

10%、10% ~ 20%、> 20% 3 个组的阳性率分别为 10.8%、49.4%、82.2%。这说明 EBV - VCA IgM 的阳性率随着异型淋巴细胞百分比的增加而呈增加趋势。此外,经显微镜确认异型淋巴细胞分别单纯 1 种、2 种混合型、3 种混合型相对应的 EBV - VCA IgM 的阳性率分别为 12.4%、42.1%、86.0%,说明 EBV - VCA IgM 阳性率与异型淋巴细胞的形态学种类数量多少呈正相关。因此,对于 Sysmex XT - 2000i 提示异型淋巴细胞为阳性的血液标本必须用显微镜确认,报告异型淋巴细胞百分比和形态学特征。联合外周血淋巴细胞形态学和 EBV - VCA IgM 抗体检测异型淋巴细胞,有利于早期诊断和治疗 EBV 感染相关疾病。

参考文献

- 1 Bauer N, Nakagawa J, Dunker C, *et al.* Evaluation of the automated hematology analyzer Sysmex XT - 2000iVTM compared to the ADVIA® 2120 for its use in dogs, cats, and horses. Part II: Accuracy of leukocyte differential and reticulocyte count, impact of anticoagulant and sample aging [J]. J Vet Diagn Invest, 2012, 24(1):74 - 89
- 2 朱焕锋,何侠. 鼻咽癌患者血浆 EBV DNA、VCA - IgA 的检测意义 [J]. 肿瘤学杂志,2012,18(2):111 - 113
- 3 Hildesheim A. Invited commentary: epstein - barr virus - based screen-

- ing for the early detection of nasopharyngeal carcinoma - a new frontier [J]. Am J Epidemiol, 2013, 177(3):251 - 253
- 4 Ho Y, Tsao SW, Zeng M, *et al.* STAT3 as a therapeutic target for Epstein - Barr virus (EBV) - associated nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Lett, 2013, 330(2):141 - 149
 - 5 Hisashi I, Asuka N, Jun N, *et al.* Epstein - Barr virus (EBV) - associated gastric carcinoma[J]. Viruses, 2012, 4(12):3420 - 3439
 - 6 王微,遆红娟,农琳,等. 儿童系统性 EB 病毒阳性 T 细胞淋巴瘤增殖性疾病临床病理学分析[J]. 北京大学学报·医学版,2012,44(4):594 - 598
 - 7 袁利群,叶剑荣. EB 病毒抗体检测在儿童传染性单核细胞增多症诊断中的应用[J]. 湖南师范大学学报·医学版,2010,7(3):16 - 18
 - 8 Huang Y, Wei C, Zheng K, *et al.* The impact of serological features in Chinese children with primary or past Epstein - Barr virus infections [J]. Virol J, 2013, 10(1):55
 - 9 金瑄,王丽. 儿童传染性单核细胞增多症 56 例临床分析[J]. 中国美容医学,2012,21(12):166 - 167
 - 10 岑丹阳,陈纯,薛红漫. 儿童传染性单核细胞增多症异嗜性凝集抗体与 EBV - VCA IgM 检测的比较[J]. 中国微生物学杂志,2008,20(5):483 - 484

(收稿日期:2013 - 04 - 02)

(修回日期:2013 - 04 - 18)

银杏复方制剂对家兔肾脏缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究

成月英

摘要 **目的** 探讨银杏复方制剂对家兔肾脏缺血再灌注损伤时肾功能及肾组织 MDA 含量和 SOD、GSH - Px 活性的影响。**方法** 40 只家兔随机分为对照组、缺血组、再灌注组和银杏复方治疗组,每组 10 只,治疗组家兔应用银杏复方制剂灌胃(10ml/kg),每天 1 次,共 4 周;对照组、缺血组、再灌注组家兔均给予等量生理盐水灌胃。各实验组家兔均于再灌注 30min 后处死取材。光镜下观察肾脏组织学改变,常规生化法检测肾功能指标,采用硫代巴比妥酸法检测肾组织中 MDA 含量;黄嘌呤氧化法检测肾组织中 SOD、GSH - Px 活性。**结果** 缺血再灌注组肾组织 MDA 含量升高,SOD、GSH - Px 活性下降;治疗组肾功能受损明显好转,MDA 含量下降,SOD、GSH - Px 活性升高,与缺血再灌注组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 银杏复方制剂明显改善缺血再灌注肾脏的肾功能指标;使缺血再灌注肾组织 MDA 含量降低,SOD、GSH - Px 活性升高;肾间质小管充血水肿减轻;银杏复方制剂能保护缺血再灌注损伤的肾脏。

关键词 银杏复方制剂 肾损伤 缺血再灌注

Protective Effect and Mechanism of Ginkgo Biloba Preparations on Renal Ischemia - reperfusion Injury in Rabbits. Cheng Yueying. Nephrology Department, Baoding No. 1 Central Hospital, Hebei 071000, China

Abstract Objective To investigate the effect of ginkgo biloba preparations on rabbit kidney ischemia - reperfusion injury renal function and the MDA content of renal tissue and the activity of SOD, GXH - Px. **Methods** Forty rabbits were randomly divided into control group, ischemia group, reperfusion group and ginkgo biloba treatment group, with 10 rabbits in each group. Rabbits in the treat-

ment group were given, the ginkgo biloba preparations gavage (10ml/kg), 1 times a day, for a total of 4 weeks. Those in the control group, ischemia reperfusion group, were given equal volume of physiological salt water. Rabbits in Each experimental group were sacrificed after reperfusion for 30min. observation Kidney histology was observed ander light microscopic, Renal function indexes were detected with conventional biochemical method. The contents of MDA in kidney tissue were detected with glucosinolates barbituric acid method. Xanthine oxidation method was used to detect renal tissues SOD, GSH - Px activity. **Results** In ischemia - reperfusion group, the MDA contents increased, the activity of SOD, GSH - Px declined. In treatment group the results were reverse. Compared with ischemia - reperfusion group, the renal function improved significantly, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Ginkgo biloba preparations can improve renal function indexes of ischemia - reperfusion significantly, reduce ischemia - reperfusion kidney tissue MDA content, increase the activity of SOD and GSH - Px, relieve renal interstitial tubular hyperaemia oedema. Ginkgo biloba preparations can protect the kidney from ischemia - reperfusion injury

Key words Ginkgo biloba preparations; Kidney injury; Ischemia reperfusion

缺血再灌注损伤 (ischemia - reperfusion injury, IRI)是临床上常见一种病理现象,目前尚无确切的治疗药物。肾缺血再灌注是肾组织发生了代谢、结构和功能紊乱,导致功能衰竭。据报道 IRI 引起的急性肾小管坏死病死率很高。因此开发研制能改善肾脏缺血再灌注损伤的有效药物是影响急性肾衰竭、肾移植术后、休克后微循环再通患者功能恢复和存活的关键。笔者观察银杏复方制剂对肾脏缺血再灌注损伤保护作用,以动物模型家兔为研究对象,探讨肾缺血再灌注损伤时肾功能指标变化、肾组织 MDA 含量、SOD、GSH - Px 活性表达,为临床用药提供理论依据。

材料与方法

1. 材料:大耳白兔(日本)40 只,体重 1.5 ~ 2.0kg,雌雄不限,由河北医科大学实验中心提供,实验动物许可证号:SCXK(冀)2008 - 1 - 003,所有试验动物均饲养于动物室内。银杏复方制剂包括银杏叶 15g、川芎 10g、灯盏 10g、黄芪 3g、丹参 10g。免疫组化试剂购自北京中山生物有限公司。

2. 动物分组和模型制备:(1)分组:40 只家兔随机分为 4 组;分别为对照组、缺血组、再灌注组和银杏复方治疗组。(2)方法:银杏复方治疗组给予银杏叶复方制剂灌胃[10ml/(kg · d)],给药 4 周,最后 1 次灌胃 1h 手术;对照组、缺血组和再灌注组均以等量生理盐水灌胃,余同治疗组。(3)动物模型建立:用 3% 戊巴比妥钠(30mg/kg)进行麻醉,固定后,常规消毒手术区,腹部正中切口暴露双侧肾脏,分离右肾并切除,游离左肾及左肾蒂,缺血组用无损动脉夹夹闭肾蒂,阻断肾血流后关腹;对照组不夹闭左肾及左肾蒂,直接关腹;再灌注组夹闭左侧肾蒂缺血 30min 松夹,重新灌注,治疗组同再灌注组制成肾缺血再灌注模型。

3. 指标观察:肾功能指标检测:将家兔按再灌注时间点开腹取静脉血 2ml,常温下 3000r/min 离心 10min,分离血清,全自动生化分析仪测定肌酐和尿素氮;取血后处死家兔取缺血肾组织,经 10% 甲醛固定 24h,乙醇脱水,石蜡包埋,切片厚 4 μ m 做 HE 染色;检测肾组织 SOD、GSH - Px 活性、MDA 含量

变化采用硫代巴比妥酸法检测肾组织中 MDA 含量;黄嘌呤氧化法检测肾组织中 SOD、GSH - Px 活性。取肾脏组织匀浆,按照 SOD、GSH - Px、MDA 试剂盒说明操作。

4. 统计学方法:各组细胞间数据采用 SPSS 16.0 统计软件包进行处理。其中计数资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD - t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 银杏复方制剂对肾缺血再灌注损伤家兔血清 BUN 和 Scr 的影响:对照组血清 BUN、Scr 正常;缺血 30min 组血清 BUN、Scr 轻度升高,与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);缺血 30min 再灌注 30min 组血清 BUN、Scr 明显上升,与缺血组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);银杏复方治疗组血清 BUN、Scr 下降,明显优于再灌注组,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 银杏复方制剂对肾缺血再灌注损伤家兔血清 BUN 和 Scr 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	<i>n</i>	BUN (mmol/L)	Scr (μ mol/L)
对照组	10	7.02 $\pm$ 3.56	83.56 $\pm$ 42.42
缺血组	10	8.76 $\pm$ 4.20	85.76 $\pm$ 45.81
再灌注组	10	23.88 $\pm$ 5.69 [△]	290.11 $\pm$ 51.23 [△]
银杏复方治疗组	10	17.66 $\pm$ 5.22 ^{△#}	212.35 $\pm$ 49.28 ^{△#}

与缺血组比较, $\Delta P < 0.05$; 与再灌注组比较, $\# P < 0.05$

2. 银杏复方制剂对缺血再灌注损伤家兔肾组织 MDA 含量和 SOD、GSH - Px 的影响:对照组肾组织 MDA 含量较低, SOD、GSH - Px 活性较高,缺血 30min 组肾组织 MDA 含量、SOD、GSH - Px 活性无明显变化,与对照组无明显差别;缺血 30min 再灌注 30min 组 MDA 在肾组织含量明显升高, SOD、GSH - Px 活性明显下降,与缺血组比较具有统计学差异($P < 0.05$);银杏复方治疗组 MDA 含量水平下降, SOD、

GSH - Px 活性升高,与缺血再灌注组比较具有显著性差异($P < 0.05$)(表2)。

表2 银杏复方制剂对缺血再灌注损伤家兔肾组织 MDA 含量和 SOD、GSH - Px 活性的影响

组别	n	MDA(mmol/g)	SOD(U/g)	GSH - Px[U/(mg · prot)]
对照组	10	3.311 ± 0.691	28.220 ± 2.008	66.278 ± 3.112
缺血组	10	3.917 ± 1.261	27.012 ± 1.699	64.992 ± 1.896
再灌注组	10	6.601 ± 1.591 [△]	20.001 ± 1.695 [△]	22.192 ± 1.900 [△]
银杏复方治疗组	10	4.336 ± 1.288 [#]	29.500 ± 1.099 [#]	51.008 ± 1.502 ^{△#}

与缺血组比较, [△] $P < 0.05$;与再灌注组比较, [#] $P < 0.05$ 。

讨 论

引起缺血再灌注损伤的机制可能与氧自由基生成过多、细胞内钙超载、中性粒细胞及补体系统活化、细胞凋亡、脂类参与、一氧化氮、内皮素等多因素有关^[1]。银杏叶总黄酮通过抑制肾小管上皮细胞凋亡保护肾缺血再灌注损伤^[2]。其中氧自由基是造成缺血再灌注损伤的直接原因,氧自由基可以增强膜脂质过氧化、抑制蛋白质的功能、破坏核酸和染色体等,导致细胞坏死。超氧化物歧化酶是氧自由基酶性清除剂,丙二醛是脂质过氧化反应的中间产物,是反映氧自由基损伤的客观指标^[3]。研究发现,黄芪注射液能改善缺血再灌注损伤大鼠血中 MDA 及 LDH 含量,提高肾组织 SOD 活性,降低 IL - 6、p - 选择素水平,保护肾缺血再灌注肾脏^[4-6]。应用银杏叶提取物能显著降低肾 I/R 损伤大鼠血浆和肾皮质中 MDA 含量,提高 SOD 活性;肾缺血再灌注损伤时肾脏组织 Na⁺ - K⁺ - ATP 酶和 Ca²⁺ - ATP 酶活性降低,其机制与肾脏钠泵和钙泵有关,应用人参皂苷 Re 后能使肾脏 Na⁺ - K⁺ - ATP 酶和 Ca²⁺ - ATP 酶活性升高,抑制细胞内钙离子浓度,减轻了细胞内钙超载导致组织损伤^[7]。灯盏花素通过抑制氧化应激减轻肾脏缺血再灌注,保护肾脏^[8]。本研究发现再灌注组肾组织升高 MDA 含量,降低 SOD、GSH - Px 活性,给予银杏复方制剂后,肾组织 MDA 含量降低,SOD、GSH - Px 活性升高,与缺血再灌注组比较,差异有统计学意义。

BUN、Scr 是临床上反映肾功能的主要指标。Scr 是机体肌肉分解代谢的含氮的有机物,BUN 是人体蛋白质分解代谢的主要含氮终末产物,主要经过血液循环从肾脏排出体外,其中血液中 BUN 浓度取决于肾小球滤过功能,如果肾脏受到损伤,肾小球滤过率降低到临界点后,血中 BUN、Scr 的浓度就会明显上升。本实验表明肾缺血灌注组血清 BUN、Scr 明显上升,表明缺血再灌注使肾脏受到损伤,且随灌注时间延长损伤加重。应用银杏复方制剂后明显降低血清中 BUN、Scr 浓度,提高了肾小球滤过率,减少了肾实

质的损伤度,改善肾功能。光镜结果肾缺血再灌注肾小管细胞排列紊乱,部分上皮细胞变性,肾间质充血水肿明显。应用银杏复方制剂后肾小管排列紊乱明显减轻,上皮细胞无明显变性,肾间质充血、水肿明显减轻;盐酸小檗碱有保护肾缺血再灌注肾小管上皮细胞作用^[9]。以上结果表明,本实验的肾缺血再灌注损伤模型是成功的;银杏复方制剂对急性肾缺血再灌注损伤具有明显保护作用。

银杏复方制剂由银杏叶、川芎、丹参、灯盏细辛、黄芪组成。有实验研究显示,银杏叶提取物能降低肾缺血再灌注损伤大鼠血浆和肾脏皮质中 MDA 含量,提高 SOD 活性,抑制脂质过氧化,扩张血管改善脑循环,抗凝、抗血小板凝集等作用,临床上对心、脑血管疾病具有良好的治疗作用。

参考文献

- 贾辉,刘志勇. 乌司他丁对肾脏缺血再灌注损伤的保护[J]. 江苏医药,2005,31(3):194-196
- 朱家军,夏安周,王永万,等. 银杏叶总黄酮对急性肾缺血再灌注损伤大鼠的肾保护作用及机制[J]. 山东医药,2010,50(39):8-10
- 睢大员,韩丛成,于晓风,等. 刺五加叶皂苷对高脂血症大鼠血脂代谢的影响及其抗氧化作[J]. 吉林大学学报·医学版,2004,30:56-59
- 苏南湘,祖雄兵. 黄芪对肾缺血再灌注损伤保护作用机制研究[J]. 中国现代医学杂志,2004,14(8):142-147
- 严彬,牛茜,南晓东,等. 黄芪注射液对大鼠肾缺血再灌注损伤的影响[J]. 医药导报,2006,25(1):10-13
- 夏安周,邢淑华,张召辉,等. 银杏叶提取物对肾缺血再灌注损伤保护作用[J]. 中国药理学通报,2004,20(7):839-840
- 曹霞,谷欣权,陈燕萍,等. 人参皂苷 Re 对肾脏缺血再灌注损伤大鼠肾功能及 ATP 酶的影响[J]. 中国实验诊断学,2009,13(8):1025-1027
- 贾俊海,周留正,陈素仙,等. 灯盏花素对大鼠肾脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 江苏医药,2011,37(5):506-508
- 张日东,白瑞苗,魏敬,等. 盐酸小檗碱对大鼠肾小管上皮细胞缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):165-168

(收稿日期:2013-04-17)

(修回日期:2013-05-03)