

环境激素烯菌酮引发小鼠前列腺癌细胞的毒性机制

王娜^{1,3}, 钱红燕², 王迎¹, 周显青^{3,*}

1. 首都医科大学基础医学院 实验动物学系, 北京 100069

2. 首都医科大学基础医学院 免疫学系, 北京 100069

3. 首都医科大学公共卫生与家庭医学学院 卫生毒理和卫生化学系, 北京 100069

摘要: 为探讨环境激素烯菌酮引发小鼠前列腺癌(RM-1)细胞毒性机制, 设计了3组实验, 分别为对照组、烯菌酮染毒组(染毒组)和烯菌酮染毒后添加维生素E组(实验组), 各组给药培养48 h后, 观察细胞形态变化。检测细胞增殖活性、丙二醛(MDA)含量、抑制羟自由基能力、乳酸脱氢酶(LDH)活性、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性。结果表明, 与对照组相比, 染毒组RM-1细胞圆缩脱落明显, 贴壁细胞减少; 细胞增殖率、抑制羟自由基能力、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性明显降低($p < 0.05$), LDH活性和MDA含量显著升高($p < 0.05$)。与染毒组相比, 染毒后添加维生素E, 圆缩脱落细胞减少, 而梭形贴壁细胞明显增加; 细胞增殖率、抑制羟自由基能力、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性显著升高($p < 0.05$), LDH活性和MDA含量明显下降($p < 0.05$)。这表明维生素E可能通过其抗氧化性拮抗了烯菌酮引发的氧化应激, 缓解了细胞膜的损伤, 维持了细胞膜的完整性和膜蛋白的功能, 防止了细胞内LDH外逸、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性的下降, 从而逆转了烯菌酮引发的细胞死亡和增殖率的下降。

关键词: 烯菌酮; 维生素E; 氧化应激; 细胞活性

文章编号: 1673-5897(2012)2-189-06 **中图分类号:** R994.6 **文献标识码:** A

Toxic Mechanism of Environmental Hormone Vinclozolin on Mouse Prostate Cancer Cells

Wang Na^{1,3}, Qian Hongyan², Wang Ying¹, Zhou Xianqing^{3,*}

1. Department of Laboratory Animal Science, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

2. Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

3. Department of Health Toxicology and Health Chemistry, School of Public Health and Family Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Received 13 November 2011 **accepted** 16 December 2011

Abstract: To study the toxic mechanism of environmental hormone vinclozolin on mouse prostate cancer (RM-1) cells, 3 groups experiments were designed: control group, vinclozolin-treated group, and addition of vitamin E to vinclozolin-treated group (experimental group). After 48 h, morphological changes of the cells were observed. Cell proliferation rate, malondialdehyde (MDA) content and the ability to inhibit hydroxyl radical were determined as well as the activities of lactate dehydrogenase (LDH), $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$. Compared with control group, the number of RM-1 adherent cells, cell proliferation rate, the ability to inhibit hydroxyl radical, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ activity significantly decreased ($p < 0.05$), while LDH activity and MDA content obviously increased ($p < 0.05$) in vinclozolin-treated group. After addition of vitamin E, compared with vinclo-

收稿日期: 2011-11-13 录用日期: 2011-12-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30970454)

作者简介: 王娜(1983-), 女, 硕士, 研究方向: 环境毒理学, E-mail: w_na1983@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: xianqingzhou@yahoo.com.cn

zolin-treated group, the number of adherent cells, cell proliferation rate, the ability to inhibit the hydroxyl radical, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ activity ($p < 0.05$) significantly increased, while LDH activity and MDA content obviously decreased ($p < 0.05$). It was indicated that vitamin E antagonized the oxidative stress of RM-1 cells treated with vinclozolin. Thus, the damage of cell membrane was relieved and the integrity and function of cells were maintained, preventing the escape of intracellular LDH and the decreasing $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ activity. As a result, the cell death and cell proliferation rate decreased.

Keywords: vinclozolin; vitamin E; oxidative stress; cell activity

烯菌酮(vinclozolin)又名乙烯菌核利、农利灵,化学名3-(3,5-二氯苯基)-5-甲基-5-乙炔基-1,3-噁唑烷-2,4-二酮,是1种广谱的保护性和触杀性杀菌剂,对果树、蔬菜和观赏植物等植物的病害具有显著的预防和治疗作用,因此应用广泛。在生态环境中,烯菌酮主要残留在植物、水体和土壤中。烯菌酮是1种具有抗雄激素作用的环境内分泌干扰物^[1],其代谢产物与雄激素受体产生竞争性结合,使正常雄激素和雄激素受体的结合减少^[2]。母体大鼠染毒烯菌酮,可出现雄仔外生殖器雌性化,性腺组织萎缩,交尾率降低^[3]。烯菌酮可导致斑马鱼胚胎死亡和发育延迟,并具有致畸作用^[4]。因此,烯菌酮对人类健康以及生态环境存在潜在的威胁。然而大量文献仅仅研究了烯菌酮对人体及动物的毒性作用,就其毒性机制报道甚少。我们前期的工作表明,烯菌酮染毒能抑制小鼠前列腺癌(RM-1)细胞的增殖活力,导致丙二醛(MDA)含量明显增加,引起抗氧化酶活性代偿性升高^[5]。鉴于此,本研究拟通过抗氧化剂维生素E对烯菌酮染毒RM-1细胞所致毒性的影响来探讨烯菌酮引起细胞毒性的机制。

1 实验材料与方法(Materials and methods)

1.1 仪器和试剂

仪器: Multiskan Ascent 酶标仪(荷兰 Thermo-labystems 公司);分光光度计 Smart Spec TM plus Spectrophotometer(美国 Bio-rad 公司);细胞超声粉碎机 VCX-600(美国 Sonic 公司);台式高速离心机 Centrifuge 5415C(德国 Eppendorf 公司);倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司)。

试剂: 噻唑蓝(MTT)、烯菌酮(vinclozolin)均购自 Sigma 公司;二甲基亚砜(DMSO): Merck 公司产品;胎牛血清(FBS): 杭州四季青公司产品; RPMI-1640 液体培养基: Hyclone 公司产品;丙二醛(MDA)、羟自由基、乳酸脱氢酶(LDH)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 酶检测试剂盒均购自南京建成生物科技有限公司。

1.2 细胞培养和实验设计

小鼠前列腺癌(RM-1)细胞(购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心),培养液含10%的小牛血清,0.1%的青、链霉素双抗,以及 RPMI-1640 完全培养液。隔天换液,48 ~ 72 h 传代1次。在37℃,5%的 CO_2 的培养箱中培养。将细胞悬液以每孔细胞密度为 $1 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于6孔板中,待细胞贴壁后分为3组:分别加入 DMSO(对照组),100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 烯菌酮(染毒组),100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 烯菌酮和 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 维生素 E(实验组),每组3个复孔,培养48 h 后收集细胞测定各指标。本实验所用烯菌酮染毒剂量依据我们以前的工作^[5]。

1.3 实验方法

1.3.1 RM-1 细胞形态的观察

按实验设计细胞给药培养48 h 后,在倒置显微镜下(放大倍数为40×10)观察细胞形态变化情况。

1.3.2 RM-1 细胞增殖率的测定

按实验设计细胞给药培养48 h 后,每孔加入5 g· L^{-1} 四唑盐液40 μL ,培养4 h,弃上清,每孔加入200 μL DMSO,振荡混匀后,在 Multiskan Ascent 酶标仪570 nm 处测定 OD 值。实验重复2次。

1.3.3 RM-1 细胞丙二醛含量和抑制羟自由基能力的测定

按实验设计细胞给药培养48 h 后,收集细胞,用细胞超声粉碎机粉碎细胞后离心收集上清,按照丙二醛(MDA)、羟自由基检测试剂盒说明书进行实验,用分光光度计分别在532和550 nm 处测定其 OD 值。实验重复2次。

1.3.4 RM-1 细胞乳酸脱氢酶, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 酶活性的测定

按实验设计细胞给药培养48 h 后,收集细胞离心取上清,按照乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒说明书进行实验,用分光光度计在440 nm 处测定其 OD 值。实验重复2次。

按实验设计细胞给药培养48 h 后,收集细胞,

用细胞超声粉碎机粉碎细胞后离心收集上清,按照试剂盒说明书检测 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性,用分光光度计在 405 nm 处测定其 OD 值。实验重复 2 次。

1.4 数据分析

实验所得全部数据均应用 SPSS 13.0 统计包处理,染毒组和对照组,实验组和染毒组之间采用两组独立样本 t -检验进行分析,结果均以均值 $\pm$ 标准差表示,差异显著性均以 $p < 0.05$ 为标准(在以下柱状图中,* 表示:与染毒组比较, $p < 0.05$)。

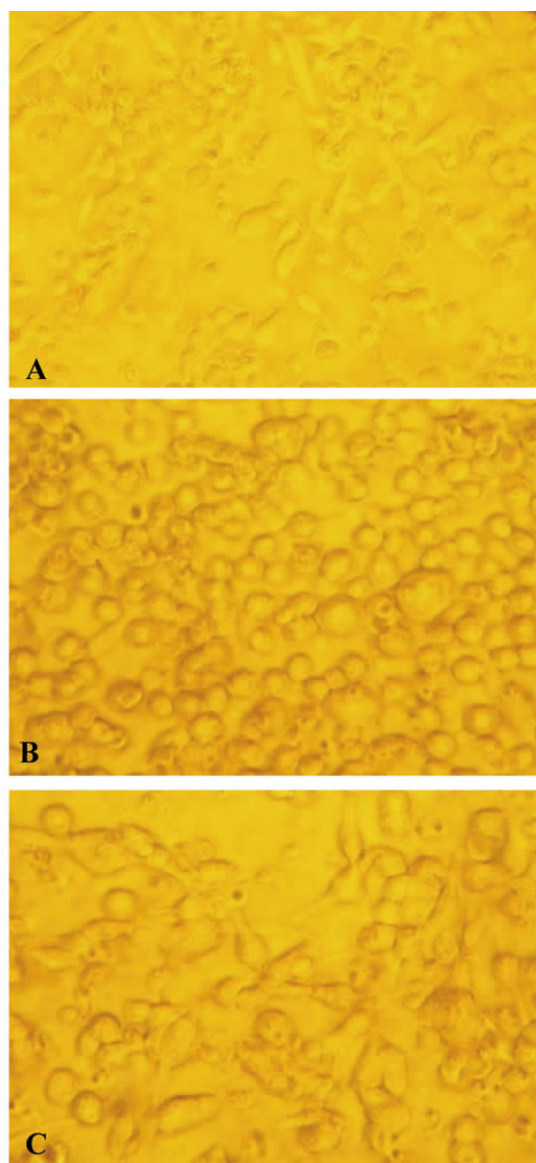


图1 维生素 E 对烯菌酮染毒 RM-1 细胞形态的影响(40×10)

A: 对照组; B: 染毒组; C: 实验组

Fig. 1 Effects of vitamin E on morphology of RM-1 cells treated with vinclozolin (40×10)

A: control group; B: vinclozolin-treated group; C: experimental group

2 实验结果(Results)

2.1 维生素 E 对烯菌酮染毒 RM-1 细胞形态的影响

对照组单层培养的小鼠前列腺癌细胞呈梭形样,贴壁生长(图 1A);染毒组梭形生长的细胞数显著减少,大量细胞圆缩脱落(图 1B);实验组圆缩脱落的细胞较染毒组显著减少,梭形贴壁细胞明显增多(图 1C)。

2.2 维生素 E 对烯菌酮染毒 RM-1 细胞增殖率、丙二醛含量和抑制羟自由基能力的影响

t -检验结果表明,烯菌酮染毒组较对照组细胞增殖率明显降低($p < 0.05$) (图 2A),丙二醛含量显著升高($p < 0.05$) (图 2B),抑制羟自由基能力明显

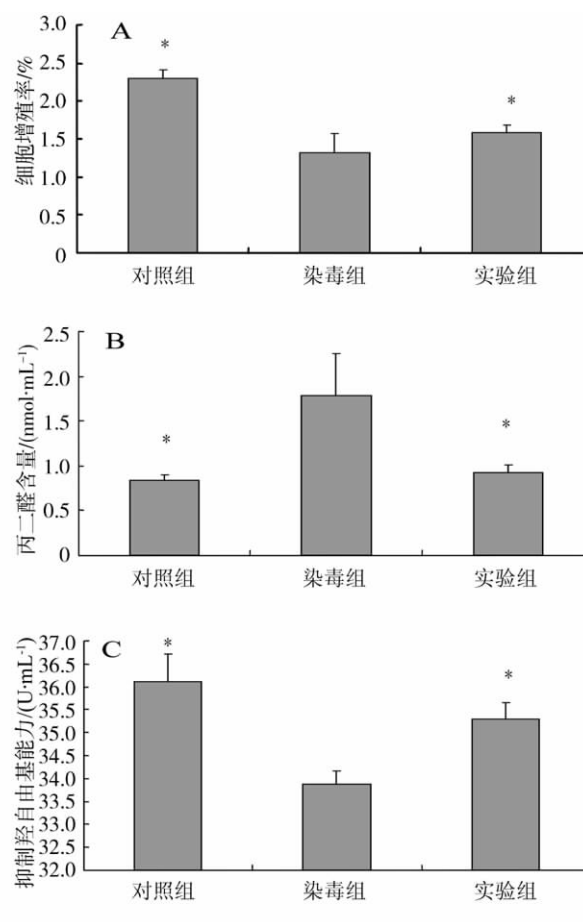


图2 维生素 E 对烯菌酮染毒 RM-1 细胞增殖率、丙二醛含量和抑制羟自由基能力的影响(均值 $\pm$ 标准差)

A: 增殖率; B: 丙二醛含量; C: 抑制羟自由基能力

Fig. 2 Effects of vitamin E on proliferation rate, MDA content and the ability to inhibit the hydroxyl radical in RM-1 cells treated with vinclozolin (Mean $\pm$ SD)

A: cell proliferation rate; B: MDA content;

C: the ability to inhibit the hydroxyl radical

下降($p < 0.05$) (图 2C); 烯菌酮染毒后添加维生素 E, 细胞增殖率较染毒组明显升高($p < 0.05$) (图 2A), 丙二醛含量显著降低($p < 0.05$) (图 2B), 而抑制羟自由基能力明显升高($p < 0.05$) (图 2C)。

2.3 维生素 E 对烯菌酮染毒 RM-1 细胞乳酸脱氢酶、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性的影响

t -检验结果表明, 烯菌酮染毒组与对照组相比, 乳酸脱氢酶活性明显升高($p < 0.05$) (图 3A), $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性显著降低($p < 0.05$) (图 3B, 3C); 烯菌酮染毒后添加维生素 E, 乳酸脱氢酶活性较染毒组显著降低($p < 0.05$) (图 3A), $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性明

显升高($p < 0.05$) (图 3B, 3C)。

3 讨论(Discussion)

本实验结果表明, 烯菌酮染毒使 RM-1 细胞圆缩脱落, 细胞增殖率显著降低, 而在烯菌酮染毒后添加维生素 E, 细胞增殖率明显高于烯菌酮染毒组, 圆缩脱落细胞减少, 梭形贴壁生长细胞明显增加。这说明, 维生素 E 明显逆转了烯菌酮诱发的 RM-1 细胞的死亡, 缓解了烯菌酮导致的细胞增殖率的下降。这可能是维生素 E 通过其抗氧化性拮抗烯菌酮对细胞的氧化损伤所致。本实验结果发现, 烯菌酮染毒能引起 RM-1 细胞 MDA 含量明显升高, 而抑制羟自由基能力明显降低; 染毒后添加维生素 E, 逆转了烯菌酮引发细胞的氧化应激。MDA 含量直接反应细胞脂质过氧化水平和机体受损伤的程度^[3]。MDA 作用于细胞膜磷脂, 引起细胞膜通透性和流动性改变^[4]。本研究表明, 烯菌酮染毒后明显引起 RM-1 细胞外液 LDH 活性的升高, 而添加维生素 E 后细胞外液 LDH 活性明显降低。LDH 几乎存在于所有组织细胞中, 在能量代谢过程中发挥重要作用, 任何原因引起的细胞损伤均可因 LDH 逸出, 引起 LDH 活性增加^[5]。烯菌酮很可能通过引发氧化应激损伤了 RM-1 细胞膜结构, 导致了 RM-1 细胞膜通透性增加, 引起乳酸脱氢酶外逸, 导致细胞能量代谢障碍, 从而使细胞供能不足引发 RM-1 细胞的死亡。而维生素 E 可能作为供氢体, 与不饱和脂肪酸竞争结合自由基^[6], 抑制了烯菌酮引发的氧化应激对 RM-1 细胞膜的损伤, 防止了 LDH 外逸, 从而维持了 RM-1 细胞的能量代谢, 保证了细胞的供能, 最终缓解了烯菌酮引发的 RM-1 细胞死亡和增殖率的下降。

ATP 酶是生物膜上的 1 种蛋白酶, 在物质转运、能量转换以及信息传递方面具有重要作用, ATP 酶活力的大小是各种细胞能量代谢及功能有无损伤的重要指标^[7]。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶是镶嵌在细胞膜脂质双分子层中的 1 种蛋白质, 维持着细胞膜两侧的膜电位和调节细胞渗透压。 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶是细胞膜上维持细胞内 Ca^{2+} 稳定的酶。本研究表明, 烯菌酮染毒导致了 RM-1 细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性显著降低; 而染毒后添加维生素 E, 明显逆转了这两种 ATP 酶活性的下降。体内脂质过氧化物反应增强及自由基清除能力减弱, 是导致细胞 ATP 酶活性下降的 1 个主要因素^[8]。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性与血清脂质过氧化产物 MDA 呈负相关^[9]。氧化应激能抑制 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的

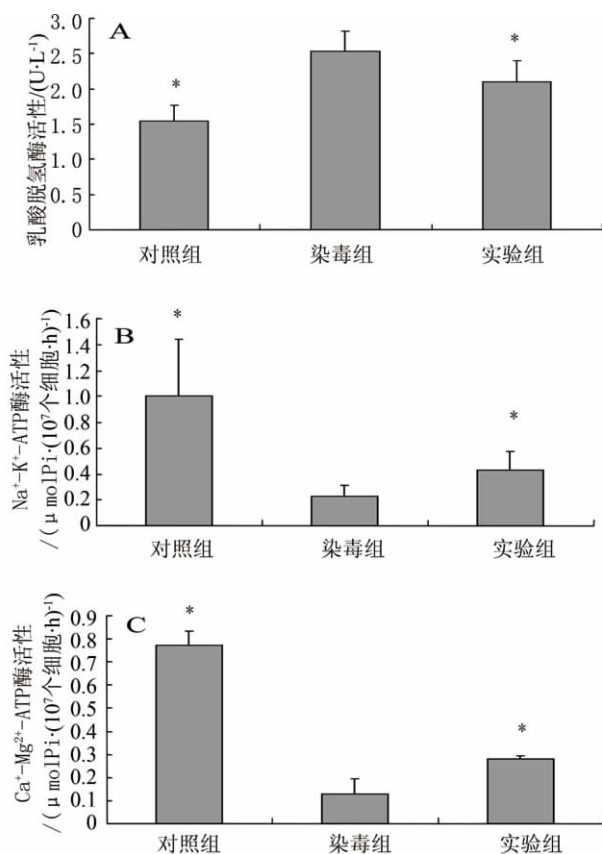


图3 维生素对烯菌酮染毒 RM-1 细胞乳酸脱氢酶、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性的影响(均值 ± 标准差)

A: 乳酸脱氢酶活性; B: $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性; C: $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性

Fig. 3 Effects of vitamin E on LDH, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ activity in RM-1 cells treated with vinclozolin (Mean ± SD)

A: LDH activity; B: $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ activity; C: $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ activity

活性,应用抗氧化剂可以有效降低自由基的产生,恢复 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性,从而降低细胞死亡率^[3]。细胞内钙的调节有两个过程,即细胞外钙通过细胞膜内流及钙库释放贮存钙,以及细胞内钙通过细胞膜和内质网、线粒体膜上的 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶被泵出细胞或泵入钙库中储存,在此过程中 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶起着主要作用^[4]。MDA 与蛋白发生交联形成 Schiff 碱,使酶蛋白变性^[5]。同时大量自由基使细胞膜上蛋白质交联,磷脂的不对称分布破坏,引起细胞 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性下降,不能有效地将细胞内游离钙泵回到钙库或泵出细胞,引起细胞内钙超载^[6]。维生素 E 通过将其活泼的氢原子给予自由基,使后者还原为稳定的分子,从而消除或减轻脂质过氧化反应,防止细胞内 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶结构的破坏,维持了酶的活性^[7]。而维生素 E 的缺乏能导致雏鸡淋巴细胞膜 ATP 酶活性降低^[8]。

由此可见,烯菌酮很可能通过氧化损伤作用影响了生物膜的完整性和膜蛋白的功能,从而导致细胞内 LDH 外逸和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性受到抑制,从而引起细胞能量供应不足、水肿或是 Ca^{2+} 超载,最终导致细胞死亡,造成细胞增殖率的降低。而维生素 E 通过其抗氧化作用,维持了细胞膜的结构完整和这两种 ATP 酶的活性,从而逆转了烯菌酮引发细胞的死亡和增殖率的下降,缓解了烯菌酮的细胞毒性作用。

通讯作者简介:周显青(1963—),女,博士,教授,研究方向环境毒理学,在 SCI 收录的国外期刊和中文核心期刊发表论文 30 余篇。

参考文献:

- [1] Gray L E, Ostry J S, Kelce W R. Developmental effects of an environmental antiandrogen: The fungicide vinclozolin alters sex differentiation of the male rat [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1994, 129(1): 46–52
- [2] Bursztyka J, Debrauwer L, Perdu E, et al. Biotransformation of vinclozolin in rat precision-cut liver slices: Comparison with *in vivo* metabolic pattern [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(12): 4832–4839
- [3] 朱威, 朱心强. 农药的抗雄激素作用及其机制 [J]. 国外医学卫生学分册, 2005, 32(1): 14–19
- [4] Zhu W, Zhu X Q. Pesticide to antiandrogen action and its mechanism [J]. Foreign Medical Science: Section Hygiene, 2005, 32(1): 14–19 (in Chinese)
- [5] 李秀秀, 杨新军, 闫洪涛. 农利灵对斑马鱼胚胎发育的毒性 [J]. 环境与职业医学, 2008, 25(4): 378–380
- [6] Li X X, Yang X J, Yan H T. Study on embryo toxicity of vinclozolin in zebrafish [J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2008, 25(4): 378–380 (in Chinese)
- [7] 刘宇, 周显青. 烯菌酮对小鼠前列腺癌细胞增殖及其脂质过氧化物含量和抗氧化酶活性的影响 [J]. 实验动物科学, 2010, 27(2): 5–9
- [8] Liu Y, Zhou X Q. Effects of vinclozolin on the proliferation of cell, and the oxidative stress in mouse prostate cancer(RM-1) cells [J]. Laboratory Animal Science, 2010, 27(2): 5–9 (in Chinese)
- [9] 孙应彪, 王俊玲, 宋援朝. 镍染毒小鼠脾脏的脂质过氧化损伤 [J]. 中国公共卫生, 2005, 21(2): 187–188
- [10] Sun Y B, Wang J L, Song Y C. Lipid peroxidation damage on spleens of mice exposed to nickel sulfate [J]. Chinese Public Health, 2005, 21(2): 187–188 (in Chinese)
- [11] 李娟, 郝爱旗, 伍东月等. 妊高征孕妇红细胞生物物理特性与脂质过氧化的关系 [J]. 中华妇产杂志, 1997, 32(2): 106–107
- [12] Li J, Xi A Q, Wu D Y, et al. The relationship between biophysical characteristics of red cells and lipid peroxidation in pregnant women with pregnancy hypertension syndrome [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 1997, 32(2): 106–107 (in Chinese)
- [13] 王丽娜, 宋艳荣, 石峻. 羟丁酸脱氢酶/乳酸脱氢酶在心肌损伤与肝脏损伤中的鉴别诊断价值 [J]. 中国综合临床, 2006, 22(2): 128–129
- [14] Wang L N, Song Y R, Shi L. Differential diagnostic value of hydroxybutyrate dehydrogenase and lactate dehydrogenase in myocardial injury and liver injury [J]. Clinical Medicine of China, 2006, 22(2): 128–129 (in Chinese)
- [15] 吴国豪, 吴肇汉, 吴肇光. 含 α -维生素 E 的脂肪乳剂对外科患者抗氧化状态及脂质过氧化的影响 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2003, 6(3): 174–177
- [16] Wu G H, Wu Z H, Wu Z G. Lipid peroxidation and antioxidant status of surgical patients receiving TPN with an MCT/LCT emulsions supplemented with α -tocopherol [J]. Chinese Journal of Gastrointest Surgery, 2003, 6(3): 174–177 (in Chinese)
- [17] Ronquist G, Waldenstrom A. Imbalance of plasma membrane ion leak and pump relationship as a new aetiological basis of certain disease states [J]. Journal of Internal Medicine, 2003, 254(6): 517–526
- [18] 李海英, 赵娟, 李海生. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性影响因素的研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(9): 1449–1450
- [19] Li H Y, Zhao J, Li H S. The research progress on influence factors of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity and $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$

- activity [J]. *Modern Journal of Integrated Tradition Chinese and Western Medicine*, 2008, 17(9): 1449 – 1450 (in Chinese)
- [2] 杨尚武, 苟文丽, 文梦灵. 子痫前期患者钠钾 ATP 酶活性及与脂质过氧化关系的研究 [J]. *中国热带医学*, 2006, 6(5): 845 – 846
- Yang S W, Gou W L, Wen M L. The relationship between the activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and lipid peroxidation in pre-eclampsia patients [J]. *China Tropical Medicine*, 2006, 6(5): 845 – 846 (in Chinese)
- [3] Petrushanko I, Bogdanov N, Bulygina E, et al. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in rat cerebellar granule cells is redox sensitive [J]. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2006, 290(4): 916 – 925
- [4] Pariente J A, Lajas A I, Pozo M J, et al. Oxidizing effects of vanadate on calcium mobilization and amylase release in rat pancreatic acinar cells [J]. *Biochemical Pharmacology*, 1999, 58(1): 77 – 84
- [5] Rauchová H, Ledvinková J, Kalous M, et al. The effects of lipid peroxidation on the activity of various membrane-bound ATPases in rat kidney [J]. *Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 1995, 27(3): 251 – 253
- [6] Waber H, Roesner J P, Nebe B, et al. Increased cytosolic Ca^{2+} amplifies oxygen radical induced alterations of the ultrastructure and the energy metabolism of isolated rat pancreatitis [J]. *Digestion*, 1998, 59(3): 175 – 178
- [7] Nevalainen T J, Gronroos J M, Kortesoja P T, et al. Pancreatic and synovial type phospholipase A2 in serum samples from patients with severe acute pancreatitis [J]. *Gut*, 1993, 34(8): 1133 – 1136
- [8] 王奔, 才永男, 高瑾等. 维生素 E 缺乏对雏鸡淋巴细胞膜 ATP 酶活性的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2009, (12): 104 – 105
- Wang B, Cai Y N, Gao J, et al. The effect of vitamin E deficiency on chicken lymphocyte membrane ATPase activity [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2009, (12): 104 – 105 (in Chinese) ◆