

中药小复方(液)对麻黄素致损伤中肾SOD、CAT活性及Bax蛋白与TGF- β 1表达的影响

王锦锦¹ 李重阳² 俞诗源^{1*} 孙 隽¹

(¹西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070; ²甘肃政法学院, 兰州 730070)

摘要 研究中草药对兴奋剂损伤的保护作用。麻黄素组用递增剂量连续腹腔注射0.2 mL(2.0, 3.0, 4.0 g/L)的麻黄素溶液, 中药组在注射麻黄素后分别灌胃0.2 mL(20.0, 30.0, 40.0 g/L)的中药小复方(液), 分别于给药5, 10, 15 d后用比色法检测小鼠肾组织SOD、CAT活性及MDA含量, 用免疫组织化学法检测肾组织中Bax蛋白和TGF- β 1的表达情况。麻黄素组肾脏中丙二醛含量升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 肾组织Bax蛋白和TGF- β 1的阳性表达增强; 中药组肾脏中丙二醛含量又降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性又回升($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 肾组织Bax蛋白和TGF- β 1的阳性表达强度降低。中药小复方(液)可提高组织细胞的抗氧化能力, 抑制细胞脂质过氧化, 抑制Bax蛋白和TGF- β 1的表达。中药小复方(液)对于麻黄素致小鼠组织的损伤可能有一定的治疗或保护作用。

关键词 中药小复方(液); 麻黄素; 小鼠; 肾脏; 抗氧化物酶

The Effect of Chinese Medicine (Compound) on SOD, CAT Activities and Bax Protein, TGF- β 1 Expression of Filial Mice Kidney Injured by Ephedrine

Wang Jinjin¹, Li Chongyang², Yu Shiyuan^{1*}, Sun Jun¹

(¹College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China;

²Gansu Political Science and Law Institute, Lanzhou 730070, China)

Abstract To explore protection of Chinese medicine against stimulant injury, the ephedrine group intraperitoneal injected 0.2 mL escalation doses (2.0, 3.0, 4.0 g/L) of ephedrine, and Chinese medicine group intragastric with 0.2 mL the concentration of 20.0, 30.0, 40.0 g/L of Chinese medicine (compound) after injected ephedrine 1 h respectively. At 5, 10, 15 d, the activities of SOD, CAT as well as content of MDA were detected by colorimetry respectively. In addition, the expression of Bax protein and TGF- β 1 were measured by immunohistochemistry in kidney of mice at the different developmental stages. Results showed the content of MDA in ephedrine group increased ($P<0.05$, $P<0.01$); activity of SOD and CAT decreased ($P<0.05$, $P<0.01$); the expression of Bax protein and TGF- β 1 increased in kidney. The content of MDA in Chinese medicine group decreased ($P<0.05$, $P<0.01$); activity of SOD and CAT increased ($P<0.05$, $P<0.01$); the expression of Bax protein and TGF- β 1 decreased in kidney. The Chinese medicine (compound) could improve the cell anti-oxidation, inhibit

收稿日期: 2012-12-04 接受日期: 2013-05-03

国家自然科学基金(批准号: 30370163)、甘肃省自然科学基金(批准号: 1107RJZA141)和兰州市社会发展项目(批准号: 2010-A127)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0931-7971692, E-mail: syu006@nwnu.edu.cn

Received: December 4, 2012 Accepted: May 3, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.30370163), the Natural Science Foundation of Gansu Province (Grant No.1107RJZA141) and Society Development Item of Lanzhou City (Grant No.2010-A127)

*Corresponding author. Tel: +86-931-7971692, E-mail: syu006@nwnu.edu.cn

网络出版时间: 2013-06-26 17:00 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130626.1700.005.html>

cell lipid peroxidation and the expression of Bax and TGF- β 1, promote the organization cell repair and reduce cell damage by improving cell activity and inhibiting apoptosis. The Chinese medicine (compound) helps to protect and cue ephedrine-caused tissue damage.

Key words Chinese medicine (compound); ephedrine; filial mice; kidney; antioxidant enzymes activity

麻黄素具有多方面的药理作用,临床上常用于治疗鼻炎、鼻窦炎、鼻出血等鼻科疾病^[1]。麻黄素亦有直接和间接的拟肾上腺素作用,对心脏和中枢神经系统的副作用较多^[2],可致精神病发作(精神病、忧郁症)、癫痫、头晕、意识丧失等。麻黄素还可严重影响仔鼠肾SOD和CAT活性和MDA含量致肾组织损伤^[3]。另外,麻黄素属于苯丙胺类中枢兴奋剂,是联合国精神药品公约管制的精神活性物质^[4]。因此,研发抗麻黄素致损伤作用的中药制剂具有重要意义。研究表明,川芎嗪能降低慢性肾衰竭大鼠肾组织中TGF- β 的表达,延缓慢性肾衰竭的进展^[5],可明显改善免疫性肾损伤大鼠肾组织病理形态和功能,对抗自由基引起的脂质过氧化损伤^[6-7],能明显抑制吗啡依赖大鼠的戒断反应^[8]。黄芪注射液可以抑制缺氧缺糖后复氧复糖大鼠海马神经细胞的凋亡,提高细胞的活性^[9];能阻止自由基引起的过氧化反应,减少自由基对生物膜的损害^[10];可提高小鼠的抗应激能力^[11];长期给动物投喂黄芪多糖可有效提高免疫细胞的活性^[12]。但有关中药抗麻黄素损伤的研究较少,黄芪、川芎是否有抗麻黄素损伤的作用还需进一步研究。本研究在给仔鼠注射麻黄素后即灌胃中药黄芪、川芎小复方(液),研究中药对麻黄素致动物损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

盐酸麻黄素(由甘肃省公安厅提供),根据半数致死剂量和成瘾剂量用蒸馏水配制成2.0, 3.0, 4.0 g/L三个浓度的水溶液,中药黄芪、川芎小复方(液)由本实验室创制(已申报国家发明专利),4~6℃条件下保存备用;SOD、MDA、CAT检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;兔抗Bax蛋白和TGF- β 1购自武汉博士德生物工程有限公司;SP免疫组化试剂盒、DAB显色试剂盒均购自中杉金桥生物工程有限公司。

主要仪器设备:高速台式冷冻离心机(TGL-16M型, Beckman美国)、UV-VIS spectrophotometer(全自动分光光度计)(U-1800型, Tokyo Japan)等。

1.2 动物分组处理

选出生10 d左右的昆明小鼠(仔鼠)81只(体重6~7 g, 购于兰州大学实验动物中心),随机分为对照组、麻黄素组、麻黄素+中药组(简称中药组),每组27只仔鼠,麻黄素组用递增剂量在1~5 d、6~10 d、11~15 d连续腹腔注射0.2 mL浓度为2.0, 3.0, 4.0 g/L的麻黄素溶液,中药组在注射以上麻黄素溶液之后1 h灌胃0.2 mL浓度为20.0, 30.0, 40.0 g/L中药小复方(液),对照组注射等量的生理盐水。

1.3 酶活性测定

分别取实验第5, 10, 15 d的仔鼠肾,按冯红丽等^[13]的方法,利用UV-VIS spectrophotometer全自动分光光度计分别检测SOD、CAT及MDA的吸光度值。

1.4 免疫组化观察

分别取实验5, 10, 15 d的仔鼠肾脏,按魏仲梅等^[14]的方法,切取肾组织块固定、包埋、切片、微波处理,加3% H₂O₂室温孵育后,滴加封闭液,加兔抗Bax,兔抗TGF- β 1工作液(1:200)后置4℃冰箱过夜,再加生物素标记的二抗室温孵育,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素或链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物工作液室温孵育;然后DAB显色,脱水,透明,封片,显微镜观察。阴性对照用PBS取代一抗,其它程序相同。

1.5 体视学测量

用固定好的肾组织数块,定向包埋后连续切片(6 μ m),每个蜡带贴1张,共10张,每张切片随机选择12个视野观察、摄片(400 $\times$)。按陈玉琴等^[15]的方法,用方格测试系统交点计数法分别测算凋亡细胞和阳性表达细胞的面密度值。

1.6 图像分析

按左文涛等^[16]的方法,用美国Image-proplus5.0专业图像分析软件(Media Cybernetics)分析、检测各活性物质在仔鼠肾组织中的表达,取平均吸光度指标,将测量值的平均值为最终灰度值。

1.7 数据统计处理

所有实验数据用SPSS 13.0软件进行统计学分

析处理, 结果以 $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ 表示。

2 结果

2.1 仔鼠肾SOD活性的变化

给予麻黄素5 d时小鼠肾SOD活性高于对照组($P < 0.05$), 10, 15 d时小鼠肾SOD活性显著低于对照组($P < 0.01$)(图1); 经中药小复方(液)灌胃后, 中药组5 d小鼠肾SOD活性降低, 低于麻黄素组, 中药组10, 15 d小鼠肾SOD活性提高, 与麻黄素组比较差异显著或极显著($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.2 仔鼠肾CAT活性的变化

给予麻黄素5 d时仔鼠肾CAT活性高于对照组($P < 0.05$), 10, 15 d时仔鼠肾CAT活性均低于对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$); 经中药小复方(液)灌胃后5, 10, 15 d时仔鼠肾CAT活性提高, 明显高于麻黄素组($P < 0.05$, $P < 0.01$)(图2)。

2.3 仔鼠肾MDA含量的变化

注射麻黄素5 d后麻黄素组仔鼠肾MDA含量低于对照组($P < 0.05$), 10, 15 d时仔鼠肾MDA含量均高于对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$); 经中药小复方(液)灌胃后, 5 d时仔鼠肾MDA含量高于麻黄素组($P < 0.05$), 10, 15 d时小鼠肾MDA含量均低于麻黄素组($P < 0.05$, $P < 0.01$)(图3)。

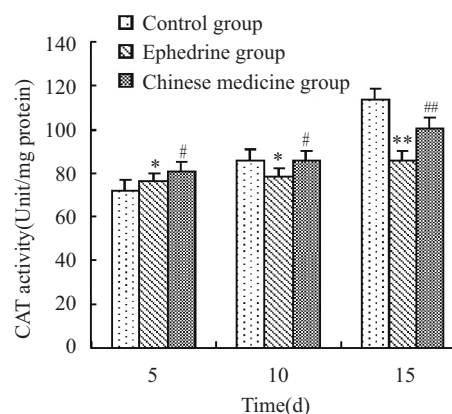
2.4 仔鼠肾Bax蛋白表达的变化

免疫组织化学显示, 阳性表达部位被染成棕黄色(图4A-图4H)。注射麻黄素和灌胃中药小复方(液)

后各组小鼠肾脏都有不同程度的阳性表达, Bax蛋白表达于各组小鼠肾近端小管、远端小管和髓袢的上皮细胞胞浆内, 对照组肾组织仅检出极少量Bax蛋白的表达, 麻黄素组随着注射麻黄素天数的增加Bax蛋白的表达显著增加, 阳性细胞数量多而密集, 染色较深; 中药组肾组织Bax蛋白的表达也增强, 但与麻黄素组比较, 阳性细胞数较少而浅。定量分析结果如表1。

2.5 仔鼠肾TGF- β 1表达的变化

注射麻黄素和灌胃中药小复方(液)后各组仔鼠肾都有不同程度的阳性表达, TGF- β 1表达于各组小

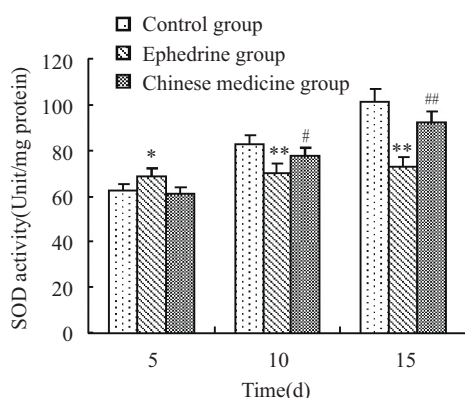


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与麻黄素组比较。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with ephedrine group.

图2 中药小复方(液)和麻黄素对仔鼠肾CAT活性的影响

Fig.2 The effect of Chinese medicine (compound) and ephedrine on CAT activity in filial mice

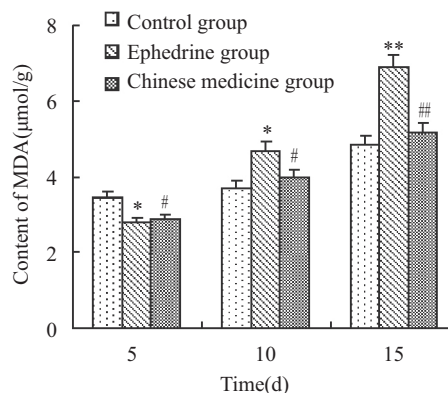


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与麻黄素组比较。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with ephedrine group.

图1 中药小复方(液)和麻黄素对仔鼠肾SOD活性的影响

Fig.1 The effect of Chinese medicine (compound) and ephedrine on SOD activity in filial mice

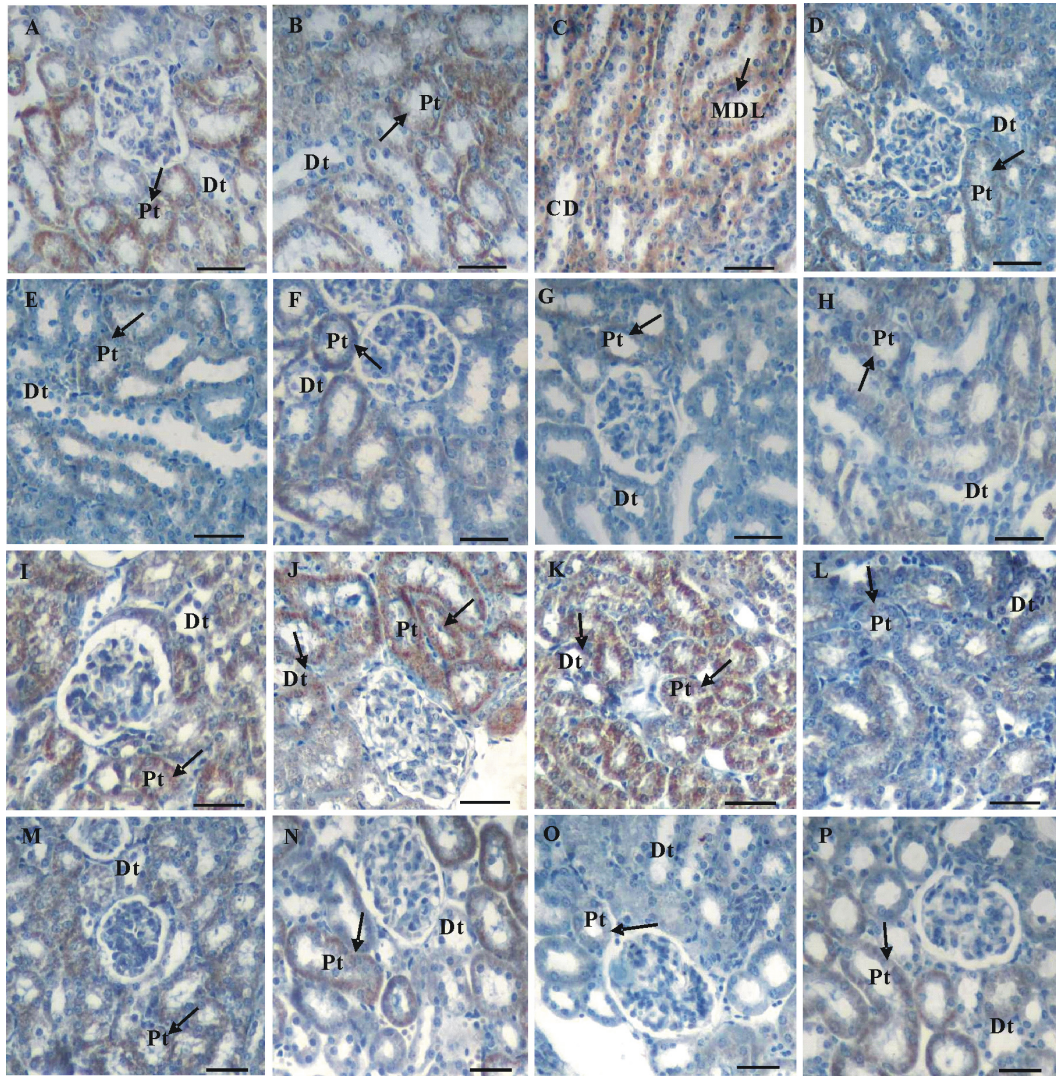


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与麻黄素组比较。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with ephedrine group.

图3 中药小复方(液)和麻黄素对仔鼠肾MDA含量的影响

Fig.3 The effect of Chinese medicine (compound) and ephedrine on MDA content in filial mice



A: 麻黄素组5 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)(↑); B: 麻黄素组10 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)和远端小管(Dt)上皮细胞(↑); C: 麻黄素组15 d肾髓质, Bax表达于髓袢(MDL)和集合管(CD)上皮细胞(↑); D: 中药组5 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)上皮细胞(↑); E: 中药组10 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)(↑); F: 中药组15 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)(↑); G: 对照组10 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)和远端小管(Dt)(↑); H: 对照组15 d肾皮质, Bax表达于近端小管(Pt)上皮细胞(↑); I: 麻黄素组5 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)(↑); J: 麻黄素组10 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)和远端小管(Dt)上皮细胞(↑); K: 麻黄素组15 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)和远端小管(Dt)上皮细胞(↑); L: 中药组5 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)上皮细胞(↑); M: 中药组10 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)(↑); N: 中药组15 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)(↑); O: 对照组10 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)和远端小管(Dt)(↑); P: 对照组15 d肾皮质, TGF-β1表达于近端小管(Pt)上皮细胞(↑)。Pt: 近端小管; Dt: 远端小管; MDL: 髓袢降支; CD: 集合管。标尺=10 μm。

A: renal cortex of ephedrine group at day 5, showing expression of Bax in proximal tubules of kidney (↑); B: renal cortex of ephedrine group at day 10, showing expression of Bax in proximal and distal tubules of kidney (↑); C: renal medullary of ephedrine at day 15, showing expression of Bax in Medullary descending loop and collecting duct of kidney (↑); D: renal cortex of Chinese medicine group at day 5, showing expression of Bax in proximal tubules of kidney (↑); E: renal cortex of Chinese medicine group at day 10, showing expression of Bax in proximal tubules of kidney (↑); F: renal cortex of Chinese medicine group at day 15, showing expression of Bax in proximal tubules of kidney (↑); G: renal cortex of control group at day 10, showing expression of Bax in proximal tubules of kidney (↑); H: renal cortex of control group at day 15, showing expression of Bax in proximal tubules of kidney (↑); I: renal cortex of ephedrine group at day 5, showing expression of TGF-β1 in proximal tubules of kidney (↑); J: renal cortex of ephedrine group at day 10, showing expression of TGF-β1 in proximal and distal tubules of kidney (↑); K: renal cortex of ephedrine group at day 15, showing expression of TGF-β1 in proximal and distal tubules of kidney (↑); L: renal cortex of Chinese medicine group at day 5, showing expression of TGF-β1 in proximal tubules of kidney (↑); M: renal cortex of Chinese medicine group at day 10, showing expression of TGF-β1 in proximal tubules of kidney (↑); N: renal cortex of Chinese medicine group at day 15, showing expression of TGF-β1 in proximal tubules of kidney (↑); O: renal cortex of control group at day 10, showing expression of TGF-β1 in proximal tubules of kidney (↑); P: renal cortex of control group at day 15, showing expression of TGF-β1 in proximal tubules of kidney (↑). Pt: proximal tubules; Dt: distal tubules; MDL: medullary descending loop; CD: collecting duct. Bar=10 μm.

图4 Bax蛋白和TGF-β1在仔鼠肾组织中的表达

Fig.4 The expression of Bax protein and TGF-β1 in kidney of filial mice

表1 Bax蛋白在仔鼠肾组织中的表达
Table 1 The expression of Bax protein in kidneys of filial mice

组别 Groups	面密度 Surface density			平均光密度 Average light density		
	5 d	10 d	15 d	5 d	10 d	15 d
Control group	0.013 2±0.004 3	0.020 3±0.006 1	0.029 9±0.001 9	0.079 1±0.018 3	0.082 5±0.030 0	0.118 7±0.040 0
Ephedrine group	0.057 4±0.003 7**	0.065 8±0.002 7**	0.075 4±0.006 5**	0.162 9±0.033 6*	0.217 8±0.024 7**	0.262 0±0.042 3**
Chinese medicine group	0.026 7±0.001 5 [#]	0.032 7±0.007 8 ^{##}	0.040 9±0.003 6 ^{###}	0.107 8±0.036 8 [#]	0.139 4±0.022 4 ^{##}	0.146 1±0.021 9 ^{###}

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与麻黄素组比较。
* $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with control group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ compared with ephedrine group.

表2 TGF-β1在仔鼠肾组织中的表达
Table 2 The expression of TGF-β1 in kidneys of filial mice

组别 Groups	面密度 Surface density			平均光密度 Average light density		
	5 d	10 d	15 d	5 d	10 d	15 d
Control group	0.020 5±0.002 6	0.029 8±0.002 2	0.039 7±0.005 6	0.046 1±0.016 3	0.099 8±0.020 3	0.119 6±0.008 5
Ephedrine group	0.055 1±0.002 4*	0.067 5±0.004 1**	0.072 3±0.017 6**	0.143 7±0.043 1*	0.190 7±0.037 5**	0.278 5±0.041 6**
Chinese medicine group	0.030 5±0.002 3 [#]	0.038 6±0.007 4 ^{##}	0.048 2±0.006 3 ^{###}	0.077 7±0.045 0 [#]	0.122 3±0.034 1 ^{##}	0.199 2±0.013 8 ^{###}

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与麻黄素组比较。
* $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with control group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ compared with ephedrine group.

鼠肾近端小管、远端小管的上皮细胞胞浆内, 对照组肾组织仅检出极少量TGF-β1的表达, 麻黄素组随着注射麻黄素天数的增加TGF-β1的表达显著增加, 阳性细胞数量多而密集, 染色较深; 中药组肾组织TGF-β1的表达也增高, 但与麻黄素组比较, 阳性细胞数较少而浅(图4I-图4P)。定量分析结果如表2。

3 讨论

有研究表明, SOD活力的高低能反映生物体清除自由基的能力, 吗啡成瘾或者戒断时小鼠的SOD水平降低, 机体抗氧化能力下降^[3,17], 过氧化氢酶(CAT)能够有效地催化H₂O₂分解成水和分子氧, 使其失去活性氧的作用, 保护机体^[3,18], 丙二醛是生物膜中的多种不饱和脂肪酸在氧自由基的攻击下形成的脂质过氧化产物^[3,13], 测定组织MDA的含量能反映机体内脂质过氧化反应的程度, 间接反映出细胞损伤的程度^[3,19]。本实验注射麻黄素初期小鼠肾组织SOD和过氧化氢酶活性升高, 可能是药物应激诱导机体产生了免疫兴奋效应, 有氧代谢旺盛, 产生较多的自由基, 导致细胞SOD和CAT活性升高。随着药物剂量的增加或累积, 肾组织中SOD和CAT活性降低, 表明体内自由基的产生超过了机体的代偿能力,

SOD防御系统和动物体的抗氧化酶系统遭到破坏, 使得SOD和CAT活力降低。本研究给予麻黄素早期仔鼠肾组织丙二醛含量低于对照组, 随着药物浓度的增加或时间延长, 小鼠肾组织丙二醛含量显著高于对照组, 表明机体内抗氧化酶的活性降低, 对自由基的清除能力下降, 组织和细胞在氧自由基的攻击下, 生物膜发生了脂质过氧化, 严重损伤了机体的组织细胞。中药小复方(液)具有明显的抗氧化作用, 其成分黄酮、皂苷、多糖, 四甲基吡嗪和阿魏酸等, 对自由基有部分清除作用。其中, 阿魏酸具有较强的抗氧化活性, 对过氧化氢、超氧自由基、羟自由基都有强烈的清除作用, 阿魏酸不仅能杀灭自由基, 还能促进清除自由基的酶的产生, 能激活DNA修补酶, 刺激抗体产生, 捕获有害自由基^[20-21]。本实验结果显示, 中药小复方(液)可改善麻黄素引起的肾组织损伤, 使SOD和CAT活性明显增高、MDA明显降低, 这可能是中药小复方(液)所含成分具有明显的抗氧化作用, 灌胃中药小复方(液)后, 中药清除超氧自由基、过氧化氢、羟自由基等, 使得SOD、CAT活性增加, 也减少了氧自由基对组织和细胞的攻击, 使MDA含量下降。

麻黄素影响小鼠肾脏抗氧化酶活性, 长时间注

射麻黄素会引起仔鼠肾脏SOD、CAT活性及MDA含量的改变,而中药小复方(液)通过抗氧化作用减少麻黄素对小鼠肾脏的自由基损伤。

细胞凋亡(apoptosis)又叫细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD),是细胞接受某种信号或者受到某些因素刺激后一种主动的、由一些凋亡相关基因相互作用的细胞消亡过程。影响凋亡的基因可分为两类,即促进凋亡的基因和抗凋亡的基因^[19]。细胞凋亡对于维持肾脏稳态平衡有着重要的作用,无论凋亡过度或不足均可引起肾脏的病理改变。

Oltvai等用Bcl-2特异性抗体免疫沉淀与Western blot相结合的方法发现人和鼠细胞中有一种与Bcl-2共沉淀的蛋白质,并将其命名为Bax^[22]。Bax基因是一种促凋亡基因,和Bcl-2属同一家族基因,其表达产物为Bax蛋白。Bax作为调控基因,其生物学作用是拮抗Bcl-2基因,促进细胞凋亡,是Bcl-2基因的抑制因子,也是Bcl-2家族中研究最广泛的促凋亡基因^[3,23]。Bax蛋白是一个可溶性蛋白质,正常情况下以单体形式定位于细胞浆,当受到凋亡刺激时构象发生变化,从细胞浆转位于线粒体并与线粒体外膜结合,直接降低线粒体外膜稳定性或与Bcl-2结合形成异源二聚体的结构,阻断Bcl-2抑制细胞凋亡的功能,促进Caspase、细胞色素C等的释放,发挥促进细胞凋亡的作用^[24-25]。因此,Bcl-2、Bax两者间的比例决定受凋亡信号刺激细胞的最终命运。

转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)是肾小管间质损害中最重要的细胞因子之一^[26],TGF- $\beta 1$ 可促进系膜外基质沉积和肾小球基底膜增厚,可能促进足细胞凋亡和肾小球硬化。TGF- $\beta 1$ 属于TGF- β 超家族成员,TGF- β 家族是多功能细胞因子,也是目前公认的致纤维化的重要细胞因子,具有广泛的生物学活性,介导组织的正常生长、发育,包括细胞分化、增殖、迁移和凋亡^[27]。

研究发现,糖尿病肾病发生、发展的原因之一是肾凋亡细胞的不断增加,Bax和Bcl-2可能参与肾细胞凋亡的调控^[28]。TGF- $\beta 1$ 通过促进细胞外基质的积聚,刺激促凋亡因子Bax蛋白的表达诱导肾组织细胞凋亡^[29]。本研究发现麻黄素组小鼠肾组织中Bax蛋白、TGF- $\beta 1$ 阳性表达程度高于对照组,并且随着麻黄素在体内的累积,阳性表达的程度也增强,这可能是大量注射麻黄素,使得机体免疫功能破坏,大量的细胞凋亡所致。而中药组小鼠肾组织中Bax蛋白、

TGF- $\beta 1$ 阳性表达程度低于麻黄素组,可能是中药小复方(液)能增加机体的免疫功能,降低麻黄素损伤小鼠肾组织Bax蛋白和TGF- $\beta 1$ 的表达,影响细胞凋亡的进程。同时,中药小复方(液)能清除超氧自由基、过氧化氢、羟自由基等,使得抗氧化活性增加,也减少了氧自由基对组织和细胞的攻击,进一步增加肾组织的修复,减轻肾组织的损伤。

综上所述,麻黄素影响细胞的抗氧化酶活性,长时间注射麻黄素会破坏细胞SOD防御系统和动物体的抗氧化酶系统,使机体对自由基的清除能力下降,引起组织细胞损伤,导致细胞Bax蛋白和TGF- $\beta 1$ 的表达增强。中药小复方(液)能增加SOD、CAT活性,通过清除超氧自由基、过氧化氢、羟自由基等,减轻麻黄素对组织细胞的损伤,因而降低了麻黄素损伤组织细胞中Bax蛋白和TGF- $\beta 1$ 的表达,表明细胞抗氧化酶活性与Bax蛋白和TGF- $\beta 1$ 等信号间可能存在某种联系,其机理还有待于进一步研究。

参考文献 (References)

- 1 周 延. 麻黄素滴鼻剂中毒护理体会. 中国中医药现代远程教育(Zhou Yan. Nurse of ephedrine nose dosage toxicosis. Chinese Medicine Modern Distance Education of China) 2009; 7(9): 193.
- 2 潘国华, 孙晓如. 国外对麻黄及其制剂的安全性评价. 中国药物警戒(Pan Guohua, Sun Xiaoru. The safety evaluation of Ephedra and its preparation aboard. Chinese Journal of Pharmacovigilance) 2007; 4(2): 111-116.
- 3 王锦锦, 李重阳, 俞诗源, 孙 隽, 贾宗平, 雷 蕾, 等. 麻黄素对仔鼠肾组织结构和SOD、CAT及MDA含量的影响. 动物学杂志(Wang Jinjin, Li Chongyang, Yu Shiyuan, Sun Jun, Jia Zongping, Lei Lei, et al. Effects of ephedrine on histological structure, activities of superoxide dismutase, catalase, and content of maleic dialdehyde in kidney of filial mice. Chinese Journal of Zoology) 2011; 46(6): 118-25.
- 4 元 佳, 杨静玉, 王 芳, 吴春福. 甲基苯丙胺神经毒性、成瘾机制及其滥用防治研究进展. 沈阳药科大学学报(Qi Jia, Yang Jingyu, Wang Fang, Wu Chunfu. Research advances in the neurotoxicity and addictive mechanisms of methamphetamine and the prevention of its abuse. Journal of Shenyang Pharmaceutical University) 2008; 25(suppl): 17-22.
- 5 郑妮军, 黄小妹, 张 英, 蔡 明. 川芎嗪对慢性肾衰竭大鼠TGF- β 表达的影响. 湖北中医杂志(Zheng Nijun, Huang Xiaomei, Zhang Ying, Cai Ming. Effect of ligustrazine on TGF- β expression of chronic renal prostrate rat. Hubei Journal of Traditional Chinese Medicine) 2008; 30(7): 11-2.
- 6 谭洪华, 李 霞, 博爱华, 邢立强, 薛贵平. 川芎嗪对免疫性肾损伤大鼠肾脏形态和功能的影响. 时珍国医医药(Tan Honghua, Li Xia, Bo Aihua, Xing Liqiang, Xue Guiping. The effects of ligustrazine on kidney morphology and function of the immune renal injury rats. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research) 2007; 18(8): 1936-7.

- 7 王 丽, 吕圭源, 陈素红. 川芎嗪药理作用的研究进展. 医学信息(Wang Li, Lü Guiyuan, Chen Suhong. Research progression in the pharmacological of Ligusticum Wallichii. Medical Information) 2011; 24(2): 1116-7.
- 8 莫志贤, 朱争华, 贺慧洁. 川芎嗪对吗啡依赖豚鼠回肠戒断收缩的影响. 时珍国医医药(Mo Zhixian, Zhu Zhenghua, He Huijie. Effects of Ligustrazine on morphine withdrawal contracture in the isolated Guinea Pig ileum. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research) 2007; 18(4): 769-70.
- 9 张雅丽, 高维娟, 闫凤霞, 叶冬青, 陈志宏, 钱 涛, 等. 黄芪注射液抑制缺氧缺血后复氧复糖大鼠海马神经细胞凋亡的研究. 中国老年学杂志(Zhang Yali, Gao Weijuan, Yan Fengxia, Ye Dongqing, Chen Zhihong, Qian Tao, *et al.* Study on the inhibitory action of astragalus injection on apoptosis of hippocamal neurons induced by hypoxia hypoglycemia and reoxygenation. Chinese Journal of Gerontology) 2009; 29(4): 793-6.
- 10 张燕燕, 颜 敏, 文学明. 黄芪抗脂质过氧化作用的研究. 医药导报(Zhang Yanyan, Yan Min, Wen Xueming. Studies of the anti-lipid peroxidation effect of Radix Astragali. Herald of Medicine) 2002; 21(9): 542-3.
- 11 黄超培, 赵 鹏, 杨俊峰, 梁 坚. 黄芪抗应激作用实验研究. 广西预防医学(Huang Chaopei, Zhao Peng, Yang Junfeng, Liang Jian. Study on antistimulative effect of Astragalus hoangtchy. Guangxi Journal of Preventive Medicine) 2000; 6(2): 72-4.
- 12 吴 旋, 白东清, 朱国霞, 宁 博. 长期投喂黄芪多糖对黄颡鱼免疫细胞活性的影响. 动物营养学报(Wu Xuan, Bai Dongqing, Zhu Guoxia, Ning Bo. Effects of Astragalus polysaccharides on the activities of immunological cells of yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) over long-term feeding. Acta Zoonutrimenta Sinica) 2011; 23(5): 887-92.
- 13 冯红丽, 李重阳, 俞诗源, 王 昱, 贾艳芳, 邓海平, 等. 海洛因对仔鼠和母鼠肺中SOD、CAT活力和MDA含量及组织结构的影响. 解剖学报(Feng Lihong, Li Chongyang, Yu Shiyuan, Wang Yu, Jia Yanfang, Deng Haiping, *et al.* Effects of heroin on SOD and CAT activity and MDA content and histological structure in the lungs of the filial mice and mother mice. Acta Anatomica Sinica) 2009; 40(2): 133-9.
- 14 魏仲梅, 陈玉琴, 俞诗源. 花背蟾蜍肺的发生及TGF- β 的表达. 解剖学报(Wei Zhongmei, Chen Yuqin, Yu Shiyuan. Lung histogenesis and expression of TGF- β in *Bufo raddei* strauch. Acta Anatomica Sinica) 2008; 39(4): 566-72.
- 15 陈玉琴, 俞诗源, 张虎林, 张 璟, 尚建科, 谢明仁. 红腹锦鸡肾的组织结构及EGFR、TGF- β 、AQP-2在肾脏中的表达. 动物学报(Chen Yuqin, Yu Shiyuan, Zhang Hulin, Zhang Jing, Shang Jianke, Xie Mingren. Histological structure and expression of EGFR, TGF- β , AQP-2 in *Chrysolophus pictus* kidney. Acta Zoonutrimenta Sinica) 2008; 54(2): 323-31.
- 16 左文涛, 刘婷婷, 俞诗源. X射线辐射对仔鼠消化酶活性及胃中Bax和Ghrelin表达的影响. 中国细胞生物学学报(Zuo Wentao, Liu Tingting, Yu Shiyuan. Effects of X-ray on activity of digestive enzyme and expression of Bax and Ghrelin in stomach of filial mice. Chinese Journal of Cell Biology) 2012; 34(9): 857-64.
- 17 贺付成, 尹惠卿, 安玉会. 吗啡成瘾小鼠血清及肝脏SOD和MDA含量的变化. 郑州大学学报: 医学版(He Fucheng, Yin Huiqing, An Yuhui. The serum and liver SOD, MDA levels in morphine addicted mice. Journal of Zhengzhou University: Medical Science) 2005; 40(4): 694-5.
- 18 张云峰, 王作仁, 韩水平, 郑黎明. Bcl-2和Bax对梗阻性黄疸大鼠肾小管上皮细胞凋亡的调节作用. 西安交通大学学报: 医学版(Zhang Yunfeng, Wang Zuoren, Han Shuiping, Zheng Liming. Effect of Bcl-2 and Bax protein expression on the apoptosis of renal tubular epithelia in rats with obstructive jaundice. Journal of Xi'an Jiaotong University: Medical Sciences) 2006; 27(6): 586-9.
- 19 梁桂宁, 谢露, 胡世凤, 王小玲, 梁志锋, 冯 梅. 海带多糖对应激小鼠肾组织抗氧化能力的影响. 现代医药卫生(Liang Guining, Xie Lu, Hu Shifeng, Wang Xiaoling, Liang Zhifeng, Feng Mei. Effect of Laminarin on stressed mice kidney tissue antioxidant capacity. Modern Medicine & Health) 2006; 22(18): 2783-4.
- 20 王贵娟, 魏艳静. 黄芪配伍川芎嗪对小鼠CCI肝损伤的保护作用. 山东中医杂志(Wang Guijuan, Wei Yanjing. The protective effect of Astragalus and ligustrazine on CCI liver injury in mice. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine) 2006; 25(8): 550-2.
- 21 周 江. 川芎有效成分及其药理作用研究概况. 浙江中医杂志(Zhou Jiang. Survey of the Chuanxiong active ingredients and pharmacological activities. Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine) 2007; 12(10): 615.
- 22 Cheng N, Yelena MJ, Lisa D, Chris VH, Elizabeth Y, Michael K. Bcl-2 inhibition of T-cell proliferation is related to prolonged T-cell survival. Oncogene 2004; 22(3): 3770-80.
- 23 Oliver YB, Fawzia H, Heist EK, Bruno KP, Roger JH. Apoptosis in heart failure and the senescent heart. Cardiovascular Toxicology 2003; 3(3): 183-90.
- 24 Keith GW, Hsu YT, Carolyn LS, Amotz N, Xi XG, Richard JY. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. J Cell Biol 1997; 139(5): 1281-92.
- 25 Maurer M, Tsai M, Metz M. A role for Bax in the regulation of apoptosis in mouse mast cells E. J Invest Dermatol 2000; 114(6): 1205-6.
- 26 Wang W, Koka V, Lan HY. Transforming growth factor-beta and Smad signaling in kidney disease. Nephrology(Carlton) 2005; 10(1): 48-56.
- 27 臧东钰, 李晓明, 郭 敏. 生后小鼠肾脏髓质发育中Bcl-2和Bax基因表达与凋亡的关系. 中国组织工程研究与临床康复(Zang Dongyu, Li Xiaoming, Guo Min. Relationship between the expressions of Bcl-2 and Bax and cell apoptosis in renal medullary of mice during postnatal development. Chinese Journal of Tissue Engineering Research) 2007; 11(8): 1473-5.
- 28 张艳玲, 段惠军, 李春香, 王 燕, 史永红, 李英敏. 糖尿病大鼠肾脏细胞凋亡与Bax和Bcl-2基因表达. 中国糖尿病杂志(Zhang Yanling, Duan Huijun, Li Chunxiang, Wan yan, Shi yonghong, Li yingmin. Apoptosis and expression of Bax and Bcl-2 in the kidney of diabetic rats. Chinese Journal of Diabetes) 2002; 10(3): 159-61.
- 29 郑瑞芝, 陈 隽, 刘 云. TGF- β 1和Bax在糖尿病早期大鼠肾组织中的表达. 天津医药(Zheng Ruizhi, Chen Juan, Liu Yun. TGF- β 1 and Bax expressions of renal tissue in early-stage diabetic rats. Tianjin Medical Journal) 2007; 35(3): 203-4.