床药理学与治疗学), 2009, 14(7): 823-826.
[2] TIAN X, WEI J F, LIU X H, et al. Influecnce of Bailing capsule on the activity of VEGF and inflammatory factor of the diabetic nephropathy patients with peritoneal dialysis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(7): 891-894.
[3] YAN Z D, XIAO J H, TAO D Q, et al. Clinical observation on the effect of combination therapy with telmisartan and kallidinoenase for early diabetic nephropathy [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2013, 33(2): 139-142.
[4] HA H, HWANG I A, PARK J H, et al. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 82(Suppl 1): S42-45.
[5] XU S, JIANG B, MAITLAND K A, et al. The thromboxane recep tor antagonist S18886 attenuates renal oxidant stress and proteinuria in diabetic apolipop rotein E2deficientmice [J]. Diabetes, 2006, 55(1): 110-119.
[6] BEISSWENGER P J, DRUMMOND K S, NELSON R G, et al. Susceptibility to diabetic nephropathy is related to dicarbonyl and oxidative stress [J]. Diabetes, 2005, 54(11): 3274-3281.
[7] LABUNSKYY V M, GLADYSHEV V N. Role of reactive oxygen species-regulated signaling pathogenesis [J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(12): 1362-1372.
[8] FANG F, WU Y G, DONG J, et al. Effects of total glucosides of paeony on oxidative stress in renal tissue of diabetic rats [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2008, 22(3): 199-204.
[9] WANG Y, LIU Q, QIN M Z, et al. Effects of finofibrate on expression Trx mRNA in arote of diabetic rat [J]. Shandong Med J(山东医药), 2011, 51(52): 39-41.
[10] CHUNG H W, LIM J H, KIM M Y, et al. High-fat diet-induced renal cell apoptosis and oxidative stress in spontaneously hypertensive rat are ameliorated by fenofibrate through the PPARα-FoxO3a-PGC-1α pathway [J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(6): 2213-2225.
[11] NI L S, JIN J N, ZHENG J C, et al. Inhibition of fenofibrate or rosiglitazone on production of extracellular matrix and oxidative stress of glomerularmesangial cells incubated with high concentration of glucose [J] Chin J Pharmacol Tox icol(中国药理学与毒理学杂志), 2009, 23(1): 34-38.
[12] ZHAO J J, ZHAO L F, YANG H, et al. Effects of fenofibrate on the triglyceride metabolism and oxidative stress in steatotic HepG2 cells [J]. Nat Med Front China(中国医疗前沿), 2011, 6(23): 4-5.
[13] YUAN J Y, XIE X J, LI Y, et al. Effects of fenofibrate on expression of MCP-1 and FN in kidney of diabetic rat [J]. Chin J Cell Mole Immunol(细胞与分子免疫学杂志), 2009, 25(9): 826-827.
[14] INCERTI J, ZELMANOVITZ T, CAMARGO J L, et a1. Evaluation of tests for micmalbuminuria screening in patients with diabetes [J]. Nephrol Dial Transplant, 2005, 20(5): 2402-2407.
[15] lINO K, LWASE M, SONOKI K, et a1. Combination treatment of vitamin C and desferrioxamine suppresses glomerular superoxide and prosta-glandin E production in diabetic rats [J]. Diabetes Obes Metab, 2005, 7(1): 106-109.
[16] MURAOKA S, MIURA T. Free radicals mediate cardiac toxicity induced by adriamycin [J]. Yakugaku Zasshi, 2003, 123(10): 855-866.
[17] FOGLI S, NIERI P, BRESCHI M C. The role of nitric oxide in anthracycline toxicity and prospects for pharmacologic prevention of cardiac damage [J]. FASEB J, 2004, 18(6): 664-675.
[18] ZHOU W B, YAO J, WANG J y, et al. Effects of polydatin on oxidative stress and Na^+, K^+-ATPase activity in kidney of diabetic rat [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2013, 29(11): 1625-1626.
[19] PRABHAKAR S S. Role of nitric oxide in diabetic nephropathy [J]. Nephrol, 2004, 24(4): 333-334.

收稿日期：2014-02-28

银杏内酯 B 对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究

熊年[1]，韦晟[2](1.安吉县人民医院，浙江 安吉 313300；2.南京市鼓楼医院，南京 210000)

摘要：目的 探讨银杏内酯 B(ginkgolide B，GB)对心肌缺血再灌注损伤大鼠模型的心肌保护作用及其保护机制。**方法** 建立大鼠心肌缺血再灌注模型，100 只 SD 大鼠随机分为 5 组：假手术组，缺血再灌注模型组，GB 高、中、低剂量组(60.0，30.0，15.0 $mg \cdot kg^{-1}$)，每组 20 只，于手术前灌胃给药 7 d。通过开胸结扎冠状动脉左前降支 30 min 后松开再灌注，形成心脏局灶缺血再灌注模型。造模 48 h 后检测心功能变化，染色计算梗死面积，病理切片染色评价氧化应激的程度，RT-PCR 和 Western blot 分别监测心肌细胞中凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 的变化，及 p-Erk、p-Jnk、p-p38 磷酸化水平变化。**结果** GB 预处理能显著改善大鼠缺血再灌注损伤后的心功能；GB 中、高剂量组可显著降低 Erk，Jnk 及 p38 磷酸化；激活抗凋亡和抗氧化通路，发挥对心肌缺血再灌注的保护作用。**结论** 在缺血再灌注前连续给药 GB 能缩小缺血再灌注损伤造成的梗死面积，改善心功能。这一保护作用可能是通过抗氧化和抗凋亡信号通路综合作用实现的。

关键词：银杏内酯 B；心肌缺血再灌注损伤；抗氧化；抗凋亡
中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1007-7693(2015)03-0289-06
DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.008

作者简介：熊年，男，副主任药师 Tel: 13355828886 E-mail: hm070115@163.com

Study on Protection of Ginkgolide B Against Myocardial Ischemia Reperfusion Injury and Its Mechanism

XIONG Nian[1], WEI Sheng[2](*1.Peoplel's Hospital of Anji, Anji 313300, China; 2.Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the cardioprotective effect of ginkgolide B(GB) against myocardial ischemia-reperfusion injury(MIRI) in rats. **METHODS** All of 100 rats were randomly allocated into five groups: sham group(*n*=20), model group(*n*=20), GB low, medium and high dosage groups(for each group, *n*=20). Previous to the operation, rats were orally administrated with drugs for continuous 7 days. During the operation, the left anterior descending coronary artery was ligated for 30 min before reperfusion, except for the rats in sham groups. After 48 h, myocardial function was detected, followed with measuring the infracted areas. The degree of oxidative stress around the damaged area was analyzed by immunohistochemical staining. The expression of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Bax, combined with the phosphorylation level of pro-inflammation proteins Erk, Jnk and p38 were detected with PCR or Western blot. **RESULTS** GB preconditioning significantly alleviated MIRI and post-injury myocardial function. Compared with model group, the phosphorylation level of pro-inflammation proteins were significantly decreased, as well as the oxidative stress level around coronary tissue measured with DHE staining. **CONCLUSION** In MIR model of rats, GB pre-treatment can significantly protect myocardial damage by anti-oxidative and anti-apoptosis comprehensive pathways.

KEY WORDS: ginkgolide B; myocardial ischemia-reperfusion injury; anti-oxidative stress; anti-apoptosis

急性冠状动脉疾病在世界范围内已经成为心血管发病与致死的主要原因。临床上部分患者接受治疗后实现缺血心肌组织血流灌注，但心脏功能反而进一步恶化，出现心律失常、梗死面积扩大等现象，这种冠状动脉血流恢复造成的心肌损伤加重的现象，被称为心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury，MIRI)[1]。

近年来有研究表明，活性氧水平升高与 MIRI 密切相关，氧化应激水平的升高与抗氧化能力失调导致多种有害过程的激活，如活性氧过氧化脂质、蛋白及 DNA 等，与炎症结合加剧心肌细胞损伤。MIRI 早期主要表现为细胞凋亡，随灌注时间推移，细胞逐渐出现坏死。这一过程中，促凋亡蛋白 Bax、Caspase-3 及抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达比例平衡被打破，促凋亡蛋白起主导作用[2-3]。

银杏内酯 B(ginkgolides B，GB)是银杏叶提取物的主要活性成分，具有抗炎、抗氧化等广泛生物学作用[4]。GB 对离体心脏缺血模型[5]、缺血缺氧等引起的脑细胞损伤有保护作用[6]。在心血管系统的研究中证实，GB 能保护离体缺血心脏与乳鼠缺血缺氧的心肌细胞[7]，对抗缺血引起的炎症和呼吸爆发产生的大量自由基，缓解心脏毒性[8]，但 GB 对心脏缺血保护作用的在体研究报道尚不多见。本实验通过经典的结扎大鼠心脏冠状动脉左前降支(LAD)造成 MIRI 模型，评价 GB 对于在体心肌缺血再灌注的保护作用，并从抗氧化、抗凋亡方面综合研究 GB 保护作用的相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品和试剂 银杏内酯 B(江苏鹏鹞药业有限公司产品，批号：050107)；水合氯醛(中国医药上海化学试剂公司，批号：20031208)；0.9%氯化钠注射液(国营张家港市制药厂，批号：05042606)；红四氮唑(TTC，批号：F20031212)，伊文思蓝[中国医药(集团)上海化学试剂公司，批号：F20030714]；p44/42 MAPK(Erk1/2)、p-Erk、Jnk、p-Jnk、p38 MAPK、p-p38、Bcl-2、Bax、GAPDH 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司，批号：SC-365062)；辣根根过氧化酶标记兔抗(美国 Cell signaling 公司，批号：7074)；Bcl-2、Bax 的 PCR 引物由 Invitrogen 公司合成；Trizol 总 RNA 提取液(Invitrogen 生物公司)；逆转录和常规 PCR 试剂盒购自 TAKARA 生物公司(批号：DRR019A)；Western blot 中使用的 DTT、PMSF、Aprotinin、Leupeptin 购自 Roche 公司；其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.1.2 动物 SPF 级 SD 大鼠，♂，实验动物合格证号：24301050，体质量：250~270 g，第二军医大学实验动物中心提供。放置在室温 18~23℃，12 h 明暗交替的动物房内饲养。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备与分组 健康 SD 大鼠，♂，共 100 只随机分为 5 组，每组 20 只。3 个给药组的给药剂量分别为：GB 高剂量组 60.0 $mg\cdot kg^{-1}$ (6 $mg\cdot mL^{-1}$)，中剂量组 30.0 $mg\cdot kg^{-1}$(3 $mg\cdot mL^{-1}$)，

低剂量组 15.0 mg·kg^{-1}(1.5 mg·mL^{-1})。所有大鼠均给予正常饮食饮水，给药前用生理盐水溶解 GB 粉末后口服灌胃给药。连续灌胃给药 7 d，1 次·d^{-1}，最后 1 次于缺血前 30 min 给药。假手术组及模型组均灌胃给予等量生理盐水。大鼠在术前和术后 48 h 全部采用心动超声检测心功能，心脏取材后 10 只用于心脏染色，5 只提取蛋白或 mRNA 检测相关指标变化，5 只分离冠状动脉用于免疫组化切片染色检测氧化应激水平。

1.2.2 大鼠急性心肌缺血再灌注模型 手术时大鼠用 7%水合氯醛麻醉后，从颈部正中切口打开颈部肌肉，在可视条件下插呼吸插管并接呼吸机。频率 70 次·min^{-1}，同步记录心电图观察 ST 段变化。开胸分离左侧胸骨外肌肉，用拉钩撑开胸骨暴露心脏。给药组和模型组结扎冠状动脉左前降支。结扎 30 min 后松开，缝合切口。假手术组穿线不结扎。

1.2.3 心功能检测、取材和心肌缺血范围确定 再灌注 48 h 后，采用二维超声检测左心室的收缩和舒张功能。大鼠麻醉固定，用 VisualSonic Vevo 2100 型彩色超声诊断仪，电子相控阵探头，频率 14 mHz 进行分析。在胸骨旁长轴切面常规测量 M 型超声，测定左室射血分数(ejection fraction，EF)和短轴缩短率(fractional shortening，FS)，评价左心室的收缩和舒张功能。心功能测定完成后，将大鼠深度麻醉，打开胸腔从左心室进针用预冷的生理盐水灌流，心脏完全变白后认为灌流充分，分离心脏取材。快速取出心脏，用生理盐水经冠状动脉灌流冲洗血液，再次结扎冠状动脉左前降支，用 1%伊文思蓝灌流，灌流完全后将心脏组织切成 4~5 片，用 1.5%TTC 复染 15 min，10%的中性甲醛溶液固定，数码相机拍照，通过 Photoshop 图像处理软件分析计算，其中梗死面积、缺血区域和正常区域分别显示为白色、红色和蓝色。

1.2.4 组织蛋白提取与蛋白含量分析 取心脏结扎线以下的左心室心肌组织匀浆，4 ℃ 5 000 r·min^{-1}，离心 10 min，弃上清。沉淀中加入 200~220 μL Lysis buffer，冰上孵育 30 min。4 ℃ 12 000 r·min^{-1} 离心 10 min，BCA 法测定蛋白浓度后，采用 Western blot 分析，测定目的蛋白的含量变化。

1.2.5 组织 RNA 的提取与定量分析 RNA 提取过程如下：组织加入 Trizol 试剂匀浆，每管加入 200 μL 的氯仿，用力振荡至溶液呈混悬液，室温静置 5 min。12 000 r·min^{-1}，4 ℃离心，15 min 后，将上层液体移入另一管中，加入等体积的异丙醇，翻转轻摇，室温静置 10 min；12 000 r·min^{-1}，4 ℃离心，10 min 后，弃上清，加入 1 mL 75%乙醇洗涤一次；12 000 r·min^{-1}，4 ℃离心，5 min 后弃上清，晾干，加入适量的 DEPC 水溶解 RNA。逆转录采用 TAKARA 商品化试剂盒进行。PCR 引物：Bax、Bcl2 和内参 18s 引物由英俊生物有限公司设计提供，引物序列如下：正向引物：5’CCAAGAAGCTGAGCGAGTGT 3’, 反向引物：5’TCACGGAGGAAGTCCAGTGT 3’；Bcl2 引物序列：正向引物：5’GGTGGTGGAGGAACTCTTCA 3’，反向引物：5’GAGCAGCGTCTTCAGAGACA 3’。

1.2.6 DHE 荧光染色检测冠状动脉组织冰冻切片 O_2^-水平 DHE 可自由透过活细胞膜进入细胞内，并被细胞内 O_2^-氧化，形成氧化乙啶，氧化乙啶可掺入染色体 DNA 中，产生红色荧光，根据活细胞中红色荧光的产生，可以判断 O_2^-含量的多少和变化，用荧光显微镜直接观察。小心分离心脏结扎线以下组织，包埋于 OCT 中，置于液氮几分钟后，–20 ℃过夜。将准备好的 OCT 包埋的样本固定与冰冻切片机上，进行冰冻切片，厚度为 4 μm。将玻片晾干后，使用流动的 PBS 冲洗 2 min 后，放入含有 4 μmol·L^{-1} DHE 预热的 PBS 中，避光，37 ℃孵育 30 min。孵育结束后，用流动的 PBS 冲洗 1 min 后，在倒置荧光显微镜下观察，采用波长为 480 nm，发射波长为 610 nm 的绿光激发光，观察和拍摄心肌组织红色发射图像。

1.3 数据处理与统计分析

数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示，统计分析采用 Prism 软件进行，组间比较采用 one-way ANOVA 分析后 Newman-Keuls Multiple Comparison Test 进行检验，$P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GB 预处理对大鼠心肌缺血再灌注后心功能的影响

与假手术组相比，模型组心脏 EF 显著降低($P<0.01$)，证明心肌缺血模型构建成功。与模型组相比，GB 中、高剂量组大鼠的心功能显著改善($P<0.01$)，左室 EF 显著提高($P<0.01$)，低剂量组与模型组相比无显著差异。短轴 FS 的变化趋势与 EF 基本一致。与模型组相比，3 个 GB 预处理组缺血后大鼠的 FS 均有显著改善。以上结果表明，3 个剂量的 GB 处理组均能显著改善大鼠心肌缺血再灌注损伤后的心功能，其中中、高剂量的保护作用更为明显。结果见图 1 和表 1。

表 1 各组大鼠的 EF 和 FS(n=20，$\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 EF and FS in rats of different groups(n=20, $\bar{x} \pm s$) %

指 标	假手术组	模型组	GB 低剂量组	GB 中剂量组	GB 高剂量组
EF	67.25±2.78	23.48±4.70[1)]	31.25±3.92	48.05±6.78[2)]	56.33±8.40[2)]
FS	44.56±3.01	21.54±3.77[1)]	28.22±5.69	35.66±5.98[2)]	39.87±4.57[2)]

注：与假手术组比较，[1)]P<0.01；与模型组比较，[2)]P<0.01。

Note: Compared with sham group, [1)]P<0.01; compared with modle group, [2)]P<0.01.

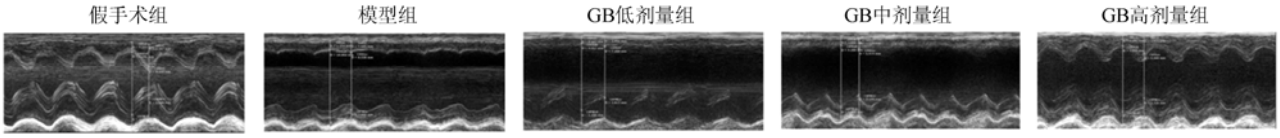

图 1 典型二维 M 型超声心动代表图

Fig. 1 The representitive image of echocardiography for each group

2.2 GB 预处理对心肌缺血再灌注后的心肌梗死面积的作用

各组危险区占左心室面积比(AAR/LV)没有显著差异的前提下，GB 中、高剂量处理组心肌梗死面积占危险区面积比(INF/AAR)较模型组显著降低(P<0.05 或 P<0.01)，低剂量组和模型组相比无显著差异。GB 中、高剂量处理组梗死区域占左心室面积比(INF/LV)分别为(48.98±5.87)%和(46.42±8.02)%，与模型组(57.04±5.66)%和低剂量组(51.98±3.80)%相比明显缩小。以上结果显示，GB 中、高剂量给药能有效减少梗死面积。结果见图 2。

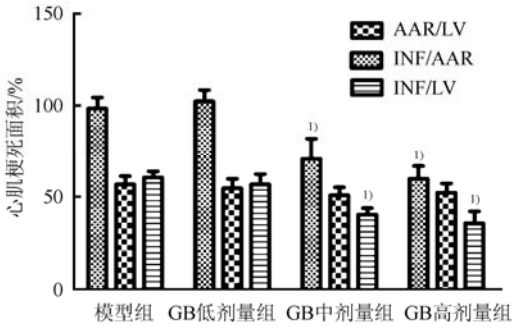

图 2 GB 预处理对心肌缺血再灌注后心肌梗死面积的影响(n=10)

与模型组比较，[1)]P<0.01。

Fig. 2 GB significantly reduced the infarcted areas after myocardial infarction-reperfusion injury (MIRI) of rat(n=10)

Compared with model gorup, [1)]P<0.01.

2.3 GB 预处理对氧化应激的影响

各组典型的血管段 DHE 染色拍照结果见图 3A。用各给药组相对于模型组荧光强度的百分比表示氧化应激强度，其中阳性对照组设定为 100%，荧光强度的量化结果表明，模型组大鼠心肌超氧阴离子水平较假手术组显著增高，给予 GB 低剂量处理时无显著降低，中、高剂量处理后显著降低心肌组织超氧阴离子水平，结果见图 3B。

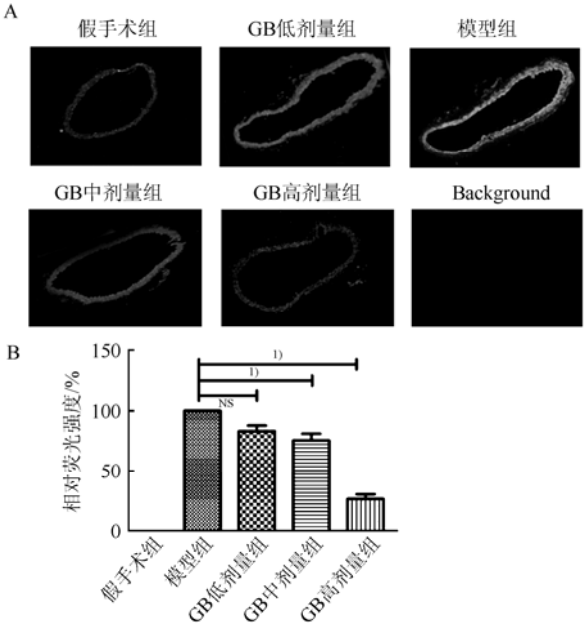

图 3 GB 预处理显著减少大鼠心肌缺血再灌注后的氧化应激水平(n=5)

A–组织冰冻切片染色图(40×)；B–荧光强度量化图；与模型组比较，[1)]P<0.01。

Fig. 3 GB pretreatment significantly reduced levels of oxidative stress in rat after myocardium ischemia and reperfusion(n=5)

A–representative images of tissue frozen sections(40×); B–fluorescence intensity quantified using the histogram; compared with model group. [1)]P<0.01.

2.4 GB 预处理对 MAPK 信号传导通路及凋亡相关蛋白表达的影响

采用 Western blot 法检测心肌缺血再灌注组织中 MAPK 信号通路的影响。与假手术组相比，模型组 Erk、Jnk、p38 的总蛋白水平维持不变、磷酸化水平显著上升，随着 GB 给药剂量的增加，中、

高剂量组磷酸化水平显著降低。提取心肌组织的mRNA，检测其中凋亡相关蛋白(Bax、Bcl-2)的基因表达变化，并通过 Western blot 验证其蛋白水平改变，两者得到的结果一致。3 个剂量 GB 预处理后，促凋亡蛋白 Bax 的 mRNA 和蛋白表达均显著降低，而损伤修复相关的蛋白 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达均显著升高，表明 GB 预处理能显著抑制心肌缺血再灌注损伤引起的 MAPK 信号通路的激活，抑制信号通路关键蛋白 Erk、Jnk、p38 的磷酸化水平。本部分实验结果表明，GB 通过抑制损伤通路、上调保护蛋白介导心肌组织损伤的修复。结果见图 4。

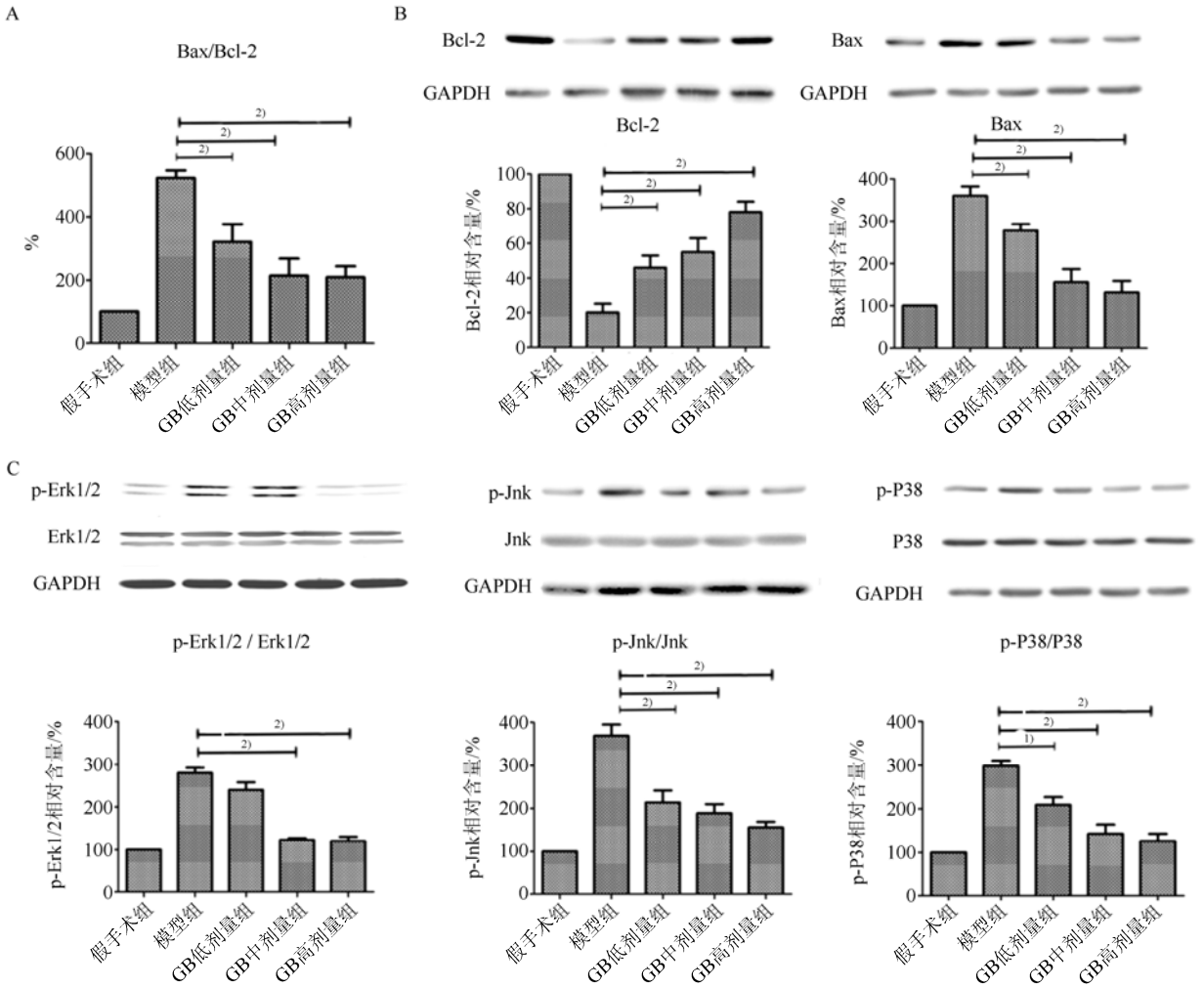

图 4 GB 预处理对 MAPK 信号传导通路及凋亡相关蛋白表达的影响(n=5)

A–Bax/Bcl-2 mRNA 水平比值量化图；B–心肌蛋白 Bcl-2、Bax 量化图；C–心肌蛋白 p-Erk、Erk、p-Jnk、Jnk 及 p-P38、P38 量化图；与模型组比较，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$。

Fig. 4 Effect of GB preconditioning on the signaling molecular of MAPK signaling pathway and inflammation proteins(n=5)

A–mRNA level of Bax/Bcl-2; B–the protein level of Bcl2 and Bax; C–the protein level of p-Erk, Erk, p-Jnk, Jnk and p-P38, P38; compared with model group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$.

3 讨论

本研究中缺血再灌注引起的氧化应激中，活性氧簇和自由基是公认的介导损伤的介质[9-11]，将不同处理后的大鼠冠状动脉分离并进行冰冻包埋切片，DHE 染色后用荧光显微镜观察，发现 GB 3 个剂量组可以不同程度地显著降低心肌缺血再灌注后氧化应激水平。

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径是介导细胞反应的重要信号系，参与了细胞生长、发育、分裂、死亡以及细胞间的功能同步等多种生理反应的过程[12]。P38MAPK 和 Jnk 是 MAPK 家族的重要成员，可以被不同的细胞应激信号如炎症因子所激活。p38 蛋白在心梗后心力衰竭的形成和发展过程中发挥重要作用，在临床上与心肌缺血、心肌肥大以及心力衰竭等病理过程呈显著相关性[11]。银杏提取物对多种组织的病理状态下 MAPK 通路

激活有抑制作用。如原代胚胎小鼠皮层神经元缺氧损伤模型中，银杏内酯预处理可通过降低 p38MAPK 磷酸化表达起到保护神经元的作用[13]，大鼠肾缺血再灌注损伤模型中，银杏注射液治疗能降低 p38 表达水平，缓解组织损伤程度[15]。但在整体动物水平，尚缺乏 MAPK 信号通路参与 GB 对心脏缺血再灌注损伤调节的报道。本研究 Western blot 结果提示，GB 可抑制由缺血再灌注引起的 p-Erk/Erk，p-Jnk/Jnk，p-P38/P38 的磷酸化水平上升，说明 MAPK 信号通路确实参与 GB 对心肌缺血再灌注急性损伤的保护作用。

p38 同时介导慢性炎症反应，持续上调的 p38 蛋白表达，参与大鼠急性心肌梗死后心肌炎症、心肌间质水肿等病理过程，心脏正常的生理功能和机能平衡被打破，导致了心梗后心功能进一步恶化。本实验仅探讨了 GB 对缺血再灌注后急性期的功能影响，对慢性炎症过程是否也有相应疗效，还有待进一步研究。

细胞凋亡在心肌缺血再灌注中起着重要的作用[16-17]。在死于急性心梗的病人心脏中，Bcl-2 和 Bax 2 种调节蛋白发生变化[18]。本研究通过 PCR 和 Western blot 法，分别检测缺血再灌注后心肌组织中 Bcl-2、Bax 的 mRNA 和蛋白水平，证实心肌缺血再灌注后，心肌组织中 Bcl-2 下降 Bax 上调，而 GB 治疗组中这一平衡变化过程被逆转，说明 GB 可有效减少心肌细胞的凋亡。

本研究基于 GB 对心肌细胞保护作用的文献报道基础上，进一步考察了抗氧化与抗凋亡相关指标在在体心肌缺血再灌注动物模型中的变化。通过实验证实 GB 能抑制 MAPK 炎症损伤通路，降低组织氧化水平，提高损伤修复通路 Bcl-2 的表达。综合实验数据说明，GB 对在体心肌缺血再灌注损伤的保护作用是通过抗凋亡和抗氧化等信号通路综合实现的，为扩大 GB 作为临床药物的治疗范围提供了可能。

REFERENCES

[1] HEUSCH G, LIBBY P, GERSH B, et al. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure [J]. Lancet, 2014, 383(9932): 1933-1943.

[2] KENNEDY D, JÄGER R, MOSSER D D, et al. Regulation of apoptosis by heat shock proteins [J]. IUBMB Life, 2014, 66(5): 327-338.

[3] ABRIAL M, DA SILVA C C, PILLOT B, et al. Cardiac fibroblasts protect cardiomyocytes against lethal ischemia-reperfusion injury [J]. J Mol Cell Cardiol, 2014(68): 56-65.

[4] LU D Q, CHEN J. Pharmacological activities of ginkgolides [J]. J Jiangsu Univ Sci Techonl(江苏理工大学学报：自然科学版), 2001, 22(2): 5-9.

[5] SHEN J, WANG J, ZHAO B, et al. Effects of EGb 761 on nitric oxide and oxygen free radicals, myocardial damage and arrhythmia in ischemia-reperfusion injury *in vivo* [J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1406(3): 228-236.

[6] HUANG J Y, SUN J N, MEI S C, et al. Protective effects of ginkgolide B on cerebral ischemia reperfusion injury in rats [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2008, 24(2): 269-272.

[7] TRITTO IP, WANG P, KUPPUSAMY R, et al. The anti-anginal drug trimetazidine reduces neutrophil-mediated cardiac reperfusion injury [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2005, 46(1): 89-98.

[8] 张根葆, 陈冬云, 桂常青, 等. 银杏内酯 B 对缺血再灌注大鼠心脏保护作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2005, 12(2): 92-94.

[9] ARSLAN F, LAI R C, SMEETS M B, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. Stem Cell Res, 2013, 10(3): 301-312.

[10] GAO X Q, XUE L. Study on the protective mechanisms of rosiglitazone on myocardial ischemia reperfusion injury in rabbits [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(3): 265-270.

[11] ZHAO J F, ZHU J, CHEN W, et al. Effect of tanshinone ⅡA on Notch signal pathway in the neonatal rat cardiac myocytes of ischemic/reperfusion injury [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(12): 1435-1439.

[12] SILVA M T, VALE A, SANTOS N M. Secondary necrosis in multicellular animals: an outcome of apoptosis with pathogenic implications [J]. Apoptosis, 2008, 13(4): 463-482.

[13] CHEN L L, YIN H, HUANG J, et al. The role of MAPK in the cardioprotective effects of eNOS gene transfection after myocardial infarction [J]. Acta Univ Med Nanjing(Nat Sci)(南京医科大学学报: 自然科学版), 2009(12): 1643-1647.

[14] 顾建兰, 张烨, 金淑仪等. p38MAPK 在银杏内酯和 NGF 预保护的化学性缺氧神经元中的表达[J]. 山东医药, 2007, 47(19): 73-74.

[15] 李丹, 张艳华, 陈少杰, 等. 大鼠肾缺血再灌注损伤后 p38MAPK mRNA 表达的变化及银杏达莫注射液对其的影响[J]. 浙江医学, 2010, 32(11): 1635-1640.

[16] KAJSTURA J, CHENG W, REIS K, et al. Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats [J]. Lab Invest, 1996, 74(1): 86-107.

[17] GOTTLIEB R A, BURLESON K O, KLONER R A, et al. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes [J]. J Clin Invest, 1994, 94(4): 1621-1628.

[18] MISAO J Y, HAYAKAWA M, OHNO S, et al. Expression of bcl-2 protein, an inhibitor of apoptosis, and Bax, an accelerator of apoptosis, in ventricular myocytes of human hearts with myocardial infarction [J]. Circulation, 1996, 94(7): 1506-1512.

收稿日期：2014-05-03