

银杏叶提取物预防在体心肌缺血再灌注损伤

朱莹(杭州 310009 浙江大学医学院附属第二医院心内科)

摘要 目的: 探讨中药成份银杏叶提取物(ginkgo biloba extract, EGb 761)在体心肌缺血再灌注损伤中的作用及其机制。方法: 以在体大鼠心肌缺血再灌注为模型, 分别于再灌注前10 min 静脉给予生理盐水或不同剂量的EGb 761, 检测缺血再灌注区心肌组织丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量。结果: 缺血再灌注使相应区域心肌MDA、NO含量上升, EGb 761 治疗组心肌MDA、NO含量下降, 但下降程度与EGb 761 剂量不呈量效关系。结论: EGb 761 通过抗氧自由基和清除一氧化氮能预防在体心肌缺血再灌注损伤。

关键词 银杏叶提取物; 心肌缺血再灌注损伤; 一氧化氮

The protective effect of ginkgo biloba extract(EGb 761) in myocardial ischemic/reperfused injury

Zhu Ying(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To evaluate the effect of ginkgo biloba extract(EGb 761) in myocardial ischemic/reperfused injury. **METHOD:** Rats(n= 8 in each group) were randomly divided into five groups: In group I, hearts were sham operated. In group II to V the left anterior descending coronary artery were ligated for 30 min followed by 10 min of reperfusion, and in the 20th minute of ischemia the rats were injected physiological saline, EGb 761 25mg/kg, 50mg/kg, 100mg/kg, respectively. The MDA and NO production were detected in the ischemic/reperfused myocardium. **RESULTS:** Compared to the saline injected group, EGb 761 treatment inhibited significantly the increase in MDA and NO production in the ischemic/reperfused myocardium. **CONCLUSION:** As a NO scavenger EGb 761 has antioxidant properties can protect heart from against myocardial ischemic/reperfused injury.

KEY WORDS Ginkgo biloba extract (EGb 761); Myocardial ischemic/reperfused injury; Nitric oxide

急性心肌梗塞溶栓治疗、经皮冠状动脉腔内成形术、冠状旁路血管移植术、体外循环等血运重建治疗都面临心肌缺血再灌注损伤。若能防治再灌注损伤, 缺血心肌将从再灌注疗法中获得更佳疗效。EGb 761 是从银杏叶中提取的活性物质。本文以在体大鼠心肌缺血再灌注为模型, 探讨EGb 761 静脉给药在心肌缺血再灌注损伤中的作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 40 只, 体重 254 ± 10.16 g, 由浙江大学医学院实验动物中心提供。

1.2 实验药物 银杏叶提取物(EGb 761) 由浙江康恩贝制药股份有限公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型: 参照文献建立在体大鼠心肌缺血再灌注模型^[1]。大鼠以戊巴比妥钠 40 mg/kg ip 麻醉。气管插管, 行人工呼吸。开胸暴露心脏。以左冠状静脉主干为标志, 于左心耳根部下方 2 mm 处进针, 以 0 号丝线穿过心肌表层在肺动脉圆锥旁出针。平衡 20 min 后将一直径为 1.5 mm 的凹槽硅胶管置于结扎线与血管之间, 拉紧结扎线使硅胶管压迫冠状左室支而致闭塞, 30 min 后松解结扎线使之再通。整个实验过程连续记录标准 II 导联心电图。结扎与再通是否成功以缺血期 ST 段抬高 $\geq 0.2 \text{ mV}$, 再灌注后 ST 段骤降 $\geq 50\%$ 为标准。

实验结束后迅速取出心脏用 Krebs-Henseleit 液逆灌 2 min , 以洗尽心脏内残血。剪取缺血再灌注区心肌, 液氮冷贮以备。

1.3.2 动物分组: 40 只 SD 大鼠随机分成 5 组, 每组 8 只。假手术组: 常规麻醉、开胸、结扎线穿过指定部位但不结扎, 平衡 20 min 后共观察 40 min 。对照组、药物 1 组、2 组、3 组: 手术后平衡 20 min , 缺血 30 min 再灌注 10 min , 缺血 20 min 时静脉分别给予生理盐水、EGb 761 25 mg/kg 、 50 mg/kg 、 100 mg/kg 。

1.3.3 心肌组织丙二醛(MDA)含量测定^[2]: 用硫代巴比妥酸(TBA)法, 结果以 nmol/g wet wt (每克组织湿重)表示。

1.3.4 心肌一氧化氮(NO)含量测定: 用 Griess 法, 结果以 $\mu\text{mol/g wet wt}$ 表示。

1.4 统计分析 心肌组织 MDA、NO 含量以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 先单因素方差齐性检验后 Bonferroni t 检验。取 $P < 0.05$ 为统计学显著水平。

2 结果

缺血再灌注使相应区域心肌组织 MDA、NO 含量明显增高, 与假手术组比较, 差别有显著意义。再灌注前静脉给予

EGb 761 能使缺血再灌注所引起的心肌 MDA、NO 含量的增高有所回落。药物各组与对照组比较, 差别均有显著意义。但各药物组间不同, 以 50mg/kg 组作用最显著, 再增加给药剂量, 作用并未相应增强。

表 1 EGb 761 对心肌缺血再灌注损伤的影响

组 别	EGb 761 剂量 (mg/kg)	MDA (nmol/g. wet. wt)	NO ²⁻ /NO ³⁻ (umol/g. wet. wt)
假手术组	0	46.73±3.36	120.88±9.84
对照组	0	186.21±14.01*	251.61±10.25*
药物 1 组	25	124.67±9.83**	183.45±7.18**
药物 2 组	50	77.18±10.09** #	96.34±8.73** #
药物 3 组	100	71.77±9.78** # a	90.42±9.20** # a

* 与假手术组比较 $P < 0.05$; # 与药物 1 组比较 $P < 0.05$

** 与对照组比较 $P < 0.05$; a 与药物 2 组比较 $P > 0.05$

3 讨 论

心肌缺血后恢复再灌注可减少心肌梗死面积, 改善心功能, 提高生存率。但再灌注本身也可造成心肌损伤, 即心肌缺血再灌注损伤。其机制尚不完全明确, 涉及氧自由基(OFR)损伤、细胞内钙超载、白细胞浸润等方面^[3]。

银杏叶是一种具有多种药理作用的中药, 含有黄酮类、萜类、酚类、氨基酸类等多种化学成份。EGb 761 是将银杏叶的有效成份加以分离、富集后制成的一种标准制剂, 含 24% 黄酮甙(主要是山奈酚和槲皮素的葡萄糖鼠李糖甙)和 6% 萜内酯类, 后者为银杏叶所特有。另 70% 为酚类、氨基酸类等成份。

EGb 761 对实验型心肌缺血再灌注损伤的保护作用已得到证实^[4,5], 它能提高缺血再灌注后心脏的冠脉流量、左室收缩功能, 减少再灌注心律失常的发生率及严重程度。

MDA 是心肌细胞膜脂质不饱和脂肪酸在 OFR 作用下发生过氧化反应的主要产物^[2]。本研究提示缺血再灌注引起再灌注区心肌 MDA 含量增高, 标志着再灌注引起 OFR 的大量产生。

本研究提示再灌注还造成 NO 的大量产生, 与有关报道一致^[6]。过量产生的 NO 参与再灌注损伤的病理过程^[7]。一方面使组织 cGMP 产生增加, 激活 cGMP 依赖性蛋白激酶, 减少细胞钙外流, 抑制心肌收缩功能。另一方面, 与再灌注时产生的 O₂ 结合生成过氧亚硝酸盐阴离子 ONOO⁻, 后者进一步分解产生自由基 HO· 和 NO²·, 促使细胞膜发生脂质过氧化, 损害心肌收缩功能。

本研究提示再灌注前静脉给予 EGb 761 可使再灌注区心肌 MDA、NO 含量明显低于对照组, 说明 EGb 761 具有清

除自由基, 抑制细胞膜脂质过氧化物生成的作用。而其清除自由基的机制, 部分可能是通过抑制心肌细胞合成 NO, 阻断 NO 与 O₂ 结合进而产生更大量的自由基。有研究报道^[8] EGb 761 抑制 NO 合酶(iNOS)mRNA 的表达, 从而减少 NO 的生成。

但 EGb 761 清除自由基的作用并不呈量效关系。本研究提示 EGb 761 50mg/kg 组降低心肌组织 MDA、NO 含量较 25mg/kg 组明显($P < 0.05$), 而与 100mg/kg 组比较差别无统计学意义($P > 0.05$), 似乎呈现“饱和现象”。推测 EGb 761 可能通过与细胞膜上的某种受体结合而发挥作用, 这种受体数量有限。具体机制有待进一步研究。

总之, EGb 761 作为银杏叶的活性提取物, 可减轻缺血再灌注对心肌的损害, 具有预防心肌缺血再灌注损伤的作用。其机制一方面是由于 EGb 761 的抗氧化特性, 清除了自由基的产生, 另一方面 EGb 761 对 NO 的合成具有抑制作用。但 EGb 761 对心肌的保护作用不呈量效关系, 其机制有待深入的研究。

参考文献

- 1 邓汉武. 大鼠心肌缺血再灌注损伤实验法. 中国药理学通报, 1989, 5(5): 317.
- 2 Chen LY, Nichols WW, Hendricks J, et al. Myocardial neutrophil infiltration, lipid peroxidation, and antioxidant activity after coronary artery thrombosis and thrombolysis. Am Heart J, 1995, 129(2): 211.
- 3 Hearse DJ, Bolli R. Reperfusion induced injury: manifestations, mechanisms, and clinical relevance. Cardiovasc Res, 1992, 26: 101.
- 4 Tosaki A, Engelman DT, Pali T, et al. Ginkgo biloba extract (EGb 761) improves postischemic function in isolated preconditioned working rat hearts. Coron Artery Dis, 1994, 5(5): 443.
- 5 朱 莹, 傅国胜, 施育平, 等. EGb 761 对猫在体心脏缺血再灌注损伤的保护作用. 中国药理学通报, 1996, 12(增): 16.
- 6 Matheis G, Sherman MP, Buckbery GD, et al. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. Am J physiol, 1992, 262: 616.
- 7 Loscalzo J, Wetch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. Prog Cardiovasc Dis, 1995, 38: 87.
- 8 Varga E, Bodi A, Ferdinandy P, et al. The protective effect of EGb 761 in isolated ischemic/reperfused rat hearts: a link between cardiac function and nitric oxide production. J Cardiovasc Pharmacol, 1999, 34(5): 711.

收稿日期: 2001- 03- 14