

木芙蓉叶有效组分对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用*

Effect of Leaves of *Hibiscus mutabilis* L. on Renal Ischemia Reperfusion Injury of Rat Model

符诗聪¹ 罗仕华¹ 周玲珠² 张凤华¹
Fu Shicong¹ Luo Shihua¹ Zhou Lingzhu² Zhang Fenghua¹

(1. 上海第二医科大学附属瑞金医院伤科, 上海伤骨科研究所 上海市瑞金二路 197号 200025;
2. 上海第二医科大学附属瑞金医院生化室 上海市瑞金二路 197号 200025)

(1. Dept. of Traumatology, Ruijin Hospital, SSMU, 197 Ruijin Erlu, Shanghai, 200025, China;
2. Dept. of Ruijin Hospital, SSMU, 197 Ruijin Erlu, Shanghai, 200025, China)

摘要 为了探讨木芙蓉叶有效组分 (MFR) 对大鼠肾缺血再灌注损伤中的作用, 采用大鼠肾缺血再灌注模型, 木芙蓉叶有效组分灌胃给药, 观察血清尿素氮 (BUN)、肌酐 (Scr) 及肾组织病理变化, 并检测白细胞介素-1 (IL-1) 的含量。结果再灌注 24 h 后, 治疗组血 BUN 及 Scr 明显降低 ($P < 0.05$); 治疗组血液 IL-1 含量与非治疗组相比有显著性差异 ($P < 0.05$); 而且治疗组肾组织病理损伤较非治疗组明显减轻。木芙蓉叶有效组分对肾缺血再灌注损伤有保护作用, 其原因可能与抑制 IL-1 等的生成有关。

关键词 有效组分 木芙蓉叶 肾缺血再灌注 血清尿素氮 肌酐 白细胞介素-1

中图分类号 R965.3; Q949.757.3

Abstract To explore the role of effective fraction of *Hibiscus mutabilis* L. (MFR) on renal ischemia reperfusion injury in rat. Using a model of renal ischemia-reperfusion injury, determined the change of blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr), the pathological change of kidney tissue and the level of interleukin-1 (IL-1) after the *Hibiscus mutabilis* L. was administrated. Results At 24 h after reperfusion, the BUN and Scr level decreased significantly in MFR group ($P < 0.05$). The level of IL-1 was marked difference between MFR group and blank group ($P < 0.05$). The renal pathological injury of MFR group was mitigated significantly. The results suggest that *Hibiscus mutabilis* L. protects kidney from ischemia-reperfusion injury, and that this action may underline its inhibitory action on the interleukin-1 releasing.

Key words effective fraction, leaves of *Hibiscus mutabilis* L., renal ischemia reperfusion, blood urea nitrogen, serum creatinine, interleukin-1

木芙蓉叶始载于《本草纲目》, 为锦葵科植物木芙蓉 (*Hibiscus mutabilis* L.) 的叶。具有很好的凉血、解毒、消肿、止痛等功效^[1]。经过长期研究, 我们发现并确定了该药的有效组分, 并证实其有很好的抗非特异性炎症的作用^[2]。为对其进行深入研究, 我们选用了大鼠的肾缺血再灌注模型观察在缺血状态下木芙蓉叶有效组分对肾脏组织的保护作用, 从不同的角度来阐明木芙蓉叶有效组分的抗炎作用机理。

1 材料和方法

1.1 动物模型及分组

健康、雄性 Wistar 大鼠 55 只, 体重 (200±20)

g 由中国科学院上海动物实验中心提供。大鼠用 2.5% 戊巴比妥钠 (ip, 1 mg/kg) 腹腔麻醉后, 先切除右肾, 同时分离左肾动脉, 并用无损伤微动脉夹夹闭左肾动脉 60 min 后恢复灌注; 随机分为木芙蓉叶有效组分治疗组 (MFR) 和非治疗组 (对照组), 并分别按不同再灌注时间 1 h、3 h、6 h、12 h、24 h 再分为 5 组。治疗组在造模前 1 h 及再灌注前 15 min 分别灌胃给药 1 次, 剂量为人体的 10 倍量。非治疗组则给予等量的生理盐水。同时另设假手术组 (仅作麻醉、开腹, 但不阻断肾脏血流, $n = 5$) 作为对照。

木芙蓉叶有效组分委托上海第二医科大学化学教研室提取, 采用乙醇回流法进行提取, 其主要成分为总黄酮。详见文献 [3]。

2003-11-19 收稿, 2004-03-01 修回。

* 本课题为上海市教委资助重点课题 (课题编号: 01B11)。

1.2 标本采集及检测指标

在相应的再灌注时间点开腹从腹主动脉取血,离心后取部分血清进行血清尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Scr) 测定,余下血清 (-70°C保存) 进行白细胞介素-1 (IL-1) 含量测定。同时取肾组织置 10% 福尔马林固定。光镜 (HE染色) 下观察肾组织病理变化。白细胞介素-1采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 进行测定。ELISA 试剂盒购于上海晶美生物有限公司。

1.3 统计学方法

数据以均数±标准差 ($x \pm s$) 表示,组间差异采用 *t* 检验。

表 1 不同时间点各组大鼠的血 BUN 水平

Table 1 The result of the blood urea nitrogen value of each group

组别 Group	BUN水平 Urea nitrogen value ($x \pm s$, mmol/L)			
	1 h	3 h	6 h	24 h
MFR组 MFR group	12.48±1.81	23.16±3.16	27.88±2.98	50.90±10.74
对照组 Control group	14.30±1.16	21.76±1.94	30.12±2.63	64.52±5.09
假手术组 Sham-operation group	6.74±1.11	6.80±1.50	6.06±1.07	6.72±1.30

* MFR治疗组和对照组相比: $P < 0.05$ 。Compared with control group $P < 0.05$ 。

表 2 不同时间点各组大鼠的血 Scr 水平

Table 2 The result of serum creatinine value of each group

组别 Group	Scr水平 Serum creatinine value ($x \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)			
	1h	3h	6h	24h
MFR组 MFR group	79.60±4.39	163.60±11.61	138.00±17.99	264.80±81.30 [▲]
对照组 Control group	79.20±5.21	158.60±2.70	158.40±27.37	466.20±35.44
假手术组 Sham-operation group	39.80±3.19	38.80±4.76	37.00±6.96	38.40±6.23

▲ MFR治疗组和对照组相比: $P < 0.01$ 。▲ Compared with control group $P < 0.01$ 。

2.2 木芙蓉叶有效组分对血清白细胞介素-1含量的影响

表 3显示,肾缺血 1h,再灌注 1h后,木芙蓉叶有效成分治疗组 IL-1含量为 (122.79±27.56) pg/ml,对照组为 (180.28±33.15) pg/ml,治疗组 IL-1水平明显低于对照组 ($P < 0.05$)。缺血 1h,再灌注 3h后,治疗组和对照组 IL-1含量分别为 (15.58±8.59) pg/ml和 (34.13±10.02) pg/ml,两组之间具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。假手术组大鼠血清中不能检测出 IL-1。

3 讨论

经过前期研究,我们从木芙蓉叶中提取了一种有效组分,其主要成分为总黄酮,研究表明其有良好的抗非特异性炎症作用。肾缺血再灌注损伤 (IRI) 是临床上一种常见的病理现象,虽然其发病机制还不完全

2 结果

2.1 血尿素氮及肌酐的变化

假手术组大鼠 BUN 为 (6.72±1.30) mmol/L, Scr 为 (38.40±6.23) $\mu\text{mol/L}$ 。缺血 1h并再灌注 24h后,对照组大鼠 BUN 为 (64.52±5.09) mmol/L,而 MFR治疗组 BUN 为 (50.90±10.74) mmol/L,两组之间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。MFR治疗组和对照的血清 Scr 分别为 (264.80±81.30) $\mu\text{mol/L}$ 和 (466.20±35.44) $\mu\text{mol/L}$,两者之间具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。详见表 1和表 2。

表 3 各组白细胞介素-1含量

Table 3 The result of interleukin-1 level of each group

组别 Group	IL-1含量 Interleukin-1 level ($x \pm s$, pg/ml)	
	1 h	3 h
MFR组 MFR group	122.79±27.56	15.58±8.59
对照组 Control	180.28±33.15	34.13±10.02*

* MFR治疗组和对照组相比: * $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。Compared with control * $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

清楚,但诸多证据表明炎症机制在肾 IRI 的发病中起关键作用^[4]。并有众多研究发现炎症细胞因子在肾 IRI 的发病过程中起着重要作用^[5],白细胞介素-1 (IL-1) 就是其中之一。

本研究结果显示,肾缺血再灌注损伤后,肾功能明显下降,血 BUN 和 Scr 明显上升,肾组织中炎症

细胞浸润明显。但经木芙蓉叶有效组分治疗后肾功能改善明显, 肾组织病理损伤减轻, 说明木芙蓉叶有效组分能防止肾脏缺血再灌注损伤。同时实验还证实肾 IRI 后血中 IL-1 的水平升高, 再灌注 1 h 后血中 IL-1 水平比再灌注 3 h 高, 这与 Kelly K J 等^[6]的研究结果一致。经木芙蓉叶有效组分治疗后, 再灌注 1 h 和 3 h 时血中 IL-1 水平都下降明显, 与对照组相比具有统计学意义 ($P < 0.05$)。由此我们推测, MFR 对肾缺血再灌注损伤的保护作用是其抗非特异性炎症的结果, 其可能的机制是通过减轻炎症反应, 降低 IL-1 等炎性细胞因子的表达及活性来实现的。

参考文献

- 1 江苏新医学院. 中药大词典(上). 上海: 人民卫生出版社, 1997. 371~ 372.
- 2 符诗聪, 张凤华, 史炜镇, 等. 木芙蓉有效组分的抗炎实验研究初步报道. 上海第二医科大学学报, 2001, 21(1): 14~

- 16.
- 3 姚莉韵, 王国艳, 王丽平. 木芙蓉叶提取工艺研究. 中成药, 2000, 22(2): 827~ 829.
- 4 Fady Chamoun, Melissa Burne, Michael O'Donnell, et al. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. Front Biosci, 2000, 5(1): E103 ~ E109.
- 5 Azuma H, Nadeau K, Takada M, et al. Cellular and molecular predictors of chronic renal dysfunction after initial ischemia/reperfusion injury of a single kidney. Transplantation, 1997, 64(2): 190~ 197.
- 6 Kelly K J, Williams W W, Colvin R B, et al. Interleukin-1-deficient mice are protected against ischemia renal injury. J Clin Invest, 1996, 97(4): 1056~ 1063.

(责任编辑: 邓大玉)

(上接第 130 页 Continue from page 130)

- 4 Samakoglu S, Philipsen S, Grosveld F, et al. Nucleotide changes in the γ -globin promoter and the (AT)_x(AT)_y polymorphic sequence of β LCR HS₂ region associated with altered levels of HbF. European Journal of Human Genetics, 1999, 7(3): 345~ 356.
- 5 Peri K G, Gagnon J, Gagnon C, et al. Association of -158(C \rightarrow T) (Xmn I) DNA polymorphism in γ -globin promoter with delayed switchover from fetal to adult hemoglobin synthesis. Pediatric Research, 1997, 41(2): 214 ~ 217.
- 6 Winichagoon P, Fucharoen S, Wilairat P, et al. Nondeletional type of hereditary persistence of fetal haemoglobin: molecular characterization of three unrelated Thai HPFH. British Journal of Haematology, 1994, 87(4): 797~ 804.
- 7 Merghoub T, Penichon B, Maier-Redelsperger M, et al. Dissection of the association status of two polymorphisms in the β -globin gene cluster with variations in F-cell number in non-anemic individuals. American Journal of Hematology, 1997, 56(4): 230~ 243.
- 8 Hardison R, Slightom J L, Gumucio D L, et al. Locus control regions of mammalian β -globin gene clusters: combining phylogenetic analyses and experimental results to gain functional insights. Gene, 1997, 205(1~ 2): 73~ 94.
- 9 贾春平, 黄淑娟, 曾溢滔. 基因座控制区元件 HS₂, HS₃ 对 β 珠蛋白基因表达的调控. 遗传学报, 2002, 29(7): 565~

570.

- 10 Ofori-Acquah S F, Lalloz M R, Layton D M. Nucleotide variation regulates the level of enhancement by hypersensitive site 2 of the beta-globin locus control region. Blood Cells Mol Dis, 2001, 27(5): 803~ 811.
- 11 Adekile A D, Kitundu M N, Gu L H, et al. Haplotypes in SS patients from Nigeria, characterization of one atypical beta S haplotype no. 19 (Benin) associated with elevated HbF and high G gamma levels. Ann Haematol, 1992, 65(1): 41~ 45.
- 12 Beris P, Kitundu M N, Baysal E, et al. Black beta-thalassemia homozygotes with specific sequence variations in the 5' hypersensitive site-2 of the locus control region have high levels of fetal hemoglobin. Am J Hematol, 1992, 41(2): 97~ 101.
- 13 Adekile A D, Dimovski A J, Oner C, et al. Haplotype-specific sequence variations in the locus control region (5' hypersensitive sites 2, 3, 4) of β s chromosomes. Hemoglobin, 1993, 17(5): 475~ 478.
- 14 Kukreti R, B-Rao C, Das S K, et al. Study of the single nucleotide polymorphism (SNP) at the palindromic sequence of hypersensitive site (HS)4 of the human beta-globin locus control region (LCR) in Indian population. Am J Hematol, 2002, 69(1): 77~ 79.

(责任编辑: 邓大玉)