

双杂交法、免疫分析法、实时荧光定量 PCR 技术等^[10]。本研究采用的实验方法灵敏度高、可重复性强、成本相对偏低。子宫增重实验是检测雌激素样活性的经典方法,目前仍广泛应用^[11]。子宫是雌激素作用的重要靶器官,雌激素主要通过雌激素受体介导其生物学效应。子宫的增重可以由子宫组织细胞的增生、肿大引起,也可以由子宫腺体分泌、子宫腔内液体增多引起^[12]。本研究结果显示,与模型组比较,100 mg/kg 得克隆组大鼠子宫内 $Er\alpha$ mRNA 表达量明显增加,提示得克隆具有雌激素样作用。其机制可能与其上调雌激素受体基因进而增加雌激素受体表达水平有关。甲状腺干扰物(TDCs)已被认为是继环境雌激素之后最重要的一类内分泌干扰物^[13]。Zhou 等^[14]研究表明溴化二苯醚可减少对子代大鼠 T_3 分泌,而 T_4 无影响。本研究结果表明得克隆对去卵巢大鼠甲状腺激素水平并无明显影响。

参考文献

- [1] Gauthier LT, Hebert CE, Weseloh DV, et al. Current-use flame retardants in the eggs of herring gulls (*Larus argentatus*) from the Laurentian Great Lakes [J]. Environmental Science and Technology, 2007, 41(13):4561-4567.
- [2] Hoh E, Zhu L, Hites RA. Dechlorane plus, a chlorinated flame retardant, in the Great Lakes [J]. Environmental Science and Technology, 2006, 40(4):1184-1189.
- [3] Salamova A, Hites RA. Dechlorane plus in the atmosphere and precipitation near the Great Lakes [J]. Environmental Science and Technology, 2011, 45(23):9924-9930.

- [4] Jia H, Sun Y, Liu X, et al. Concentration and bioaccumulation of dechlorane compounds in coastal environment of northern China [J]. Environmental Science and Technology, 2011, 45(7):2613-2618.
- [5] Gao S, Wang J, Yu Z, et al. Hexabromocyclododecanes in surface soils from E-waste recycling areas and industrial areas in South China: concentrations, diastereoisomer- and enantiomer-specific profiles, and inventory [J]. Environmental Science and Technology, 2011, 45(6):2093-2099.
- [6] Qi H, Liu L, Jia H, et al. Dechlorane Plus in surficial water and sediment in a northeastern Chinese river [J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(7):2305-2308.
- [7] Kang JH, Kim JC, Jin GZ, et al. Detection of Dechlorane Plus in fish from urban-industrial rivers [J]. Chemosphere, 2010, 79(8):850-854.
- [8] Chevrier J, Harley KG, Bradman A, et al. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants and thyroid hormone during pregnancy [J]. Environmental Health Perspectives, 2010, 118(10):1444-1449.
- [9] Kuhle J, Regeniter A, Leppert D, et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for the neurofilament heavy chain protein [J]. Journal of Neuroimmunology, 2010, 220(1-2):114-119.
- [10] 王莎莎, 谭文婷, 邓国宏. 环境雌激素生物学检测方法研究进展 [J]. 中国公共卫生, 2011, 27(1):120-122.
- [11] Henley DV, Korach KS. Physiological effects and mechanisms of action of endocrine disrupting chemicals that alter estrogen signaling [J]. Hormones, 2010, 9(3):191-205.
- [12] 荣顺兴, 王宁. 镉雌激素样作用的筛选 [J]. 环境与职业医学, 2004, 21(5):364-366.
- [13] 周景明, 秦晓飞, 秦占芬, 等. 多氯联苯 (Aroclor1254) 对非洲爪蟾变态发育的影响 [J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1):111-116.
- [14] Zhou T, Taylor MM, DeVito MJ, et al. Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption [J]. Toxicological Sciences, 2002, 66(1):105-116.

收稿日期: 2014-04-04

(解学魁编辑 吴少慧校对)

· 实验研究 ·

黄精多糖对力竭小鼠脑组织自由基代谢影响*

王玉勤¹, 于晓婷¹, 吴晓岚¹, 王昊霖², 张广新¹, 崔培红¹

摘要:目的 观察黄精多糖对力竭小鼠脑组织自由基代谢的影响,探讨其抗疲劳的机制。方法 昆明种小鼠 72 只,随机分为对照组和黄精多糖低、高剂量组。经口灌胃 4 周,将 3 组小鼠分别于安静时、力竭即刻、力竭恢复 24 h 3 种状态下断头处死,测定脑组织中丙二醛(MDA)含量,超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)的活性。结果 力竭即刻及力竭恢复 24 h,高剂量组 MDA 含量分别为(3.46 ± 0.29)、(2.29 ± 0.55)nmol/mg,明显低于对照组和低剂量组($P < 0.01$);高剂量组 SOD 活性分别为(100.64 ± 10.12)、(114.58 ± 9.50)U/mg, GSH-Px 活性分别为(2.17 ± 0.35)、(2.45 ± 0.27)U/mg,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$);T-AOC 活性分别为(0.50 ± 0.09)、(0.75 ± 0.09)U/mg,明显高于对照组和低剂量组($P < 0.01$)。结论 黄精多糖通过增强小鼠脑组织抗氧化能力,发挥抗疲劳作用。

关键词:黄精多糖;脑组织;自由基;抗氧化

中图分类号:R 338.2 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2014)09-1165-03 DOI:10.11847/zgggws2014-30-09-18

Effects of polygonatum sibiricum polysaccharides on free radical metabolism in brain tissue of mice at exhaustion and recovery

* 基金项目: 辽宁卫生职业技术学院科学研究基金(2012Y06)

作者单位: 1. 辽宁卫生职业技术学院, 辽宁 沈阳 110101; 2. 沈阳市第四人民医院

作者简介: 王玉勤(1971-),女,辽宁人,副教授,硕士,主要从事生理学和病理生理学方面的研究与教学工作。

数字出版日期:2014-8-8 9:09

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140808.0909.025.html>

WANG Yu-qin*, YU Xiao-ting, WU Xiao-lan, et al (Liaoning Health Vocational Technology College, Shenyang, Liaoning Province 110101, China)

Abstract: Objective To observe the effects of polygonatum sibiricum polysaccharides (PSP) on free radical metabolism in brain tissue of the mice at the time of exhaustion and recovery. **Methods** Seventy-two Kunming mice were randomly divided into three groups; normal group (N), high (H) and low (L) dose PSP group. The mice in the H and L dose groups were administered with PSP by gavage once a day for 4 weeks and those in the N group were treated with a same amount of normal saline. By the end of the treatment, the mice of the 3 groups were sacrificed at the time of rest state, the immediate end of exhaustive exercise and 24 hours after the end of exhaustive exercise, respectively. The content of malonaldehyde (MDA), the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and total antioxidant capacity (T-AOC) in brain tissue of the mice were measured. **Results** For the mice in H group, the contents of MDA (3.46 ± 0.29 at the immediate end of exhaustive exercise, 2.29 ± 0.55 nmol/mg 24 hours after the end of exhaustive exercise) were significantly lower than those of the mice in N and L group ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and the activities of SOD (100.64 ± 10.12 , 114.58 ± 9.50 U/mg), GSH-Px (2.17 ± 0.35 , 2.45 ± 0.27 U/mg), and T-AOC (0.50 ± 0.09 , 0.75 ± 0.09 U/mg) were all higher than those of the mice in N and L group. **Conclusion** PSP can improve antioxidant capacity of brain tissue and has significant anti-fatigue function in mice.

Key words: polygonatum sibiricum polysaccharides; brain tissue; free radical; capacity of oxidation resistance

运动性疲劳是人体脑力和体力持续活动到一定阶段时出现的一种生理现象,表现为“机体生理过程不能继续其机能,在特定水平上和(或)不能维持预定的运动强度”^[1]。运动尤其是大强度运动,体内会产生大量自由基,使机体遭受氧化损伤。有研究表明,运动中及恢复期间在脑组织检测到大量自由基^[2],损伤神经细胞,引起中枢性疲劳。黄精是百合科黄精属多年生草本植物,是一种传统名贵中药。黄精多糖是黄精化学组成的一个重要组成部分,也是黄精主要生物学活性成分之一^[3]。前期研究表明,黄精多糖可以增强机体的抗氧化能力,尤其是增强了骨骼肌的抗氧化能力^[4]。本研究将进一步探讨黄精多糖对力竭及恢复期间小鼠脑组织自由基代谢的影响,为黄精多糖在运动保健领域的应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组 昆明种小鼠 72 只,体重 18~22 g,雌雄各半,由沈阳医学院实验动物中心提供,动物许可证号为 SCXK(辽)2010-0001。所有小鼠均适应性喂养 2 周,自由饮水,标准饲料喂养,明暗周期为 12 h(7:00~19:00),温度控制在 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度 $(55 \pm 5)\%$ 。将动物随机分为对照组、黄精多糖低剂量组、黄精多糖高剂量组,每组 24 只。

1.2 仪器和试剂 721E 型可见光分光光度计,上海光谱仪器有限公司;黄精多糖(浓度 50%),陕西杨凌东科麦迪森制药有限公司;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)等检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 给药方案 黄精多糖低剂量浓度为 500 mg/kg、

黄精多糖高剂量浓度为 1 000 mg/kg,按 0.1 mL/10 g 体重每天灌胃 1 次,连续 4 周,对照组给予等体积生理盐水灌胃。

1.4 取材 给药 4 周后,将 3 组小鼠分别于安静时、力竭即刻(小鼠沉入水面下 10 s,不能自主浮出水面,且放在平板上无法完成翻正反射为力竭标准^[5]),力竭恢复 24 h 3 种状态下,断头处死,取脑组织低温匀浆,离心取上清液用于指标检测。

1.5 指标检测 按试剂盒说明书,检测脑组织 SOD、MDA、GSH-Px、T-AOC 等指标。

1.6 统计分析 所有数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 黄精多糖对安静状态下小鼠脑组织 SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC 的影响(表 1) 经单因素方差分析,安静状态下,各组间 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 活性的差异有统计学意义 ($F = 16.02$, $P = 0.001$; $F = 19.66$, $P = 0.001$; $F = 18.12$, $P = 0.001$),与对照组比较 3 种酶的活性,高剂量组均明显高于对照组 ($P < 0.01$),低剂量组也明显高于对照组 ($P < 0.05$),并且高剂量组活性明显高于低剂量组 ($P < 0.05$)。各组间 MDA 含量均值的差异也有统计学意义 ($F = 14.32$, $P = 0.004$),与对照组相比,低、高剂量组 MDA 含量明显低于对照组 ($P < 0.01$),并且高剂量组明显低于低剂量组 ($P < 0.05$)。

2.2 黄精多糖对力竭即刻小鼠脑组织 SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC 的影响(表 2) 经单因素方差分析,力竭运动即刻,各组间 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 活性的差异有统计学意义 ($F = 7.22$, $P = 0.009$; $F = 8.59$, $P = 0.005$; $F = 15.74$, $P = 0.001$),与对照组比较 3 种酶的活性,高剂量组均明显高于对照组 ($P < 0.01$),低剂量组也明显高于对照组 ($P < 0.05$)。各

组间 MDA 含量均值的差异也有统计学意义 ($F = 30.92, P = 0.001$), 与对照组相比, 低、高剂量组明显低于对照组 ($P < 0.01$), 并且高剂量组 MDA 含量明显低于低剂量组 ($P < 0.05$)。

表 1 黄精多糖对安静状态下小鼠脑组织 SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	SOD(U/mgprot)	GSH-Px(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)	T-AOC(U/mgprot)
对照组	76.61 ± 8.64	2.02 ± 0.27	2.32 ± 0.35	0.52 ± 0.10
低剂量组	92.52 ± 6.88 ^a	2.49 ± 0.36 ^a	1.67 ± 0.45 ^a	0.88 ± 0.28 ^a
高剂量组	109.14 ± 11.22 ^{bc}	3.33 ± 0.36 ^{bd}	1.18 ± 0.14 ^{bc}	1.30 ± 0.19 ^{bc}

注: 与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与低剂量组比较, c $P < 0.05$ 。

表 2 黄精多糖对力竭即刻小鼠脑组织 SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	SOD(U/mgprot)	GSH-Px(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)	T-AOC(U/mgprot)
对照组	73.30 ± 5.41	1.37 ± 0.32	5.22 ± 0.41	0.25 ± 0.05
低剂量组	91.10 ± 16.39 ^a	1.81 ± 0.23 ^a	4.05 ± 0.37 ^b	0.38 ± 0.06 ^b
高剂量组	100.64 ± 10.12 ^b	2.17 ± 0.35 ^b	3.46 ± 0.29 ^{bc}	0.50 ± 0.09 ^b

注: 与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与低剂量组比较, c $P < 0.05$ 。

2.3 黄精多糖对力竭恢复 24 h 小鼠脑组织 SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC 的影响(表 3) 经单因素方差分析, 力竭恢复 24 h, 各组间 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 活性的差异有统计学意义 ($F = 8.42, P = 0.005$; $F = 9.77, P = 0.003$; $F = 36.44, P = 0.001$), 与对照组比较 3 种酶的活性, 高剂量组明显高于对

照组 ($P < 0.01$), 低剂量组也明显高于对照组 ($P < 0.05$)。各组间 MDA 含量均值的差异也有统计学意义 ($F = 24.12, P = 0.001$), 与对照组相比, 低、高剂量组明显低于对照组 ($P < 0.01$), 并且高剂量组 MDA 含量明显低于低剂量组 ($P < 0.05$)。

表 3 黄精多糖对力竭恢复 24 h 小鼠脑组织 SOD、GSH-Px、MDA、T-AOC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	SOD(U/mgprot)	GSH-Px(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)	T-AOC(U/mgprot)
对照组	91.20 ± 9.32	1.70 ± 0.26	4.17 ± 0.19	0.35 ± 0.06
低剂量组	104.30 ± 8.22 ^a	2.21 ± 0.31 ^a	3.15 ± 0.45 ^b	0.55 ± 0.07 ^b
高剂量组	114.58 ± 9.50 ^b	2.45 ± 0.27 ^b	2.29 ± 0.55 ^{bc}	0.75 ± 0.09 ^b

注: 与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与低剂量组比较, c $P < 0.05$ 。

3 讨论

疲劳是涉及许多生理生化因素的综合性生理过程^[6]。运动诱导的自由基损伤涉及全身许多器官和组织, 而脑组织与其它组织相比, 具有抗氧化剂含量低, 膜不饱和脂肪酸含量高等特点^[7], 因此更易受到自由基的攻击, 导致氧化损伤, 引起中枢性疲劳。机体抗氧化防御体系有酶促与非酶促 2 个体系, 酶促反应系统主要由一些酶组成, 如 SOD、GSH-Px 等, 许多酶以微量元素为活性中心; 非酶促反应体系中主要为维生素、氨基酸和金属蛋白质^[8]。T-AOC 是反映机体防御体系和抗氧化能力强弱的重要酶。MDA 是细胞脂质过氧化的一个重要产物, 是衡量机体自由基损伤程度的敏感指标。本研究表明, 力竭即刻及力竭恢复 24 h, 黄精多糖高剂量组小鼠脑组织中 MDA 含量明显低于对照组和低剂量组, 而脑组织中 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 的活性明显增高, 说明黄精多糖在抑制力竭运动导致的脑组织脂质过氧化和抗氧化酶活性降低等方面具有积极的作用。本研究中, 黄精多糖对脑组织自由

基代谢的影响显示出一定的剂量依赖效应, 但黄精多糖对力竭及恢复期小鼠脑组织功能影响的合适剂量以及作用的分子机制还需进一步探讨。

参考文献

- [1] 王建治, 崔新刚, 王海波, 等. 中药姜黄抗小鼠运动性疲劳作用[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(8): 1028 - 1029.
- [2] 辛东, 李晖, 李静先, 等. 力竭运动时大鼠脑组织自由基产生及氧化、抗氧化能力的动态观察[J]. 中国运动医学杂志, 1999, 18(4): 321 - 323.
- [3] 王西龙, 孙志伟. 黄精多糖的研究概况[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(4): 54 - 55.
- [4] 王玉勤, 吴晓岚, 张广新, 等. 黄精多糖对大鼠抗氧化作用的实验研究[J]. 中国现代医生, 2011, 49(5): 6 - 11.
- [5] Thomas DP, Marshall KI. Effects of repeated exhaustive exercise on myocardial subcellular membrane structures[J]. Int J Sports Med, 1988, 9(4): 257 - 260.
- [6] 曹向宇, 朱昱, 刘剑利, 等. 小米多肽对小鼠抗疲劳作用[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(9): 1153 - 1154.
- [7] 张学会, 刘洪珍. 复方中药提取物对大鼠不同状态下脑组织自由基代谢影响的研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2012, 28(2): 160 - 164.
- [8] 陈瑗, 周玫. 自由基医学基础与病理生理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 104 - 105.