治疗组大鼠主动脉内皮结构紊乱, 较多血小板粘附, 见图 10。

3 讨论

GPVI 是血小板胶原黏附受体, 为 I 型单链跨膜糖蛋白, 属免疫球蛋白超家族。STEFFEN 等^[9]的研究表明, 在大鼠的颈动脉损伤模型上, GPVI 基因敲除的大鼠损伤的颈动脉内皮上显示血小板基本没有粘附。由于 GPVI 是直接而牢固的粘附在内皮胶原上^[10]。KENDRA 等^[11]用 GPVI 表达水平不同的 RBL-2H3 细胞观测了剪切力下 GPVI 对 I 型胶原的粘附情况, 发现 GPVI 粘附与细胞表达 GPVI 密度成正比。GPVI 表达的强度是血小板粘附的关键^[12]。糖尿病大鼠是否有更多的血小板 GPVI 表达增加, 通过实验, 笔者发现糖尿病大鼠 GPVI (CD32) 的表达较正常

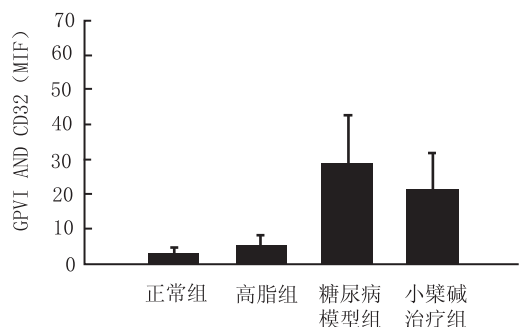


图 1 4 组大鼠血小板 GPVI (CD32) 表达情况

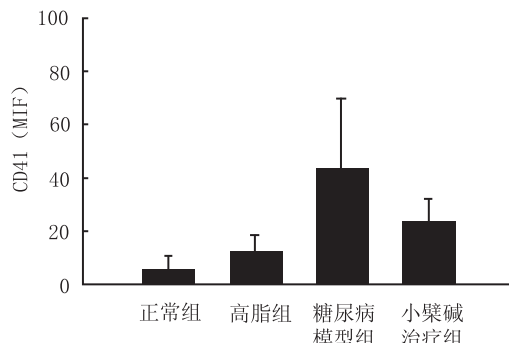


图 2 4 组大鼠血小板 GP II b 的表达情况

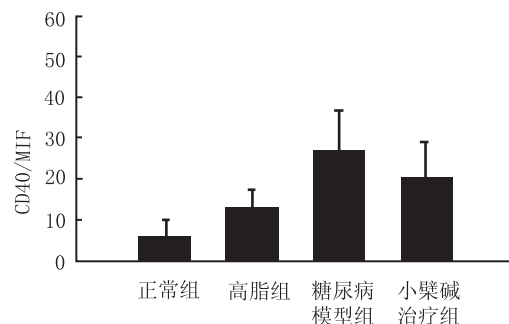


图 3 4 组大鼠血小板 CD40L 的表达情况

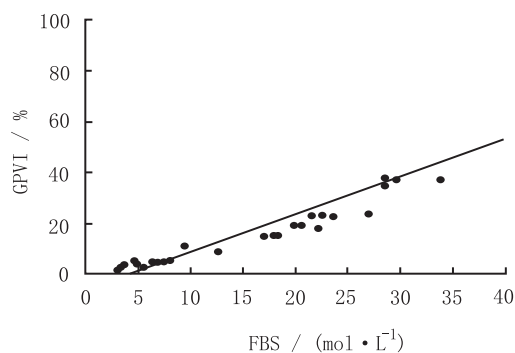


图 4 大鼠血糖 FBS 和胶原粘附受体 GPVI (CD32) 的血小板百分数相关性分析 ($r = 0.65$)

对照组有明显的增加。扫描电镜观察证实血小板更多的粘附在大鼠主动脉血管内皮上, 并观察到糖尿病大鼠由于主动脉内皮失去正常的结构, 有大量的基质胶原纤维暴露, 是诱导 GPVI 表达的重要原因。GPVI 不仅介导了血小板的粘附, 而且介导了血小板的信号传导^[13], 活化的血小板会最终引发凝血系统激活, 纤维蛋白聚集, 使糖尿病大鼠发生血栓的机会增加。

本实验中, 血糖与 GPVI 呈正相关, 血糖越高血小

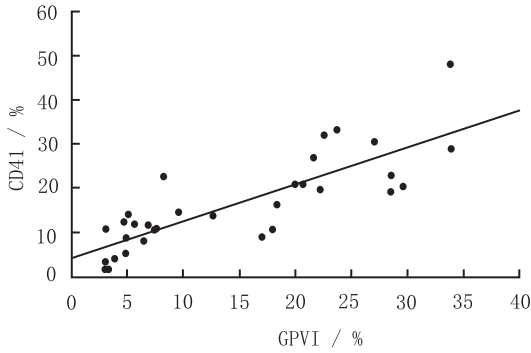


图5 大鼠 CD41 和 GPVI 的血小板百分数相关性分析 ($r=0.80$)

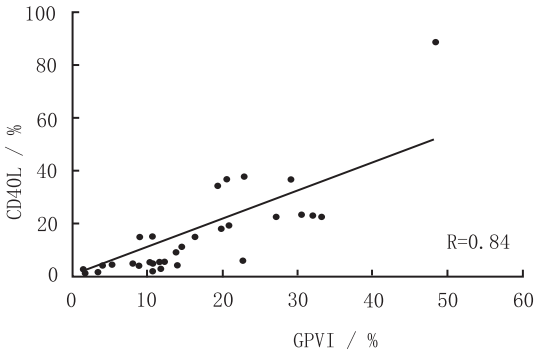


图6 大鼠 CD40L 和胶原粘附受体 GPVI (CD₃₂) 的血小板百分数相关性分析

图7 正常组大鼠胸主动脉内皮显微观察结果 ($\times 1\ 000$)

图8 高脂组大鼠胸主动脉内皮和血小板显微观察结果 ($\times 1\ 000$)

板 GPVI 表达越强。近来研究表明,晚期糖基化产物 AGEs^[14] 改变血管内皮细胞的形态和细胞骨架,使内皮细胞之间连接蛋白破坏,使基质胶原纤维暴露^[15],诱导血小板 GPVI 的表达。本实验中扫描电镜结果证实了上述观点。因此,GPVI 的表达强弱也间接的反映了在高脂高糖条件下内皮损伤的严重程度。单纯的高脂饮食造成的高脂组有 GPVI 的表达,但与正常组比较差

图9 糖尿病模型组大鼠胸主动脉内皮显微观察结果 ($\times 1\ 000$)

图10 小檗碱治疗组大鼠胸主动脉内皮显微观察结果 ($\times 1\ 000$)

异无显著性,说明单纯高脂因素对血小板血栓始动事件影响小。

研究表明,GPVI 与血小板活化关系密切。GP II b/III a 是血小板活化和聚集的最后共同通路。活化标记 GP II b (CD41) 与 GPVI 密切相关,糖尿病模型组大鼠 GP II b 明显增加,表明糖尿病模型组大鼠与正常组比较血小板活化明显。

目前已知 CD40L 与血栓和内皮炎症^[16] 密切相关,血小板 CD40L 启动了内皮炎症反应^[17],导致了基质的降解和斑块的破裂。使破裂斑块上容易快速形成血栓。而阻断 CD40 和 CD40L 的相互作用可使间质胶原含量增加,使斑块趋向稳定^[18]。在糖尿病模型组大鼠 CD40L 明显升高,血小板 GPVI 与 CD40L 正相关。说明在糖尿病大鼠增加的血小板 GPVI 可能促发了 CD40L 的增加,提示在血小板较多粘附在血管内皮的时候,CD40L 更多的表达并脱落在内皮上介导更多的内皮炎症反应。可能是斑块不稳定的原因。

研究发现尽管小檗碱一定程度抑制了血小板 GPVI 的表达,但与糖尿病模型组相比差异无显著性,可能与样本数量过小有关。同样小檗碱治疗组与糖尿病组比较对 CD40L 无明显抑制作用,提示小檗碱对糖尿病大鼠血管内皮无明显抑制效果。扫描电镜显示治疗组血管内皮炎症改善不明显。

通过上述实验证明大鼠糖尿病血小板糖蛋白 GPVI 表达增加,并且相关的血小板活化标记 GP II b 表达增加,相关炎症指标 CD40L 表达亦增加,提示 GPVI 在糖尿病血管的不稳定斑块发病机制上有重要的地

位,抑制血小板 GPVI 也抑制 CD40L 表达,它是阻断和延缓动脉粥样硬化的另一条途径。针对 GPVI 的抗血小板粘附相关药物的筛选是糖尿病动脉粥样硬化新的治疗方向。

[参考文献]

- [1] MOROI M, JUNG S M, OKUMA M, Shinmyozu K: A patient with platelets deficient in glycoprotein VI that lack both collagen-induced aggregation and adhesion [J]. *J Clin Invest*, 1989, 84: 1440.
- [2] LEE Y, LEE W H, LEE S C, et al. CD40L activation in circulating platelets in patients with acute coronary syndrome [J]. *Cardiology*, 1999, 92: 11 - 16.
- [3] LUTGENS E, CLEUTJENS K B, HEENEMAN S, et al. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 97: 7464 - 7469.
- [4] SAIKKU P. Epidemiologic association of Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: the initial serologic observation and more [J]. *J Infect Dis*, 2000, 3: S411 - 413.
- [5] SERCK B. Effect of short-term treatment with azithromycin on recurrent ischaemic events in patients with acute coronary syndrome in the azithromycin in acute coronary syndrome (AZACS) trial: a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2003, 361(9360): 809 - 813.
- [6] 高从容, 张家庆, 黄庆玲. 小檗碱增加胰岛素抵抗大鼠模型胰岛素敏感性的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(3): 16.
- [7] HUANG C G, CHU Z L. Effect of berberine on arachidonic acid metabolism in rabbit platelets and endothelial cells [J]. *Thromb Res*, 2002, 106(4-5): 223 - 227.
- [8] 杨架林, 李 果. 长期高脂饮食加小剂量链脲佐霉素建立人类普通 2 型糖尿病大鼠模型的研究 [J]. 中国实验

动物学报, 2003, 11(3): 138.

- [9] STEFFEN M A. Crucial role of glycoprotein VI for platelet recruitment to the injured arterial wall in vivo [J]. *J Exp Med*, 2003, 197(1): 41 - 49.
- [10] MARK L. Kahn Platelet collagen receptors play molecular ping-pong [J]. *Blood*, 2004, 103: 4 - 5.
- [11] KENDRA L, SARRATT A. Platelet receptor glycoprotein VI-mediated adhesion to type I collagen under hydrodynamic flow [J]. *Biomedical Engineering*, 2004, 32: 970 - 976.
- [12] BEST D, SENIS Y A, JARVIS G E, et al. GPVI levels in platelets: relationship to platelet function at high shear [J]. *Blood*, 2003, 102: 2811 - 2818.
- [13] HONG C, DARREN L, YING L, et al. The platelet receptor gPVI mediates both adhesion and signaling responses to collagen in a receptor density-dependent fashion [J]. *J Bio Chem*, 2002, 277(4): 3011 - 3019.
- [14] BROWNLEE V H. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging [J]. *Annu Rev Med*, 1995, 46: 223 - 234.
- [15] GARCIA F, DELA C H, ALAVA I, et al. Diabetes mellitus as a hypercoagulable state: its relationship with fibrin fragments and vascular damage [J]. *Thromb Res*, 1987, 47: 533 - 540.
- [16] ROSS A. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cell in vitro [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71: 1207 - 1210.
- [17] ANDRE P, PRASAD K S, DENIS C V, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin-dependent mechanism [J]. *Nat Med*, 2002, 8: 247 - 252.
- [18] LEE R T, LIBBY P. The unstable atheroma. *Arterioscler [J]. Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 1859 - 1867.

绞股蓝总苷治疗早期糖尿病肾病的临床研究

张 永, 张建鄂, 吴平勇, 张庆红

(鄖阳医学院附属太和医院肾内科, 湖北十堰 442000)

[摘要] **目的** 比较绞股蓝总苷与缬沙坦对早期糖尿病肾病的疗效, 以及对患者血脂、蛋白尿和肾功能的影响。
方法 将 86 例早期糖尿病肾病患者随机分为绞股蓝总苷治疗组 32 例, 缬沙坦治疗组 28 例和对照组 26 例。所有患者均继续使用原降血糖、降血压药物治疗。绞股蓝总苷治疗组给予绞股蓝总苷片口服, 每次 60 mg, tid; 缬沙坦治疗组给予缬沙坦口服, 每次 80 mg, qd; 对照组不给予其他治疗。疗程均为 24 周。分别于治疗开始后第 0, 4, 8, 12, 24 周收集血、尿标本, 检测治疗前后尿微量清蛋白排泄率(UAER)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(Ch)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)、肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)和尿转化生长因子 β (TGF- β)。结果 治疗 4 周后, 绞股蓝总苷治疗组和缬沙坦治疗组 UAER 出现下降趋势, 随治疗时间延长 UAER 持续降低。治疗 24 周后, 绞股蓝总苷治疗组和缬沙坦治疗组 UAER、SCr、BUN、UA、尿 TGF- β 均明显降低, 与治疗前比较均差异有极显著性(均 $P < 0.01$)。治疗 24 周后, 绞