

3 讨论

本研究结果表明,龟板醇提物对大鼠 MSC 氧化损伤具有明显修复作用。 H_2O_2 加入 MSC 中后, MSC 细胞内抗氧化酶活性下降,过多的氧自由基不能被及时清除而堆积在细胞内,致使它们与细胞内的一些生物大分子,如蛋白质、核酸、脂质等发生反应,生成大量氧化物或过氧化物,造成 MSC 细胞损伤。同时 H_2O_2 通过其代谢产物羟自由基($\cdot OH$)使抗凋亡基因 bcl-2 表达下调,降低细胞抗氧化能力,从而导致细胞凋亡^[12]。而龟板醇提物则能修复 MSC 的这种氧化损伤,其修复能力随着质量浓度的增大而增强。为观察龟板醇提物对 MSC 氧化损伤的修复作用机制,本实验观察了龟板醇提物对在体动物肝脂质过氧化的作用。

本实验结果表明,龟板醇提物低、中、高剂量组均可降低大鼠肝组织中 MDA 的水平($P < 0.01$);同时能不同程度地提高大鼠肝组织中 SOD 活力,包括总 SOD、CuZn-SOD 和 Mn-SOD($P < 0.05$ 、 0.01)。也就是说,龟板具有抗脂质过氧化作用。

值得一提的是,中医认为,龟板具有滋阴潜阳、益肾强骨、养血补心的功效,龟板益肾作用可能与其抗氧化性有关,本实验结果恰好证明了这一点。因此,本实验在从抗氧化的角度诠释中医益肾理论方面,作了有益的尝试。至于龟板醇提物抗氧化作用的活性成分,有待更进一步研究。

致谢:广州中医药大学中药学院鉴定教研室张

丹雁教授对实验药材给予鉴定。

References:

- [1] Prockop D J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues [J]. *Science*, 1997, 276: 71.
- [2] Li Y, Chen J, Wang L, et al. Intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells in a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease [J]. *Neurosci Lett*, 2001, 316(2): 67.
- [3] Schwarz E J, Alexander G M, Prockop D J, et al. Multipotential marrow stromal cells transduced to produce L-DOPA: engraftment in a rat model of Parkinson's disease [J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(5): 2539.
- [4] Chen D F, Du S H, Li Y W, et al. Effect of *Plastrum Testudinis* on three subtypes of NOS expression in rats with focal cerebral ischemia [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2002, 13(5): 278-281.
- [5] Du S H, Chen D F, Li Y W, et al. Effect of *Plastrum Testudinis* on transdifferentiation from MSCs after implantation to neurons from rats with cerebral ischemia [J]. *Nat Med J China* (中华医学杂志), 2005, 85(3): 205-207.
- [6] Chen D F, Du S H, Li Y W, et al. Effect of *Plastrum Testudinis* on neural stem cell after focal cerebral ischemia [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报), 2001, 18(4): 328-332.
- [7] Li Y W, Zhou J H, Chen D F, et al. Effect of tortoiseshell on behavior and striatum levels of dopamine in rat model of Parkinson's disease [J]. *Anat Res* (解剖学研究), 2004, 26(1): 17-18.
- [8] Xie X M, Li X C, Zhong Y S, et al. Study of antioxidant activities of *Plastrum Testudinis* in vitro [J]. *China Pharm* (中国药房), 2006, 17(18): 1372-1374.
- [9] Zhou J H, Li H, Chen D F, et al. Effect of hydrogen peroxide on promoting level of mesenchymal stem cell [J]. *Guangdong Med J* (广东医学), 2005, 26(9): 1199-1200.
- [10] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.
- [11] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [12] Marx J L. Oxygen free radicals linked to many diseases [J]. *Science*, 1987, 235(4788): 529-531.

银杏叶提取物的心肌延迟保护作用及其机制研究

李年生¹, 钟志莲², 姜德建^{1*}

(1. 中南大学药学院 药理学系, 湖南 长沙 410078; 2. 中南大学湘雅医院 检验科, 湖南 长沙 410078)

摘要:目的 观察银杏叶提取物(EGb761)对大鼠离体心脏心肌的延迟保护作用及其机制。方法 离体大鼠心脏全心停灌缺血 30 min 后再灌注 30 min 产生缺血再灌注损伤,观测心率(HR)、冠脉流量(CF)、左室内压(LVP)和左室内压变化最大速率($+dp/dt_{max}$),测定心肌组织中肌酸激酶(CK)释放量、心肌组织丙二醛(MDA)和一氧化氮(NO)的量。结果 实验前 24 h 单次 ig 给予 EGb761 (50 或 100 mg/kg) 可显著改善心肌缺血再灌注所致的心功能(LVP 和 $+dp/dt_{max}$) 损伤,抑制心肌组织 CK 释放和 MDA 水平的增加以及 NO 水平的降低。预先给予 NO 合酶抑制剂 L-NAME (5 mg/kg) 或心肌细胞膜 ATP 敏感钾通道(sarK_{ATP}) 阻断药 HMR1883 (3 mg/kg),均可明显抑制 EGb761 对心肌缺血再灌注损伤的延迟保护作用。结论 EGb761 对缺血再灌注诱导大鼠心肌损伤具有延迟性保护作用,这一保护作用可能与增加 NO 合成和开放 sarK_{ATP} 通道有关。

关键词:银杏叶提取物(EGb761); 缺血再灌注损伤; ATP 敏感钾通道; 一氧化氮

中图分类号:R286.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)07-1046-05

收稿日期:2007-01-08

作者简介:李年生,男,学士,主管实验师,研究方向为心血管药理。

* 通讯作者 姜德建 Tel: (0731) 2355077 Fax: (0731) 2355078 E-mail: liniansheng8@163.com

Delayed cardioprotection of *Gingko biloba* leaf extract and its mechanisms

LI Nian-sheng¹, ZHONG Zhi-lian², JIANG De-jian¹

(1. Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410078, China;

2. Clinical Laboratory, The Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract; Objective To observe the delayed cardioprotective effect of the extract of *Gingko biloba* leaves (EGb761) and its possible mechanisms in rats. **Methods** Myocardial ischemia-reperfusion (I/R) injury was induced by 30 min of global ischemia and 30 min of reperfusion in isolated rat hearts. Heart rate (HR), coronary flow (CF), left ventricular pressure (LVP), and its first derivatives ($+dp/dt_{\max}$) were recorded, and the releasing content of creatine kinase (CK), contents of malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) in myocardial tissues were measured. **Results** Single ig EGb761 (50 or 100 mg/kg) at 24 h before I/R were done could significantly attenuate the damage of cardiac function (LVP and $+dp/dt_{\max}$) and the lowering of NO level in myocardial tissues, and inhibit the increasing in CK release and MDA level induced by I/R in myocardial tissues. The delayed cardioprotective effects of EGb761 were markedly inhibited by pretreatment with L-NAME (5 mg/kg), an inhibitor of NO synthase, or HMR1883 (3 mg/kg), an antagonist of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channels (sarcK_{ATP}). **Conclusion** Pretreatment with EGb761 could protect against I/R-induced myocardial injury in rats, and the delayed cardioprotection of EGb761 may be related to increasing in NO production and opening of sarcK_{ATP}.

Key words: the extract of *Gingko biloba* leaves (EGb761); myocardial ischemia-reperfusion injury; sarcolemmal ATP-sensitive potassium channels (sarcK_{ATP}); nitric oxide (NO)

大量的动物实验和临床研究显示,缺血预适应(IPC)对心肌缺血再灌注损伤具有强大的保护作用,而且表现出双时相效应:早期效应(数分钟出现,持续 2 h 左右)和延迟效应(24 h 后重新出现)。IPC 心脏保护机制尚未完全阐明,其可能是通过刺激心脏合成与释放内源性心肌保护物质,随后激活细胞内信号转导途径而发挥保护作用,其环节包括“触发物质-中介物质-效应子”。心肌细胞膜 ATP 敏感性钾通道(sarcK_{ATP})被认为是一个关键的效应子,在 IPC 的早期和延迟效应中均起重要作用^[1]。

近期的研究显示,某些药物也能够模拟缺血刺激引起预适应样的心肌保护作用^[2~4]。EGb761 是银杏叶标准提取物,其主要成分是黄酮苷类和银杏内酯。在多种动物模型(大鼠、家兔等)中,EGb761 能明显减少缺血再灌注诱导的肌酸激酶(CK)释放增加和心肌梗死,其心肌保护作用可能与增加一氧化氮(NO)的合成和释放有关^[5~7]。然而 EGb761 是否对心肌具有延迟保护以及可能的作用机制目前还不十分清楚。本实验以大鼠心肌缺血再灌注为模型,观察 EGb761 对心肌延迟保护作用及这一保护作用与 NO 和 sarcK_{ATP}的关系。

1 材料与方法

1.1 动物:清洁级 SD 大鼠,雄性 200~250 g,由中南大学湘雅医学院动物学部提供。

1.2 药品与试剂:EGb761(含黄酮苷 24%,银杏内酯与白果内酯 6%)由上海绿源实业公司提供。一

氧化氮合酶(NOS)抑制剂左旋精氨酸甲酯(L-NAME)和 HMR1883(sarcK_{ATP}阻断药)为 Sigma 公司产品。丙二醛(MDA)和 CK 试剂盒为南京建成生物工程研究所产品。NO 试剂盒为南京聚力生物医学工程研究所产品。

1.3 主要仪器:四导生理记录仪(RM—6000, Nihon Kohden)

1.4 Langendorff 灌流心脏模型:动物用戊巴比妥钠(30 mg/kg, iv)麻醉后,迅速开胸暴露心脏,取出心脏固定 Langendorff 装置上,以含 95% O₂和 5% CO₂饱和的 Krebs-Henseleit (KH)溶液(含 118 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 1.25 mmol/L CaCl₂, 25 mmol/L NaHCO₃, 11 mmol/L 葡萄糖, pH 7.4)恒压恒温(9 kPa, 37 °C)逆行灌流,左心室插水囊导管,连压力换能器,用四导生理记录仪记录左心室内压(LVP)、左心室内压最大变化速率($+dp/dt_{\max}$)和心率(HR),定时收集并记录冠脉流量(CF)。心脏平稳灌流 20 min 后,全心停灌 30 min 再用正常 KH 液灌注 30 min。

1.5 冠脉流出液中 CK 活性测定:在缺血前和再灌注后每 10 min 收集冠脉流出液,用分光光度法测定 CK 活性。

1.6 心肌组织中 MDA 和 NO 水平的测定:在实验结束后取下心脏称质量,用生理盐水制成 10% 心肌匀浆液,离心(3 000 r/min, 5 min 4 °C),取上清液,分别用分光光度法和硝酸还原酶法测定

MDA 及 NO 水平。

1.7 实验设计:动物共 42 只,分为 6 组,每组 7 只。对照组:用正常 KH 液连续灌流;缺血再灌组 (I-R 组):心脏平稳灌流 20 min 后,全心缺血 30 min 再用正常 KH 液灌注 30 min;不同剂量 EGb761 处理组:在实验前 24 h 大鼠 ig 给予 EGb761 (50、100 mg/kg); L-NAME 加 EGb761 处理组:在给予 EGb761 (100 mg/kg) 前 1 h 舌下 iv L-NAME (5 mg/kg); HMR1883 加 EGb761 处理组:在给予 EGb761 (100 mg/kg) 前 1 h 舌下 iv HMR1883 (3 mg/kg)。各给药处理组离体心脏处理同 I-R 组。

1.8 数据统计:所有指标均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 软件分析。用 one-way ANOVA 进行统计学处理,组间比较采用双侧 *t* 检验。

2 结果

2.1 EGb761 对心功能的影响:与对照组比较,全心缺血 30 min 再灌注 30 min 可显著损伤心功能,表现为 LVP、 $+dp/dt_{max}$ 明显降低,CF 减少,HR 减慢 ($P<0.05$)。在实验前 24 h 分别 ig 给予 50、100 mg/kg EGb761 均可显著改善缺血再灌注所致心功能损伤,表现为可以明显升高心肌缺血再灌注后的

LVP、 $+dp/dt_{max}$, 增加 CF。在 EGb761 预适应前预先给予 NOS 抑制剂 L-NAME (5 mg/kg) 或 sarcK_{ATP} 阻断药 HMR1883 (3 mg/kg), 能消除 EGb761 对缺血再灌注所致心功能损伤的保护作用 (表 1)。

2.2 EGb761 对心肌组织 CK 释放的影响:与对照组比较,全心缺血 30 min 再灌注 30 min 可显著提高冠脉流出液中 CK 活性。在实验前 24 h 分别 ig 给予 50、100 mg/kg EGb761 可显著减少缺血再灌注诱导的心肌组织 CK 释放,在 EGb761 预适应前预先给予 NOS 抑制剂 L-NAME (5 mg/kg) 或 sarcK_{ATP} 阻断药 HMR1883 (3 mg/kg) 能消除 EGb761 对 CK 释放的抑制作用 (表 2)。

2.3 EGb761 对心肌组织 MDA 释放的影响:缺血再灌注可显著增加心肌组织中 MDA 水平。在实验前 24 h 分别 ig 给予 50、100 mg/kg 的 EGb761 可显著减少缺血再灌注后心肌组织中 MDA 的量。在 EGb761 前预先给予 NOS 抑制剂 L-NAME (5 mg/kg) 或 sarcK_{ATP} 阻断药 HMR1883 (3 mg/kg) 能消除 EGb761 对心肌组织 MDA 的抑制作用 (表 3)。

表 1 EGb761 对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤后心功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 1 Effect of EGb761 on cariac function in isolated rat heart after ischemia-reperfusion injury ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	时间	LVP/mmHg	+dp/dt _{max} /(mmHg · s ⁻¹)	CF/(mL · min ⁻¹)	HR/(次 · min ⁻¹)
对照	—	缺血前	89.7 ± 9.0	2 000.0 ± 246.6	9.8 ± 1.2	290.7 ± 28.5
		再灌后 10 min	86.1 ± 11.3	1 992.9 ± 164.4	9.9 ± 1.2	289.1 ± 28.3
		再灌后 20 min	85.4 ± 5.3	2 028.6 ± 125.4	9.9 ± 1.2	291.9 ± 23.8
		再灌后 30 min	81.3 ± 6.7	1 957.1 ± 113.4	9.6 ± 0.9	289.7 ± 28.2
I-R	—	缺血前	91.3 ± 16.8	1 733.3 ± 397.0	9.3 ± 1.6	283.3 ± 15.1
		再灌后 10 min	27.0 ± 6.9 ^{△△}	358.3 ± 128.9 ^{△△}	5.6 ± 1.6 ^{△△}	214.0 ± 37.4 ^{△△}
		再灌后 20 min	32.5 ± 8.1 ^{△△}	625.0 ± 154.5 ^{△△}	5.5 ± 1.8 ^{△△}	221.0 ± 21.6 ^{△△}
		再灌后 30 min	36.3 ± 9.4 ^{△△}	758.3 ± 102.1 ^{△△}	5.3 ± 1.9 ^{△△}	253.8 ± 50.5
EGb761	50	缺血前	90.3 ± 15.8	2 128.8 ± 397.8	10.0 ± 2.5	320.0 ± 56.9
		再灌后 10 min	46.9 ± 11.5	735.7 ± 164.4 ^{**}	5.9 ± 1.3	227.1 ± 71.3
		再灌后 20 min	57.4 ± 10.6 ^{**}	992.9 ± 163.4 ^{**}	6.4 ± 1.3 [*]	237.1 ± 44.2
		再灌后 30 min	66.6 ± 10.7 ^{**}	1 114.3 ± 252.6 ^{**}	6.5 ± 1.2 [*]	235.7 ± 31.5
	100	缺血前	86.0 ± 17.4	1 780.0 ± 325.2	10.4 ± 1.1	322.4 ± 37.0
		再灌后 10 min	52.4 ± 7.5 [*]	1 030.0 ± 291.9 ^{**}	7.2 ± 1.6 [*]	260.0 ± 47.5
		再灌后 20 min	68.4 ± 14.0 ^{**}	1 320.0 ± 236.7 ^{**}	7.8 ± 1.6 [*]	244.6 ± 35.8
		再灌后 30 min	69.6 ± 13.8 ^{**}	1 400.0 ± 241.6 ^{**}	8.1 ± 1.5 [*]	249.2 ± 30.7
EGb761 + L-NAME	100 + 5	缺血前	94.3 ± 24.8	1 941.7 ± 500.4	10.2 ± 1.7	290.0 ± 35.2
		再灌后 10 min	28.2 ± 13.2 [#]	525.0 ± 309.4 [#]	5.4 ± 0.8 [#]	253.3 ± 18.2
		再灌后 20 min	38.3 ± 21.4 [#]	686.7 ± 412.9 [#]	5.8 ± 0.7 [#]	252.5 ± 28.2
		再灌后 30 min	40.0 ± 20.5 [#]	708.3 ± 358.4 [#]	5.6 ± 1.0 [#]	253.3 ± 36.7
EGb761 + HMR1883	100 + 3	缺血前	87.7 ± 24.1	2 133.3 ± 615.4 [#]	11.3 ± 2.0	293.3 ± 35.0
		再灌后 10 min	26.0 ± 8.3 [#]	533.3 ± 280.5 [#]	5.9 ± 0.9 [#]	196.7 ± 50.1
		再灌后 20 min	32.7 ± 3.7 [#]	625.0 ± 218.5 [#]	5.3 ± 0.9 [#]	200.0 ± 37.6
		再灌后 30 min	30.0 ± 7.0 [#]	841.7 ± 210.7 [#]	5.5 ± 1.0	191.7 ± 46.7

与对照组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与 I-R 组比较: $*P<0.05$ $**P<0.01$; 与 EGb761 (100 mg/kg) 组比较: $#P<0.05$ $##P<0.01$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs control group; $*P<0.05$ $**P<0.01$ vs I-R group; $#P<0.05$ $##P<0.01$ vs EGb761 (100 mg/kg) group

表 2 EGb761 对大鼠离体心脏灌流液中 CK 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)Table 2 Effect of EGb761 on CK activity in coronary effluent of isolated rat heart ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	CK/(U · mL ⁻¹)			
		缺血前	再灌后 10 min	再灌后 20 min	再灌后 30 min
对照	—	1.85 ± 0.20	2.04 ± 0.50	1.83 ± 0.49	2.00 ± 0.59
I-R	—	1.92 ± 0.47	4.51 ± 0.50 ^{△△}	4.83 ± 0.47 ^{△△}	5.38 ± 0.59 ^{△△}
EGb761	50	1.95 ± 0.45	2.85 ± 0.33 ^{**}	3.40 ± 0.35 ^{**}	3.49 ± 0.25 ^{**}
	100	1.88 ± 0.32	2.73 ± 0.44 ^{**}	2.97 ± 0.33 ^{**}	2.73 ± 0.45 ^{**}
EGb761+L-NAME	100+5	2.04 ± 0.45	4.51 ± 0.77 [#]	4.41 ± 0.72 [#]	4.16 ± 0.51 [#]
EGb761+HMR1883	100+3	2.10 ± 0.50	3.90 ± 0.43 [#]	4.29 ± 0.53 [#]	4.08 ± 0.41 [#]

与对照组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 I-R 组比较: $**P < 0.01$; 与 EGb761 (100 mg/kg) 组比较: $##P < 0.01$

$\Delta\Delta P < 0.01$ vs control group; $**P < 0.01$ vs I-R group; $##P < 0.01$ vs EGb761 (100 mg/kg) group

表 3 EGb761 对大鼠离体心肌组织中 MDA 和 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 3 Effect of EGb761 on level of MDA and NO in myocardial tissues of isolated rat heart

($\bar{x} \pm s, n=7$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	MDA/(nmol · g ⁻¹)	NO/(μ mol · g ⁻¹)
对照	—	188.3 ± 35.8	9.8 ± 1.4
I-R	—	331.7 ± 29.0 ^{△△}	4.8 ± 1.1 ^{△△}
EGb761	50	273.0 ± 25.4 [*]	8.4 ± 1.7 ^{**}
	100	219.3 ± 33.3 [*]	9.2 ± 2.1 ^{**}
EGb761+L-NAME	100+5	322.3 ± 34.7 [#]	2.1 ± 1.0 [#]
EGb761+HMR1883	100+3	296.9 ± 26.8 [#]	5.4 ± 1.3 [#]

与对照组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 I-R 组比较: $**P < 0.01$;

与 EGb761 (100 mg/kg) 组比较: $##P < 0.01$

$\Delta\Delta P < 0.01$ vs control group; $**P < 0.01$ vs I-R group;

$##P < 0.01$ vs EGb761 (100 mg/kg) group

2.4 EGb761 对心肌组织 NO 释放的影响: 缺血再灌注可显著降低心肌组织中 NO 的量。在实验前 24 h 分别 ig 给予 50、100 mg/kg 的 EGb761 可显著增加缺血再灌注后心肌组织中 NO 的量。在 EGb761 前预先给予 NOS 抑制剂 L-NAME (5 mg/kg) 能消除 EGb761 对心肌组织 NO 的促进释放作用 (表 3)。

3 讨论

文献报道, IPC 对心肌缺血再灌注损伤具有强大的保护作用, 并且分为早期和延迟两个效应时间窗。这两种不同效应所涉及到的机制也不尽相同。目前, 对 IPC 的研究已从缺血预处理发展到药理预适应。EGb761 是从银杏叶中提取的天然活性物质, 具有改善血流流变状况, 抑制血小板聚集, 抗氧化和清除自由基等作用。本实验室及其他学者的研究证实, 在离体心脏或在体动物长期给予 EGb761 均能明显减少缺血再灌注诱导的 CK 释放增加和心肌梗死, 具有心肌保护作用^[5~7]。本实验发现单次在体给予大鼠 EGb761 也能显著抑制 24 h 后缺血再灌注诱导的脂质过氧化和 CK 释放增加以及心功能下降, 提示 EGb761 对心肌损伤具有延迟保护作用。

大量的研究显示, 内源性 NO 具有双向作用, 构成型 NOS (eNOS) 来源的 NO 具有心肌保护作用, 而诱导型 NOS 来源 (iNOS) 的 NO 能形成自由基, 对心肌有损伤作用。研究显示, EGb761 的心肌保护作用与抑制缺血再灌注心肌细胞 iNOS mRNA 水平的上调, 减少 iNOS 源性 NO 的生成有关^[6]。文献报道, EGb761 能通过增加内皮细胞内 Ca²⁺ 浓度, 上调 eNOS 的表达和活性, 增加 NO 的生成和释放^[8]。已知 NO 作为触发物质, 在缺血或药理性预适应的心肌延迟保护作用中充当了关键的角色。在本实验中单次在体给予大鼠 EGb761 也能显著抑制 24 h 后缺血再灌注诱导的心肌组织中 NO 水平下降, 而预先在体给予 NOS 抑制剂 L-NAME 能阻断 EGb761 的心肌延迟保护作用, 提示 EGb761 心肌延迟保护作用可能与增加 eNOS 源性 NO 合成和释放有关。

K_{ATP} 通道是广泛分布于心肌细胞的钾通道, 可分为 sarcK_{ATP} 及线粒体膜 K_{ATP} 通道。目前普遍认为, K_{ATP} 通道介导了 IPC 早期和延迟心脏保护作用, 是一个关键的终末效应蛋白^[1]。近期的报道显示一些药物能激活 K_{ATP} 通道, 产生 IPC 延迟效应。Mei 等^[9]在狗实验中发现单磷酸酯 A (MLA) 的 IPC 延迟效应与增加 sarcK_{ATP} 活性有关, 而使用 K_{ATP} 的抑制剂优降糖和 5-HD 能完全消除 MLA 的保护效应。本实验结果显示, 预先给予 sarcK_{ATP} 的阻断药 HMR1883 能消除 EGb761 的心肌延迟保护作用, 提示 sarcK_{ATP} 介导了 EGb761 的保护作用。文献报道, K_{ATP} 通道阻断药能取消 NO 介导的缺血预适应延迟效应^[10]。因此, 推测 EGb761 可能是通过增加 NO 释放, 进而激活 sarcK_{ATP} 通道发挥心肌延迟保护作用, 但具体的机制需进一步研究。

References:

- [1] Peng J, Li Y J. ATP-sensitive potassium channels and ischemic preconditioning [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药

- 理学通报), 2003, 16(2): 141-144.
- [2] Jaberansari M T, Baxter G F, Muller C A, *et al.* Angiotensin-converting enzyme inhibition enhances a subthreshold stimulus to elicit delayed preconditioning in pig myocardium [J]. *Am Coll Cardiol*, 2001, 37(7): 1996-2001.
- [3] Leeser M A, Stoddard M F, Dawn B, *et al.* Delayed preconditioning-mimetic action of nitroglycerin in patients undergoing coronary angioplasty [J]. *Circulation*, 2001, 103(24): 2935-2941.
- [4] Tissier R, Souktani R, Parent de Curzon O, *et al.* Pharmacological delayed preconditioning against ischaemia-induced ventricular arrhythmias: effect of an adenosine A₁ receptor agonist [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 134(7): 1532-1538.
- [5] Shen J, Wang J, Zhao B, *et al.* Effects of EGB761 on nitric oxide and oxygen free radical, myocardial damage and arrhythmia in ischemic-reperfusion injury *in vivo* [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1406(3): 228-236.
- [6] Varga E, Bodi A, Ferdinandy P, *et al.* The protective effect of EGB761 in isolated ischemic-reperfused rat heart: a link between cardiac function and nitric oxide production [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1999, 34(5): 711-717.
- [7] Chen X, Liu L Y, Li Z F. Cardiovascular protective effects and NO-mediated cerebrovasorelaxant effects of extract of *Ginkgo biloba* leaves [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 1998, 78: 692-695.
- [8] Kubota Y, Tanaka N, Umegaki K, *et al.* *Ginkgo biloba* extract-induced relaxation of rat aorta is associated with increase in endothelial intracellular calcium level [J]. *Life Sci*, 2001, 69(20): 2327-2336.
- [9] Mei D A, Elliott G T, Gross G J. KATP channels mediate late preconditioning against infarction produced by monophosphoryl lipid A [J]. *Am J Physiol*, 1996, 271(6 Pt 2): H2723-2729.
- [10] Qiu Y, Rizvi A, Tang X L, *et al.* Nitric oxide triggers late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(6 Pt 2): H2931-2936.

黄连解毒汤 70% 醇提物对小鼠 S₁₈₀ 细胞 MDR 相关因子表达的逆转作用

李贵海, 孙付军, 董 学, 李晓晶, 杨书斌

(山东省中医药研究院, 山东 济南 250014)

摘 要:目的 观察黄连解毒汤 70% 醇提物对小鼠多药耐药 (MDR) 基因表达产物 P₁₇₀、肺耐药蛋白 (LRP) 和拓扑异构酶 I (TOPO I) 的影响, 明确其干预 MDR 的分子生物学基础, 指导临床应用其逆转 MDR 的产生。方法 模拟临床 PFC 方案, 建立小鼠 S₁₈₀ 肿瘤细胞 MDR 在体模型, 同时给予黄连解毒汤 70% 醇提物 10 d, 流式细胞仪荧光检测 P₁₇₀、LRP、TOPO I。结果 黄连解毒汤 70% 醇提物明显逆转 S₁₈₀ 肿瘤细胞 MDR 相关基因表达产物 P₁₇₀、LRP、TOPO I 的过度表达。结论 黄连解毒汤 70% 醇提物可通过逆转相关生物活性物质的过度表达, 逆转化疗诱发的肿瘤 MDR 的产生。

关键词: 黄连解毒汤 70% 醇提物; 肿瘤多药耐药; P₁₇₀; LRP; TOPO I

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)07-1050-03

Reversion of 70% ethanolic extract from Huanglian Jiedu Decoction on mice S₁₈₀ cell MDR relative factor expression

LI Gui-hai, SUN Fu-jun, DONG Xue, LI Xiao-jing, YANG Shu-bin

(Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

Key words: 70% ethanolic extract from Huanglian Jiedu Decoction; multi-drug resistance of tumour; P₁₇₀; LRP; TOPO I

黄连解毒汤主要由黄连、黄芩、黄柏和栀子 4 味药组成, 为清热解暑代表方。现代药物学研究证实, 该方含有小檗碱、黄连碱、甲基黄连碱、药根碱、黄柏碱、掌叶防己碱、蝙蝠葛碱等多种生物碱^[1]。生物碱是一类有广泛生物学效应的中药成分, 近年来国内

学者对其干预肿瘤细胞多药耐药 (MDR) 的研究做了大量工作, 但大多限于体外实验, 而体外细胞培养难以客观模拟临床化疗所致 MDR 的在体环境。本研究在建立了小鼠 S₁₈₀ 肿瘤 MDR 在体模型的基础上^[2,3], 观察黄连解毒汤 70% 醇提物对小鼠 S₁₈₀ 肿

收稿日期: 2007-01-06

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (Y2005C57)

作者简介: 李贵海 (1959—), 男, 研究员, 从事中药抗肿瘤作用及机制的研究, 在本领域发表论文数十篇。

Tel: (0531) 82949803 Fax: (0531) 82968473 E-mail: guihai99@163.com