

体外培育牛黄镇痛作用的电生理机制

张韶辉¹, 张延琳², 王文权¹, 曹雪红¹, 赵立波¹, 王嘉陵¹

(华中科技大学 1. 同济医学院药理学系, 2. 同济医院口腔医学中心, 湖北 武汉 430030)

中国图书分类号: R-332; R 282.74; R 338.8; R 348.4; R 971.1
文献标识码: A **文章编号:** 1001-1978(2008)08-1073-05
摘要: **目的** 探讨体外培育牛黄(calculus bovis sativus, CBS)镇痛作用的电生理机制。**方法** 在蟾蜍坐骨神经干和培养大鼠三叉神经节(TRG)细胞上,分别记录复合动作电位和电压依赖性钠通道电流。**结果** CBS($>0.4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)可以抑制复合神经动作电位, $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ CBS 对其抑制率为 $(42.5\pm 17.6)\%$ 。CBS($0.2\sim 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)可以剂量依赖性的抑制大鼠 TRG 细胞电压依赖性总钠通道电流($I_{\text{Na}}\text{-T}$)和 TTX 不敏感型钠通道电流($I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$), $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CBS 对 $I_{\text{Na}}\text{-T}$ 和 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 的抑制率分别为 $(55.8\pm 7.8)\%$ 和 $(39.3\pm 5.7)\%$ 。**结论** CBS 对钠电流的阻滞作用可能是其镇痛作用机制之一。

关键词: 体外培育牛黄;膜片钳;钠离子通道;三叉神经节

牛黄是名贵中药,《本草纲目》记载:其“清心解毒、凉肝息风”,主治惊厥抽搐、癫痫发狂、咽喉肿痛等症。以牛黄为主要成分的牛黄千金散、牛黄解毒丸等经典中成药主要用于解热、镇痛,具有良好的临床疗效。已证实,牛黄及培植牛黄均能明显降低醋酸所致的小鼠疼痛反应^[1]。关于牛黄镇痛的作用机制,除与抗炎止痛有关外^[2,3],推测也可能涉及对痛觉信息传入的直接干预作用^[4]。天然牛黄药源匮乏、价格昂贵。国家药品监督管理部门自1972年陆续批准了3个牛黄代用品:人工牛黄、培植牛黄、体外培育牛黄。体外培育牛黄(calculus bovis sativus, CBS; 曾译名 *in vitro* cultivated calculus bovis, IC-CB)是模拟体内胆结石形成的原理和生化过程,在体外牛胆汁内培育的牛胆红素钙结石,其性状、结构、成分、含量、药效及疗效等与天然牛黄一致^[5]。批准文号国药准字20010075,已收录入2005年药典(一部)。

实验以 CBS 为对象,以蟾蜍坐骨神经干和三叉神经节细胞为标本,观察 CBS 对复合动作电位及电

压依赖性总钠通道电流($I_{\text{Na}}\text{-T}$)和 TTX 不敏感型钠通道电流($I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$)的影响,探讨牛黄镇痛作用的电生理机制,以证实其阻滞痛觉信息传导的推测。

1 材料与方法

1.1 试剂与药品 细胞培养液 DMEM/F12 为 Gibco 公司产品,配置细胞内外液所用试剂为国产分析纯或 Sigma 公司产品,利多卡因由上海晶晖生物技术有限公司生产,CBS 由华中科技大学同济医学院附属同济医院牛黄研究室蔡红娇教授馈赠。CBS 40 mg 溶于 1 ml 溶剂(0.8 ml DMSO 与 0.2 ml Tween-80)中,震荡混匀后用任氏液稀释为 $0.4\sim 4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,用细胞外液稀释为 $0.2\sim 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 备用。

1.2 溶液 记录 $I_{\text{Na}}\text{-T}$ 的细胞外液成分($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$): NaCl 140、KCl 5、CaCl₂ 2、MgCl₂ 1、HEPES 10、D-Glucose 10、4-AP 1,用 NaOH 调节 pH = 7.4;记录 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 的细胞外液成分:在上述细胞外液中加入 TTX 使其终浓度为 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。记录两种通道的细胞内液成分($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$): CsCl 130、NaCl 10、CaCl₂ 1、MgCl₂ 1、EGTA 5、HEPES 10、Tris-ATP 5,用 CsOH 调节 pH = 7.3。

1.3 蟾蜍坐骨神经干标本制备及复合动作电位记录 按常规方法分离蟾蜍双后肢坐骨神经干约 10 cm,置于任氏液中稳定 30 min。实验分 3 组,分别为溶剂对照组、 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 利多卡因对照组和 $0.4\sim 4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 体外培育牛黄组。给予标本幅度为 1 V、波宽为 5 ms 的单刺激方波。用微量加样器吸取药物滴加于刺激电极和引导电极的神经干中端,加药后每 10 min 记录一次,观察药物对坐骨神经干复合动作电位的影响。

1.4 全细胞膜片钳记录 按文献^[6]的方法分离和培养细胞,选择直径为 15~30 μm 的神经元进行电流记录。玻璃微电极分两步拉制,电极阻抗 2~3 M Ω 。采样频率及滤波频率分别为 10 kHz 和 2 kHz。补偿瞬时和缓慢电容电流以及串联电阻,串联电阻补偿 $\geq 90\%$ 。破膜后细胞保持钳制电压为 -80 mV,施一组去极化脉冲从 -80 mV 到 +50 mV,阶越为 10 mV,脉冲宽度为 50 ms 的电压方波诱发钠电流。电流幅值定义为 I_{Na} 的最大内向电流。

1.5 数据统计 实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用配对 t

收稿日期:2008-01-27,修回日期:2008-04-18

作者简介:张韶辉(1979-),女,博士生,研究方向:中药药理学, Tel: 027-83657736, E-mail: wangtjmu@hotmail.com;

王嘉陵(1951-),男,博士生导师,研究方向:中药药理学, Tel: 027-83657736, E-mail: wangtjmu@hotmail.com

Tab 1 Effects of $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS on the amplitude of action potential (AP) ($\bar{x} \pm s, n=6 \sim 8$)

Group	Pre-dose AP/mV	Post-dose AP/mV		
		10 min	20 min	30 min
Control	2.35 ± 0.47	2.32 ± 0.30	2.21 ± 0.37	2.29 ± 0.39
CCB $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	2.65 ± 0.70	$2.10 \pm 0.63^{**}$	$1.68 \pm 0.56^{**}$	$1.56 \pm 0.60^{**}$
lidocaine $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2.62 ± 0.34	$1.90 \pm 0.37^*$	$1.32 \pm 0.38^*$	$1.00 \pm 0.27^*$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before treatment

检验进行统计学处理,用 Sigma Plot 8.0 软件进行曲线拟和及相关参数的计算。药物的抑制百分率通过公式: $(I_{\text{对照}} - I_{\text{药物}}) / I_{\text{对照}}$ 来计算。

2 结果

2.1 CBS 对复合动作电位的影响 $0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 能轻度抑制蟾蜍坐骨神经干复合动作电位的幅度,30 min 时使动作电位由给药前的 (2.68 ± 0.26) mV 下降为给药后的 (2.55 ± 0.29) mV,抑制率为 $(5.0 \pm 2.4)\%$ ($n=7, P > 0.05$)。 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 可时间依赖性地明显抑制动作电位 (Fig 1), 给药后 10、20 和 30 min 时,对动作电位的抑制率分别为 $(21.3 \pm 10.3)\%$ 、 $(36.8 \pm 14.2)\%$ 、 $(42.5 \pm 17.6)\%$ ($n=8, P < 0.01$),用任氏液冲洗 10~20 min 可使动作电位部分恢复。同样条件下,给予 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 利多卡因 10、20 和 30 min 时,动作电位分别下降 $(26.8 \pm 14.9)\%$ 、 $(48.0 \pm 19.1)\%$ 和 $(60.7 \pm 14.2)\%$ ($n=6, P < 0.05$)。溶剂对照组对动作电位无影响。结果见 Tab 1。

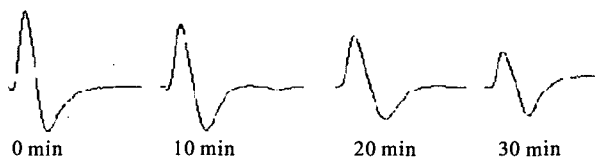


Fig 1 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ calculus bovis sativus (CBS) decreased the action potential amplitude of sciatic nerve trunk of toads in time-dependent manner

2.2 CBS 对 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-T}$ 的影响 破膜 5 min 后电流稳定,开始给药并记录钠通道电流。给药前的总钠通道电流幅值为 (12.1 ± 0.5) nA, 给予 DM-SO 与 Tween80 的混合溶剂后为 (12.1 ± 0.6) nA ($n=5, P > 0.05$),表明溶剂对于 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-T}$ 无明显影响。CBS 能够剂量依赖性的抑制 TRG 细胞总钠电流幅值, 0.2 、 2 、 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 可使神经元钠电流幅值分别减少 $(25.9 \pm 5.7)\%$ 、 $(45.0 \pm 7.6)\%$ 和 $(55.8 \pm 7.8)\%$ ($n=6, P < 0.01$)。如 Fig 2A 所示, $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 使 I_{Na} 由给药前的 11.0 nA 减少至给药后的 5.4 nA,但冲洗后电流未见明显恢复,

提示药物作用难以逆转。以 Fig 2A 中的 I_{Na} 幅值对应各测试电位作图,得 I_{Na} I-U 曲线 (Fig 2B)。各测试电压下, CBS 使 $I_{\text{Na}}\text{-T}$ 幅值减小, 给药前后最大激活电位及激活阈值电位无改变。根据所记录到的 I_{Na} , 用 Boltzmann 函数拟合: 给药前 $V_{1/2} = (-19.0 \pm 10.6)$ mV, $k = 4.3 \pm 1.7$, 给予 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 后 $V_{1/2} = (24.5 \pm 10.3)$ mV, $k = 4.9 \pm 2.5$ ($n=6, P > 0.05$), 表明 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 对 $I_{\text{Na}}\text{-T}$ 的激活动力学无明显影响 (Fig 2C)。

2.3 CBS 对 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 的影响 给药前 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 幅值为 (10.2 ± 0.2) nA, 给予溶剂对照后为 (9.9 ± 0.4) nA ($n=5, P > 0.05$), 表明溶剂对 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 无明显影响。CBS 可剂量依赖性的抑制 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 幅值, 0.2 、 2 、 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 可使 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 幅值分别减少 $(8.1 \pm 2.0)\%$ 、 $(28 \pm 5.2)\%$ 和 $(39.3 \pm 5.7)\%$ ($n=6, P < 0.01$)。如 Fig 3 A 所示, $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 使 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 幅值由给药前的 12.4 nA 减少至给药后的 7.0 nA, 冲洗后电流同样未见明显恢复。以此作图, 得 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 给药前后的 I-U 曲线 (Fig 3B)。可见在各测试电压下体外培育牛黄可使 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 幅值减小, 对 I-U 曲线的形状无明显影响。比较给药前后电流的激活曲线发现: 给药前 $V_{1/2} = (24.1 \pm 0.2)$ mV, $k = 1.6 \pm 0.1$, 给予 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 后 $V_{1/2} = (-23.0 \pm 1.4)$ mV, $k = 1.6 \pm 0.2$ ($n=6, P > 0.05$), 表明 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS 对 TRG 细胞 $I_{\text{Na}}\text{-TTX-r}$ 的激活时间过程无影响 (Fig 3C)。

3 讨论

伤害性感受器兴奋后, 激活传导痛觉信息的神经纤维产生动作电位, 经过脊髓, 在中枢加工处理后引起疼痛感受。实验发现体外培育牛黄可以时间依赖性的抑制神经干动作电位, 阻止动作电位冲动的传导, 防止或减少从损伤部位来的神经冲动传入中枢, 发挥其镇痛作用。

疼痛的传导通路起始于背根神经节 (DRG)、三叉神经节等初级感觉神经元, 电压门控性钠通道是神经元产生动作电位的生理基础。已有的研究认为钠通道活性与感觉神经元兴奋性增高所致的疼痛有

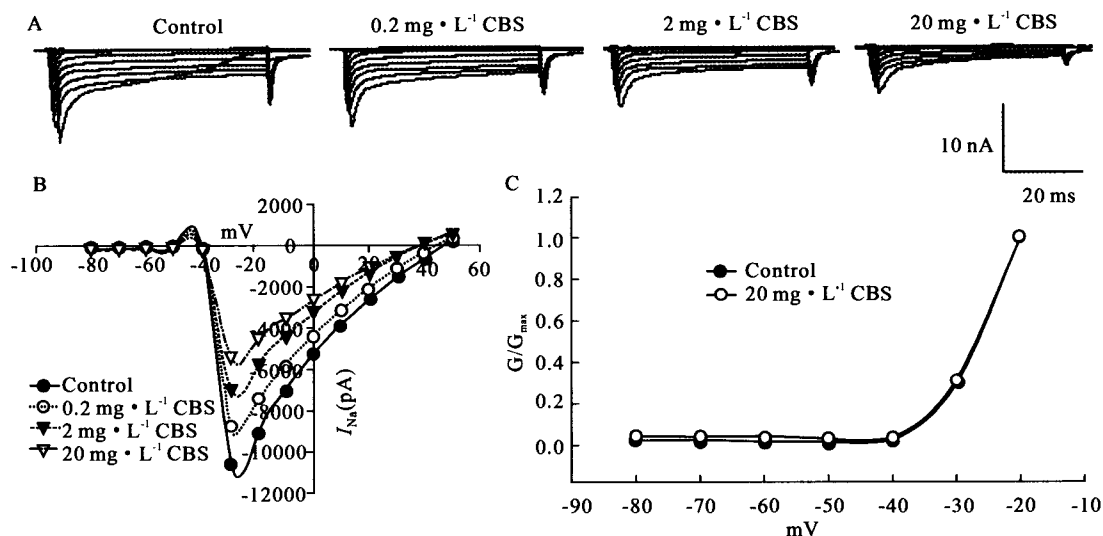


Fig 2 Effects of CBS on the total sodium (I_{Na-T}) currents in TRG neurons

A: A representative voltage-clamp experiment showed that CBS concentration-dependently decreased the I_{Na-T} currents significantly. B: Current-voltage (I-U) relation of I_{Na-T} under different concentration. C: Conductance-voltage (G-U) relation of the same neuron showed no significant change after $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS. Control: $V_{1/2} = -25.9 \text{ mV}$, $k = 3.8$; $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS: $V_{1/2} = -24.5 \text{ mV}$, $k = 4.5$

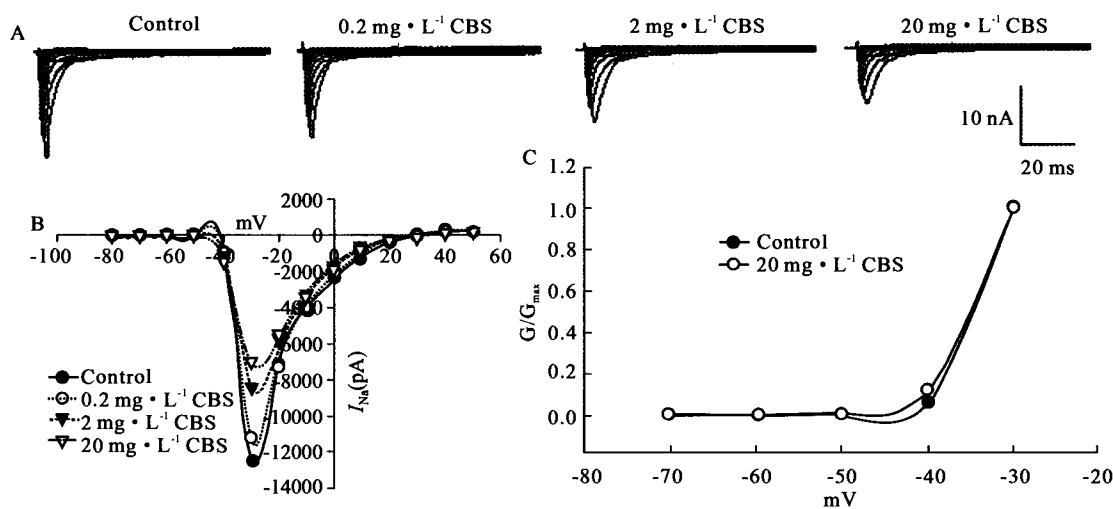


Fig 3 Effects of CBS on $I_{Na-TTX-r}$ currents in TRG neurons

A: A representative voltage-clamp experiment showed that CBS concentration-dependently decreased the $I_{Na-TTX-r}$ currents. B: Current-voltage (I-U) relation of $I_{Na-TTX-r}$ current under different concentrations. C: Conductance-voltage (G-U) relation of the same neuron showed no significant change after $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS. Control: $V_{1/2} = -24.2 \text{ mV}$, $k = 1.7$; $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CBS: $V_{1/2} = -21.4 \text{ mV}$, $k = 1.8$

关^[7]。目前临床广泛使用的镇痛药物也多为钠通道阻断剂。实验中发现不同浓度的体外培育牛黄均明显抑制了 TRG 细胞膜上电压门控性总钠通道,并呈浓度依赖性。提示其通过钠通道的阻断作用,降低感觉神经元的兴奋性,抑制神经兴奋的发生、传导,达到镇痛的作用。

电压门控性钠通道根据对 TTX 的敏感性可以分为 TTX-s 和 TTX-r 两种类型。其中 TTX-r 钠通道有 SNS/PN3 和 NaN/SNS2 两种表达。近年来,越来越多的研究提示,TTX-r 钠通道在疼痛的发生过程

中发挥着重要作用。TTX-r 钠通道主要分布于与伤害感受相关的感觉神经元^[8],表现出与疼痛相关的生物物理学性质^[9],如活化阈值高,可以由失活态迅速复原,失活速率较慢等。在 TTX-r 钠通道的转录与表达的研究中,也表明 TTX-r 钠通道在疼痛发生机制中起作用。对人类疼痛状态下的 SNS/PN3 和 NaN/SNS2 的研究发现外周神经损伤后,神经损伤位点出现了 TTX-r 钠通道表达增高^[10,11]。在神经病性疼痛模型中,应用药物选择性降低 TTX-r 钠通道的表达、减少 TTX-r 钠电流,可逆转脊神经损伤引

起的神经病性疼痛^[12]。因此我们进一步研究了体外培育牛黄对于 TTX-r 钠通道电流的作用,发现其可以剂量依赖性的抑制 TTX-r 钠通道电流,直接干预痛觉信息中枢传入的过程,进一步证明了牛黄发挥镇痛作用的电生理机制。在角叉菜胶引起的炎症痛动物模型的研究中发现,在 DRG 内与注射角叉菜胶区域相关的神经元中, α -SNS mRNA 的表达出现明显升高,而且通过膜片钳技术记录发现在投射至炎症肢体的小直径 DRG 神经元中 TTX-r 钠电流明显大于对侧^[13]。表明 TTX-r 钠通道在炎症慢性痛的发生中发挥重要作用。提示牛黄对 TTX-r 钠通道的阻滞参与其抗炎镇痛效应的产生。

根据实验结果,可以认为体外培育牛黄对于 TTX 敏感性钠电流也有抑制作用。虽然 TTX-s 钠通道与 TTX-r 钠通道相比,后者与疼痛的关系更为密切。但低剂量 TTX 椎管内给药能有效增加神经源性痛阈,缓解其异常痛行为^[14],说明 TTX-s 钠通道对神经源性异常疼痛的产生和传导具有一定意义。

参考文献:

- [1] 李培锋,哈斯苏红,关红. 胆红素含量不同培植牛黄的镇静、镇痛及抗惊厥作用研究[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1998, 19(3):22-7.
- [1] Li P F, Hasi S H, Guan H. The effect of cultural calculus bovis which bilirubin contents is different on conscious-sedation, relieving pain and anticonvulsant[J]. *J Inner Mongolia Agr Univ: Nat Sci*, 1998, 19(3): 22-7.
- [2] 袁惠南. 培植牛黄药物作用和研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(2):105-8.
- [2] Yuan H N. The drug action and research of cultural calculus bovis [J]. *China J Chin Mater Med*, 1991, 16(2):105-8.
- [3] 贺春阳,关红,李培锋. 人工培育牛黄的药理作用[J]. 中草药, 1988, 19(5):21-4.
- [3] He C Y, Guan H, Li P F. The pharmacologic action of artificial cultured ox gallstone[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 1988, 19(5): 21-4.
- [4] 王灿,陈素,刘向明. 龙血素 B 抑制大鼠背根神经节细胞辣椒素诱发的电流反应[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(2): 211-4.
- [4] Wang C, Chen S, Liu X M. Loureirin B inhibits capsaicin-induced currents in rat dorsal root ganglion neurons[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, 23(2):211-4.
- [5] 蔡红娇,裘法祖,刘仁则. 体外培育牛黄的药学研究[J]. 中国天然药物, 2004, 2(6):335-8.
- [5] Cai H J, Qiu F Z, Liu R Z. Studies on the pharmacy of *in vitro* cultivated calculus bovis(ICBS) [J]. *Chin J Nat Med*, 2004, 2(6):335-8.
- [6] Cao X H, Ming Z Y, Fu H, et al. Effects of inhibitor of serine/threonine protein phosphatases 1 and 2A on voltage-dependent sodium channels in rat trigeminal ganglion neurons [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2005, 19(4):248-53.
- [7] Waxman S G. The molecular pathophysiology of pain: abnormal expression of sodium channel genes and its contributions to hyperexcitability of primary sensory neurons [J]. *Pain*, 1999, 6:132-40.
- [8] Porreca F, Lai J, Bian D, et al. A comparison of the potential role of the tetrodotoxin-insensitive sodium channels PN3/SNS and NaN/SNS2 in rat models of chronic pain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(14):7640-4.
- [9] Gold M S. Tetrodotoxin-resistant Na⁺ currents and inflammatory hyperalgesia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(14):7645-9.
- [10] Coward K, Plumpton C, Plumpton C, et al. Immunolocalization of SNS/PN3 and NaN/SNS2 sodium channels in human pain states [J]. *Pain*, 2000, 85(1-2):41-50.
- [11] Yiangou Y, Birch R, Sangmeswaran L, et al. SNS/PN3 and SNS2/NaN sodium channel-like immunoreactivity in human adult and neonate injured sensory nerves [J]. *FEBS Lett*, 2000, 467(2-3):249-52.
- [12] Lai J, Gold M S, Kim C S, et al. Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin-resistant sodium channel Na V1.8 [J]. *Pain*, 2002, 95(1-2):143-52.
- [13] Tanaka M, Cummins T R, Ishikawa K, et al. SNS Na⁺ channel expression increases in dorsal root ganglion neurons in the carrageenan inflammatory pain model [J]. *Neuroreport*, 1998, 9(6):967-72.
- [14] Lyu Y S, Park S K, Chung K. Low dose of tetrodotoxin reduces neuropathic pain behaviors in an animal model [J]. *Brain Res*, 2000, 871(1):98-103.

The electrophysiological mechanism of relieving pain of calculus bovis sativus

ZHANG Shao-hui¹, ZHANG Yan-lin², WANG Wen-quan, CAO Xue-hong¹, ZHAO Li-bo¹, WANG Jia-ling¹

(1. Dept of Pharmacology, Institute of Basic Medical Sciences, Tongji Medical College, 2. Dept of Oral Medical of Stomatology, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Aim To investigate the electrophysiological mechanism of relieving pain of calculus bovis sativus (CBS). **Methods** The action potential and the currents of voltage-dependent sodium channel were re-

spectively recorded with RM6240BD polygraph and PC2C resistor-feedback amplifier. **Results** CBS (> 0.4 g · L⁻¹) decreased the action potential on sciatic nerve trunk of toads, 4 g · L⁻¹ CBS inhibited the am-

d- α -生育酚对乙醇引发的肝脏氧化应激的影响

汪求真, 马爱国, 张超英, 张秀珍

(青岛大学医学院医学营养研究所, 山东 青岛 266021)

中国图书分类号: R-332; R 322.47; R 349.21; R 575.022; R 916.4; R 977.25; R 977.3

文献标识码: A 文章编号: 1001-1978(2008)08-1077-04

摘要:目的 观察 *d*- α -生育酚对乙醇诱发的小鼠肝脏氧化应激的影响并探讨其机制。方法 昆明种小鼠每天给予 2.4 g · kg⁻¹ bw 乙醇后,再给予 3 个不同剂量的 *d*- α -生育酚(25、50、100 mg · kg⁻¹ bw · d⁻¹),同时设正常对照组和乙醇对照组(乙醇 2.4 g · kg⁻¹ bw · d⁻¹),连续灌胃 60 d 后,测定肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、Na⁺,K⁺-ATP 酶(Na⁺,K⁺-ATPase)、Ca²⁺,Mg²⁺-ATP 酶(Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase)、谷胱甘肽-S 转移酶(GST)活力及丙二醛(MDA)的含量。结果 小鼠摄入乙醇 60 d 后,肝脏氧化应激水平明显增高。除 Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase 以外,其余各项指标与正常对照组相比,差异均有显著性($P < 0.05$)。50 mg · kg⁻¹ bw · d⁻¹ *d*- α -生育酚干预后,与乙醇对照组相比,GSH-Px,SOD,GST、Na⁺,K⁺-ATPase 活力明显升高,MDA 含量显著下降。其中,GSH-Px、Na⁺,K⁺-ATPase、MDA 等 3 个指标在 25 mg · kg⁻¹ bw · d⁻¹ *d*- α -生育酚干预时亦出现同样的变化。结论 适宜剂量的 *d*- α -生育酚可以通过直接抑制脂质过氧化对乙醇诱发的肝脏氧化应激起保护作用。

关键词:乙醇;*d*- α -生育酚;氧化应激;抗氧化酶;脂质过氧化

长期过量饮酒已经成为全球范围内的重要的公共卫生问题。一般情况下,摄入的乙醇主要经肝脏的乙醇脱氢酶系统进行代谢,但长期过量饮酒可诱导细胞色素 P450 成为乙醇代谢的主要酶系,这会导致大量活性氧(reactive oxygen species,ROS)生成,由此造成的氧化损伤是慢性酒精中毒性肝病发生的重要机制之一^[1]。维生素 E(Vit E)是机体内重要

的非酶抗氧化分子,可以通过捕获氧自由基从而避免脂质过氧化及阻断自由基链式反应等多种途径抵御 ROS 等活性自由基对机体的氧化攻击。已有研究报道 Vit E 可提高细胞免疫功能^[2],对肿瘤、神经退行性疾病等起预防、治疗作用,但也有体外研究报道大剂量 Vit E 有促氧化作用^[3]。根据色原烷醇环上甲基的数量和位置的不同,Vit E 分为 α -生育酚、 β -生育酚等 8 种异构体,其中 α -生育酚在自然界分布最广且生物活性最高。本研究选用植物油中提取的天然 Vit E—2R,4'R,8'R- α -生育酚(*d*- α -生育酚,*d*-2-tocopherol,TOC),观察 3 个不同水平干预对长期摄入乙醇诱发的肝脏氧化应激的影响,为安全、有效使用 *d*- α -生育酚防治酒精中毒性疾病提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *d*- α -生育酚(*d*- α -tocopherol) 植物油中提取,每 g 含 670 mg *d*- α -生育酚,由 Sigma 公司提供。

1.1.2 实验动物 纯种昆明小鼠,体重 26~30 g,♀♂各半,由青岛市实验动物和动物试验中心提供,SPF 级,合格证号:SCXK(鲁)20030010。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 将动物随机分为 5 组,每组 9 只。① 正常对照组(NC):蒸馏水灌胃;② 乙醇对照组(EC):2.4 g · kg⁻¹ bw · d⁻¹ (30% (v/v) 乙醇,1.0 ml · 100 g⁻¹ bw);③ *d*- α -生育酚组(TOC 1):2.4 g · kg⁻¹ bw · d⁻¹ 乙醇灌胃 0.5 h 后,再给予 25 mg · kg⁻¹ bw · d⁻¹ *d*- α -生育酚;④ *d*- α -生育酚 2 组(TOC 2):2.4 g · kg⁻¹ bw · d⁻¹ 乙醇灌胃 0.5 h 后,再给予 50 mg · kg⁻¹ bw · d⁻¹ *d*- α -生育酚;⑤ *d*- α -生育酚 3 组(TOC 3):2.4 g · kg⁻¹ bw · d⁻¹ 乙醇灌胃 0.5 h 后,再给予 100 mg · kg⁻¹ bw · d⁻¹ *d*- α -生育酚。各

收稿日期:2008-01-25,修回日期:2008-05-20

基金项目:山东省卫生厅青年基金资助课题(No QW011)

作者简介:汪求真(1971-),女,硕士,讲师,研究方向:维生素营养与健康,Tel:0553-82991503,E-mail:Kevin_1971@126.com

plitude of action potential by (42.5 ± 17.6)%. Furthermore, CBS (0.2~20 mg · L⁻¹) could concentration-dependently inhibit I_{Na-T} and $I_{Na-TTX-r}$ of cultured adult rat trigeminal ganglion neurons, and 20 mg · L⁻¹ CBS inhibited I_{Na-T} and $I_{Na-TTX-r}$ by (55.8 ±

7.8)% and (39.3 ± 5.7)%. **Conclusion** The inhibitory effect of CBS on the sodium current might contribute to its function of relieving pain.

Key words: calculus bovis sativus; patch clamp; sodium channel; trigeminal ganglion