

- 27(6): 541-544.
- [3] TANIYASU S, TANAKA O, YANG C R, et al. Dammarane saponins of flower buds of *Panax notoginseng*(Sanchi-ginseng) [J]. *Planta Med*, 1982, 44(2): 124-125.
- [4] HUANG Y J. The development of notoginseng than traditional medicinal part [J]. *Inf Tradit Chin Med*(中医药信息), 1999, 17(6): 19-20.
- [5] DONG Z Q. The research contrast *Panax notoginseng* with *Panax notoginseng* leaf [J]. *J Changchun Coll Tradit Chin Med*(长春中医学院学报), 2005, 21(3): 35-36.
- [6] ZHOU G F, ZENG F D. The pharmacology and clinical application of notoginseng leaf total soap [J]. *Her Med*(医药导报), 1992, 11(5): 42-43.
- [7] LIU X, LI M C, XU X, et al. Study on associativity between fingerprint of *Panax notoginseng* and curative effect on myocardial ischemia in rat [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2013, 30(8): 819-823.
- [8] LEI W Y, SHI S T, YU S C. The toxicity studies of notoginseng leaf total saponins [J]. *Med Pharm Yunnan*(云南医药), 1984, 5(4): 241-244.
- [9] LV P, CHEN H F. Effects of notoginseng folium saponins on regulating blood lipid [J]. *Chin J Biochem Pharm*(中国生化药物杂志), 2004, 25(4): 235-236.
- [10] YU S Z. Introduction to traditional Chinese medicine and its preparation application in the application of blood lipid [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2006, 17(11): 2318-2319.
- [11] HU H M, CHEN S H, LÜ G Y, et al. Effect of Shenshao hypolipidemic tablet on blood lipid levels and liver function of hyperlipidemia mice [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2011, 27(2): 113-114.
- [12] ZHOU X Q, YU X M, YE X W, et al. The correlation between a therogetic index of plasma and risk factors of thrombosis in patients with hyperlipidaemia [J]. *Chin J Arterioscler*(中国动脉硬化杂志), 2010, 18(10): 799-802.

收稿日期: 2013-10-25

当归补血颗粒对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护机制研究

吕长江¹, 刘福和², 王国伟², 郭曼曼², 戴东波², 魏颖慧², 李范珠^{2*} (1.杭州市红十字会医院, 杭州 310003; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 研究当归补血颗粒对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用, 探究可能的保护机制。方法 采用无创动脉夹阻断肾蒂血管构建大鼠肾缺血再灌注损伤模型, 肾微透析技术结合 HPLC 测定腺苷及其代谢产物含量; 免疫组化法测定肾组织 Bax、Bcl-2、iNOS 蛋白表达。结果 假手术组腺苷、次黄嘌呤和肌苷的含量分别为(0.57±0.11), (3.14±0.20), (0.16±0.03)μmol·L⁻¹, 保持稳定并作为各实验组基准值, 肾缺血再灌注损伤后 90 min, 模型组升高至(8.61±0.62), (10.92±1.14), (0.85±0.05)μmol·L⁻¹, 而当归补血颗粒组升高至(6.91±0.67), (6.04±0.67), (0.61±0.13)μmol·L⁻¹, 明显低于模型组(P<0.05)。免疫组化显示, 与假手术组比较, 肾缺血再灌注损伤后各组大鼠肾组织细胞中 Bcl-2、Bax、iNOS 蛋白表达显著增强(P<0.01)。再灌注后, 当归补血颗粒组与模型组同时间点比较 Bcl-2 蛋白表达明显增强(P<0.05), 而 Bax 和 iNOS 蛋白表达明显减弱(P<0.05)。结论 当归补血颗粒对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护机制可能与抑制 ATP 降解, 上调 Bcl-2 基因表达, 下调 Bax、iNOS 基因表达有关。

关键词: 当归补血颗粒; 肾微透析技术; 免疫组化法; 肾缺血再灌注损伤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2014)06-0666-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.006

Protective Mechanism of Danggui Buxue Granules on Renal Ischemia Reperfusion Injury in Rats

LÜ Changjiang¹, LIU Fuhe², WANG Guowei², GUO Manman², DAI Dongbo², WEI Yinghui², LI Fanzhu^{2*} (1.Hangzhou Red Cross Hospital, Hangzhou 310003, China; 2.Zhejiang Chinese Medicine University, College of Pharmaceutical Science, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the protective effect of Danggui Buxue granules and search for the possible protective mechanism in rats. **METHODS** Using noninvasive arterial clamp to block the renal pedicle vascular to induce renal ischemia-reperfusion injury in rats and applying the kidney microdialysis technology to collect kidney dialysis fluid, then the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274089/H2806); 浙江省自然科学基金资助项目(LZ13H280001、LY13H280007)

作者简介: 吕长江, 女, 博士, 主任药师 Tel: 18958008970 E-mail: 106433093@qq.com *通信作者: 李范珠, 男, 教授, 博导 Tel: (0571)86633030 E-mail: lifanzhu@zjctm.net

content of adenosine and its metabolites was measured by HPLC. Making use of immunohistochemistry method to explore protein expression of the Bax, Bcl-2, iNOS. **RESULTS** The concentration of adenosine, hypoxanthine and inosine of model group raised from (0.57±0.11), (3.14±0.20), (0.16±0.03)μmol·L⁻¹ to (8.61±0.62), (10.92±1.14), (0.85±0.05)μmol·L⁻¹, respectively after renal ischemia reperfusion injury, but Danggui Buxue granules group(DG group) raised up to (6.91±0.67), (6.04±0.67), (0.61±0.13)μmol·L⁻¹, which were lower than the model group significantly. The results of immunohistochemistry showed that compared with sham operation group(SO group), after renal ischemia-reperfusion injury each group kidney tissues and cells of the Bax, Bcl-2 and iNOS protein expression significantly enhanced(*P*<0.01). However, after reperfusion, the Bcl-2 protein expression of DG group was higher than IR group significantly (*P*<0.05), while the Bax and iNOS protein expression of DG group was lower than IR group significantly (*P*<0.05). **CONCLUSION** The results showed that protective mechanism of Danggui Buxue granules on renal ischemia reperfusion injury in rats may be related to inhibiting ATP degradation, and attributed to up-regulation of Bcl-2 gene expression and down-regulation of Bax and iNOS gene expression.

KEY WORDS: Danggui Buxue granules; renal microdialysis technique; immunohistochemistry; renal ischemia reperfusion injury

肾缺血再灌注损伤(renal ischemia reperfusion injury, RIRI)是临床常见的病理现象,多发于急性失血、中毒性休克、肾血管手术和肾脏移植等过程中^[1]。现代药理研究表明,黄芪或当归等中药对心肌、脑、肾、肺等缺血再灌注损伤具有一定的保护作用^[2]。当归补血汤由黄芪和当归 2 味中药组成,是由中医“脾胃学说”鼻祖李东垣所创,目前临床多使用当归补血颗粒(Danggui Buxue granules, DG)。研究表明^[3], DG 具有促进造血、增强机体耐缺氧能力、抗自由基等作用,且对于 RIRI 具有保护作用,但是其保护机制尚不明确。本研究运用肾微透析技术取样分析,免疫组化法检测蛋白表达,探究 DG 对大鼠 RIRI 的保护机制。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠,♀♂, 体质量(250±10)g, 由浙江中医药大学动物实验中心提供(合格证号: SCXK 沪 2009-0008)。所有动物实验均按浙江大学动物饲养和使用指南进行。

1.2 仪器和试剂

STP120 脱水机、AP280-2 包埋机、HM335E 切片机(德国 MICROM 公司); Nikon eclipse 80i 显微镜(日本 Nikon 公司); 图象分析软件(德国 Carl Zeiss 公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Millipore 纯水器(美国 Millipore 公司); 大鼠微透析仪(美国 BAS 公司); 肾微透析探针(自制); 无损伤动脉夹(美国 Novare 公司)。

DG(自制,批号: 2009-06-08); 腺苷对照品、次黄嘌呤对照品、肌苷对照品(中国食品药品检验所,批号分别为 110879-200202、140661-200402、140669-200702,纯度均为 98%); 红-9-(2-羟基-3-壬基)腺嘌呤(美国 Sigma 公司); Bax 一抗、Bcl-2

一抗、iNOS 一抗、兔二抗、浓缩型 DAB 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号: J2290、L0708、H2609、K96602A、K96914A); 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 动物分组及给药

清洁级 SD 大鼠 45 只,随机分成 3 组:假手术组(sham operation, SO 组, *n*=5); 肾缺血再灌注组(IR 组, *n*=20); 肾缺血再灌注当归补血颗粒组(DG 组, *n*=20)。DG 组于大鼠手术前灌胃 DG(黄芪 2.5 g·kg⁻¹·d⁻¹, 当归 0.5 g·kg⁻¹·d⁻¹),连续 3 d, SO 组和 IR 组正常饲养。

2.2 肾缺血再灌注损伤模型的建立

于最后一次灌胃给药后 30 min, SD 大鼠腹腔注射 3.5%水合氯醛 10 mL·kg⁻¹ 麻醉后,于右腹膜处切口剪开皮肤和肌层,暴露右侧肾脏及肾蒂血管,钝性分离肾蒂,无损伤动脉夹阻断肾蒂血管 35 min 后,移开无损伤动脉夹恢复肾脏血流,若肾脏表面恢复红润色泽,表明再灌注成功^[4-5]。SO 组大鼠暴露右侧肾蒂血管后,不用无损伤动脉夹阻断肾蒂血管,35 min 后缝合伤口。

2.3 腺苷、次黄嘌呤、肌苷分析方法的建立

2.3.1 色谱条件的选择 腺苷色谱条件: 色谱柱: Diamansil C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.01 mol·L⁻¹ KH₂PO₄(10:90); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 波长: 254 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

次黄嘌呤和肌苷色谱条件: 色谱柱: Diamansil C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.01 mol·L⁻¹ KH₂PO₄(3.5:96.5); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 波长: 254 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

2.3.2 标准曲线的制备 精密称取腺苷、次黄嘌呤

呤和肌苷对照品适量,腺苷用微透析灌流液稀释成浓度为 $0.860 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液;次黄嘌呤、肌苷分别用流动相稀释成浓度为 $0.016, 0.112 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。分别精密移取对照品溶液适量,稀释至相应浓度的梯度溶液制备标准曲线。

2.3.3 精密度试验 分别精密移取腺苷 $10.75, 43.00, 860.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3 种浓度的对照品溶液。按“2.3.1”项下色谱条件,在 1 d 内连续进样 5 次以及在连续 5 d 内每天进样 1 次,考察日内精密度和日间精密度。同法操作取次黄嘌呤 $0.80, 3.20, 16.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和肌苷 $1.12, 5.60, 11.20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3 种浓度的对照品溶液,考察日内和日间精密度。

2.3.4 回收率试验 精密移取腺苷 $430.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液各 1 mL,稀释后得浓度为 $86.00, 43.00, 21.50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 回收率试验溶液。按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算腺苷的回收率。精密移取次黄嘌呤 $16.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液适量,稀释得浓度为 $3.20, 6.40, 8.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的回收率试验溶液;精密移取肌苷 $11.20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液适量,稀释得浓度为 $2.60, 5.20, 8.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的回收率试验溶液,同法操作并计算次黄嘌呤和肌苷的回收率。

2.3.5 稳定性试验 精密移取腺苷的同一份样品溶液 $43.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,在 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 分别进样,按“2.3.1”项下色谱条件测定,考察腺苷在 24 h 内的稳定性。分别精密移取次黄嘌呤和肌苷的同一份样品溶液 $8.00, 5.60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,同法操作考察次黄嘌呤和肌苷在 24 h 内的稳定性。

2.4 肾微透析试验

将 SD 大鼠暴露右肾后,在肾皮质中植入 2 根微透析探针,连接微量泵,分别以生理盐水加 $30 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 肝素作为灌流液,用于透析次黄嘌呤和肌苷,以生理盐水、 $30 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 肝素加 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EHNA(腺苷脱氨酶抑制剂,可以有效的抑制腺苷体内代谢)作为灌流液用于透析腺苷,启动微量泵,流速为 $2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,平衡 30 min。透析液收集时间间隔为 10 min,收集 3 h,透析液存放在 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱里保存待测。

2.5 探针回收率的测定

2.5.1 体外相对回收率试验 将 3 根微透析探针分别放入浓度为 $50, 100, 500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 腺苷对照品溶液中,用灌流液透析腺苷,流速为 $2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,收集间隔时间 0.5 h,总时间 2.5 h。每根探针在 3

个浓度溶液中各测定一次,样品收集完毕后,取各透析液样品,HPLC 检测。同法操作并计算次黄嘌呤和肌苷的体外相对回收率。体外相对回收率计算公式:

$$RR\% = \frac{C_{\text{dia}}}{C_{\text{per}}} \times 100\%$$

C_{dia} —透析液中对照品浓度, C_{per} —对照品溶液浓度。

2.5.2 在体相对回收率测定 采用零净通量法测定在体相对回收率,用含有浓度为 $50, 100, 500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 腺苷对照品的灌流液灌流,流速为 $2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,收集间隔时间 0.5 h,总时间 2.5 h。每根微透析探针在 3 个浓度溶液中各测定一次,样品收集完毕后,取各透析液样品,HPLC 检测,以灌流液中腺苷浓度为横坐标,透析液中腺苷为纵坐标,绘制直线,斜率即为在体回收率。同法操作并计算次黄嘌呤和肌苷的在体相对回收率。

2.6 肾组织中 Bcl-2、bax 和 iNOS 蛋白表达测定 肾微透析收集透析液 3 h 后,继续灌注,分别于 3, 6, 12, 24 h 各取 5 只大鼠,解剖取右侧肾脏,去除包膜后,用于免疫组化法检测蛋白表达,并在显微镜下观察,用图象分析软件对图片进行图像分析,以平均光密度值对 Bcl-2、Bax、iNOS 蛋白表达进行定量分析,计算阳性表达面积占视野总面积之比,并计算其平均值。

2.7 统计方法

各组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果应用 SPSS16.0 统计软件进行统计检验,计算 P 值,比较统计学差异。

3 结果

3.1 腺苷、次黄嘌呤、肌苷分析方法考察结果

3.1.1 专属性考察 按“2.3.1”项下色谱条件,检测到的 3 种标准品的色谱图见图 1,透析液中腺苷、次黄嘌呤、肌苷及其代谢物的色谱图见图 2。结果表明腺苷、次黄嘌呤和肌苷三者之间能够完全分离,其他杂质无干扰现象。

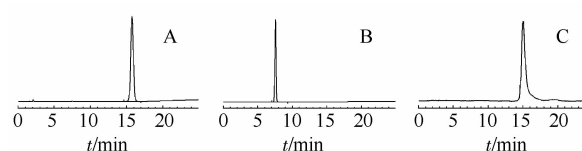


图 1 对照品 HPLC 色谱图

A—腺苷; B—次黄嘌呤; C—肌苷

Fig 1 The HPLC chromatogram of standard substance

A—adenosine; B—hypoxanthine; C—inosine

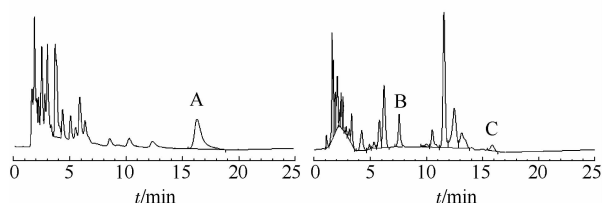


图2 肾透析液 HPLC 色谱图

A-腺苷; B-次黄嘌呤; C-肌苷

Fig 2 The HPLC chromatogram of dialysate and metabolites
A-adenosine; B-hypoxanthine; C-inosine

3.1.2 标准曲线的制备 以峰面积(A)对药物浓度(C)进行线性回归, 得到腺苷、次黄嘌呤和肌苷的标准曲线、相关系数、线性范围分别为: $A=53.513C-122.350(r=0.9998, 10.75\sim860.0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$; $A=38.576C-5.8944(r=0.9996, 0.80\sim16.00\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$; $A=33.081C-9.861(r=0.9999, 1.12\sim11.20\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 。

3.1.3 精密度试验结果 按“2.3.1”项下色谱条件试验, 得到腺苷的日内和日间精密度 RSD 分别为 1.01, 0.80, 0.05%和 1.35, 1.04, 1.05%; 次黄嘌呤的日内和日间精密度 RSD 分别为 0.84, 0.41, 1.07%和 1.37, 0.97, 0.65%; 肌苷的日内和日间精密度 RSD 分别为 1.07, 0.95, 0.50%和 1.25, 1.07, 0.58%。

3.1.4 回收率试验和稳定性试验结果 回收率试验得到腺苷、次黄嘌呤、肌苷的回收率均在 97.28%~99.83%之间, RSD 在 0.42%~1.35%之间, 符合方法学要求。稳定性试验得到腺苷、次黄嘌呤、肌苷在 24 h 内稳定性 RSD 分别为 1.10%, 1.08%, 1.06%, 稳定性良好。

3.2 探针回收率试验结果

体外相对回收率结果表明, 腺苷、次黄嘌呤、肌苷的浓度对体外相对回收率的大小没有影响, 且 3 个探针之间体外相对回收率无明显差别, 测得腺苷体、次黄嘌呤、肌苷体外相对回收率平均值分别为(66.70±0.88)%、(66.38±1.17)%、(67.52±0.95)%。零净通量法测得腺苷、次黄嘌呤、肌苷的体内相对回收率分别为(55.65±0.77)%、(55.51±0.85)%、(56.12±0.84)%。此数据用于实验时样品浓度校正。

3.3 肾组织间液腺苷、次黄嘌呤和肌苷的含量

腺苷、次黄嘌呤和肌苷的含量变化趋势图显示, RIRI 后, IR 组腺苷、次黄嘌呤和肌苷含量分别从(0.57±0.11), (3.14±0.20), (0.16±0.03) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升至 (8.61±0.62), (10.92±1.14), (0.85±

0.05) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, RIRI 在一定程度上诱导腺苷、次黄嘌呤和肌苷含量的升高, 而 DG 组上升至(6.91±0.67), (6.04±0.67), (0.61±0.13) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 明显低于 IR 组($P<0.05$), 表明 DG 可以减轻 RIRI 的影响。变化趋势图见图 3。

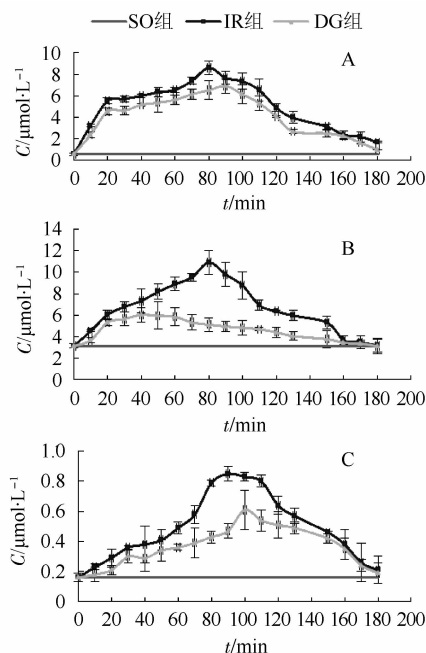


图3 肾组织液中腺苷、次黄嘌呤、肌苷含量变化曲线
A-腺苷; B-次黄嘌呤; C-肌苷

Fig 3 Changes of adenosine, hypoxanthine, inosine in kidney microdialysate

A-adenosine; B-hypoxanthine; C-inosine

3.4 Bcl-2、Bax 和 iNOS 蛋白表达

免疫组化染色镜下观察 Bcl-2、Bax、iNOS 阳性表达呈现棕黄色。术后 12 h 各组肾组织切片中 Bcl-2、Bax 和 iNOS 蛋白表达水平显示, Bcl-2 蛋白在 SO 组基本不表达, IR 组有少量表达, 而 DG 组可见片状阳性棕黄染色, 表达明显高于 IR 组; Bax 蛋白在 SO 组基本不表达, IR 组表达明显增强, DG 组表达低于 IR 组; iNOS 蛋白在 SO 组表达很少, IR 组表达显著, DG 组表达低于 IR 组。结果表明, RIRI 可以引起 Bcl-2、Bax、iNOS 蛋白表达水平的改变, 对促进 Bax、iNOS 蛋白表达作用更强; 而 DG 可以一定程度上抑制 Bax、iNOS 蛋白表达、促进 Bcl-2 表达。结果见图 4。

3.5 肾组织中蛋白表达的定量分析

与 SO 组比较, IR 和 DG 组在肾缺血再灌注损伤后 3, 6, 12 和 24 h 的 Bcl-2、Bax 和 iNOS 蛋白平均密度值明显增加($P<0.01$); DG 组与 IR 组比较发现, 各个时间 DG 组的 Bcl-2 蛋白平均光密

度值减小,而 Bax 和 iNOS 蛋白平均光密度值则增大($P<0.05$)。结果见图 5。

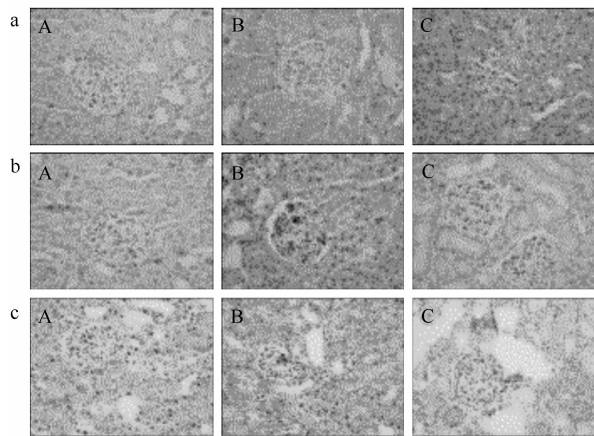


图 4 免疫组化蛋白表达结果(IHC 染色, 400×)
A-SO 组; B-IR 组; C-DG 组; a-Bcl-2 蛋白; b-Bax 蛋白; c-iNOS 蛋白

Fig 4 The results of protein expression (IHC staining, 400×)
A-SO group; B-IR group; C-DG group; a-Bcl-2 protein; b-Bax protein; c-iNOS protein

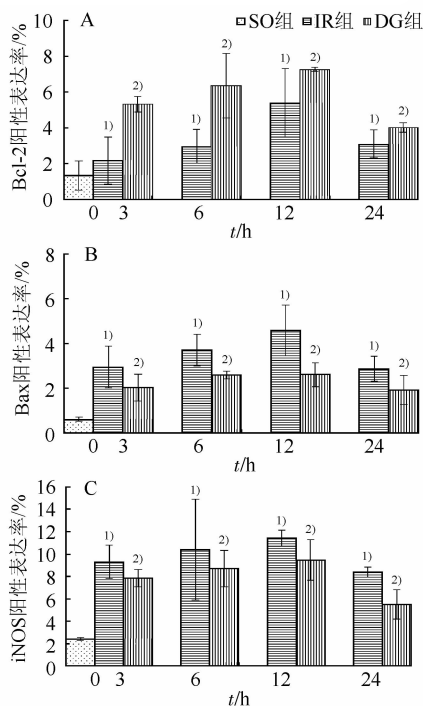


图 5 各组蛋白表达定量分析结果
A-Bcl-2 蛋白; B-Bax 蛋白; C-iNOS 蛋白
与 SO 组比较, 1) $P<0.05$, 2) $P<0.01$

Fig 5 The results quantitative analysis of protein expression
A-Bcl-2 protein; B-Bax protein; C-iNOS protein
Compared with SO group, 1) $P<0.05$, 2) $P<0.01$

4 讨论

腺苷是一种内源性核苷,来源于 ATP 降解,其降解产物主要是次黄嘌呤和肌苷。RIRI 后可启动一系列代谢紊乱,其中包括 ATP 耗损。研究表

明^[6],轻度到中度 ATP 耗损可诱发细胞凋亡,进而造成 RIRI 器官系统功能进一步损伤。DG 组大鼠灌胃 DG 后,腺苷、次黄嘌呤、肌苷的含量明显低于 IR 组,表明 DG 可抑制 ATP 降解,减轻 ATP 耗损引起的肾组织功能损伤,对 RIRI 具有保护作用,其保护机制可能与激活 A1、A2 受体,减少氧自由基产生、减轻细胞内钙超载,抑制血小板聚集、抑制内皮素释放、减少白细胞激活,以及抑制 RIRI 过程中肾组织 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和增加 cAMP 含量有关^[7]。

有研究表明 RIRI 与细胞凋亡及调控基因 Bcl-2 表达有关, Bcl-2 家族蛋白能够抑制细胞凋亡^[8]; 而细胞凋亡时产生 Bax 蛋白促进细胞凋亡, Bax 基因敲除研究证实 Bax 在急性肾缺血性肾小管细胞凋亡中起关键作用^[9]。Bcl-2 与 Bax 蛋白水平的高低与凋亡调控直接相关。本实验中 SO 组大鼠基本不表达 Bcl-2、Bax 蛋白,而 IR 组 Bcl-2 蛋白呈现少量表达, Bax 蛋白大量表达, Bcl-2/Bax 比值下降,细胞损伤严重; 而 DG 组 Bax 蛋白呈现表达较少, Bcl-2 蛋白大量表达,二者比例升高, RIRI 的损伤减轻。NO 在肾缺血再灌注损伤中可能发挥重要作用。Korkmaz 等^[10]研究芦丁对肾缺血再灌注损伤中诱生型 iNOS 的表达影响,结果表明高 iNOS 活性导致肾缺血再灌注损伤, iNOS 过表达催化产生高浓度 NO, 也可直接损伤肾组织细胞。大鼠给药 DG 后, DG 组在各时间点内肾组织 iNOS 表达均低于 IR 组,从而减轻肾功能的进一步受损。本研究证明, DG 对 RIRI 具有显著的保护作用,并且可以推测 DG 对 RIRI 的保护机制可能与抑制 ATP 降解,上调肾组织 Bcl-2 基因的表达,下调 Bax、iNOS 基因的表达有关,但其确切的机制有待进一步研究。

REFERENCES

- ERDOGAN H, FADILLIOGLU E, YAGMUREA M, et al. Protein oxidation and lipid pemxidation after renal ischemia-reperfusion injury: Protective effects of erdostein and N-acetyl-cysteine [J]. Urol Res, 2006, 34(1): 41-46.
- ZHAO J R, SHANG M Y, MENG L Q, et al. Screening effective parts of combination of Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix(A&A) for its renoprotective effects [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2010, 35(21): 2893-2898.
- YAN S C, ZHU B D, HAN Y G, et al. Effect of different Danggui Buxue Tang combination and compatibility on m yelosuppression in mice [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2008, 43(18): 1386-1390.
- SADIS C, TESKE G, STOKMAN G, et al. Nicotine protects

- kidney from renal ischemia/reperfusion injury through the cholinergic anti-inflammatory pathway [J]. PLoS One, 2007, 2(5): e469.
- [5] SHINGU C, KOGA H, HAGIWARA S, et al. Hydrogen-rich saline solution attenuates renal ischemia-reperfusion injury [J]. J Anesth, 2010, 24(4): 569-574.
- [6] DOMANSKI L, SAFRANOW K, DOLEGOWSKA B, et al. Hypoxanthine as a graft ischemia marker stimulates catalase activity in the renal vein during reperfusion in humans [J]. Transplant Proc, 2006, 38(1): 35-38.
- [7] LI F Z, KIMURA S, NISHIYAMA A, et al. Ischemic preconditioning protects post-ischemic renal function in anesthetized dogs: role of adenosine and adenine nucleotides [J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26(7): 851-859.
- [8] SOUERS A J, LEVERSON J D, BOGHAERT E R, et al. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets [J]. Nat Med, 2013, 19(2): 202-208.
- [9] WEI Q, DONG G, CHEN J K, et al. Bax and Bak have critical roles in ischemic acute kidney injury in global and proximal tubule-specific knockout mouse models [J]. Kidney Int, 2013, 84(1): 138-148.
- [10] KORKMAZ A, KOLANKAYA D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury [J]. Can J Surg, 2013, 56(1): 6-14.

收稿日期: 2013-08-23

乌灵菌粉对实验性动脉粥样硬化兔的抗氧化系统及炎症因子的影响

白云霞, 王刚, 王海红(杭州市第一人民医院, 杭州 310000)

摘要: 目的 探讨乌灵菌粉对实验性动脉粥样硬化兔的抗氧化系统及炎症因子的影响。方法 建立兔的动脉粥样硬化模型,同时连续给予乌灵菌粉(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)12周,测定兔血浆中总胆固醇、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙二醛(MDA)、C反应蛋白(CRP),白介素6,肿瘤坏死因子含量及超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力,并观察主动脉病理学形态改变。结果 给予乌灵菌粉可有效减小高脂饲料引起兔动脉粥样硬化斑块的厚度,同时使动脉粥样硬化兔血浆TG、MDA、CRP含量显著下降($P<0.01$),HDL-C含量、SOD及GSH-Px活力显著升高($P<0.01$)。结论 乌灵菌粉能降低动脉粥样硬化兔TG水平及增加抗氧化酶活力,抑制部分炎症因子的产生来达到降低或缓解动脉粥样硬化的目的。

关键词: 乌灵菌粉; 兔动脉粥样硬化; 抗氧化系统; 炎症因子

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2014)06-0671-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.007

Effects of *Xylaria Nigripes* Powder on Antioxidant System and Inflammation Factor in Experimental Atherosclerosis Rabbits

BAI Yunxia, WANG Gang, WANG Haihong(Hangzhou First Hospital, Hangzhou 310000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effects of *Xylaria nigripes* powder on antioxidant system and inflammation factor in experimental atherosclerosis rabbits. **METHODS** Atherosclerosis rabbits model were established, simultaneously continuously gives *Xylaria nigripes* powder 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 12 weeks, measured rabbit plasma total cholesterol(TC), triglyceride(TG), high density lipoprotein cholesterol(HDL-C), low density lipoprotein cholesterol(LDL-C), malondialdehyde (MDA), C-reactiveprotein (CRP), interleukin 6(IL-6), tumor necrosis factor - α (TNF- α) content, and the activities of superoxide dismutase(SOD) and gutathione peroxidase (GSH-Px). The pathomorphological changes of aorta were observed. **RESULTS** Administration of *Xylaria nigripes* powder could effectively reduce the thick of atherosclerotic plaques and decrease plasma content of TG, MDA and CRP ($P<0.01$), while rise the content of HDL-C and activities of SOD and GSH-Px($P<0.01$). **CONCLUSION** *Xylaria nigripes* powder reduces the level of TG, increase the activities of antioxidant and inhibit the production of part inflammatory factor to reduce atherosclerosis.

KEY WORDS: *Xylaria nigripes* powder; atherosclerosis; antioxidant system; inflammation factor

乌灵参是生长在土栖白蚁巢中的一种真菌的菌核。由于该真菌生长在地下深处,采掘困难,所以产量十分有限。有关单位经多年研究,采用

深层发酵技术培养乌灵参菌丝体,经加工制成的乌灵菌粉(*Xylaria nigripes* powder)具有镇静催眠、抗贫血、抗肿瘤、抗跌打损伤等多方面的作用^[1-2]。