

鳖制剂对小鼠核酸蛋白质合成的影响

北京医科大学生物物理系(北京100083)

黄天贵* 贺师鹏 罗艳红**

陈磊*** 黄力新

北京医科大学运动医学研究所

陶祝良 陈吉楝 陈志民

摘要 鳖制剂可提高小鼠血浆蛋白质水平,使白蛋白由 2.67 ± 0.44 升到 3.25 ± 0.34 g/dl,总蛋白由 5.34 ± 0.88 上升到 6.74 ± 1.38 g/dl;同时鳖制剂也可加快肝,脾DNA和蛋白质合成的速度,使肝DNA,蛋白质的放射性比活度分别由 2.42 ± 0.71 上升到 3.90 ± 1.41 和由 12.81 ± 5.83 上升到 21.69 ± 4.84 dpm/ μ g,脾DNA,蛋白质的放射性比活度分别从 19.04 ± 10.54 上升到 41.88 ± 18.47 和由 16.34 ± 7.01 上升到 23.12 ± 4.38 dpm/ μ g,鳖制剂对骨髓细胞的DNA合成和小鼠血红蛋白水平无明显作用,本文结果为鳖制剂作用机制的研究提供了有价值的资料。

关键词 鳖制剂 蛋白质合成 核酸合成 白蛋白 血红蛋白

中华鳖 *Amyda sinensis* 又名甲鱼,团鱼,自古以来就在中国日本作为食用,药用,鳖肉可治疗内脏器官异常,具有益气补虚之功效,鳖肉入肝经,滋阴凉血,治骨蒸劳热^[1, 2]。据本草纲目载,鳖肉性甘,平,无毒,主治伤中,益气补不足,国家体育运动队队员服用鳖作滋补剂,取得了一定的运动成绩,目前市场上已有多种中华鳖制剂出售,即使如此,对鳖制剂的现代研究报道极少,本实验以BALB/C小鼠为实验对象,重点研究鳖制剂对血浆蛋白和肝,脾,骨髓DNA蛋白质合成速度的影响,为鳖的营养作用提供理论依据。

1 材料

BALB/C小鼠,雄性,15~20g,由北京医科大学实验动物部提供,³H-亮氨酸(³H-Leu);上海原子能所产品,比活度:55 Ci/mmol,³H-TdR;中国原子能科学研究院产品,比活度:22 Ci/mmol,Wallac-1410液闪计数器。

2 方法和结果

2.1 鳖制剂制备:根据本草纲目标准,选取正常鳖,重0.5~1.0kg,斩头去血,去内脏及鳖脂,经煎煮制成每毫升含相当于0.5g生鳖的生理盐水制剂,-20℃储存备用。

2.2 给药方法:采用自制饮水器,将鳖制剂放入少量饮水中供小鼠饮用,使每只小鼠每日饮用鳖制剂的量为0.3ml(相当于生鳖0.15g),饮用完整制剂后给予正常饮水,保证充足饮水和正常饲料,给药共10d。

2.3 实验动物分组:实验动物随机分为6组,每组10只,其中两组用于³H-TdR掺入肝,脾DNA实验,两组用于³H-Leu体内掺入肝,脾蛋白质实验,实验组给予鳖制剂,对照组给予相应剂量的生理盐水。

2.4 血红蛋白测定:采用临床检验用高铁氰化法,血浆白蛋白测定采用溴甲酚绿法(试剂由北京医科大学怡达公司购得),总蛋白测定采用考马斯亮蓝法。

2.5 ³H-Leu掺入蛋白试验:³H-Leu经生理盐水稀释至12.5 μ Ci/ml,试验动物给药材10d后,

*Address: Huang Tianguai, Beijing Medical University, Beijing

** 广西右江民族医学院生化教研室

*** 北京医科大学88级专题生

禁食不禁水12h, 每只动物腹腔注射³H-Leu 0.4ml (5 μ Ci), 2h后, 断脊髓处死动物, 取肝, 脾, 按Paul所述方法进行³H-Leu掺入蛋白试验, 并加修改, 取组织按1:9 (W/V) 加入10%三氯乙酸 (TCA), 匀浆, 离心, 弃上清; 10%TCA洗沉淀一次, 0.3mol/L NaOH溶解后再以10%TCA沉淀, 之后5%TCA, 95%乙醇各洗沉淀一次, 沉淀经甲酸消化为无色透明液体, 取一定体积加闪烁液测定其放射性强度, 另取一定体积采用考马斯亮蓝法测定蛋白量, 并计算出单位质量蛋白中的放射性活度dpm/ μ g。

2.6 ³H-TdR体内掺入肝, 脾DNA实验: 给予³H-TdR之前处理同³H-Leu掺入蛋白质实验, 每只小鼠给予³H-TdR 5 μ Ci, 2h后, 断脊髓处死动物, 取肝, 脾组织按S-T方法^[5]进行DNA提取, 具体如下: 将组织放入5倍体积SSC溶液(含0.14mol/L NaCl, 0.01mol/L Na-Citrate, pH7) 4 $^{\circ}$ C下匀浆, 离心, 弃上清; SSC液洗沉淀一次, 沉淀悬于5倍体积0.15mol/L NaCl, 0.1mol/L EDTA pH8.0溶液中, 再倒入匀浆器中磨细加入10%SDS, 使其终浓度达1%, 加入3mol/L NaCl使其终浓度达1mol/L, 37 $^{\circ}$ C水浴3h, 加入等体积氯仿-异戊醇 (24:1) 混合液, 充分振荡, 离心分层, 上层水相含DNA。取水相重复提取一次, 取水相加入2倍体积95%乙醇, 可见网状DNA出现, 捞取DNA, 75%乙醇冲洗; 0.1 \times SSC溶解DNA, 溶解后加入10 \times SSC使其成为1 \times SSC溶液, 取一定体积分别进行放射性测定和DNA二苯胺法定量, 计算出单位质量DNA上的放射性计数dpm/ μ g。

2.7 ³H-TdR体外掺入骨髓细胞实验: 动物经10d给药后, 处死动物, 取股骨, 用Hank氏液冲出骨髓, 离心, 用含10%小牛血清的Hank氏液稀释骨髓细胞, 使其浓度达1 \sim 2 \times 10⁷/ml, 选取细胞活力在95%以上者实验, 使每管细胞数在0.7 \sim 1.2 \times 10⁶之间, 每管体积为0.5ml, 加³H-TdR 1 μ Ci, 37 $^{\circ}$ C水浴4h, 多头细胞收集器收集细胞, 10%TCA, 无水乙醇, 无水乙醚冲洗, 测定各管放射性计数并换算成每百万细胞的放射性计数。

实验数据采用成组资料t检验, 实验结果分别见表1 \sim 3。可见鳖制剂能显著提高血浆白蛋白, 总蛋白水平, 加速肝, 脾DNA, 蛋白质的合成, 但没有提高小鼠血红蛋白水平, 并表现为对脾DNA, 肝蛋白合成速度提高更明显。³H-TdR体外掺入骨髓实验结果是对照组30030 \pm 8236, 实验组为27482 \pm 13085 cpm/10⁶细胞, 没有显著性差异。

表1 鳖制剂对血液成分的影响

	对照组	鳖制剂组
血红蛋白 (g/dl)	16.47 \pm 1.54	15.93 \pm 1.01
白蛋白 (g/dl)	2.67 \pm 0.44	3.25 \pm 0.34**
总蛋白 (g/dl)	5.34 \pm 0.88	6.74 \pm 1.38**

P<0.05 **P<0.01 (下同)

表2 鳖制剂对DNA合成速度的影响

	对照组	鳖制剂组
肝DNA (dpm/ μ g)	2.42 \pm 0.71	3.90 \pm 1.41**
脾DNA (dpm/ μ g)	19.04 \pm 10.54	41.88 \pm 18.47**

表3 鳖制剂对蛋白质合成速度的影响

	对照组	鳖制剂组
肝蛋白(dpm/ μ g)	12.81 \pm 5.83	21.69 \pm 4.84*
脾蛋白(dpm/ μ g)	16.34 \pm 7.01	23.12 \pm 4.38*

3 讨论

从实验结果可以看出鳖制剂可显著地提高血浆白蛋白和总蛋白水平, 其幅度分别为0.85和1.40g/dl, 这与符世纯报道的用甲鱼炖大蒜治疗肝硬化腹水, 可提高病人白蛋白水平相一致^[6], 鳖制剂没有促进骨髓DNA合成, 骨髓DNA合成未加快, 红细胞生成不增加, 故血红蛋白水平未见提高。本文利用³H-TdR, ³H-Leu掺入技术, 对DNA和蛋白质分别进行

提取和多次洗涤,准确地反映了DNA,蛋白质的合成速度[7],实验证明鳖制剂加速肝脏DNA和蛋白质的合成,这有利于细胞更新,肝脏可以合成更多的蛋白质进入血液,表现为血浆蛋白水平升高,这对从事剧烈活动的人员如运动员的应急和体力恢复是有益的,鳖制剂亦加速了脾DNA和蛋白质的合成,这就有可能提供更多的免疫细胞和分泌更多的免疫球蛋白,增强机体免疫力,郑宝灿等曾有中华鳖多糖增强免疫力的报道[8],本实验用鳖制剂为多种成分的全营养液,不仅含有蛋白质,还含有多糖及多种矿物质[1,8],作者以为鳖的这些成分除直接作为常规原料,参与DNA,蛋白质的合成外,还有其它生物活性物质在其中起重要作用。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院编.中药大辞典.上海:上海人民出版社,1977.2725
- 2 禾川,等.国外医学—中医中药分册,1983,3:57
- 3 李时珍,本草纲目.北京:人民卫生出版社,1981,4:2502
- 4 Paul H S et al. J Clin Invest, 1980, 65, 1285
- 5 蔡武成,等编.生物物质常用分析法.北京:科学出版社,1982.111
- 6 符世纯,河南中医,1992,12(5):236
- 7 黄天贵,等.中华医学杂志,1993,73(5):308
- 8 郑宝灿,等.中国药理学杂志,1991,26(5):275

(1994-04-01收稿)

金樱根治疗小儿脱肛32例

广州市黄埔区人民医院(510700) 陈振高

武警广西梧州市消防支队卫生所 郭洪

用金樱根治疗小儿脱肛32例,疗效满意。

1 临床资料

本组男14例,女18例。年龄1~2岁9例,2~5岁16例,5~9岁7例。病程最短10d,最长2年4个月。按实用儿科学划分:仅有粘膜脱垂的称不完全性脱肛者9例,肠管各层完全翻出称完全性脱肛者23例。

2 治疗方法

每天用金樱根干片30g,文火水煎后取煎液加适量白糖分4~5次饮服,连用至痊愈后再继续服3d,以巩固疗效。

3 治疗结果

服煎液至脱肛痊愈,仅连用3d者9例,4d5例,5d4例,6d4例,7d及9d各2例,8d3例,12d1例,有2例患儿不合作,灌服量很少而无效,其余30例均治愈,治愈率93.75%,无副作用。

4 典型病例

蔡××,女,4岁半。3个月前患肠炎半月之久,每天腹泻淡黄色水样便7~10次,数天后伴便时脱肛,经治疗后虽止泻,但脱肛持续不愈,每次便后要用手托回,甚是痛苦。诊断完全性脱肛。经每天用金樱根30g水煎,取煎液加少量白糖分4~5次饮服,连服6d后脱肛痊愈,继续服3d,随访半年,未见复发。

5 讨论

金樱是野生的常绿攀缘灌木,其果实为金樱子。金樱根乃挖掘其根洗净后切片晒干供药用,功用与金樱子同样具有收敛固下以治下焦虚损之滑脱不禁病证,可治脱肛、子宫脱垂、腹泻、崩漏等。从药源来说,四季可采其根,比用其果实更具来源丰富、制作简单之优点。实践证明金樱根药性平和,用法简单,价格低廉,治疗小儿脱肛疗效好,且无副作用,值得推广。

(1994-04-05 收稿)

Qian hu (*P.harry-smithii* var.*subglabrum*) and Baihua Qianhu (*P.praeruptorum*) was carried out. Results revealed that the former two Qianhu produced in Gansu are similar to Baihua Qian hu in their main ingredients. Thus the two Qianhu are worthy for further research and development. At the same time, it was observed that Baihua Qianhu Produced in Gansu is of inferior quality and the content of EtOH extract of its root is slightly lower than that from elsewhere in China.

(Original article on page 129)

Determination of Schizandrin A and Tanshinone I_A in Wulingwan with TLC-Scanner Method

Wang Xiaojuan, Guo Huifang, Wang Jianpo, et al

TLC-scanner method was used to determine the content of schizandrin A and tanshinone I_A in Wulingwan. The average recovery of both schizandrin A and tanshinone I_A are 98.34% (CV=2.1%) and 99.15% (CV=1.1%) respectively. This method is simple and rapid. Its reproducibility is satisfactory.

(Original article on page 131)

Effect of Extract *Zhonghuabie* (*Amyda sinensis*) on Syntheses of DNA and Protein in Mice

Huang Tiangui, Tao Zhuliang et al

Extract *Amyda sinensis* raised the levels of Plasma proteins. Plasma albumin was raised from 2.67 ± 0.44 to 3.25 ± 0.34 g/dl and the total plasma protein from 5.34 ± 0.88 to 6.74 ± 1.38 /dl. ³H-TdR and ³H-Leucine incorporation techniques were used to measure the syntheses rate of DAN and protein. The rates was accelerated. The specific activities of DNA and protein of liver got up to 3.90 ± 1.41 from 2.42 ± 0.71 dpm/ μ g, and 21.69 ± 4.84 from 12.81 ± 5.83 dpm/ μ g, respectively. Those of spleen got up to 41.88 ± 18.47 from 19.04 ± 10.54 dpm/ μ g and 23.12 ± 4.38 from 16.34 ± 7.01 dpm/ μ g, respectively. Extract *Amyda sinensis* had no effect on DNA synthesis of bone marrow cells and did not raise the hemoglobin level in mice. The results suggest that Extract *Amyda sinensis* has bioactive substance that accelerate syntheses of DNA and protein.

(Original article on page 138)

Effects of Sini Decoction on Ischemic (Anoxic) Electrocardiogram

Wu Weikang Jin Wentao, Luo Canhua, et al

Effects of Sini decoction (SD) on ischemic (anoxic) electrocardiogram (ECG) and possible action mechanism of SD were studied.

Results indicate that SD significantly improves the pituitrin induced ischemic ECG of rabbits, significantly prevents S-T segment from descending and suppresses the elevation of T wave; SD can also lengthen significantly cardioelectric activity time of anoxic mice. The protective effects of SD on ischemic (anoxic) myocardium may be related to the significant increase of myocardial nutritional blood flow induced by administrating SD.

(Original article on page 141)

Studies on the Pharmacology of Cajanin Preparation

Sun Shaomei, Song Yumei, Liu Jian, et al

Cajanin preparation could significantly reduce the mouse pinna inflammation induced