

高细胞膜上磷脂酰肌醇水平,有利于胰岛素更多结合到细胞膜受体,激活胞内 PI-PLC,生成专门传递胰岛素生物信号的第二信使——磷酸肌醇聚糖,增强胰岛细胞对葡萄糖反应的敏感性,从而对四氧嘧啶或链脲霉素化学试剂诱导的高血糖模型起到降低血糖

的作用。

参考文献

- 1 Bameet D, *et al.* Comp Biochem Physiol, 1988, 90B: 141
- 2 Minale L, *et al.* Nitural Products and Biological Activities. Tokyo: University of Tokyo Press, 1986: 59
- 3 林曙光, 等. 细胞信号转导系统基础医学与临床. 天津: 天津科学技术出版社, 1996: 224

(1999-03-28 收稿)

鲤鱼精巢 DNA 抗脂质过氧化作用研究

中山医科大学药理学教研室(广州 510089)

唐孝礼* 颜光美

广东药学院预防医学系卫生室

周永红

中山大学生命科学学院药理学系

许实波

摘要 鲤鱼精巢 DNA 对组织匀浆自发的或由 Fe²⁺-Cysteine 体系激发的脂质过氧化作用均有显著的抑制作用,在 0.16~100 μg/mL 浓度范围内有明显的剂量依赖关系;小鼠 ig DNA 15 d,其脑、心、肝中丙二醛生成量明显减少;小鼠 ig DNA 45 d,其脑和肝脏中的脂褐素含量明显低于空白对照组。

关键词 鲤鱼精巢 脱氧核糖核酸 脂质过氧化 脂褐素

Studies on the Anti-lipid Peroxidation of DNA from Carp Spermery

Tang Xiaoli, Zhou Yonghong, Xu Shibo, *et al.* (Department of Pharmacology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089)

Abstract The anti-lipid peroxidation effect of deoxyribonucleic acid from carp spermery (CSDNA) was studied. Results of the study showed that CSDNA could markedly inhibit either spontaneous lipid peroxidation or that induced by Fe²⁺-Cysteine system in tissue homogenates in a dose-dependent manner within the range of 0.16~100 μg/mL. MDA content in the brain, heart and liver of mice reduced obviously after ig administration of CSDNA for 15 d. Lipofuscin levels in the brain and liver of mice were significantly lowered after ig administration of CSDNA for 45 d as compared with the control.

Key words carp spermery deoxyribonucleic acid lipid peroxidation lipofuscin

鲤鱼既是一种常见食用鱼,又是一种常用滋补中药,性味甘平,入脾、肾经,能利水消肿,下气通乳。雄性鲤鱼在发情期,它的精巢约占体重的十分之一,精巢的主要成分是核蛋白,由鱼精蛋白和脱氧核糖核酸(DNA)组成。鲤鱼精巢的药用价值未见文献报道,为了

科学合理地利用鲤鱼精巢,我们进行了鲤鱼精巢 DNA 的分离提取及其药理作用研究,发现鲤鱼精巢 DNA 的毒性极低,为实际无毒级物质^[1];小鼠服用鲤鱼精巢 DNA 后,对动物体内自身 DNA 的损伤具有明显的保护作用^[2];鲤鱼精巢 DNA 对果蝇和小鼠的生

* Address: Tang Xiaoli, Department of Pharmacology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou

唐孝礼 男,1997年12月毕业于中山大学生命科学学院药理学系,博士学位,现在中山医科大学药理学教研室从事博士后研究工作,研究方向为衰老生物学和神经药理学。曾参加国家自然科学基金、广东省自然科学基金等多项科研课题,已发表论文10余篇。

存寿命有显著的延长作用^[3]。本文研究鲤鱼精巢 DNA 的抗脂质过氧化作用。

1 材料

1.1 动物和样品:SD 大鼠、NIH 小鼠由广东省医学实验动物中心提供。鲤鱼精巢 DNA 由作者从鲤科鲤 *Cyprinus (Cyprinus) carpio haemipterus* Temminck et Schlegel 的精巢中提取得到,经鉴定,纯度为 96.52%。实验时用蒸馏水配成所需浓度的受试液。

1.2 主要试剂和仪器:硫代巴比妥酸(TBA),购自 Sigma 公司;维生素 E,广州星群药业股份有限公司生产,951208;半胱氨酸,购自 Serva 公司;硫酸奎宁,上海第二分析试剂厂生产,批号 951123;其余均为市售分析纯试剂。7550 分光光度计,惠普上海分析仪器有限公司;TGL-5 型离心机,上海安亭科学仪器厂;930 荧光光度计,上海第三分析仪器厂。

2 方法与结果

2.1 对组织匀浆自发脂质过氧化作用的影响:断头处死大鼠,迅速取出肝脏,用 4℃生理盐水于匀浆器中制成 5%组织匀浆液,脂质过氧化产物 LPO 的测定采用 TBA-MDA 比色法^[4],反应体系中含 1.5 mL 匀浆液和 0.1 mL 受试药或等体积溶媒。丙二醛(MDA)含量计算参考文献方法^[5]。结果(表 1)表明,鲤鱼精巢 DNA 对组织匀浆自发脂质过氧化作用有显著的抑制作用。

表 1 对组织匀浆自发脂质过氧化作用的影响
($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	$A_{532\text{nm}}$	MDA 含量 (pmol/mg 肝)	抑制率 (%)
空白对照	—	0.134±0.007	11.45±0.60	—
鲤鱼精巢 DNA	100	0.092±0.006**	7.86±0.51**	31.35
	20	0.105±0.008**	8.97±0.68**	21.66
	4	0.116±0.005**	9.91±0.45**	13.45
	0.8	0.121±0.007**	10.04±0.59**	9.69
	0.16	0.125±0.008**	10.68±0.68**	6.72
	维生素 E	11.2	0.087±0.006**	7.44±0.51**

与空白对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

2.2 对 Fe^{2+} -Cys 体系激发组织匀浆脂质过氧化作用的影响:方法同实验 2.1,但反应体

系中含 20 $\mu\text{mol/L}$ FeSO_4 和 0.1 mmol/L 半胱氨酸(cysteine, Cys)^[6]。结果(表 2)表明,鲤鱼精巢 DNA 对 Fe^{2+} -Cys 体系激发的组织匀浆脂质过氧化作用有显著的抑制作用。

表 2 对 Fe^{2+} -Cys 体系激发组织匀浆脂质过氧化作用的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	$A_{532\text{nm}}$	MDA 含量 (pmol/mg 肝)	抑制率 (%)
空白对照	—	0.252±0.049	21.54±4.19	—
鲤鱼精巢 DNA	100	0.127±0.016**	10.85±1.37**	49.63
	20	0.134±0.023**	11.45±1.97**	46.84
	4	0.151±0.025**	12.91±2.14**	40.06
	0.8	0.168±0.029**	14.36±2.48**	33.33
	0.16	0.183±0.041**	15.64±3.50**	27.39
	维生素 E	11.2	0.104±0.017**	8.89±1.45**

与空白对照组比较: ** $P<0.01$

2.3 体内给药对小鼠脏器中 LPO 生成的影响:选取健康 NIH 小鼠 40 只,雌雄各半,体重(20±2) g,随机分成 4 组,每组雌雄各 5 只。DNA 设两个剂量组,分别 ig DNA 12.5 和 50 mg/kg,阳性对照组 ig Vit E 25 mg/kg,空白对照组 ig 等容积生理盐水,即 0.25 mL/10 g 体重。每天定时 ig 1 次,连续 15 d,第 16 天 ig 30 min 后,脱颈椎处死小鼠,迅速取出心、肝、脑,称重,用 10%三氯醋酸(TCA)制成 5%组织匀浆液。LPO 的含量测定及 MDA 含量计算同实验 2.1。结果(表 3)表明,小鼠服用鲤鱼精巢 DNA 15 d 后,其脑、心、肝等脏器中的 MDA 含量与空白对照组小鼠比较明显减少,说明鲤鱼精巢 DNA 在动物体内具有显著的抗脂质过氧化作用,使机体内的 LPO 的生成明显减少。

2.4 对脂褐素(lipofuscin)生成的影响:选取健康 NIH 小鼠 40 只,雌雄各半,体重(25±2) g,随机分成 4 组,每组雌雄各 5 只。DNA 设两个剂量组,分别 ig DNA 30 和 15 mg/kg,阳性对照组 ig Vit E 25 mg/kg,空白对照组 ig 等容积生理盐水,即 0.25 mL/10 g 体重。每天定时 ig 1 次,连续 45 d,第 46 天 ig 30 min 后,脱颈椎处死小鼠,每鼠取脑和肝各 200 mg,加蒸馏水 3.0 mL,于匀浆器中制成匀浆,加氯仿-甲醇(2:1)3.0 mL,振荡 3

min,以 1 425×g 离心 10 min,取下层溶液(氯仿层)1.0 mL,加氯仿 2.0 mL,紫外灯下照射 30 s,于 930 荧光光度计上以激发波长 360 nm、发射波长 450 nm 测荧光强度,同时设氯仿本底对照,各管测量值减去本底值即为各管荧光强度^[7]。荧光单位可由硫酸奎宁

标准曲线求得,以每毫升 0.05 mol/L 硫酸中含 0.1 μg 硫酸奎宁的荧光强度为 10 个单位(10 U),将测得的各管荧光强度代入标准曲线方程即得各管的荧光单位。结果(表 4)表明,鲤鱼精巢 DNA 对脂褐素的生成有显著的抑制作用。

表 3 小鼠服用 DNA 15 d 后其脏器中的 MDA 含量($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	MDA 含量(pmol/mg 组织)		
		脑	心	肝
空白对照	—	5.30±0.51	41.11±7.69	23.08±4.62
鲤鱼精巢 DNA	12.5	3.85±0.85**	20.17±3.59**	10.94±2.31**
	50	2.65±0.51**	11.20±3.16**	8.38±1.80**
维生素 E	25	2.31±0.43**	10.85±2.31**	7.09±0.85**

与空白对照组比较:**P<0.01

表 4 鲤鱼精巢对小鼠脑和肝中脂褐素生成的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	脂褐素含量(U/g 组织)		抑制率(%)	
		脑	肝	脑	肝
空白对照	—	34.9±3.7	48.5±9.7	—	—
鲤鱼精巢 DNA	30	11.2±2.8**	9.6±4.3**	67.9	80.2
	15	14.3±3.1**	12.6±3.9**	59.0	74.0
维生素 E	25	10.5±3.4**	8.7±2.9**	69.9	82.1

与空白对照组比较:**P<0.01

3 讨论

LPO 是生物膜中所含多不饱和脂肪酸被自由基损伤、氧化而成的过氧化产物,它可引起膜损伤、酶抑制、溶媒体释放、蛋白质交联、DNA 和 RNA 结构破坏等生化毒性反应,造成机体衰老和多种疾病^[8]。过氧化脂质的代谢产物 MDA 进一步与磷脂酰乙醇胺和蛋白质交联,生成无活性的大分子复合物——脂褐素。脂褐素多集中于神经、心肌、肝脏、睾丸等组织细胞内,可导致细胞无法维持正常代谢而死亡。LPO 和脂褐素在机体内的含量与年龄的增长呈正相关,因此 LPO 和脂褐素含量的测定是抗衰老药物研究的主要指标。鲤鱼精巢 DNA 在体外能抑制组织匀浆自发的或由 Fe²⁺-Cysteine 体系激发的脂质过氧化作用;小鼠 ig 鲤鱼精巢 DNA 可减少脏器中 LPO 和脂褐素的生成,说明它能对抗自由基对生物膜的损害,维护细胞的正常生理机能。

Vit E 抗氧化作用的机制是它能阻断氧自由基引起的一系列连锁反应^[9],由于 DNA 与 Vit E 等带酚羟基的抗氧化剂的结构不同,推测 DNA 抗氧化作用的机制可能与其直接清除自由基有关。

参考文献

- 唐孝礼,等. 中山大学学报(自然科学版),1998,37(增刊):74
- 唐孝礼,等. 中山大学学报(自然科学版),1998,37(4):125
- 唐孝礼,等. 中国老年学杂志,1999,19(2):101
- 陈勤主编. 抗衰老研究实验方法. 北京:中国医药科技出版社,1996:490
- 李仪奎,等. 中药药理实验方法学. 上海:上海科学技术出版社,1991:203
- 钱伯初,等. 营养学报,1989,11(4):355
- 陈奇主编. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1994:943
- Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd ed. Oxford: Clarendon Press,1989:233
- Burton G W, et al. Lancet,1982, 11:327

(1999-03-28 收稿)