

· 实验研究 ·

黄芪复方对急性低压缺氧大鼠视网膜 DNA 损伤的防护作用

李艳荣 辛晓蓉

四川省医学科学院 四川省人民医院眼科, 成都 610072

通信作者: 辛晓蓉, Email: xrgc19@hotmail.com

【摘要】 目的 探讨急性低压缺氧对大鼠视网膜 DNA 的损伤作用及黄芪复方对其保护作用。 **方法** 取雄性清洁级成年 SD 大鼠 72 只, 按照计算机数字随机分配法随机分为常氧对照组、低氧模型组和黄芪复方灌胃组, 每组 24 只。常氧对照组大鼠在常氧环境下喂养, 低氧模型组及黄芪复方灌胃组大鼠置于模拟海拔高度 5 km 的低氧舱内喂养, 同时黄芪复方灌胃组大鼠每日黄芪复方制剂 (0.1 g/kg) 灌胃给药 1 次, 低氧模型组大鼠每日灌胃给予等容量生理盐水 1 次。连续给药 7 d 后, 过量麻醉法处死大鼠, 剥离各组大鼠视网膜, 采用组织病理学染色法观察各组大鼠视网膜组织形态; 采用免疫组织化学法检测各组大鼠视网膜 DNA 损伤标志物 p53 和 DNA 损伤修复磷酸化蛋白组蛋白家族 2 月变异体 (γ H2AX) 的表达; 采用实时荧光定量 PCR 法检测 8-羟基鸟嘌呤核苷酸酶 (MTH1) 和 8-羟基鸟嘌呤 DNA 糖苷酶 (OGG1) mRNA 表达水平。 **结果** 低氧模型组大鼠视网膜较常氧对照组和黄芪复方灌胃组增厚, 其中以神经纤维层及视网膜神经节细胞层增厚明显。低氧模型组大鼠视网膜 p53 与 γ H2AX 阳性染色程度较常氧对照组和黄芪复方灌胃组增强。低氧模型组视网膜 MTH1 mRNA 和 OGG1 mRNA 相对表达量分别为 0.573 ± 0.081 和 0.772 ± 0.136 , 明显低于常氧对照组的 0.846 ± 0.160 和 1.013 ± 0.168 , 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。黄芪复方灌胃组视网膜 MTH1 mRNA 相对表达量为 0.748 ± 0.114 , 明显高于低氧模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 2 个组 OGG1 mRNA 相对表达量比较差异无统计学意义 ($P = 0.743$)。 **结论** 急性低压缺氧诱导大鼠视网膜 DNA 损伤, 黄芪复方制剂灌胃给药对其有保护作用, 其机制可能与调节 p53、 γ H2AX、MTH1 以及 OGG1 的表达有关。

【关键词】 低压缺氧; 视网膜; p53; 8-羟基鸟嘌呤

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81460086); 四川省千人计划项目; 四川省医学科学院·四川省人民医院科研启动项目 (30420200027)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20190903-00380

Protective effect of *Radix Astragali seu Hedysari* compound on rat retinal DNA damage induced by acute hypobaric hypoxia

Li Yanrong, Xin Xiaorong

Department of Ophthalmology, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China

Corresponding author: Xin Xiaorong, Email: xrgc19@hotmail.com

[Abstract] Objective To investigate the rat retinal DNA damage induced by acute hypobaric hypoxia and the protective effect of *Radix Astragali seu Hedysari* compound on it. **Methods** Seventy-two healthy clean grade male Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into normal oxygen control group, hypoxic model group and *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group by computer random number distribution, with 24 rats in each group. The rats in the normal oxygen control group were fed in normal condition, while the rats in the hypoxic model group and *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group were fed in a hypobaric oxygen chamber, which simulated an altitude of 5 kilometers, and the rats were administered intragastrically with *Radix Astragali seu Hedysari* compound (0.1 g/kg) or the same volume of normal saline once a day according to grouping. Retinal tissue was obtained on the 7th day of continuous administration of drugs after the rats were sacrificed by euthanasia. Histopathological staining was performed to observe the pathological morphology of retina in each group.

Immunohistochemistry was used to identify the expressions of p53 and histone family 2A variant (γ H2AX). Real time-PCR was used to determine the relative expression levels of 8-oxoguanine nucleoside triphosphatase (MTH1) and 8-hydroxyguanine glycolsylase (OGG1) mRNA. The use and care of the animals followed Regulations of the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals by State Science and Technology Commission. **Results** The retina of hypoxic model group was thicker than that of the normal oxygen control group and *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group, especially the nerve fiber layer and the ganglion cell layer. The positive staining intensities of p53 and γ H2AX were stronger in the retinas of the hypoxic model group than those in the normal oxygen control group and *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group. The relative expression levels of MTH1 and OGG1 mRNA in the hypoxic model group were 0.573 ± 0.081 and 0.772 ± 0.136 , which were significantly lower than 0.846 ± 0.160 and 1.013 ± 0.168 in the normal oxygen control group, respectively (both at $P < 0.05$). The relative expression level of MTH1 mRNA was 0.748 ± 0.114 in the *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group, significantly higher than that in the hypoxic model group ($P < 0.05$). No significant difference was detected in OGG1 mRNA expression level between the *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group and the hypoxic model group ($P = 0.743$). **Conclusions** The intervention of *Radix Astragali seu Hedysari* compound plays a protective role in hypobaric hypoxia-induced retinal DNA damage through modulating the expression of p53, γ H2AX, OGG1 and MTH1.

[Key words] Hypobaric hypoxia; Retina; p53; 8-Hydroxyguanine

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81460086); Sichuan Provincial Thousand People Project; Scientific Research Starting Project of Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital (30420200027)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20190903-00380

急进高原时由于急性低压缺氧而引起一系列高原反应,严重者可发生高原肺水肿、高原脑水肿等高原病^[1]。视网膜对缺氧非常敏感,低压缺氧状态下使血-视网膜毛细血管屏障功能受到影响而发生高原视网膜病变(high altitude retinopathy, HAR)^[2]。视网膜功能和结构的完整性依赖于规律的氧气供应^[2]。当机体处于低压缺氧环境时,细胞内氧化-抗氧化平衡发生紊乱,导致活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的积累,高浓度 ROS 可攻击蛋白质使其结构破坏、活性降低;攻击 DNA 分子使其发生突变,甚至断裂,促使视网膜神经细胞损伤和视网膜血管调节功能障碍,继而出现 HAR^[3-4]。目前从 DNA 影响机制及干预对 HAR 进行的研究相对较少,且近年来由平原进入高海拔地区的人越来越多,因此研究 HAR 的病理机制及治疗颇为重要。中药在防治高原疾病方面有其特色疗效,但目前对中药抗氧化研究主要以单药的形式进行,对中药复方的研究较少。与单药相比,复方在配伍过程中可能存在疗效增强、毒性和不良反应减轻等特点。本研究选取在长期应用过程中表现出有效自由基清除、抗氧化、免疫力调节等作用的黄芪、人参、枸杞、白术、玉竹和甘草组方为黄芪复方,通过模拟海拔高度 5 km 的缺氧环境探讨急性低压缺氧对大鼠视网膜 DNA 的影响和黄芪复方制剂对其的防治作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取雄性清洁级 SD 大鼠 72 只 [实验动物许可证号:SCXK(陕)2018-001],由西安交通大学动物实验中心提供,体质量(200 ± 20)g,2~3 月鼠龄。所有动物实验符合国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。

1.1.2 主要试剂及仪器 兔抗鼠 p53 抗体(WL01919,沈阳万类生物科技有限公司)、兔抗鼠组蛋白家族 2A 变异体(histone family 2A variant, γ H2AX)抗体(ab2893,美国 Abcam 公司);山羊抗兔 IgG(111-035-045,美国 Jackson 公司);RNA 逆转录试剂盒、SYBR GREEN 试剂盒、RNAiso Plus(Trizol)(日本 TaKaRa 公司);8-羟基鸟嘌呤 DNA 糖苷酶(8-hydroxyguanine glycolsylase, OGG1)、8-羟基鸟嘌呤核苷酸酶(8-oxoguanine nucleoside triphosphatase, MTH1) RT-PCR 引物(上海生工生物工程有限公司)。384 孔 RT-PCR 板、RT-PCR 反应膜、荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);光学显微镜(日本 Nikon 公司)。

1.2 方法

1.2.1 中药配制 黄芪复方(黄芪 20 g、人参 10 g、玉竹 9 g、枸杞 9 g、白术 6 g、甘草 6 g),按传统方法煎煮过滤,并浓缩成 11.76 g/ml 的复方药物备用。

1.2.2 实验分组处理 按照计算机数字随机分配法将 72 只 SD 大鼠随机平均分为常氧对照组、低氧模型组和黄芪复方灌胃组,每组 24 只。低压氧舱模拟海拔 5 km 的高度,相对于海平面含氧量 10.40%。氧分压为 10.53 kPa,温度为 18~24 ℃,湿度为 37%~50%。常氧对照组大鼠在正常氧分压环境下喂养,温度为 22~24 ℃,湿度为 55%。低氧模型组和黄芪复方灌胃组大鼠置于低压氧舱内喂养,每 24 小时开舱 0.5 h 给大鼠加食、喂水,黄芪复方灌胃组大鼠每日黄芪复方制剂(0.1 g/kg)灌胃 1 次,低氧模型组大鼠每日等量生理盐水灌胃 1 次,持续 7 d。

1.2.3 组织病理学染色观察大鼠视网膜组织形态学的变化 于灌胃给药第 7 天,按照 0.35 ml/100 g 剂量腹腔内注射 100 g/L 水合氯醛麻醉大鼠后,快速取出眼球,于 40 g/L 多聚甲醛溶液中固定 72 h,各组分别取 8 只眼球用于组织病理学及免疫组织化学检测。将固定好的标本常规脱水、浸蜡、包埋,制成厚 4 μm 石蜡切片。将石蜡切片置于二甲苯中脱蜡,依次浸泡于梯度乙醇各 3 min,苏木素染色 10 min;洗去多余染液,体积分数 0.5% 盐酸乙醇分色,伊红染色 5 min;依次浸泡于梯度乙醇,二甲苯透明,中性树胶封片,置于光学显微镜下观察。

1.2.4 免疫组织化学法观察大鼠视网膜 p53 和 γH2AX 的表达 各组取石蜡切片,贴片于质量分数 0.05% 多聚赖氨酸处理的载玻片上,常规二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水后采用热修复法进行抗原修复,滴加 p53(1:100)或 γH2AX(1:500)一抗,4 ℃ 孵育过夜;PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,滴加相应二抗(1:5 000),37 ℃ 孵育 30 min;PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,加入 DAB 显色液,苏木素复染,常规脱水、透明后中性树胶封片,光学显微镜下观察呈棕色染色为阳性。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 法检测 OGG1 和 MTH1 的表达 各组分别取 8 只眼球,去除晶状体和玻璃体,并完整剥离视网膜。取 1 ml Trizol 试剂与视网膜混匀,提取组织总 RNA,按照 RNA 逆转录试剂盒步骤逆转录合成 cDNA。将获取的 cDNA 分别加入各引物的反应体系中进行荧光定量 PCR,各 PCR 引物序列见表 1,反应体系为 20 μl。反应条件:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 10 s,60 ℃ 退火及延伸 30 s,循环 40 次。扩增后进行熔解曲线分析。以 GAPDH 为内参照,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算各目的基因 mRNA 相对表达量。

表 1 PCR 引物序列
Table 1 PCR primer sequences

引物名称	引物序列(5'-3')
OGG1	F:CCCCTATGTATGTGCCAGT
	R:TGTCCAGGGCATTAAAGCAG
MTH1	F:CATGGGACACCCACAGAGAG
	R:GGGAACCAGTAGCTGTCTGTC
GAPDH	F:AGACAGCCGCATCTTCTTGT
	R:CTTGCCGTGGGTAGATGCAT

注:PCR:聚合酶链式反应;OGG1:8-羟基鸟嘌呤 DNA 糖苷酶;MTH1:8-羟基鸟嘌呤核苷酸酶;F:正向引物;R:反向引物

Note: PCR: polymerase chain reaction; OGG1: 8-hydroxyguanine glycosylase; MTH1: 8-oxoguanine nucleoside triphosphatase; F: forward primer; R: reverse primer

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行统计分析。本研究中计量数据经 W 检验证实符合正态分布,以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,组间均数经 Levene 检验证实方差不齐。采用随机分组单因素干预多水平研究设计,各组中 MTH1 mRNA 和 OGG1 mRNA 相对表达量总体比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 Tamhane's T2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠状态及视网膜组织形态学的变化

与常氧对照组相比,低氧模型组大鼠行动迟缓,嗜卧嗜睡,精神状态差,食欲减低。组织病理学检查结果显示,与常氧对照组大鼠视网膜相比,低氧模型组视网膜增厚,其中以神经纤维层及视网膜神经节细胞层增厚明显;与低氧模型组相比,黄芪复方灌胃组大鼠视网膜厚度有所降低(图 1)。

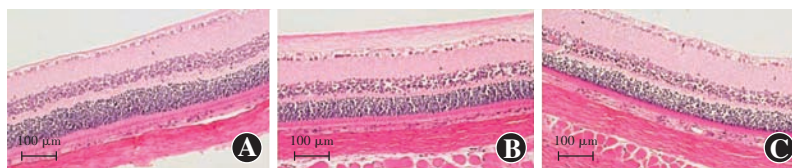


图 1 各组大鼠视网膜组织病理学观察(HE×100,标尺=100 μm) 低氧模型组视网膜较常氧对照组和黄芪复方灌胃组增厚 A:常氧对照组 B:低氧模型组 C:黄芪复方灌胃组

Figure 1 Histopathological observation of rat retina in each group (HE×100, scale bar=100 μm) The retina of hypoxic model group was thicker than that of the normal oxygen control group and *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group A: normal oxygen control group B: hypoxic model group C: *Radix Astragali seu Hedysari* compound gavage group

2.2 各组大鼠视网膜 DNA 损伤标志物 p53 和磷酸化蛋白γH2AX 的表达变化

免疫组织化学染色法结果显示,常氧对照组神经纤维层、视网膜神经节细胞层、内丛状层及外丛状层 p53 呈弱阳性表达,低氧模型组视网膜各层中 p53 阳性染色程度较常氧对照组明显增强,而黄芪复方灌胃组视网膜 p53 阳性染色程度较低氧模型组减弱。常氧对照组视网膜中γH2AX 呈弱阳性表达,低氧模型组视网膜神经节细胞层及外丛状层γH2AX 阳性染色程度较常氧对照组明显增强,尤其以视网膜神经节细胞层阳性染色增强更为明显,而黄芪复方灌胃组视网膜中γH2AX 阳性染色程度较低氧模型组明显减弱(图 2)。

2.3 各组大鼠视网膜 MTH1 mRNA 和 OGG1 mRNA 的表达变化

常氧对照组、低氧模型组和黄芪复方灌胃组大鼠视网膜中 MTH1 mRNA 相对表达量分别为 0.846 ± 0.160 、 0.573 ± 0.081 和 0.748 ± 0.114 , OGG1 mRNA 相对表达量分别为 1.013 ± 0.168 、 0.772 ± 0.136 和 0.807 ± 0.734 , 组间总体比较差异均有统计学意义 ($F = 24.511$ 、 12.692 , 均 $P < 0.01$); 其中低氧模型组 MTH1 mRNA 和 OGG1 mRNA 相对表达量明显低于常氧对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 黄芪复方灌胃组视网膜 MTH1 mRNA 相对表达量明显高于低氧模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$), OGG1 mRNA 相对表达量与低氧模型组相比差异无统计学意义($P = 0.743$)(图 3)。

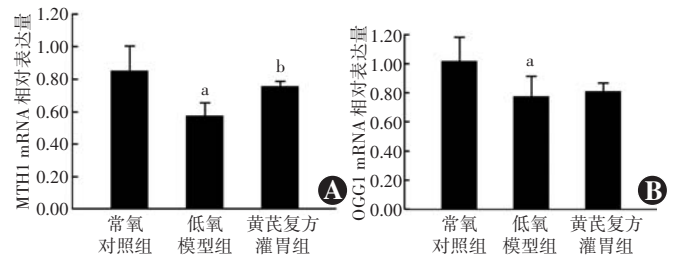


图 3 各组视网膜 MTH1 mRNA 和 OGG1 mRNA 相对表达量比较 (单因素方差分析, Tamhane's T2 检验, $n = 8$) A: 各组 MTH1 mRNA 相对表达量比较 $F = 24.511$, $P < 0.01$. 与常氧对照组比较, $^a P < 0.05$; 与低氧模型组比较, $^b P < 0.05$ B: 各组 OGG1 mRNA 相对表达量比较 $F = 12.692$, $P < 0.01$. 与常氧对照组比较, $^a P < 0.05$ MTH1: 8-羟基鸟嘌呤核苷酸酶; OGG1: 8-羟基鸟嘌呤 DNA 糖苷酶

Figure 3 Comparison of the expression of MTH1 and OGG1 mRNA in retina among different groups (One way ANOVA, Tamhane's T2 test, $n = 8$) A: Comparison of the MTH1 mRNA expression $F = 24.511$, $P < 0.01$. Compared with the normal oxygen control group, $^a P < 0.05$; compared with the hypoxic model group, $^b P < 0.05$ B: Comparison of the OGG1 mRNA expression $F = 12.692$, $P < 0.01$. Compared with the normal oxygen control group, $^a P < 0.05$ MTH1: 8-oxoguanine nucleoside triphosphatase; OGG1: 8-hydroxyguanine glycosylase

3 讨论

高海拔环境具有低气压和低氧分压的特点^[5]。HAR 属于急性高原病的一种,是机体处于高海拔环境时出现的视网膜出血、视盘水肿、棉絮斑和黄斑水肿^[6]。作为中枢神经系统的延续,视网膜是人体最具代谢活性的组织之一,其血流量受组织氧张力的调控,过低的氧分压可诱导视网膜血流量增加,导致视网膜充血,甚至出血^[7-8]。

本研究自拟的黄芪复方由黄芪、人参、枸杞、白术、玉竹、甘草组成,该复方药物在四君子汤的基础上,去除茯苓,增加黄芪、玉竹和枸杞。四君子汤能够改善组织抗氧化性,提高机体内分泌功能,调节体内能量代谢^[9],而黄芪、人参、枸杞、白术、玉竹、甘草对自由基清除率较高,有较强的抗氧化应激作用^[10-15]。黄芪对免疫功能有着较广泛的影响,具有明显减少全身耗氧及增加组织耐缺氧 2 个方面的作用^[10]。枸杞减缓脂质过氧化进程,具有良好抗氧化功能^[12]。玉竹通过清除自由基,提高血清超氧化物歧化酶活力^[14]。甘草对细胞有一定的保护作用,能抑制细胞凋亡,提高细胞抗氧化能力^[15]。玉竹中的玉竹多糖在清除超氧阴离子及体外抗氧化方面明显优于茯苓多糖^[16],这为

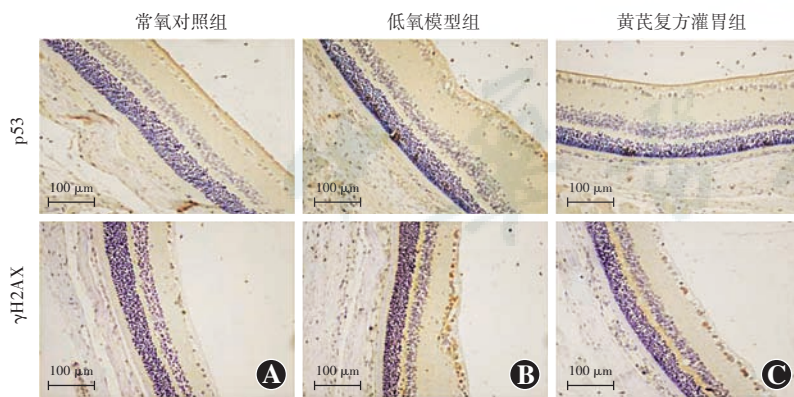


图 2 各组大鼠视网膜 p53 和 γH2AX 免疫组织化学染色观察 (DAB×100, 标尺 = 100 μm) 低氧模型组大鼠视网膜 p53 和 γH2AX 阳性染色强度较常氧对照组和黄芪复方灌胃组明显增强 A: 常氧对照组 B: 低氧模型组 C: 黄芪复方灌胃组 γH2AX: 组蛋白家族 2A 变异体

Figure 2 Immunohistochemical observation of p53 and γH2AX in rat retina of each group (DAB×100, scale bar = 100 μm) The positive staining intensity of p53 and γH2AX in retina of the hypoxic model group was significantly enhanced than that of the normal oxygen control group and Radix Astragalii seu Hedysari compound gavage group A: normal oxygen control group B: hypoxic model group C: Radix Astragalii seu Hedysari compound gavage group γH2AX: histone family 2A variant

我们选择玉竹,去除四君子汤中的茯苓提供了依据。本课题前期研究结果已提示黄芪复方制剂可通过提高视网膜细胞线粒体锰超氧化物歧化酶、细胞色素氧化酶水平,降低细胞色素 C 活性来发挥保护视网膜功能的作用^[17]。

本课题组前期研究表明,急性低压缺氧环境可致大鼠视网膜损伤,其分子机制可能与调节缺氧相关因子和凋亡相关基因等的表达有关^[18-19]。本研究中进一步探讨了急性缺氧对视网膜 DNA 相关因子的影响以及黄芪复方制剂对其防护的机制。本研究结果显示,在模拟海拔高度为 5 km 的低压缺氧条件下,大鼠视网膜组织出现水肿,p53 蛋白表达增强。p53 是一种转录因子,通过调控多个基因介导细胞死亡、衰老及 DNA 修复,具有保护生物体基因组的功能。在正常细胞内 p53 主要通过 E3 泛素蛋白连接酶 (mouse double minute 2 homolog,MDm2) 的负反馈调节来保持较低水平表达,在各种应激条件下,细胞通过抑制与 MDm2 的反应以及后续一系列调节因子来诱导 p53 的磷酸化和转录,使 p53 表达水平升高^[20]。本研究中黄芪复方灌胃组视网膜 p53 表达水平较缺氧模型组下降,提示黄芪复方便 p53 保持较低水平表达以减轻应激损伤而发挥视网膜保护作用。

双链断裂 (double strand breaks, DSBs) 是致命的 DNA 损伤形式之一^[21]。而 γ H2AX 是 DSBs 最敏感的标志物,可用于检测 DNA 的损伤和修复^[22]。 γ H2AX 在 DSBs 侧边位点被初始磷酸化后,可募集大量 DSBs 修复蛋白,实现对断裂位点的修复^[23]。本研究结果表明低氧模型组视网膜中 γ H2AX 阳性染色较常氧对照组增强,其机制可能为急性缺氧环境下,通过碱基胺化、硝化和脂质过氧化作用影响信号传导,导致 γ H2AX 表达增强,破坏 DNA,诱导氧化应激。黄芪复方灌胃组视网膜中 γ H2AX 的表达水平较缺氧模型组明显降低,提示黄芪复方制剂可能是通过降低 γ H2AX 表达而减轻低压缺氧环境下视网膜 DNA 损伤。

在本研究中,模拟急性低压缺氧环境下大鼠视网膜中 MTH1 mRNA 和 OGG1 mRNA 表达水平明显降低,可能由于急性低压缺氧环境导致 ROS 攻击糖和碱基,造成 DNA 的氧化损伤。鸟嘌呤具有最低的氧化还原电位,是最易被氧化的 DNA 碱基,氧化后产生 8-二氢鸟嘌呤 (8-oxoguanine, 8-oxoG)^[24]。OGG1 从 DNA 中识别和切除 8-oxoG, MTH1 从核苷酸池中去掉 8-oxoG^[25],提示 MTH1 和 OGG1 在 DNA 完整性中具有重要作用。一项有关 MTH1 缺陷小鼠或细胞的研究表明,MTH1 可有效减少小鼠大脑细胞核和线粒体 DNA

中 8-oxoG 的积累,从而有助于保护大脑免受氧化应激损伤^[26]。本研究结果提示急性低压缺氧应激使大量的 MTH1 和 OGG1 用于清除 8-oxoG,继而使大鼠视网膜中 MTH1 和 OGG1 减少,提示急性低压缺氧引起大鼠视网膜 DNA 损伤。而黄芪复方制剂上调了这 2 种基因的表达,说明该制剂对低氧诱导的视网膜 DNA 损伤有抑制作用。

本研究结果提示急性低压缺氧环境通过影响 p53 和 γ H2AX 蛋白以及 OGG1 mRNA 和 MTH1 mRNA 表达引起大鼠视网膜 DNA 功能障碍,进而影响视网膜功能。而黄芪复方减轻视网膜 DNA 损伤,对视网膜起保护作用。本研究通过免疫组织化学法检测了蛋白表达,但未进行定量研究,只是在基因水平进行了 mRNA 检测,在今后研究中将进一步探讨相应蛋白表达水平的变化。

利益冲突 本研究中所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bärtsch P, Swenson ER. Clinical practice: Acute high-altitude illnesses [J]. N Engl J Med, 2013, 368 (24): 2294-2302. DOI: 10.1056/NEJMcpl214870.
- [2] Bosch MM, Merz TM, Barthelmes D, et al. New insights into ocular blood flow at very high altitudes [J]. J Appl Physiol (1985), 2009, 106(2): 454-460. DOI: 10.1152/jappphysiol.90904.2008.
- [3] Kaur C, Foulds WS, Ling EA. Hypoxia-ischemia and retinal ganglion cell damage [J]. Clin Ophthalmol, 2008, 2(4): 879-889. DOI: 10.2147/oph.s3361.
- [4] Patyal S, Yadav AK, Kotwal A. Changes in corneal thickness in patients with high-altitude pulmonary edema after systemic oxygen therapy [J]. Indian J Ophthalmol, 2018, 66(11): 1554-1557. DOI: 10.4103/ijo.IJO_642_18.
- [5] Jha KN. High altitude and the eye [J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2012, 1(3): 166-169. DOI: 10.1097/APO.0b013e318253004e.
- [6] Morris DS, Somner J, Donald MJ, et al. The eye at altitude [J]. Adv Exp Med Biol, 2006, 588: 249-270. DOI: 10.1007/978-0-387-34817-9_21.
- [7] Ascaso FJ, Nerín MA, Villén L, et al. Acute mountain sickness and retinal evaluation by optical coherence tomography [J]. Eur J Ophthalmol, 2012, 22(4): 580-589. DOI: 10.5301/ejo.5000091.
- [8] Pournaras CJ, Rungger-Brändle E, Riva CE, et al. Regulation of retinal blood flow in health and disease [J]. Prog Retin Eye Res, 2008, 27(3): 284-330. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2008.02.002.
- [9] 杨靖, 詹向红, 孙晔, 等. 四君子汤对 D-半乳糖衰老模型小鼠心、肝、脑组织 MDA 含量及端粒酶活性的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(6): 531-533.
Yang J, Zhan XH, Sun Y, et al. Effect of Sijunzi Decoction on malondialdehyde content and telomerase activity in heart, liver and brain tissues of d-galactose induced aging model mice [J]. Chin J Inter Tradit West Med, 2005, 25(6): 531-533.
- [10] 倪慧艳, 陈伟, 宋文静. 黄芪多糖抗氧化作用研究 [J]. 中医学报, 2017, 32(9): 1705-1707. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2017.09.450.
Ni HY, Chen W, Song WJ. Study of antioxidant properties of astragalus polysaccharide [J]. J Tradit Chin Med, 2017, 32(9): 1705-1707. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2017.09.450.
- [11] 周佳伟, 黄琦. 人参皂苷通过 Nrf2/ARE 信号通路发挥抗氧化应激作用的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(11): 2745-2747. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.11.053.

- Zhou JW, Huang Q. Research progress of ginsenosides playing anti-oxidative stress action through Nrf2/ARE signaling pathway [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2016, 34(11): 2745-2747. DOI: 10. 13193/j. issn. 1673-7717. 2016. 11. 053.
- [12] 陈浩, 张皓洁, 师亮, 等. 枸杞多糖对帕金森病小鼠的抗氧化作用和神经保护效应 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2018, 44(10): 613-618. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-0152. 2018. 10. 008.
- Chen H, Zhang HJ, Shi L, et al. Antioxidative and neuroprotective effects of lycium barbarum polysaccharide on Parkinson's disease mice [J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2018, 44(10): 613-618. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-0152. 2018. 10. 008.
- [13] 石娜, 苏洁, 杨正标, 等. 白术多糖对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗氧化作用 [J]. 中国新药杂志, 2014, 23(5): 577-581, 584.
- Shi N, Su J, Yang ZB, et al. Antioxidative effect of polysaccharides from atractylodes macrocephala in D-galactose-induced aging mice [J]. Chin J New Drugs, 2014, 23(5): 577-581, 584.
- [14] 陈地灵, 徐大量, 林辉. 玉竹总黄酮体内外抗氧化作用的实验研究 [J]. 今日药学, 2008, 18(6): 13-14.
- Chen DL, Xu DL, Lin H. Antioxidation of total flavonoids extracted from polygonatum odoratum *in vivo* and *in vitro* [J]. New Drugs Today, 2008, 18(6): 13-14.
- [15] 陈晶晶, 李向进. 甘草苷对 H₂O₂ 所致 SH-EP1 细胞株氧化应激损伤中细胞活力值及细胞中线粒体凋亡分子、抗氧化分子含量的影响 [J]. 中医药信息, 2018, 35(3): 36-39. DOI: 10. 19656/j. cnki. 1002-2406. 180079.
- Chen JJ, Li XJ. Effect of liquiritin on cytoactive value, mitochondrial apoptosis, and antioxidant molecules in patients with oxidative stress of SH-EP1 cell strain caused by H₂O₂ [J]. Inf Tradit Chin Med, 2018, 35(3): 36-39. DOI: 10. 19656/j. cnki. 1002-2406. 180079.
- [16] 宁慧, 李会宁, 杨培君. 玉竹多糖的抗氧化作用研究 [J]. 陕西理工大学学报: 自然科学版, 2013, 29(6): 59-65. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-2944. 2013. 06. 012.
- Ning H, Li HN, Yang PJ. Antioxidant effect of polysaccharides in Polygonatum odoratum [J]. J Shaanxi Univ Tech (Nat Sci Edit), 2013, 29(6): 59-65. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-2944. 2013. 06. 012.
- [17] 刘海萍, 辛晓蓉. 黄芪复方对急性低血压低氧大鼠视网膜线粒体损伤的保护作用 [J]. 眼科新进展, 2020, 40(2): 110-114.
- Liu HP, Xin XR. Protective effect of Radix Astragali seu Hedysari Compound on retinal mito-chondrion injury caused by acute hypobaric hypoxia in rats [J]. Rec Adv Ophthalmol, 2020, 40(2): 110-114.
- [18] Xin XR, Dang H, Zhao XJ, et al. Effects of hypobaric hypoxia on rat retina and protective response of resveratrol to the stress [J]. Int J Med Sci, 2017, 14(10): 943-950. DOI: 10. 7150/ijms. 19391.
- [19] Xin XR, Li YR, Liu HP. Hesperidin ameliorates hypobaric hypoxia-induced retinal impairment through activation of Nrf2/HO-1 pathway and inhibition of apoptosis [J/OL]. Sci Rep, 2020, 10(1): 19426 [2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33173100/>. DOI: 10. 1038/s41598-020-76156-5.
- [20] Laptenko O, Tong DR, Manfredi J, et al. The tail that wags the dog: how the disordered C-terminal domain controls the transcriptional activities of the p53 tumor-suppressor protein [J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(12): 1022-1034. DOI: 10. 1016/j. tibs. 2016. 08. 011.
- [21] Karagiannis TC, El-Osta A. Double-strand breaks: signaling pathways and repair mechanisms [J]. Cell Mol Life Sci, 2004, 61(17): 2137-2147. DOI: 10. 1007/s00018-004-4174-0.
- [22] Sharma A, Singh K, Almasan A. Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage [J]. Methods Mol Biol, 2012, 920: 613-626. DOI: 10. 1007/978-1-61779-998-3_40.
- [23] Mah LJ, El-Osta A, Karagiannis TC. gammaH2AX: a sensitive molecular marker of DNA damage and repair [J]. Leukemia, 2010, 24(4): 679-686. DOI: 10. 1038/leu. 2010. 6.
- [24] Boiteux S, Coste F, Castaing B. Repair of 8-oxo-7,8-dihydroguanine in prokaryotic and eukaryotic cells: properties and biological roles of the Fpg and OGG1 DNA N-glycosylases [J]. Free Radic Biol Med, 2017, 107: 179-201. DOI: 10. 1016/j. freeradbiomed. 2016. 11. 042.
- [25] Karahalil B, Kesimci E, Emerce E, et al. The impact of OGG1, MTH1 and MnSOD gene polymorphisms on 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and cellular superoxide dismutase activity in myocardial ischemia-reperfusion [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38(4): 2427-2435. DOI: 10. 1007/s11033-010-0378-6.
- [26] Nakabeppu Y, Kajitani K, Sakamoto K, et al. MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, prevents the cytotoxicity and neurotoxicity of oxidized purine nucleotides [J]. DNA Repair (Amst), 2006, 5(7): 761-772. DOI: 10. 1016/j. dnarep. 2006. 03. 003.

(收稿日期: 2020-04-09 修回日期: 2020-12-03)

(本文编辑: 张宇)

消息

《张效房眼外伤学》出版发行

《张效房眼外伤学》由郑州大学第一附属医院眼科张效房教授和杨培增教授主编,是迄今我国最系统、全面而深入的眼外伤专著,目前已由人民卫生出版社出版发行。本书是年逾百岁的张效房教授毕生医疗、教学、科研经验的总结,也是中国眼外伤学科百年发展史的缩影。编者团队 90 余人较为全面地阐述了眼外伤的基础及临床相关知识,涵盖了各类眼外伤的处理原则,内容包含基础医学篇、病史检查篇、机械性眼外伤篇、眼内异物篇、特殊类型的眼外伤篇、中毒与职业性眼病及非机械性眼外伤篇、眼外伤的预防与护理篇,适合研究生、研究人员和眼科各级医师阅读参考。

全书 200 余万字,插图 1 200 余幅,大 16 开,精装,彩色印刷,定价 498.00 元。购书途径:全国各大新华书店、医药书店以及当当网、卓越亚马逊网均有销售,也可登陆人民智慧服务商城 (<http://www.pmphall.com>) 或人卫天猫旗舰店 (<http://rmws.tmall.com>) 在线购买,或联系人民卫生出版社销售部,电话:010-59787226/010-59787033。

(《张效房眼外伤学》编委会)