

保护作用研究开辟了方向。

综上所述,研究结果表明,孕期被动吸烟后可使胎鼠身长、体重发育受限,脑组织超微结构改变,用川芎嗪治疗后,可显著促进胎鼠的宫内发育,而且对胎鼠脑组织超微结构具有保护作用,为其临床广泛应用提供了一定理论依据。

[参考文献]

- [1] 尤昭玲,王慧颖. 不均称型胎儿宫内生长迟缓动物模型的建立及其母鼠胎盘一氧化氮等含量的变化[J]. 湖南中医学院学报,1999,19(4):27-29.
- [2] 李朝平,武权生,华红,等. 被动吸烟对孕期生殖结局影响的研究[J]. 中国妇幼保健,2004,19(14):28-30.
- [3] 许建平,马庭元,闻良珍,等. 川芎嗪治疗胎儿宫内生长迟缓改善子宫胎盘胎儿血液循环的研究[J]. 同济医科大学学报,1998,27(4):300-302.
- [4] Roy T S, Seidler F J, Slotkin T A, et al. Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure in hippocampus and somatosensory cortex[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300(1): 124-133.

- [5] 余海国,赵燕,汤云珍,等. 川芎嗪对新生鼠缺氧缺血脑损伤的保护作用[J]. 实用儿科临床杂志,2002,4(4):313-314.
- [6] Liao S L, Kao T K, Chen W Y, et al. Tetramethylpyrazine reduces ischemic brain injury in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2004,372(1-2):40-45.
- [7] Zhang Z H, Wei T, Hou J W, et al. Iron-induced oxidative damage and apoptosis in cerebellar granule cells: attenuation by tetramethylpyrazine and ferulic acid [J]. *Europ J Pharma*, 2003,467(1-3):41-47.
- [8] Shih Y H, Wu S L, Chiou W F, et al. Protective effects of tetramethylpyrazine on kainite-induced excitotoxicity in hippocampal culture [J]. *Neuro Report*, 2002,13(4):515-519.
- [9] Zhang C, Wang S Z, Zuo P P, et al. Protective effect of Tetramethylpyrazine on learning and memory functioning in d-galactose-lesioned mice [J]. *Chin Med Sci J*, 2004,19(3):180-184.

银杏叶提取物对急性缺血-再灌注损伤小鼠肾脏的保护作用研究*

贾孟良,谢守霞,张万帆,庞春平,杨红英,杨吉乡,李江林

(广东省深圳市人民医院、暨南大学第二临床医学院药剂科,518020)

[摘要] 目的 观察银杏叶提取物对急性缺血-再灌注损伤小鼠肾脏的保护作用。方法 取昆明种小鼠 30 只,随机分为假手术组、模型组和给药组各 10 只。给药组小鼠腹腔注射银杏叶提取物,0.1 mg·g⁻¹;模型组与假手术组均腹腔注射等量 0.9% 氯化钠注射液。30 min 后将所有小鼠麻醉,切除给药组与模型组小鼠右侧肾脏,游离左侧肾脏,夹闭左侧肾蒂 45 min,然后去除血管夹,再灌注 24 h;将假手术组小鼠麻醉后只切除右肾,缝合切口。24 h 后处死小鼠,测定血清肌酐(Cr)和尿素氮(BUN)并观察肾脏组织的病理学改变。结果 模型组小鼠血清 Cr[(49.90±12.02) μmol·L⁻¹]与 BUN[(26.36±7.41) mmol·L⁻¹]均明显高于假手术组[分别为(21.40±2.67) μmol·L⁻¹和(7.20±0.84) mmol·L⁻¹](均 P<0.01);给药组小鼠血清 Cr[(30.20±6.30) μmol·L⁻¹]与 BUN[(15.37±3.77) mmol·L⁻¹]均较模型组明显降低(均 P<0.01),与假手术组相比,均差异无显著性。模型组小鼠肾小管上皮细胞缺血性改变明显,给药组小鼠肾小管上皮细胞缺血性改变较模型组明显减轻。结论 银杏叶提取物对急性肾缺血-再灌注损伤小鼠肾脏有明显的保护作用。

[关键词] 银杏叶提取物;缺血-再灌注损伤;肾脏

[中图分类号] R286;R965

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2006)08-0737-03

An Experimental Study of the Protective Effects of Ginkgo Bilobae Extract on the Mouse with a Model of Acute Ischemia-Reperfusion Injury of the Kidney

JIA Meng-liang, XIE Shou-xia, ZHANG Wan-fan, PANG Chun-ping, YANG Hong-ying, YANG Ji-xiang, LI Jiang-lin (Department of Pharmacy, the People's Hospital of Shenzhen, the Second College of Clinical Medicine Jīnan University, Shenzhen 518020, China)

ABSTRACT Objective To study the protective effects of Ginkgo bilobae extract (EGb) on the mouse with a model of acute ischemia-reperfusion injury of the kidney. **Methods** 30 mice of the Kunming strain were randomly divided into 3 equal

groups: the sham operation group, ischemia-reperfusion model group, and trial group. Mice of the trial group were given each an intraperitoneal injection of $0.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of EGb, while those of the model group and sham operation group were given each an intraperitoneal injection of equivalent amount of 0.9% sodium chloride solution. 30 min later, mice of the 3 groups were subjected to chloral hydrate anesthesia. The right kidney of each of the mice of the trial group and model group was removed. The left kidney was then exposed and the renal pedicle was clamped for 45 min followed by declamping and reperfusion for 24 h. Mice of the sham operation group were submitted only to right side nephrectomy followed by suturing of the surgical incision. 24 h after the operation, mice of all 3 groups were sacrificed. Serum creatinine(Cr) and blood urea nitrogen(BUN) were determined and the left kidney was subjected to histopathological examination. **Results** The serum Cr [$(49.90 \pm 12.02) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] and BUN [$(26.36 \pm 7.41) \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$] in mice of the model group were significantly higher than those [$(21.40 \pm 2.67) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] and [$(7.20 \pm 0.84) \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$] in mice of the sham operation group, respectively ($P < 0.01$, $P < 0.01$). In contrast, the serum Cr [$(30.20 \pm 6.30) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] and BUN [$(15.37 \pm 3.77) \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$] in mice of the trial group were significantly lower than those in mice of the model group, respectively ($P < 0.01$, $P < 0.01$). Although these values were higher in mice of the trial group than those in mice of the sham operation group, the differences, however, were statistically insignificant. Striking ischemic changes in the renal tubular epithelial cells in mice of the model group were demonstrated while these changes were trivial in the renal tubular epithelial cells in mice of the trial group. **Conclusion** EGb was shown to exert dramatic protective effects on the mouse with a model of acute ischemia-reperfusion injury of the kidney.

KEY WORDS Ginkgo biloba extract (EGb); Ischemia-reperfusion injury; Kidney

创伤、休克、败血症、产后大出血及肾移植等大手术后急性肾脏缺血较常见,肾缺血-再灌注过程中会发生肾小管缺血、损伤、坏死,从而损伤肾小管的结构和功能^[1,2]。目前尚无理想的药物能防治肾脏急性缺血-再灌注损伤,临床多给予营养支持、透析等治疗,以等待肾功能恢复。为寻找抗肾缺血-再灌注损伤药物,笔者先后观察了银杏叶提取物(ginkgo biloba extract, EGb)对大鼠肾脏缺血-再灌注损伤的保护作用^[3,4]。为进一步探讨EGb对肾脏缺血-再灌注损伤的保护作用,笔者在本实验中建立小鼠肾缺血-再灌注损伤模型,观察EGb对小鼠肾缺血-再灌注损伤所致血清肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)和肾脏组织病理改变的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 健康雄性昆明种小鼠,体重 18 ~ 22 g,由广东省医学实验动物中心提供(动物合格证号:2004-A087),实验前常规饲养 1 周。EGb(商品名:金钠多注射液,德国威玛舒培大药厂出品,批号:99310295,规格:每支 5 mL,含有银杏叶提取物 17.5 mg,其中银杏黄酮苷 4.2 mg)。

1.2 动物模型的制备与分组 取小鼠 30 只,随机分为假手术组、模型组和给药组各 10 只。给药组腹腔注射 EGb, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;模型组与假手术组均腹腔注射等量 0.9% 氯化钠注射液。30 min 后均腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉 ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),行腹正中切口,切除给

药组与模型组小鼠右侧肾脏,游离左侧肾脏,用无创血管夹夹闭左侧肾蒂 45 min,然后去除血管夹,缝合切口,再灌注 24 h;假手术组麻醉后只切除右肾,缝合切口。3 组均在 24 h 后取血和肾组织。

1.3 观察指标与方法 肾脏病理检查:将肾组织用 10% 甲醛固定 24 h,酒精脱水,石蜡包埋,切片厚 4 μm ,行苏木精-伊红(HE)染色。血清 Cr 值和 BUN 值的测定:将小鼠断头处死,取血,离心后取血清,在 COBAS 全自动生化分析仪(罗氏公司,型号:INTEGRA 400)上测定 Cr 值和 BUN 值。

1.4 统计学方法 实验数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 EGb 对肾缺血-再灌注损伤小鼠血清 Cr 和 BUN 的影响 与假手术组比较,模型组小鼠血清 Cr 和 BUN 值明显增高(均 $P < 0.01$);与模型组相比,给药组小鼠血清 Cr 和 BUN 值明显降低(均 $P < 0.01$)。具体结果见表 1。

表 1 3 组小鼠血清 Cr 与 BUN 测定结果 $\bar{x} \pm s$

| 组别 | 小鼠数 | 血清 Cr/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) | 血清 BUN/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) |
|------|-----|---|--|
| 给药组 | 10 | $30.20 \pm 6.30^{*1}$ | $15.37 \pm 3.77^{*1}$ |
| 模型组 | 10 | $49.90 \pm 12.02^{*2}$ | $26.36 \pm 7.41^{*2}$ |
| 假手术组 | 10 | 21.40 ± 2.67 | 7.20 ± 0.84 |

与模型组相比, $*1P < 0.01$;与假手术组相比, $*2P < 0.01$

2.2 病理检查结果 各组肾组织病理改变如下:假手术组小鼠的肾小球、肾小管结构正常;模型组小鼠肾皮质较苍白,肾髓质呈暗红色,光镜下可见肾小管上皮细胞肿胀,出现不同程度的变性、坏死,部分肾小管细胞出现混浊肿胀,管腔内可见蛋白管型及脱落的上皮细胞,间质充血水肿,炎性细胞浸润(图 1);给药组小鼠

[收稿日期] 2005-12-22 [修回日期] 2006-03-18

[基金项目] * 深圳市科技计划项目(项目编号:2003-04029)

[作者简介] 贾孟良(1975 -),男,广东深圳人,主管药师,在读硕士,主要从事中药药理学研究。电话:0755 - 25533018 - 2662, E-mail: andyjustin@126.com。

肾脏外观与假手术组相似,光镜下仅见部分肾小管细胞轻度肿胀,肾缺血性改变较模型组明显减轻(图 2)。

图 1 模型组小鼠肾脏病理检验结果(HE × 100)

图 2 给药组小鼠肾脏病理检验结果(HE × 100)

3 讨论

长时间缺血可造成肾脏不可逆性损伤,尽快恢复血流灌注是治疗肾脏缺血的基本要求,但再灌注可能进一步加重肾脏细胞的损伤。缺血-再灌注导致的组织细胞损伤主要与活性氧自由基的产生、膜脂质过氧化、细胞内的钙超载、能量的消耗、细胞骨架的紊乱等密切相关。在肾缺血-再灌注损伤过程中,肾脏在黄嘌呤氧化酶催化下,由次黄嘌呤生成尿酸的过程中,产生大量的活性氧自由基,可损伤组织。循环中的中性粒细胞与肾血管内皮细胞的黏附和随后的中性粒细胞激活与浸润,可降低肾小球滤过率和肾小管的重吸收,加剧肾缺血-再灌注损伤。BUN 是体内蛋白质氮代谢的终产物,Cr 是肌酸的代谢终产物,二者主要通过肾脏排泄,血 BUN 和 Cr 的含量可以用来评价肾功能的变化。

EGb 的药用成分主要是黄酮苷类物质和银杏内酯

等,具有广泛的药理作用。有学者通过实验观察到 EGb 能阻止脑水肿动物脑细胞缺血造成的细胞膜离子转运紊乱,从而防止细胞内 Ca^{2+} 超载与脑细胞损伤。EGb 可改善大鼠失神经骨骼肌 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性^[5],增加缺血-再灌注后组织中的超氧化物歧化酶(SOD),降低缺血再灌注后组织中的丙二醛(MDA)^[6],减少心肌损伤引起的乳酸脱氢酶漏出,抑制细胞凋亡,能清除多种氧自由基,是一种广谱的自由基清除药,兼有 SOD 的作用,能分解超氧阴离子,并具有稳定细胞膜的作用。笔者在此前的实验中已发现 EGb 可通过抗氧化、减少 P 选择素表达及中性粒细胞浸润以及诱导肾组织中 HSP70 表达,减轻大鼠肾缺血-再灌注 1 h 对肾脏的损伤^[3,4]。

本实验结果表明,肾缺血 45 min 再灌注 24 h 后,小鼠血清 Cr 和 BUN 值明显增高;肾小管上皮细胞肿胀,出现不同程度的变性、坏死,部分肾小管细胞出现混浊肿胀,管腔内可见蛋白管型及脱落上皮细胞,间质充血水肿,炎性细胞浸润;应用 EGb 处理后可明显降低由肾脏缺血-再灌注损伤造成的血清 Cr 和 BUN 升高,肾缺血性病理改变明显减轻。表明 EGb 对急性缺血-再灌注损伤小鼠肾有一定的保护作用。

[参考文献]

- [1] Yokozawa T, Liu Z W, Dong E. A study of Ginsenoside Rd in a renal ischemia reperfusion model[J]. *Nephron*, 1998, 78(2): 201 - 202.
- [2] Nath K A, Norby S M. Reactive oxygen species and acute renal failure[J]. *Am J Med*, 2000, 109(8): 665 - 678.
- [3] 张万帆, 庞春平, 杨吉乡, 等. 银杏叶提取物对大鼠急性肾缺血损伤的实验研究[J]. *四川医学*, 2004, 25(8): 856 - 858.
- [4] 张万帆, 谢守霞, 杨吉乡, 等. 银杏叶提取物对大鼠肾脏缺血再灌注损伤热休克蛋白表达的影响[J]. *中华急诊医学杂志*, 2005, 14(3): 215 - 218.
- [5] 薛 锋, 李继峰, 顾玉东, 等. 银杏叶提取物 EGb761 对失神经骨骼肌 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响[J]. *中华外科杂志*, 2002, 18(2): 111 - 126.
- [6] 谢守霞, 张万帆, 李江林. 银杏叶提取物对大鼠肾缺血再灌注损伤保护作用的初步研究[J]. *广东药学*, 2003, 13(5): 35 - 37.