

红花注射液和金纳多注射液对兔肺缺血-再灌注损伤的保护作用比较

芦青¹, 赵光树¹, 金启辉^{2*}

(1. 浙江大学医学院附属第一医院 中药房, 浙江 杭州 310003; 2. 浙江大学医学院附属第二医院, 浙江 杭州 310003)

摘要:目的 比较红花注射液和金纳多注射液(银杏提取物)对肺缺血-再灌注损伤的保护作用及其机制。方法 复制在体兔肺缺血-再灌注损伤模型。40只日本大耳兔,随机分为4组:假手术组、模型组、红花注射液组(SI组)和银杏提取物组(EGB组)。实验结束时,自颈动脉抽血检测丙二醛(MDA)水平、超氧化物歧化酶(SOD)和黄嘌呤氧化酶(XO)活性;取肺组织测湿干质量比(W/D),髓过氧化物酶(MPO)活性;电镜观察肺组织超微结构改变;免疫组化法检测肺组织细胞间黏附分子-1(ICAM-1)蛋白表达。结果 模型组血清MDA水平、XO活性均显著高于假手术组($P<0.01$),SOD活性明显低于假手术组($P<0.01$);W/D值与MPO活性模型组、EGB组和SI组均高于假手术组($P<0.05, 0.01$),但EGB组和SI组显著低于模型组($P<0.01$);免疫组化发现模型组肺组织ICAM-1蛋白表达显著高于SI组和EGB组($P<0.01$)。与SI组相比,EGB组MDA水平、XO、MPO活性更低,SOD活性更高($P<0.05$);W/D无显著性差异($P>0.05$),ICAM-1蛋白表达更高($P<0.05$)。结论 红花和银杏提取物对兔肺缺血-再灌注损伤均具有明显的保护作用,虽然这两种药物可能都是通过抗氧化、抑制中性粒细胞聚集和下调ICAM-1蛋白的表达而减轻肺缺血-再灌注损伤,但银杏提取物的抗氧化作用更显著,而红花对于调节ICAM-1蛋白的表达作用更显著。

关键词:红花注射液;银杏提取物;肺;缺血-再灌注损伤;细胞间黏附分子-1

中图分类号:R286.4

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)07-1059-03

肺缺血-再灌注损伤(lung ischemia-reperfusion injury, LIRI)常见于肺移植、肺动脉袖状切除、体外循环等手术,是患者出现肺动脉高压、肺水肿及呼吸衰竭的主要原因,目前尚缺乏理想的治疗措施。LIRI的确切发生机制尚不十分清楚,涉及包括大量氧自由基的产生、钙超载、内皮细胞受损、血小板聚集、炎症因子释放等多方面。红花等传统活血化瘀中药对LIRI有拮抗作用,而银杏提取物(ginkgo biloba extraction, EGB)对LIRI具有保护作用^[1-3],这两种中药的保护作用可能与清除自由基和抗脂质过氧化有关。本研究建立在体兔LIRI模型,检测肺损伤相关指标,采用免疫组化检测肺组织细胞间黏附分子-1(ICAM-1)蛋白表达的变化,比较红花注射液和金纳多注射液(银杏提取物)对LIRI的保护作用,以为临床防治LIRI提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂:健康日本大耳兔40只,雌雄不拘,体质量1.7~2.3 kg,由浙江大学医学院实验动物中心提供。红花注射液(湖北宜昌民康制药厂,批号010904,10 mL/支),金纳多注射液(德国威玛舒培博士药厂,每支含EGB 17.5 mg,其中银杏黄酮苷(4.2 mg),丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶

(SOD)、黄嘌呤氧化酶(XO)、髓过氧化物酶(MPO)测试盒(南京建成生物工程研究所)。ICAM-1抗体检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 模型制备:参照文献方法^[4]复制在体兔LIRI模型,im阿托品(0.1 mg)、iv 25%乌拉坦(5 mL/kg)麻醉,气管切开插管接动物呼吸机辅助呼吸,呼吸频率20~30次/min,潮气量10 mL/kg,吸入气氧浓度100%,电热器维持体温;左颈内静脉插管,生理盐水0.5~1.5 mL/min静滴维持;沿胸骨左缘切断第3、4和第5肋骨,游离左肺门后留置阻断带,在肺呼气末于左肺门处用阻断带结扎左侧肺动脉、肺静脉及左主支气管,为左肺缺血;开放恢复供血和通气为左肺再灌注。

1.3 实验分组与标本采集:实验随机分为4组,即假手术组、模型组、红花注射液组(SI)、金纳多注射液组(EGB)。假手术组开胸后机械通气4 h,除左肺门过阻断带,不作结扎外,未给予其他处理。模型组开胸后左肺门阻断1 h,开放再灌注3 h。药物组缺血前20 min iv红花注射液(2.0 mL/kg)或金纳多注射液(200 mg/L),其余步骤同模型组。4组实验兔在实验结束后颈动脉采血5 mL,部分肺组织以待

收稿日期:2007-11-11

作者简介:芦青(1970—),男,浙江杭州人,主管中药师。Tel: (0571) 87236746 E-mail: qq7068qq@163.com

*通讯作者 金启辉 E-mail: jinqihui1228@sina.com

实验使用。

1.4 血清MDA量及SOD、XO活性的测定:MDA测定采用巴比妥酸法,SOD活性测定采用黄嘌呤氧化酶法,XO活性测定采用化学比色法,按试剂盒说明书进行操作。

1.5 肺湿干质量比及髓过氧化物酶(MPO)活性测定:取部分肺组织生理盐水充分漂洗,滤纸吸干多余水分,称湿质量。在恒温电热鼓风干燥箱70℃、24h烘干称质量,两者之比为肺湿干质量比值(wet/dry ratio, W/D)。取肺组织匀浆,采用分光光度法测定MPO活性,按说明书操作。

1.6 免疫组化检测肺组织ICAM-1蛋白:实验步骤参照试剂盒推荐方法进行(常规SABC法,DAB染色),染色呈棕黄色为阳性表达。应用华东理工大学研制的吸光度分析软件读取吸光度(A)值作为含ICAM-1蛋白的相对量。

1.7 统计学处理:计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 11.0统计软件进行分析,多组比较采用方差分析,组间两两比较采用 q 检验;各组与假手术组比较采用Dunnett- t 检验。

2 结果

2.1 血清MDA量及SOD、XO活性的变化:与假手术组比较,模型组血清SOD明显降低,MDA和XO活性显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,EGB组和SI组SOD活性明显升高,MDA和XO活性显著降低($P < 0.01$);与SI组比较,EGB组SOD活性明显升高,MDA和XO活性显著降低($P < 0.05$),结果见表1。

表1 红花注射液和金纳多注射液对肺缺血再灌注兔血清MDA水平、SOD、XO活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of Safflor Injection and Jinnaduo Injection on SOD and XO activities and MDA level in serum of lung ischemia-reperfusion rabbits ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	SOD/(NU·mL ⁻¹)	XO/(U·L ⁻¹)
假手术	5.10±0.72	387.09±13.97	2.40±0.28
模型	9.13±0.64**	270.41±15.35**	6.98±0.72**
SI	7.80±0.87**△△	307.95±15.46**△△	5.44±0.56**△△
EGB	6.34±0.52**△△▲	342.34±12.52**△△▲	5.13±0.22**△△▲

与假手术组比较:** $P < 0.01$; 与模型组比较:△△ $P < 0.01$; 与SI组比较:▲ $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs Sham group; △△ $P < 0.01$ vs model group

▲ $P < 0.05$ vs SI group

2.2 肺组织W/D值、MPO活性和ICAM-1蛋白表达的变化:与假手术组相比较,模型组、EGB组和SI组肺组织的W/D值和MPO活性均明显升高

($P < 0.05$, 0.01);与SI组相比,EGB组肺组织W/D值更低,但差异无统计学意义($P > 0.05$),MPO活性也明显降低($P < 0.05$)。模型组、EGB组和SI组肺组织ICAM-1蛋白表达皆显著高于假手术组($P < 0.05$, 0.01);与模型组比较,SI组和EGB组下降非常显著($P < 0.01$);与SI组相比,EGB组肺组织ICAM-1蛋白表达明显增高($P < 0.05$),结果见表2。

表2 红花注射液和金纳多注射液对兔肺组织W/D、MPO活性和ICAM-1表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of Safflor Injection and Jinnaduo Injection on W/D, myeloperoxidase activity, and ICAM-1 expression in tissue of lung ischemia-reperfusion rabbits ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	W/D	MPO/(U·g ⁻¹)	ICAM-1 (A)
假手术	5.13±0.41	3.44±0.43	1.21±0.27
模型	6.51±0.28**	5.78±0.57**	2.94±0.48**
SI	5.76±0.39**△△	3.81±0.85**△△	1.75±0.62**△△
EGB	5.68±0.23*	3.68±0.25*▲	1.87±0.36*▲

与假手术组比较:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与模型组比较:△△ $P < 0.01$; 与SI组比较:▲ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Sham group

△△ $P < 0.01$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs SI group

3 讨论

红花为常用活血化瘀中药之一,用于治疗心脑血管疾病已有数千年的历史。红花注射液是由红花提取精制而成,主要成分有红花苷、红花素、黄花素和总黄酮等^[1~3]。红花的热水萃取物对血液凝固有明显的抑制作用,其有效成分为腺苷,可延长凝血酶原的生成时间和活化时间,抑制二磷酸腺苷(ADP)和胶原引起的小血小板聚集,加强尿激酶和纤维蛋白溶酶的活性,降低全血比黏度。红花还可通过抑制TXA₂合酶的活性,使TXB₂的生成减少,进而使前列腺素内过氧化物(PGH)蓄积,导致6-κ-PGF_{1α}生成增多,改善微循环^[3,4]。银杏提取物(EGB)主要的药理作用为抗氧化作用,有很强的抗氧自由基、增强抗氧化酶活性的作用^[6],在心、脑血管疾病中研究较多。EGB还可抑制血小板抑制因子,改善微循环等,对心、脑血管缺血性损伤有明显的保护作用^[7,8]。EGB还能明显地减少氧自由基对ATP酶的攻击,增强中枢神经系统功能、调节神经递质和激素的水平等。另外,EGB能减轻肺间质纤维化^[9]。

ICAM-1属于免疫球蛋白超家族,分布于各种上皮细胞、血管内皮细胞、单核巨噬细胞和淋巴细胞表面,在免疫反应时细胞与细胞接触过程,促进白细胞进一步黏附、激活及浸润中发挥作用^[10]。血管内

皮细胞过量表达 ICAM-1 等黏附分子是中性细胞与血管内皮细胞黏附的分子基础^[11], ICAM-1 是淋巴细胞功能相关抗原-1 (LFA-1) 的配体, 其与免疫细胞表面的 LFA-1 结合, 使免疫细胞与受损细胞、血管内皮细胞表面的 ICAM-1 结合, 发挥细胞毒性作用, 造成细胞损伤^[12]。

本实验显示, 模型组血清 MDA 水平、XO 活性与假手术组比较均明显升高, 而 SOD 活性明显下降, 表明 LIRI 时组织抗氧化应激的能力减弱, 导致脂质过氧化损伤, 提示已可靠地复制了在体兔 LIRI 模型, 这与文献报道的结果相一致^[13]。而与假手术组比较, SI 组和 EGB 组血清 MDA 水平、XO 活性虽均有明显升高, 但较模型组有明显降低 ($P < 0.01$); 而与模型组相比, SI 组和 EGB 组 SOD 活性也有明显升高 ($P < 0.01$); 与 SI 组相比, EGB 组中血清 MDA 水平、XO 活性更低 ($P < 0.05$); 故由此提示红花和银杏提取物 (EGB) 可能通过减少再灌注时氧自由基的产生, 减轻组织的脂质过氧化反应发挥作用, 且后者的抗氧化作用更强。在 LIRI 中, 激活的中性粒细胞是氧自由基的重要来源, 而 MPO 活性是中性粒细胞的氧化作用的决定因素, 肺组织 MPO 活性可定量地反应中性粒细胞扣押与聚集程度^[13,14]。本研究发现, 模型组 MPO 活性、W/D 和 ICAM-1 表达较假手术组均升高且差异非常显著 ($P < 0.01$)。而 EGB 组和 SI 组尽管该 3 项指标亦较假手术组明显升高, 但差异显著水平与模型组相比降低 ($P < 0.05$); SI 组和 EGB 组相比, 两组的 W/D 差异不显著 ($P > 0.05$), 但 EGB 组中 ICAM-1 表达更高 ($P < 0.05$)。ICAM-1 的高表达可反应 LIRI 的严重程度, 可能通过引起内皮细胞-白细胞相互作用, 造成白细胞的浸润, 并不断加重肺损伤^[14,15]。由此提示红花和银杏提取物可能通过抑制 ICAM-1 在肺组织中的表达, 减少 LIRI 时肺组织微血管通透性, 减轻肺组织的过度炎症反应, 降低肺泡 II 型上皮细胞受损程度, 起到对 LIRI 的保护作用, 就这点而言, 红花的保护作用比银杏提取物效

果更明显, 但其详细作用尚待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 朴永哲, 金 鸣. 红花抗心肌缺血研究进展 [J]. 中草药, 2001, 32(5): 473-475.
- [2] 金 鸣, 李金荣, 蔡亚欣, 等. 红花水溶性成分抗氧化作用的研究 [J]. 心肺血管病杂志, 1998, 17(4): 277.
- [3] 刘继光, 惠 钢, 耿 庆, 等. 银杏提取物对体外肺缺血再灌注损伤保护作用的试验观察 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2006, 12(3): 257-259.
- [4] Sekido N, Mukaida N, Harada A, *et al.* Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8 [J]. *Nature*, 1993, 365(6447): 654-657.
- [5] 韩德恩, 张新晨, 田素礼, 等. 银杏叶提取物对无心跳供肝热缺血损伤保护作用的实验研究 [J]. 中华器官移植杂志, 2001, 22(1): 482-511.
- [6] Haines D D, Bak I, Ferdinandy P, *et al.* Cardioprotective effect of thecalinurin inhibitor FKS06 and that PAF receptor antagonist and freeradical scavenger, Egb761, in isolate ischemic rat hearts [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000, 35(1): 372-441.
- [7] Defeudis F V, Drieu K. *Ginkgo biloba* extract (Egb761) and CNS function: basic studies and clinical applications [J]. *Curr Drug Targets*, 2000, 1(1): 25-58.
- [8] 宫 霞, 卢元芳. 银杏叶提取物对小鼠骨骼肌过氧化损伤的保护作用 [J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(4): 3592-3601.
- [9] 陈 建, 何 冰, 刘新民, 等. 银杏叶提取物治疗肺间质纤维化的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(6): 4412-4431.
- [10] 张 敏, 黄星原. 病毒性心肌炎小鼠血清 ICAM-1 和 TNF- α 的变化及意义 [J]. 同济大学学报, 2006, 27(1): 21-23.
- [11] Sawaya D E, Zibani G B, Minardi A, *et al.* P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion [J]. *Shock*, 1999, 12(1): 227-232.
- [12] Nakamura H, Yamamura T, Fukuta S, *et al.* A pathogenic mechanism of chronic ongoing myocarditis [J]. *Jpn Circ J*, 1996, 60(8): 609-617.
- [13] Altunkaya A, Oz E, Sivrikoz M C, *et al.* Role of the nitric oxide pathway in ischemia-reperfusion injury in isolated perfused guinea pig lungs [J]. *Mol Cell Biochem*, 2006, 290(1-2): 9-16.
- [14] 徐鹤云, 陈淑萍, 金 涛, 等. 金纳多对兔移植肺缺血再灌注损伤保护作用的实验研究 [J]. 中华医学杂志, 2006, 45(12): 3211-3214.
- [15] Steer M L. Relationship between pancreatitis and lung diseases [J]. *Respir Physiol*, 2001, 128(1): 13-16.

红花注射液和金纳多注射液对兔肺缺血-再灌注损伤的保护作用比较

作者：[芦青](#)，[赵光树](#)，[金启辉](#)
作者单位：[芦青, 赵光树\(浙江大学医学院附属第一医院, 中药房, 浙江, 杭州, 310003\)](#)，[金启辉\(浙江大学医学院附属第二医院, 浙江, 杭州, 310003\)](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (7)
被引用次数：2次

参考文献(15条)

1. [朴永哲;金鸣](#) [红花抗心肌缺血研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2001 (05)
2. [金鸣;李金荣;蔡亚欣](#) [红花水溶性成分抗氧化作用的研究](#) 1998 (04)
3. [刘继光;惠钢;耿庆](#) [银杏提取物对体外肺缺血再灌注损伤保护作用的试验观察](#)[期刊论文]-[中国中西医结合外科杂志](#) 2006 (03)
4. [Sekido N;Mukaida N;Harada A](#) [Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8](#)[外文期刊] 1993 (6447)
5. [韩德恩;张新晨;田素礼](#) [银杏叶提取物对无心跳供肝热缺血损伤保护作用的实验研究](#)[期刊论文]-[中华器官移植杂志](#) 2001 (01)
6. [Haines D D;Bak I;Ferdinandy P](#) [Cardioprotective effect of thecalinurin inhibitor FKS06 and that PAF receptor antagonist and freeradical scavenge, Egb761, in isolate ischemic rat hearts](#) 2000 (01)
7. [Defeudis F V;Drieu K](#) [Ginkgo biloba extract \(Egb761\) and CNS function, basic studies and clinical applications](#)[外文期刊] 2000 (01)
8. [宫霞;卢元芳](#) [银杏叶提取物对小鼠骨骼肌过氧化损伤的保护作用](#)[期刊论文]-[中国运动医学杂志](#) 1998 (04)
9. [陈建;何冰;刘新民](#) [银杏叶提取物治疗肺间质纤维化的实验研究](#)[期刊论文]-[中国中西医结合杂志](#) 2000 (06)
10. [张敏;黄星原](#) [病毒性心肌炎小鼠血清ICAM-1和TNF- \$\alpha\$ 的变化及意义](#)[期刊论文]-[同济大学学报](#) 2006 (01)
11. [Sawaya DE;Zibani G B;Minardi A](#) [P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion](#) 1999 (01)
12. [Nakamura H;Yamamura T;Fukuta S](#) [A pathogenic mechanism of chronic ongoing myocarditis](#) 1996 (08)
13. [Ahunkaya A;Oz E;Sivrikoz M C](#) [Role of the nitric oxide pathway in ischemia-reperfusion injury in isolated perfused guinea pig lungs](#)[外文期刊] 2006 (1-2)
14. [徐鹤云;陈淑萍;金淘](#) [金纳多对兔移植肺缺血再灌注损伤保护作用的实验研究](#)[期刊论文]-[中华医学杂志](#) 2006 (12)
15. [Steer M L](#) [Relationship between pancreatitis and lung diseases](#)[外文期刊] 2001 (01)

本文读者也读过(10条)

1. [郭涛;隋因;孙沂;李发美;高声传](#) [GUO Tao, SUI Yin, SUN Yi, LI Fa-mei, GAO Sheng-chuan](#) [心舒口服液毛细管电泳指纹图谱的研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2006, 37 (6)
2. [朱光怡;于莲;田永刚](#) [ZHU Guang-yi, YU Lian, TIAN Yong-gang](#) [高效液相色谱法测定复方红花滴丸中羟基红花黄色素A的含量](#)[期刊论文]-[黑龙江医药科学](#) 2008, 31 (4)
3. [蒋旭宏;黄小民;何煜舟;张卓一](#) [JIANG Xu-hong, HUANG Xiao-min, HE Yu-zhou, ZHANG Zhuo-yi](#) [红花注射液对急性肝损伤大鼠炎症因子的影响](#)[期刊论文]-[中国中西医结合急救杂志](#) 2009, 16 (3)

4. [王淑君](#), [王万铁](#), [熊建华](#), [邱晓晓](#), [金可可](#) [红花注射液对实验性脑缺血再灌注损伤中一氧化氮和内皮素的影响](#)[期刊论文]-[中国急救医学](#)2003, 23(5)
5. [高飞](#), [吴小候](#), [罗春丽](#), [何云峰](#), [张良锁](#), [杨美](#), [GAO Fei](#), [WU Xiao-hou](#), [LUO Chun-li](#), [HE Yun-feng](#), [ZHANG Liang-suo](#), [YANG Mei](#) [红花注射液对大鼠肾缺血再灌注损伤的疗效及机制研究](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#)2006, 31(21)
6. [辛勤](#), [李秀芳](#), [司端运](#), [刘善庭](#), [戴伟娟](#) [丹参红花注射液对实验性大鼠脑缺血的保护作用](#)[期刊论文]-[中成药](#)2004, 26(3)
7. [戴雍月](#), [徐正衿](#), [王万铁](#), [邱晓晓](#), [方周溪](#), [DAI Yong-Yue](#), [XU Zheng-Xie](#), [WANG Wan-Tie](#), [QIU Xiao-Xiao](#), [FANG Zhou-Xi](#) [红花注射液对肺缺血再灌注损伤时细胞凋亡及Bcl-2和Bax基因的影响](#)[期刊论文]-[中国动脉硬化杂志](#)2007, 15(6)
8. [于莲](#), [朱光怡](#), [YU Lian](#), [ZHU Guang-yi](#) [复方红花滴丸的制备工艺研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2007, 18(3)
9. [王淑君](#), [王万铁](#), [熊建华](#), [邱晓晓](#), [金可可](#) [红花注射液对脑缺血-再灌注损伤家兔血浆TXA2/PGI2水平的影响](#)[期刊论文]-[中国现代应用药学](#)2003, 20(2)
10. [丁洪涛](#) [红花注射液联合天麻素治疗椎基底动脉供血不足性眩晕的临床观察](#)[期刊论文]-[实用医学杂志](#)2008, 24(17)

引证文献(2条)

1. [万先惠](#), [秦亚利](#), [颜涛](#) [红花注射液药理作用研究进展](#)[期刊论文]-[中医药学报](#) 2011(6)
2. [张宇](#), [郑为超](#) [红花黄素抗炎作用机制研究概况](#)[期刊论文]-[江苏中医药](#) 2010(9)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807034.aspx