

体外诱导脂质过氧化损伤模型为观察药物清除自由基提供了有效的手段。体外诱导试验中 H_2O_2 为反应提供了大量活性氧化剂,诱发多不饱和脂肪酸氧化,形成过氧化物或引起红细胞膜脂质氧化、膜蛋白发生聚集,导致红细胞溶血。MDA是脂质氧化的主要产物,所以能够通过测定 MDA和红细胞溶血程度可判断自由基的多少。本实验结果证实,黄芪可以有效地抑制牛的肝、肾匀浆自发性脂质过氧化、 H_2O_2 诱发的肝、肾匀浆脂质过氧化反应和 H_2O_2 所致红细胞溶血。同时在对脂质过氧化产物丙二醛 (MDA)的研究中,证实黄芪可以有效的降低体外组织的 MDA的生成。为临床运用黄芪进行抗氧化治疗疾病提供了理论依据。

参考文献

[1]《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 341—355.

- [2] 曹炳章. 中国医学大成(十)[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 256—257.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 941.
- [4] Elena A. Kono. Identification and characterization of human MT5-MMP, a new membrane-bound activator of progelatinase A over-expressed in brain tumors[J]. Cancer Res, 1999, 2570—2576.
- [5] Marx III. Oxygen free radical linked to many diseases[J]. Science, 1987, 235(4788): 529.
- [6] 邓柯玉, 辛洪波, 张宝恒. 云南干草总皂苷清除氧自由基和抗脂质过氧化作用[J]. 中国药理学通报, 1993, 9(5): 350.
- [7] Hess ML, Manson NH. Molecular oxygen: friend or foe? The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury[J]. J Mol Cell Cardiol, 1984, 16(11): 969—985.

1 广西医科大学 (530021)

2 广西医科大学第一附属医院肾内科

中药对环境内分泌干扰物染毒大鼠下丘脑 GnRH及其受体、垂体 GH、FSH、LH mRNA和蛋白表达的影响

乔丽丽* 孙春美* 沈伟勤* 樊志荣* 张小丽*

近年来随着环境污染的日益严重,环境内分泌干扰物 (EEDs)导致的内分泌、生殖系统的疾病已越来越受到重视,这些大多具有拟雌激素活性,如果进入儿童体内,可与生殖器官上的雌激素受体结合,导致性早熟。大量临床研究已经证实了滋阴泻火中药对性早熟患儿具有显著疗效。为进一步探讨中药的作用机制,我们选择了两种具有代表性的 EEDs: 辛基酚 (OP) 和双酚 A (BPA) 复制染毒动物模型,并用中药进行实验干预,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 21天龄 Sprague-Dawley大鼠共 30只,体重 (52±3)g,购自上海斯莱克凯实验动物有限责任公司,许可证号: SCXK(沪) 2003-0003.

1.1.2 药物 滋阴泻火中药方由生地黄 15g 炙龟甲 12g 知母 9g 等组成,由复旦大学附属儿科医院中药制剂室煎制成浓缩剂,每毫升约含生药 2.5g.

1.1.3 试剂及主要仪器 OP、BPA均购自国药集团化学试剂有限公司,促性腺激素释放激素 (GnRH)及其受体、垂体生长激素 (GH)、FSH、LH即用型 SABCT试剂盒, DAB显色试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。Real time PCR Master Mix (TOYOBO公司),上下游引物: 上海生工公司合成。Olympus BH2型显微镜 (日本) Panasonic MV-CD10型摄像机 (日本),采用 MS细胞图像分析系统 (上海中腾信息技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 未成年 SD雌性大鼠 30只随机分为染毒组、治疗组、对照组,每组 10只。染毒组 (喂饲 OP100mg/kg + BPA100mg/kg)、治疗组 (喂饲 OP100mg/kg + BPA100mg/kg + 中药 40ml/kg)、对照组 (喂饲玉米油),每天灌胃 1次,连续 14天,给药期间每天称重,根据体重调整药量,于末次给药后 24h 10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,动物断头取脑,迅速分离下丘脑和垂体,并作免疫组化和 RT-PCR.

1.2.2 免疫组化 采用即用型 SABCT试剂盒,阴性对照为不加一抗。Panasonic MV-CD10型摄像机采集图像入计算机,图像分析采用 MS细胞图像分析系统医学图像分析软件,分析电压为 4.18V 放大倍数为 200倍,测定阳性细胞面积。每张切片均随机选取 4个视野,取平均值。

1.2.3 RT-PCR 总 RNA抽提采用 TRIzol 试剂 (Invitrogen公司产品) 提取制备总 RNA,经紫外分光光度计测定, A260进行准确定量。利用计算机辅助设计软件 Premie 5.0进行引物设计。RT-PCR取 2μg 总 RNA经逆转录酶 MMLV催化合成 cDNA,采用 SYBRgreen1 和实时荧光定量 PCR仪 (美国 ABI公司) 进行扩增。测定 GnRH 及其受体、GH、FSH、LH mRNA,其中 β-actin 作为模板质控。

1.2.4 统计学方法 应用 SPSS11.5统计软件,用 (x±s) 表示, RT-PCR实验数据作对数转换后,组间比较采用单因素方差分析方法。

2 结果

2.1 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH GnRH受体蛋白表达的影响

表 1示,染毒后下丘脑 GnRH及受体蛋白表达上调,滋阴泻火中药可使 GnRH及受体蛋白表达上调。

表 1 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH及其受体蛋白表达的影响 (μm^2 , $\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GnRH阳性细胞面积	GnRH受体阳性细胞面积
染毒组	10	7128.56 $\pm$ 721.03 [*]	8218.58 $\pm$ 612.31 [*]
治疗组	10	3452.14 $\pm$ 628.12 [#]	4281.56 $\pm$ 721.34 [#]
对照组	10	1358.73 $\pm$ 278.82	2825.38 $\pm$ 328.12

注:同对照组比较, * $P<0.05$ 同染毒组比较, $\#P<0.05$

2.2 滋阴泻火中药对垂体 GH FSH LH蛋白表达的影响

表 2示,染毒后垂体 FSH LH蛋白表达上调,对 GH的蛋白表达无明显影响;滋阴泻火中药可使 FSH LH蛋白表达下调。

表 2 滋阴泻火中药对 GH FSH LH的蛋白表达的影响 (μm^2 , $\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GH阳性细胞面积	FSH阳性细胞面积	LH阳性细胞面积
染毒组	10	9285.23 $\pm$ 765.32	7432.87 $\pm$ 872.15 [*]	8128.45 $\pm$ 721.15 [*]
治疗组	10	9389.18 $\pm$ 526.38	4612.58 $\pm$ 421.38 [#]	5134.28 $\pm$ 821.43 [#]
对照组	10	9924.36 $\pm$ 282.53	2415.16 $\pm$ 526.26	1421.18 $\pm$ 526.32

注:同对照组比较, * $P<0.05$ 同染毒组比较, $\#P<0.05$

2.3 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH及其受体 mRNA表达的影响

表 3示,染毒可使 GnRH及受体 mRNA表达增加,滋阴泻火中药可使 GnRH及受体 mRNA表达减少。

表 3 滋阴泻火中药对下丘脑 GnRH及受体 mRNA表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GnRH mRNA表达	GnRH受体 mRNA表达
染毒组	10	0.5132 $\pm$ 0.007 [*]	0.5018 $\pm$ 0.1248 [*]
治疗组	10	0.3982 $\pm$ 0.066 [#]	0.3712 $\pm$ 0.1124 [#]
对照组	10	0.1258 $\pm$ 0.008	0.2022 $\pm$ 0.1086

注:同对照组比较, * $P<0.05$ 同染毒组比较, $\#P<0.05$

2.4 滋阴泻火中药对 GH FSH LH mRNA表达的影响

表 4示,染毒可使 FSH LH mRNA表达增加,滋阴泻火中药可使 FSH LH mRNA表达减少,对 GH mRNA表达无影响。

表 4 滋阴泻火中药对 GH FSH LH mRNA表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

分组	鼠数	GH mRNA	FSH mRNA	LH mRNA
染毒组	10	0.2823 $\pm$ 0.1120	0.6428 $\pm$ 0.072 [*]	0.5556 $\pm$ 0.078 [*]
治疗组	10	0.2128 $\pm$ 0.1723	0.3518 $\pm$ 0.046 [#]	0.3729 $\pm$ 0.082 [#]
对照组	10	0.2189 $\pm$ 0.1011	0.2325 $\pm$ 0.063	0.2158 $\pm$ 0.079

注:同对照组比较, * $P<0.05$ 同染毒组比较, $\#P<0.05$

3 讨论

研究发现,给予大鼠口服 BPA后,用高效液相色谱法可在血浆、下丘脑、垂体、子宫、卵巢、及脑脊液等多个器官中检测到 BPA提示 BPA在体内分布广泛,并且可穿过血脑屏障。分别给予大鼠 3种不同剂量 (0.1、10、100mg/kg)的 BPA口服,30min可在下丘脑和垂体及血浆中检测到 14C-BPA。有研究显示, BPA可使动物下丘脑 GnRH及其受体的 mRNA表达增加,且有剂量依赖性。而 NP则对 GnRH及其受体的 mRNA表达无明显影响。也有研究显示, BPA可以降低垂体 LH的分泌,这与本研究的结论不同,可能与 BPA在体内的浓度有关。本研究显示, EED可上调大鼠下丘脑 GnRH及 GnRH受体的基因和蛋白表达,但对垂体 GH的表达无影响,提示 EED可能使下丘脑 垂体 性线轴提前启动,而对生长轴影响不大。

本研究显示滋阴泻火中药可以下调 EED染毒动物下丘脑 GnRH及垂体 GnRH受体的基因和蛋白表达,继而下调 LH和 FSH影响外周靶器官。以往的临床研究表明,滋阴泻火中药可治疗 EED导致的儿童性早熟,使其子宫、卵巢体积明显缩小,可能与滋阴泻火中药直接作用于外周靶器官有关。本研究表明滋阴泻火中药可作用于 EED染毒大鼠的下丘脑 垂体,使其 GnRH分泌减少, LH和 FSH分泌减少,这可能是中药的治疗机制之一。

* 上海市松江区中心医院儿科 (201600)

藿香单品对腹泻型肠易激综合征大鼠胃肠激素的影响

吕 妍* 李 丹* 唐 方*

肠易激综合征 (IBS)是临床常见的胃肠功能性疾病,按照罗马 II标准依据其症状基础分为腹泻型 (D-IBS),便秘型 (C-IBS)和交替型 (A-IBS) 3种类型。IBS属中医的“泄泻”、“便秘”、“腹痛”等病症范畴,中医药具有治疗优势,有关中药治疗 IBS临床疗效多见报道并引起关注。本研究选择藿香水提液、挥发油 2成分作为实验用药,旨

在通过 D-IBS大鼠血浆及结肠组织胃动素 (MT),生长抑素 (SS)含量变化,从激素水平探讨芳香类药物调节 D-IBS肠运动功能作用机制。

1 材料与仪器

1.1 动物

SPF级 Wistar大鼠,平均体重 (160 $\pm$ 10) g雌性。购