

玉米幼芽提取物凝胶对家兔皮肤烧伤 的抗氧化损伤作用^{*}

王 俊, 欧阳五庆, 张黎, 魏砚明, 安红丽, 欧阳艳

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 制备 1, 1.5 和 2 mg/g 的玉米幼芽提取物 (Extract of maize plumule, EMP) 凝胶, 用 2 mol/L 的 NaOH 复制家兔皮肤烧伤模型, 并分别用上述 EMP 凝胶进行治疗, 同时设立 EMP 盐酸溶液阴性对照组、烧伤止痛膏阳性对照组和生理盐水空白对照组, 各组均连续处理 14 d。于烧伤后第 1, 7, 14 和 21 天取各组家兔烧伤部位皮肤, 制成 100 mg/g 组织匀浆液, 检测超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性及丙二醛(MDA)含量, 并进行组织病理学和透射电镜观察, 探讨 EMP 凝胶对家兔皮肤烧伤脂质过氧化损伤和炎症反应的影响。结果表明, 与空白对照组相比, EMP 凝胶治疗组 SOD 和 CAT 活性极显著提高 ($P < 0.01$), MDA 含量显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 降低 (除 7 d 时 1 mg/g EMP 凝胶治疗组外); 与阴性对照组相比, EMP 凝胶治疗组 SOD 和 CAT 活性显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 提高, MDA 含量显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 降低 (除 7 d 时 1 mg/g EMP 凝胶治疗组外); EMP 凝胶可促进组织细胞生长, 减轻皮肤局部组织炎症反应, 与阳性对照组结果一致。表明 EMP 凝胶在皮肤烧伤治疗中具有较强的抗脂质过氧化损伤、抑制炎症及促进愈合的作用。

[关键词] 玉米幼芽提取物凝胶; 家兔; 烧伤; 脂质过氧化

[中图分类号] S853.44⁺1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)05-0014-05

Protective effects of extracts of maize plumule gel against lipid peroxidation damage following rabbit skin burn

WANG Jun, OU YANG WU-qing, ZHANG Li, WEI Yan-ming,
AN Hong-li, OU YANG Yang

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In this experiment, the extract of maize plumule (EMP) gel with the content of 1, 1.5 and 2 mg/g, was used to deal with the skin burn replicated by 2 mol/L NaOH in rabbits continuously for 14 days. The rabbits were divided into EMP gel treatment group, acesodyne ointment treatment group, hydrochloric acid solution of EMP treatment group and brine control group. On 1st, 7th, 14th and 21st day after burn respectively, rabbits' skin of each group was took and made 100 mg/g tissue homogenate each time for detecting the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), the contents of (MDA), and then observed for tissue histopathological changes and transmission microscopical electron, in order to study the effects of EMP gel on lipid peroxidation damage and inflammation reaction at the early stage after rabbit skin burn. The results showed that the activities of SOD and CAT improved obviously ($P < 0.01$), the contents of MDA decreased significantly ($P < 0.05$) or obviously ($P < 0.01$), compared with control group

^{*} [收稿日期] 2006-10-10

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAD04A11)

[作者简介] 王 俊 (1982 -), 男, 湖北南漳人, 在读硕士, 主要从事新药开发研究。E-mail: wangjun0710@163.com

[通讯作者] 欧阳五庆 (1960 -), 男, 陕西凤翔人, 教授, 博士生导师, 主要从事药物及动物细胞工程研究。

except EMP gel treatment group (1 mg/ g) on 7th day; the activities of SOD and CAT improved significantly ($P < 0.05$) or obviously ($P < 0.01$); the contents of MDA decreased significantly ($P < 0.05$) or obviously ($P < 0.01$), compared with negative group, except EMP gel treatment group (1 mg/ g) on 7th day. The effect is the same as positive group. The skin wound healed faster and the cells grew quickly with less inflammatory reaction. The conclusion can be drawn that EMP gel plays an important role in preventing lipid peroxidation damage, inhibiting inflammatory infiltration and promoting skin wound healing.

key words: extracts of maize plumule gel; rabbit; burn; lipid peroxidation

皮肤烧伤后多形白细胞 (Polymorphonuclear leukocyte, PMN) 浸润, 组织中产生大量的氧自由基及其代谢产物, 引起脂质过氧化反应, 并激活胶原酶使皮肤上皮持续缺损^[1]。玉米芽提取物 (Extract of maize plumule, EMP) 为腺嘌呤类衍生物, 其主要成分是激动素 (kinetin, KT), 含量为 93.33%。KT 为一种细胞分裂素, 具有促进植物细胞分裂、分化和生长, 延缓蛋白质和叶绿素的降解、延缓器官衰老, 抗植物氧化等作用^[2-3]。有研究表明, 外源性腺嘌呤类物质具有激素样作用, 对动植物机体能起到抗氧化作用^[4-7]。有关 EMP 的抗氧化损伤作用已有报道^[8-9], 但对治疗由烧伤引起的脂质过氧化损伤还未见报道过。凝胶是一种缓释剂型, 有较好的生物相容性, 多通过皮肤、黏膜给药, 临床应用可延长药物的作用时间。因此, 本试验将 EMP 制备成凝胶剂, 从生化水平和形态学方面探讨了 EMP 凝胶对皮肤烧伤所致的脂质过氧化、炎症反应以及皮肤修复的影响, 以为 EMP 凝胶的研发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 健康家兔 36 只, 体重 2.0~2.5 kg, 雌雄不限, 无皮肤疾病, 由西北农林科技大学试验动物中心提供。

1.1.2 主要试剂 玉米幼芽提取物, 由西北农林科技大学动物生理实验室制备; 卡波姆 940 (批号: 20050113), 购于太平洋化工贸易有限公司; 烧伤止痛膏 (批号: 060203), 武汉建民集团随州药业有限公司生产; SOD 活性检测试剂盒 (批号: 20060322)、CAT 活性检测试剂盒 (批号: 20060325)、MDA 含量测定试剂盒 (20060320) 和考马斯亮蓝蛋白检测试剂盒 (批号: 20060323), 均购于南京建成生物工程研究所。

1.1.3 主要仪器 SPECORD50 型紫外可见分光光度计, 德国 analytikjena 公司制造; H-600 型透射电子显微镜, 日本日立公司制造; BX1 型光学显微

镜, 日本 OLYMPUS 公司制造; AO 组织切片机, 美国 WARNER-LAMBERT TECH. INC 制造。

1.2 EMP 凝胶的制备

取卡波姆 3 g, 加入 10 g 甘油和 10 g 丙二醇, 搅拌使其充分溶胀, 然后分别添加浓度为 4 mg/mL 的 EMP 盐酸溶液 25、37.5 和 50 mL, 搅拌过夜。待凝胶基质充分溶解后, 加入适量蒸馏水, 并滴加三乙醇胺, 边加边搅拌, 测定 pH 值使其保持在 6.0~7.0, 最后加入 0.3 g 咪唑烷基脲和 0.1 g 亚硫酸氢钠, 添加蒸馏水至 100 g, 即得 1、1.5 和 2 mg/g 的 EMP 凝胶。

1.3 家兔皮肤碱烧伤模型的制备

用 80 mg/g 的 Na_2S 对家兔背部两侧皮肤脱毛, 次日用速眠新注射液 (0.3 mL/只) 肌肉注射麻醉后, 将自治烧伤器 (注有 2 mol/L NaOH), 贴于脱毛区皮肤使之持续接触 75 s, 左右两侧各烧伤 3 个区域。酒精消毒后, 在烧伤部位皮下注射 0.5 g/mL 的溴酚兰溶液 1 mL, 24 h 后观察烧伤部位, 未褪色的判为深度烧伤^[10]。

1.4 试验设计

36 只皮肤碱烧伤家兔随机分为 6 组, 每组 6 只。A1 组用 1 mg/g EMP 凝胶治疗, A2 组用 1.5 mg/g EMP 凝胶治疗, A3 组用 2 mg/g EMP 凝胶治疗, B 组为阴性对照组, C 组为阳性对照组, D 为空白对照组。A1、A2 和 A3 组每次在每个创面涂抹相应 EMP 凝胶 0.5 g; B 组每次在每个创面涂抹 EMP 质量浓度为 2 g/L 的盐酸溶液 0.5 mL; C 组每次在每个创面涂抹烧伤止痛膏 0.5 g; D 组每次在每个创面涂抹生理盐水 0.5 mL。以上各组药物在烧伤当天开始涂抹, 每天早晚各涂抹 1 次, 连续涂抹 14 d。

1.5 家兔烧伤皮肤组织中 SOD、CAT 活性和 MDA 含量的测定

分别于烧伤后第 7、14、21 天将各组家兔麻醉, 取烧伤部位皮肤 0.2 g, 加入 1.8 g 的生理盐水, 在冰浴条件下制成 100 mg/g 的组织匀浆, 2 000

r/min离心 10 min 后取上清液备用,每组设 6 个重复。上清液中 SOD、CAT 活性和 MDA 含量的测定按试剂盒说明书进行。

1.6 家兔烧伤皮肤组织的病理学及透射电镜观察

于烧伤后第 1,7,14,21 天将各组家兔麻醉,取烧伤部位皮肤组织,用体积分数 10 %的中性福尔马林固定 24 h,制作石蜡切片(片厚 6 μm),进行 HE 染色,用普通光学显微镜进行观察。另取一部分皮肤组织,用体积分数 4 %的戊二醛固定 24 h,制作超薄切片(片厚 70 nm),进行透射电镜观察。

1.7 数据统计分析

采用医学统计软件 SPSS 3.0 进行方差分析,试验结果以 $\bar{X} \pm SD$ 表示。

表 1 烧伤后不同时间家兔皮肤组织匀浆中 SOD 活性的变化 (n = 6)

组别 Group	烧伤后时间/d The day after burn			U/ mg
	7	14	21	
A1 组 Group A1	18.133 ±0.187 * *	27.140 ±0.092 * *	33.377 ±0.225 * *	
A2 组 Group A2	18.320 ±0.165 * *	27.433 ±0.352 * *	33.770 ±0.191 * *	
A3 组 Group A3	18.477 ±0.211 * *	27.437 ±0.070 * *	34.450 ±0.541 * *	
B 组 Group B	17.363 ±0.310 *	25.987 ±0.021 *	31.393 ±0.292 *	
C 组 Group C	18.570 ±0.428 * *	27.810 ±0.229 * *	34.383 ±0.316 * *	
D 组 Group D	15.117 ±0.222	23.647 ±0.337	29.570 ±0.305	

注:与空白对照组(D 组)相比,* 表示差异显著($P < 0.05$),** 表示差异极显著($P < 0.01$);与阴性对照组(B 组)相比,* 表示差异显著($P < 0.05$),** 表示差异极显著($P < 0.01$)。下表同。
Note:Compared with control group(D group) * and ** stand for distinctive difference at $P < 0.05$ and significantly distinctive difference at $P < 0.01$ level ,respectively;compared with B group * and ** stand for distinctive difference at $P < 0.05$ level and significantly distinctive difference at $P < 0.01$ level ,respectively. The same as following tables.

2.2 家兔烧伤部位皮肤组织中 CAT 活性的变化

由表 2 可知,与空白组(D 组)相比,A1、A2 和 A3 组在第 7,14 和 21 天 CAT 活性均极显著提高($P < 0.01$)。与阴性对照组(B 组)相比,A1 组在第 14 和 21 天 CAT 活性显著提高($P < 0.05$);A2 组在第 7,14 和 21 天 CAT 活性均显著提高($P < 0.05$);

2 结果与分析

2.1 家兔烧伤部位皮肤组织中 SOD 的活性变化

由表 1 可知,与空白对照组(D 组)相比,A1、A2 和 A3 治疗组在第 7,14 和 21 天时 SOD 活性均极显著提高($P < 0.01$)。与阴性对照组(B 组)相比,A1 组在第 14 和 21 天时 SOD 活性均显著提高($P < 0.05$);A2 组在第 7,14 和 21 天时 SOD 活性均显著提高($P < 0.05$);A3 组在第 7、14 天时 SOD 活性均显著提高($P < 0.05$),在第 21 天时 SOD 活性极显著提高($P < 0.01$)。由表 1 还可知,EMP 凝胶治疗组中随着 EMP 浓度的增高,组织中 SOD 的活性也随之增高,但差异不显著。

A3 组在第 7,14 天 CAT 活性显著提高($P < 0.05$),在第 21 天时 CAT 活性极显著提高($P < 0.01$)。随着 EMP 浓度的增高,治疗组组织中 CAT 活性也随之增高,但差异不显著。治疗组与 C 组相比,组织中 CAT 的活性差异不显著。

表 2 烧伤后不同时间家兔皮肤组织匀浆中 CAT 活性的变化 (n = 6)

组别 Group	烧伤后时间/d The day after burn			U/ g
	7	14	21	
A1 组 Group A1	17.220 ±0.332 * *	34.000 ±0.001 * *	41.875 ±0.306 * *	
A2 组 Group A2	17.660 ±0.105 * *	34.750 ±0.324 * *	42.043 ±0.095 * *	
A3 组 Group A3	18.113 ±0.261 * *	34.567 ±0.527 * *	42.920 ±0.292 * *	
B 组 Group B	17.030 ±0.131 *	32.610 ±0.445 *	40.240 ±0.588 *	
C 组 Group C	18.220 ±0.010 * *	34.943 ±0.143 * *	43.027 ±0.176 * *	
D 组 Group D	15.797 ±0.516	29.610 ±0.375	38.790 ±0.513	

2.3 家兔烧伤部位皮肤组织中 MDA 含量的变化

由表 3 可知,与空白组(D 组)相比,在第 14 天时 A1 组和 A2 组 MDA 的含量极显著降低($P < 0.01$),A3 组在第 7,14 和 21 天 MDA 含量极显著降低($P < 0.01$)。与 B 组相比,A1 组在第 7,14 和

21 天 MDA 含量降低,但差异不显著;在第 14 天时 A2 和 A3 组 MDA 的含量极显著降低($P < 0.01$)。随 EMP 浓度的增高,治疗组 MDA 的含量也随之降低,但两者差异不显著。

表 3 烧伤后不同时间家兔皮肤组织匀浆中 MDA 含量的变化 ($n = 6$)

组别 Group	烧伤后时间/ d The day after burn			nmol/ mg
	7	14	21	
A1 组 Group A1	1.276 ±0.415	0.542 ±0.056 * *	0.186 ±0.007 *	
A2 组 Group A2	1.137 ±0.315 *	0.489 ±0.003 * *	0.178 ±0.004 *	
A3 组 Group A3	0.925 ±0.085 * *	0.458 ±0.055 * *	0.143 ±0.014 * *	
B 组 Group B	1.366 ±0.267	0.617 ±0.021 *	0.203 ±0.014 *	
C 组 Group C	0.917 ±0.051 * *	0.416 ±0.017 * *	0.136 ±0.008 * *	
D 组 Group D	1.542 ±0.192	0.843 ±0.020	0.266 ±0.011	

2.4 家兔烧伤皮肤组织的病理学变化

D 组家兔在烧伤后 7 d,皮肤表皮破坏,乳头突起消失,胶原纤维断裂,嗜碱性,真皮细胞核固缩,毛囊鞘细胞凝固性坏死,大量 PMN 浸润(图 1-A);14 d 时,表皮坏死,胶原纤维疏松紊乱、呈轻度嗜碱性、溶解肿胀,真皮组织 PMN 浸润增加(图 1-B);21 d 时,上皮细胞与皮下组织结合疏松,棘细胞层变薄,胶原过度表达,成纤维细胞过度增殖,排列紊乱,仍见 PMN 浸润。B 组在 7 d 时表皮结构大部分破坏,胶原纤维收缩、排列紊乱,皮脂腺腺上皮细胞部分破

坏,大量 PMN 浸润;14 d 时,表皮萎缩部分脱落,真皮内胶原纤维灶状变性、排列紊乱;21 d 时,表皮变薄,胶原增多,成纤维细胞排列稍不规则,有少量 PMN 浸润。治疗组和 C 组在 7 d 时,表皮萎缩,保留少许乳头层结构,真皮胶原纤维部分变性,毛囊外根鞘细胞萎缩,浅筋膜小血管充血,淋巴细胞和中性粒细胞浸润;14 d 时,表皮大部结构修复完整,个别区域轻度萎缩,胶原纤维排列正常,毛囊皮脂腺细胞完好(图 1-C);21 d 时皮肤组织结构完整清晰,胶原和成纤维细胞排列整齐、致密,未见 PMN 浸润。

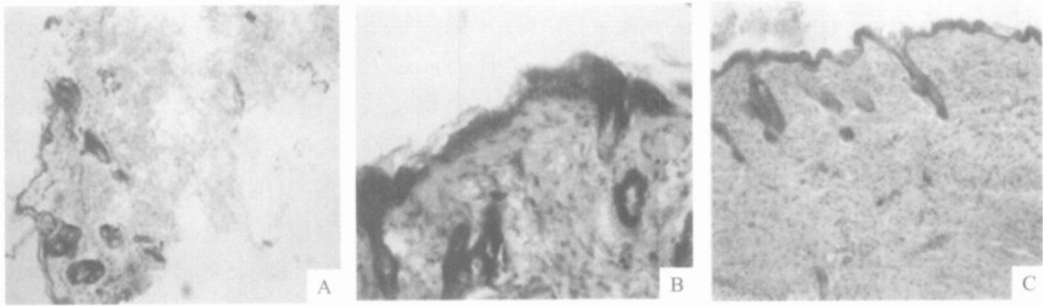


图 1 家兔烧伤皮肤的病理组织切片

A. D 组 7 d (HE, ×100);B. D 组 14 d (HE, ×200);C. A2 组 14 d (HE, ×400)

Fig. 1 Histopathologic slide of rabbit's skin after burn

A. The seventh day in group D (HE, ×100);B. The fourteenth day in group D (HE, ×200);
C. The fourteenth day in group A2 (HE, ×400)

2.5 家兔烧伤皮肤组织的透射电镜观察

烧伤后 1 d,D 组家兔皮肤细胞内溶酶体增多,吞噬异物增加(图 2-A),核浓缩,出现大量的空泡变性。烧伤后 7 d,D 组真皮细胞微绒毛减少,染色质边集,线粒体嵴减少,粗面内质网扩张,大量空泡变性(图 2-B);B 组中真皮细胞线粒体嵴数量减少,有中度空泡变性;治疗组和 C 组有轻度空泡变性。烧

伤后 14 d,D 组细胞微绒毛减少,染色质边集,但核仁存在,细胞变圆;B 组细胞微绒毛减少,呈空泡化;治疗组和 C 组细胞空泡变性减轻。烧伤后 21 d,治疗组中细胞结构完整清晰,核仁明显,染色质均质(图 2-C);其他各组细胞仍有轻度空泡变性,染色质呈轻度边集。

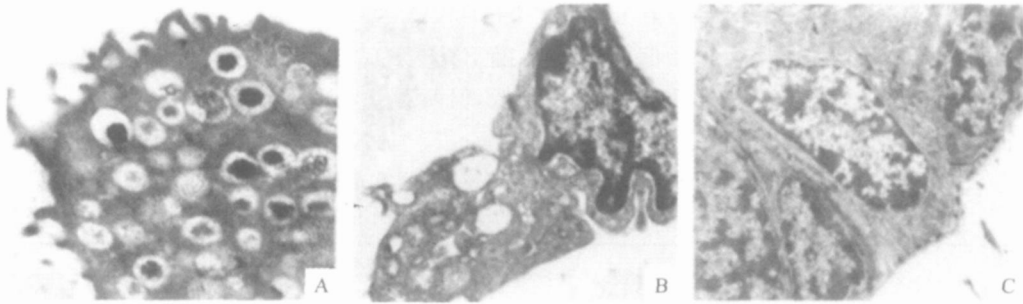


图 2 家兔烧伤皮肤组织的透射电镜照片

A. D 组第 1 天 (TEM, ×20 000); B. D 组第 7 天 (TEM, ×12 000); C. A2 组第 21 天 (TEM, ×8 000)

Fig. 2 Rabbit's skin after burn observed by TEM

A. The first day in group D (TEM, ×20 000); B. The seventh day in group D (TEM, ×12 000);

C. The twenty-first day in group A2 (TEM, ×8 000)

3 讨 论

烧伤是外科的常见疾病,较难治愈,伤后早期坏死组织吸引大量的炎性细胞浸润,吞噬坏死皮肤组织,生成大量超氧自由基 ($\text{OH}\cdot$, $(\text{O}_2^{\cdot-})$ 及其代谢产物,如 MDA 等^[1]。毒性较高的自由基及代谢产物使蛋白质、胶原解聚,破坏皮肤脂质和 DNA 片段,氧化皮肤上皮,抑制其再生,导致皮肤上皮反复缺损,形成皮肤溃疡而难以愈合^[11];并且通过间接激活胶原酶,加重胶原的损伤^[12]。同时这些产物又与周围的物质反应产生趋化因子,导致更多的白细胞聚积,加重炎症反应。机体的抗氧化物质主要分为两类,即酶(SOD、CAT 和 GSH-Px 等)和有还原作用的物质(维生素 E、维生素 C、某些蛋白质等),其均能不同程度地清除自由基,保护组织细胞^[13]。正常上皮细胞中富含 SOD 和 CAT。本试验家兔烧伤皮肤组织中生成的大量超氧自由基及 MDA,可引起皮肤上皮反复缺损,进而引起 SOD 和 CAT 含量减少、清除自由基的能力降低、MDA 增加,这在 D 组中表现得非常明显。治疗组和 B 组应用 EMP 后,组织中 SOD 和 CAT 的活性显著提高,MDA 的生成量显著降低,对超氧自由基的清除能力增强。但治疗组较 B 组作用更为明显,这主要是治疗组采用了 EMP 凝胶剂,凝胶提高了药物的生物利用度,延长了药物的作用时间,且便于机体吸收利用;而 B 组是 EMP 的盐酸溶液,药物不易吸收,损耗大,药效相应减弱。同时凝胶还具有很好的保湿功能,能加速坏死组织的溶解及吸收^[14],在上皮化期,表皮细胞在湿性环境中移行的速度加快,且具有迅速修复真皮的作用。

KT 具有较强的抗氧化能力,可在转录水平促

进蛋白质的合成和植物细胞的生长,其含有的核糖衍生物具有独特的生物学活性,能降低过氧化物酶的活力,抑制氧自由基的产生,促进游离氨基酸合成蛋白质,保护 DNA 免遭氧化破坏,具有剂量依赖性抗衰老作用和细胞因子活性。此外,KT 还具有刺激转录、控制细胞周期、影响钙离子流动和抗氧化作用^[15],保护 Fenton 反应系统引起的 DNA 的氧化损伤、抑制 8-oxo-dG 产物的形成^[16]等生物学活性。可见,EMP 凝胶可能是一方面,通过促进上皮再生来减轻自由基对组织的损伤,另一方面通过抗过氧化损伤作用来减轻自由基对皮肤上皮细胞的氧化损伤而促进上皮修复,两方面作用相互促进,而使脂质过氧化反应减轻,并显著抑制氧自由基间接激活胶原酶的活性,减轻皮肤的损伤。

本试验从组织细胞形态学和生化指标两方面,探讨了 EMP 凝胶在家兔皮肤烧伤中的抗氧化损伤作用。结果表明,EMP 凝胶具有较强的抗脂质过氧化损伤、抑制炎症及促进愈合的作用,但对其抗氧化损伤的具体作用机理,还有待进一步深入研究。

【参考文献】

- [1] Davis A R, Ali Q K, Aclimandos W A, et al. Topical steroid use in the treatment of ocular alkali burns[J]. Br J Ophthalmol, 1997, 81: 732-734.
- [2] Zhang K, Letham D S, John P C. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34cdc2-like H1 histone kinase[J]. Planta, 1996, 200(1): 2-12.
- [3] 李亚男, 郭进, 陈大清. 光与植物激素对黄瓜离体子叶衰老的延缓效应[J]. 湖北农学院学报, 2004, 24(4): 286-290.

(下转第 23 页)

具有重要意义^[8-9]。本试验对陕西省部分地区 CSFV 流行株 E2 基因核苷酸和 E2 蛋白氨基酸序列的变异情况进行了研究,结果发现,所克隆的 10 株 CSFV 流行毒株 E2 基因核苷酸序列同源为 92.3%~99.6%,氨基酸序列同源为 90.0%~100%,与疫苗毒 HCLV E2 基因同源为 75.0%~79.4%,氨基酸序列同源为 77.8%~83.3%。说明,所克隆的 10 株 CSFV 流行毒株 E2 基因与疫苗株亲缘关系较远,发生了变异。

Van 等^[10]研究表明,CSFV E2 蛋白 705,710,713,729 和 734 位的氨基酸变异会导致流行毒株发生免疫逃逸。HCLV 疫苗株 E2 蛋白在上述 5 个位点的氨基酸分别为 N、L、G、N 和 K。本研究 10 株 CSFV 流行毒株与 HCLV 株 E2 主要抗原区相比,其中 729 位发生了 N→A 或 N→V 变异,734 位发生了 K→R 变异,这 2 个位点的变异对流行毒株的致病性以及疫苗的免疫保护作用有多大程度的影响,尚需进一步研究。

由于各种原因,本研究的采样范围还不够大,样本数量还不足够多,因此要完全反映陕西省 CSFV 流行株 E2 基因的变异情况,还需扩大采样范围及样本数量,进行更进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 第 2 版. 北京:科学出版社,1997.
- [2] Meyers G, Rumenapf T, Thiel H J. Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus[J]. Virology, 1989, 171: 555-567.
- [3] Van Rijin P A. A preliminary map of epitopes on envelope glycoprotein E1 of HCV strain Brescia[J]. Veterinary Microbiology, 1992, 33: 212-230.
- [4] Stark R, Rumenapf G, Meyer, et al. Genomic localization of hog cholera virus glycoproteins[J]. Virology, 1990, 174: 286-289.
- [5] 仇华吉,童光志,沈荣显. 猪瘟疫化弱毒疫苗——半个世纪的回顾[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1675-1685.
- [6] 赵耘,王在时,王琴,等. 23 株猪瘟病毒 E2 基因主要抗原编码区序列差异分析[J]. 中国兽医科技, 2002, 32(3): 3-7.
- [7] 李明晖,刘湘涛,韩雪清,等. 4 株猪瘟流行野毒株病毒结构蛋白 E2 基因的核苷酸序列分析[J]. 中国兽医科技, 2001, 31(5): 8-10.
- [8] Lowings J P, Paton D J, Sands J J, et al. Classical swine fever: genetic detection and analysis of differences between virus isolates[J]. J Gen Virol, 1994, 75: 3461-3468.
- [9] Lowings P, Ibata G, Needham J, et al. Classical swine fever virus diversity and evolution[J]. J Gen Virol, 1996, 77: 1311-1321.
- [10] Van Rijin P A, Van Gennip H G P, Demeijer E J, et al. Epitope mapping of envelope glycoprotein E1 of hog cholera virus stain Brescia[J]. J Gen Virol, 1993, 74(10): 2053-2066.

(上接第 18 页)

- [4] 史明,游思维. 嘌呤类物质在中枢神经系统损伤中的作用[J]. 中华创伤杂志, 2005, 21(3): 236-239.
- [5] Sharma S P, Kaur J, Rattan S I. Increased longevity of kinetir-fed *Zaprionus* fruitflies is accompanied by their reduced fecundity and enhanced catalase activity[J]. Biochem Mol Biol Int, 1997, 41(5): 869-875.
- [6] Sharma S P, Kaur J, Rattan S I. Plant growth hormone kinetin delays ageing, prolongs the lifespan, and slows down development of the fruitfly *zaprionus paravittegei*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1995, 216(3): 1067-1071.
- [7] Rattan S I, Clark B F. Kinetin delays the onset of ageing characteristics in human fibroblasts[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1994, 201(2): 665-672.
- [8] 张黎,欧阳五庆,胡颖,等. 玉米幼芽提取物对家蚕抗氧化损伤作用的影响[J]. 蚕业科学, 2005, 31(4): 458-462.
- [9] 刘玉梅,欧阳五庆,杨戈,等. 玉米幼芽提取物对 D-半乳糖致果蝇脂质过氧化反应的拮抗作用[J]. 中国临床康复, 2006, 35(10): 112-114.
- [10] 李迟,于东宁. 烧伤面积和深度的诊断[J]. 中国全科医学, 2001, 4(4): 262-264.
- [11] Nirankari V S, Vama S D, Lakhanpal V, et al. Superoxide radical scavenging agents in treatment of alkali burns—an experimental study[J]. Arch Ophthalmol, 1981, 99: 886-887.
- [12] Ishizaki M, Shimoda M, Wakamatsu K, et al. Stromal fibroblasts are associates with collagen IV in scar tissues of alkali-burned and lacerates corneas[J]. Curr Eye Res, 1997, 16: 339-348.
- [13] 李纳. 抗氧化物质与角膜碱烧伤[J]. 眼科, 2002, 11(4): 243-246.
- [14] 舒立涛,徐宝顺. 伤口湿性愈合的新理念[J]. 中国实用美学和整形外科学杂志, 2004, 15(6): 336.
- [15] Barciszewski J, Rattan S I S, Siboska G, et al. Kinetir-45 years on[J]. Plant Science, 1999, 148: 37-45.
- [16] Verbeke P, Siboska G E, Clark B F, et al. Kinetin inhibits protein oxidation and glycoxidation in vitro[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 276(3): 1265-1270.