

马尾松花粉提取物对前列腺肥大小鼠的预防作用及代谢组学研究

马玉¹, 杨长军², 孙丰霞¹, 吕建云¹, 王桐², 耿越¹

(1. 山东省动物抗性生物学重点实验室, 山东师范大学生命科学学院, 山东济南 250014)

(2. 烟台新时代健康产业(集团)有限公司, 山东烟台 264006)

摘要: 探究马尾松花粉提取物(MPPE)对前列腺肥大(BPH)小鼠的影响。雄性昆明种小鼠随机分为6组, 分别为空白对照组、BPH组、20、40和80 mg/kg·d MPPE组及非那雄胺(0.8 mg/kg·d)组。预先灌胃MPPE两周之后, 在腹腔注射丙酸睾酮建模的同时连续灌胃MPPE或非那雄胺四周。实验结束后观察组织形态变化, 测定细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PACP、DHT、NO及NOS的水平。利用UPLC-QTOF-MS技术检测小鼠血清、尿液中代谢物的变化, 采用PLS-DA分类, 寻找潜在生物标志物。三种剂量的MPPE处理均降低了前列腺指数、炎症细胞因子、DHT浓度及PACP、NOS的活性, 并减少了NO的生成。血清代谢组学鉴定了3个潜在生物标志物, 分别为1-棕榈酰溶血磷脂酰胆碱、1-O-十六烷基-2-O-乙酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱和(Z)-13-二十二烯酰胺。马尾松花粉提取物可以明显降低BPH病理症状及相关生化指标, 调节标志性代谢物的水平。其可能的作用机制与抑制炎症及缓解脂质代谢紊乱相关。

关键词: 马尾松花粉提取物; 良性前列腺肥大; 代谢组学; 炎症反应; 氧化应激

文章编号: 1673-9078(2017)3-8-13

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.002

Metabolomics Study of *Pinus massoniana* Pollen Extract and its Preventive Effect on Benign Prostate Hypertrophy in Mice

MA Yu¹, YANG Chang-jun², SUN Feng-xia¹, LV Jian-yun¹, WANG Tong², GENG Yue¹

(1. Provincial Key Lab. of Animal Resistant Biology, College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China) (2. Yantai New Era Health Industry (Group) Co., Ltd., Yantai 264006, China)

Abstract: The effect of masson pine (*Pinus massoniana*) pollen extract (MPPE) on benign prostate hypertrophy (BPH) in mice was studied. Male KM mice were randomly divided into six groups: normal control group, BPH model group, 20, 40 and 80 mg/kg MPPE groups and 0.8 mg/(kg·d) finasteride group. After two weeks of advanced intragastric MPPE administration, an intraperitoneal injection of testosterone propionate was used to initiate the BPH, following which the MPPE or finasteride treatment was administered intragastrically for 4 weeks. At the end of the treatment period, morphological changes in the tissues were observed, and levels of the cytokines IL-6, IL-1 β , and TNF- α as well as of PACP, DHT, NO, and NOS were measured. Ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry was employed to detect changes in serum and urine metabolites. Partial least squares discriminant analysis was used for group differentiation and biomarker selection. All three doses of MPPE decreased the prostate index, inflammatory cytokines, DHT concentration, PACP and NOS activities, and NO production. Serum metabolomics analysis found and identified three potential biomarkers: 1-palmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, 1-O-hexadecyl-2-O-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine, and cis-13-docosenoamide. MPPE could significantly reduce the pathological symptoms and biochemical parameters of BPH and adjust the level of the marker metabolites. The mechanism may be related to the inhibition of inflammation and alleviation of lipid metabolism disorders.

Key words: masson pine pollen extract; benign prostate hypertrophy; metabolomics; inflammatory response; oxidative stress

前列腺肥大, 又称良性前列腺增生(benign prostatic hyperplasia, BPH)是老年男性的常见疾病, 其发病率随着年龄的增长而增长, 严重影响老年男性

收稿日期: 2016-01-29

作者简介: 马玉(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 耿越(1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学

的生活质量。在治疗 BPH 的药物中, 首选是 5 α -还原酶抑制剂, 如非那雄胺和度他雄胺, 随后是 α 1-肾上腺素受体阻滞剂, 但均存在一定的副作用^[1]。天然植物药剂, 在治疗 BPH 方面有许多显而易见的优势: 疗效稳定, 作用温和持久, 毒性和不良反应小。

松花粉又被称为松黄, 是马尾松(*Pinus*

massoniana Lamb)、油松(*P. tabulaeformis* Carr.)及同属种的植物花粉。丛涛等人研究发现松花粉可以通过调节机体雌、雄两种激素水平,发挥治疗前列腺增生的作用^[2]。临床实践证明花粉有良好的治疗慢性非细菌性前列腺炎、前列腺疼痛、BPH 以及前列腺癌的作用^[3]。国内外几十年的临床实践均证明花粉及其制剂是治疗前列腺疾病的理想药物且无不良反应。

伴随系统生物学的发展,代谢组学已经成为探索内在变化或者外在环境与生物内源性代谢物质相互作用的有力工具。近年来,应用在尚无特效药的疾病如肿瘤、脂肪肝的代谢组学研究较多,期望能找出早期临床生物标志物,对于防治疾病恶化意义重大。关于前列腺癌的代谢组学研究已有报道^[4,5],关于BPH的代谢组学探究很少,对马尾松花粉干预BPH疾病的代谢组学分析未见报道。

本研究以马尾松花粉提取物作为材料,采用腹腔注射丙酸睾酮法复制实验性小鼠前列腺增生动物模型,预先灌胃松花粉提取物,观察对模型小鼠前列腺增生的预防作用,同时对小鼠血清、尿液进行基于UPLC-QTOF-MS (Ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry)的代谢组学研究,进一步探究其作用机理。以期为临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

马尾松花粉提取物(masson pine pollen extract, MPPE),由烟台新时代健康产业(集团)有限公司提供。主要提取步骤:破壁马尾松花粉(*Pinus massoniana*)加水分散,超声提取,离心,滤液调 pH 为弱酸性,沉淀去掉蛋白质和鞣质等成分,过滤,冷冻干燥,冷藏备用。使用时用去离子水配制成相应剂量。

4 周龄雄性昆明种小鼠(20±2)g,购自山东中医药大学SPF级动物中心;非那雄胺(艾世列),杭州康恩贝制药有限公司(L/N: 20130201)。丙酸睾酮注射液,上海通用药业股份有限公司(L/N: 121203)。Elisa试剂盒(IL-1β、IL-6、TNF-α、PACP和DHT),R&D分装(L/N: 201312)。NO/NOS试剂盒,南京建成生物工程研究所(L/N: 20131215)。乙腈和甲酸为色谱纯试剂,美国 Thermo Fisher Scientific公司;纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司。

Acquity BEH C18 分析柱(100×2.1 mm, 1.7 μm),Waters XEVO G2-S QTOF 四级杆飞行时间串联质谱仪,美国 Waters 公司;Centrifuge 5804R 高速冷冻离心机,德国 eppendorf 公司。

1.2 分组设计与方法

小鼠适应性喂养一周,自由饮水饮食。随机分为 6 组:空白对照组(Normal control);前列腺肥大模型组(BPH model);20 mg/(kg·d) (LMPPE)、40 mg/kg·d (MMPPE)和 80 mg/(kg·d) (HMPPE)马尾松花粉提取物组以及非那雄胺组(finasteride, 0.8 mg/(kg·d)),实验周期为 6 周。

实验前两周,三个松花粉组按体重每日灌胃相应剂量的 MPPE,其余各组每日灌胃生理盐水,灌胃量均为 0.2 mL/d。隔天称重,根据体重随时调节给药剂量。第三周开始,除空白组外,每组腹腔注射丙酸睾酮 5 mg/(kg·d),空白组每日灌胃生理盐水,非那雄胺组和松花粉组每日灌胃相应的非那雄胺和 MPPE。

1.3 样品收集与处理

实验结束前 1~2 d,收集小鼠尿液,4000 r/min 离心除去沉淀杂质,上清加入 20 倍体积乙腈去蛋白,10000 r/min 离心,取上清用 0.22 μm 微膜过滤,供 UPLC-QTOF-MS 测定。

第 6 周末,乙醚麻醉,摘眼球取血,收集于 EP 管中,室温放置 1 h,4 °C 冰箱过夜,第二天取出,离心,取上层血清-20 °C 保存,待测。每只小鼠取血清 100 μL,加入 20 倍体积乙腈去蛋白,涡旋混匀,10000 r/min 离心 10 min,取上清液,0.22 μm 微膜过滤,备用。

用 ELISA 试剂盒依次检测血清中的 IL-1β、IL-6、TNF-α、DHT、NO 和 NOS 以及 PACP 水平。另外,解剖分离前列腺组织和脾脏后立即称重,计算前列腺指数(PI)、脾脏指数(SI)。

前列腺指数(10×mg/g) = 10×前列腺平均重量(mg)/平均体重(g);

脾脏指数(mg/g) = 脾脏平均重量(mg)/平均体重(g)。

制作前列腺组织石蜡切片,HE 染色后光镜观察。

1.4 色谱和质谱条件

色谱条件:流动相组成为:A 相为 0.1%甲酸-水溶液,B 相为 0.1%甲酸-乙腈溶液,采用梯度方式洗脱样品。梯度程序为 0~3 min,5%~70% B; 3~8 min,90% B; 8~9 min,100% B; 9~10 min,5%~100% B; 10~12 min,5% B。柱温 35 °C,流速 0.3 mL/min。自动进样器温度设定 15 °C,进样量 2 μL。

质谱条件:采用正离子模式,检测参数设置:毛细管电压 3.0 kV,锥孔电压 40 V,脱溶剂气温度

350 °C, 离子源温度 120 °C, 锥孔气流量 50 L/h, 脱溶剂气流量 600 L/h, 采集时间范围 0~12 min, 扫描范围 m/z 100~1000, 扫描时间 0.1 s, 扫描间隔 0.02 s, 甲酸钠锁定质量校准, 亮氨酸-脑啡肽实时精确校正质量。

1.5 数据分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计分析使用 SPSS 单因素方差分析, 并进行多重比较。采用 Markerlynx 软件 (Waters, USA) 进行色谱峰自动识别和峰匹配, 每个样本的总峰面积归一化至 10000。导出的峰表按照 80% 原则去除零值。将数据导入软件 SIMCA-P+12 (Umetrics, Umea, Sweden), 进行偏最小二乘-判别分析(PLS-DA)。

2 结果与分析

2.1 前列腺组织形态学检查

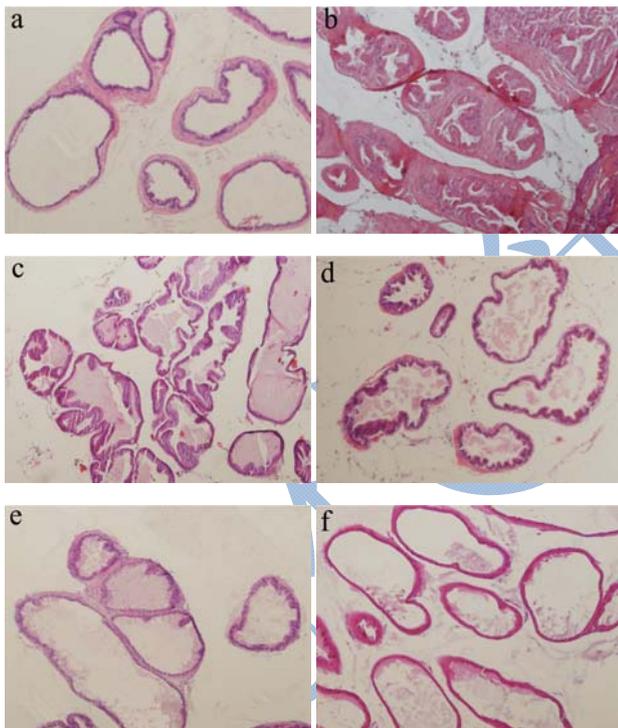


图1 小鼠前列腺组织形态学检查 (HE, 200×)

Fig.1 Prostate tissue morphology in different mice groups

注: a 图为 Normal control; b 图为 BPH model; c 图为 Low MPPE; d 图为 Middle MPPE; e 图为 High MPPE; f 图为 Finasteride。

正常对照组腺泡上皮细胞排列整齐, 形状规则(a)。BPH 组小鼠前列腺腺泡形状不规则, 上皮细胞绒毛状突起到腺泡腔, 形成增生结节, 腔内分泌物着色明显, 上皮细胞排列不规则(b)。20 mg/kg MPPE 组的

前列腺增生情况较重, 上皮增生明显(c), 40 mg/kg (d)、80 mg/kg (e) MPPE 组的前列腺肥大情况则得到明显改善, 非那雄胺组的腺泡结构基本正常(f)。

2.2 小鼠前列腺指数(PI)和脾脏指数(SI)

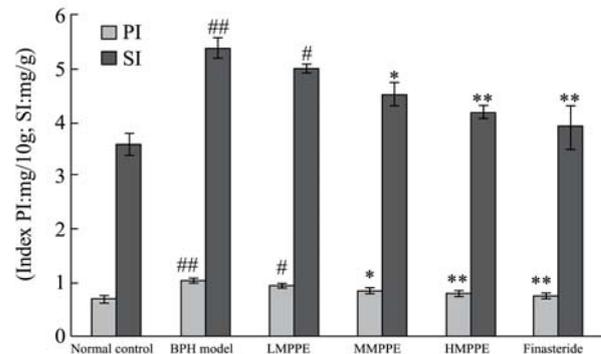


图2 各组小鼠的PI 以及SI

Fig.2 Changes of PI and SI in different mice groups (n=6)

注: $p < 0.05$, $## p < 0.01$ vs 空白组; $* p < 0.05$, $** p < 0.01$ vs 模型组; 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。下同。

如图 2, 经过 4 周的丙酸睾酮注射, 模型组动物的前列腺指数显著增大($p < 0.01$), 表明模型建立成功。非那雄胺处理 4 周后前列腺指数显著下降, 松花粉也明显地降低了增大的前列腺指数($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$), 与剂量正相关。另外, 模型组动物的脾脏指数也有明显增大($p < 0.01$), 三个剂量的松花粉及非那雄胺处理均可以降低这种增大的趋势。

2.3 血清中细胞因子含量(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α)测定

TNF- α)测定

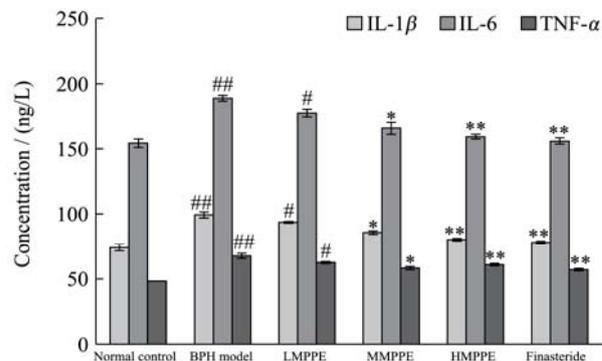


图3 小鼠血清中细胞因子的含量

Fig.3 Cytokine contents in mice sera (n=6)

与空白组相比, 模型组小鼠血清中的三种前炎性细胞因子含量均明显增加(图 3), 三个松花粉组的降低程度有一定差异, 总体呈现剂量依赖效应。

2.4 小鼠血清中双氢睾酮(DHT)的含量变化

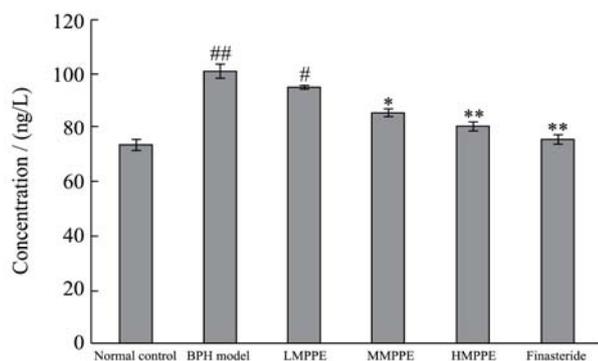


图4 小鼠血清中DHT的含量

Fig.4 DHT concentration in mice sera (n=6)

实验结束时, 模型组小鼠血清的 DHT 含量升高 ($p<0.01$), 见图 4。非那雄胺 ($p<0.01$) 以及 MMPPE ($p<0.05$)、HMPPE ($p<0.01$) 均降低了血清中 DHT 的含量, 但与模型组相比, LMPPE 组 DHT 含量变化不明显, MPPE 的作用有一定的剂量依赖性。

2.5 小鼠前列腺组织中前列腺酸性磷酸酶

(PACP)活性的变化

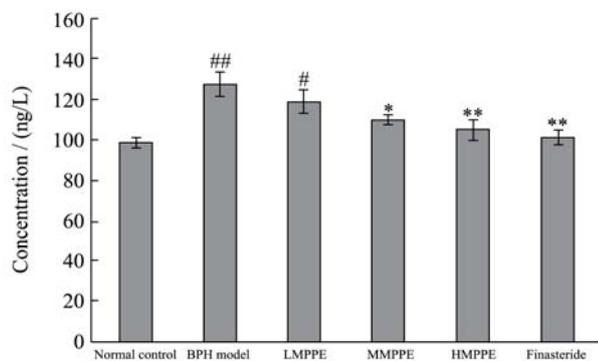


图5 小鼠血清中PACP的活性

Fig.5 PACP concentration in mice sera (n=6)

如图 5 所示, 与正常小鼠相比, BPH 组 ($p<0.01$) 和低剂量MPPE 组 ($p<0.05$) 小鼠前列腺组织中的 PACP 活性都显著增加。与 LMPPE 不同的是, MMPPE ($p<0.05$) 和 HMPPE ($p<0.01$) 发挥了明显的保护作用。非那雄胺的保护是最有效的。

2.6 血清中 NO 及 NOS (iNOS 及 TNOS) 的含量

如图 6 所示, 与空白组相比, BPH 小鼠血清中的 NO 含量显著增加 ($p<0.01$), 两种 NOS 的活性同样明显的增强。经过 4 周的干预, 非那雄胺起到了显著的效果 ($p<0.01$), 三个松花粉组 NO 含量及 NOS 活性也明显降低 ($p<0.01$), 并且三个剂量之间无显著性差异。

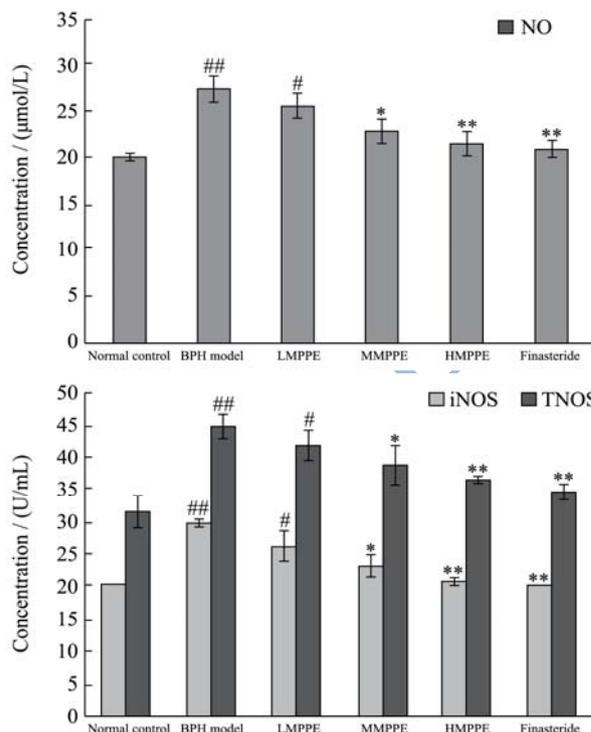


图6 各组小鼠血清中NO及NOS含量的变化

Fig.6 Changes of NO and NOS concentrations in mice sera (n=6)

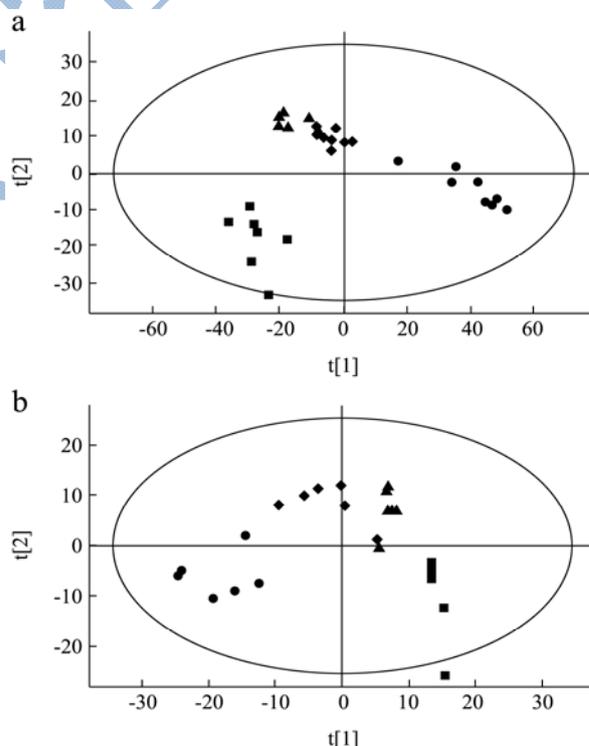


图7 血清(a)和尿液(b)的偏最小二乘-判别分析结果

Fig.7 PLS-DA analysis of the serum and urine

注: ●表示空白组; ■表示模型组; ◆表示非那雄胺组; ▲表示高剂量花粉组。

2.7 小鼠血清和尿液中代谢物谱数据分组分

析

从图 7a 小鼠血清的得分图可以看出,模型组的小鼠与空白组小鼠分类明显,说明丙酸睾酮导致模型组小鼠的血清代谢物相比正常小鼠中发生了较大的变化,模型组小鼠的体内可能发生了代谢紊乱。四组之间基本获得了完全分离,其血清代谢物谱有明显的区别,HMPPE 组与非那雄胺组向空白对照组接近,前者效果更佳,说明 MPPE 和非那雄胺均具有一定的效果,但未能使前列腺肥大模型小鼠完全恢复到正常的代谢水平。

图 7b 为小鼠尿液的得分图,可以看出,空白组、模型组、非那雄胺组和高剂量 MPPE 组对比,与血清代谢物谱不同,非那雄胺的作用优于高剂量花粉组,但是并没有使疾病小鼠完全恢复到正常组水平。

2.8 血清中生物标志物的分析

对于空白组和非那雄胺组分离贡献较大的化合物,根据测得的精确分子量,计算其可能的分子式,并进行同位素匹配,质量偏差越小的化合物为正确化合物的可能性越大。再根据分子量和二级质谱数据结合 METLIN、NIST 和 HMDB 等数据库进行检索,对潜在的生物标志物进行分析,鉴定出 1-十六烷酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(1-棕榈酰溶血磷脂酰胆碱, LysoPC (16:0))、1-O-十六烷基-2-O-乙酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱(血小板活化因子, PAF C-16)和(Z)-13-二十二烯酰胺(芥酸酰胺, Erucamide)共 3 个生物标志物。

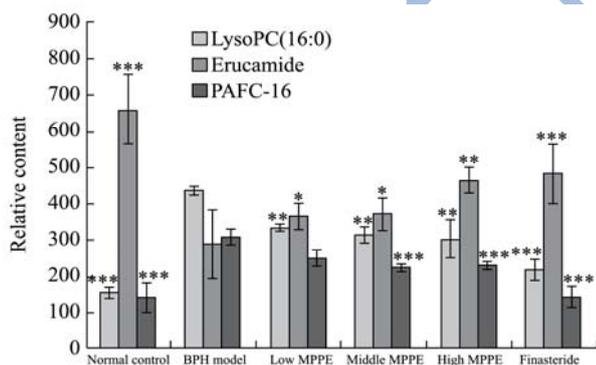


图 8 血清中三种标志物的相对含量

Fig.8 Relative contents of the three biomarkers

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, BPH 为模型组。

图 8 反映了 LysoPC (16:0)、Erucamide 和 PAF C-16 在各组中的变化趋势。与空白组相比, BPH 组小鼠血清中 LysoPC(16:0)的含量明显上升($p < 0.001$),经非那雄胺干预有显著的下降($p < 0.001$),三个剂量的松花粉也呈显著的下降趋势($p < 0.01$);而芥酸酰胺在 BPH 组小鼠血清中的含量明显下降($p < 0.001$),经非那雄胺干

预后含量有显著的升高($p < 0.001$),松花粉也可显著升高芥酸酰胺水平,高剂量效果最明显($p < 0.01$); PAF C-16 在 BPH 组小鼠血清中的含量明显升高,经过非那雄胺干预后显著下降($p < 0.001$),MMPPE 和 HMPPE 组干预效果较明显($p < 0.001$)。

3 讨论

大量研究表明,氧化应激介导和诱发细胞增殖与脂质过氧化反应,从而影响血管的正常生理状态,诱导细胞突变及增殖分化,促进前列腺细胞的增殖及重塑,与前列腺增生的发病有关^[7]。NO 是引起氧化性细胞毒性作用的关键物质。病理情况下前列腺细胞的胞质中 iNOS 表达增强,合成大量 NO,可促进细胞有丝分裂和增殖,促进肿瘤组织内血管新生,加速肿瘤的生长及浸润。高表达 NO 还可抑制多种与线粒体电子传递系统及柠檬酸循环有关的酶,最终抑制线粒体的呼吸链引起细胞损伤。林学廷^[8]的研究显示,前列腺增生小鼠的细胞 NO 水平明显高于正常小鼠细胞,表明氧化应激和前列腺增生密切相关。本研究结果显示模型组的 NO 水平高于空白组,也进一步印证了 NO 在前列腺增生发病中的作用。马尾松花粉提取物预防前列腺增生并呈剂量依赖,这种效果可能是由于其抗氧化潜力,它能抑制睾酮诱导的氧化应激,从而抑制上皮细胞增殖。

雄激素对于正常前列腺的生长和发育是非常必要的。在诱导氧化应激导致前列腺增生的启动或进展中,雄激素可广泛的增强前列腺细胞的新陈代谢,导致线粒体自由基的损坏,即介导氧化损伤。前列腺组织的增生,成长和发展依赖于雄激素,通过强烈的雄激素受体激动剂 DHT 来完成。睾酮通过 5 α -还原酶转换形成 DHT,上调雄激素受体及其表达产物。DHT 对雄激素受体的激发效果是睾酮的五倍, Ali^[9]等人的研究发现雄激素受体的过度刺激增加了前列腺中线粒体的活性,导致过多的自由基诱导氧化损伤进而导致前列腺增生。而非那雄胺可抑制睾酮向 DHT 的转化,从而抑制随后由 DHT 介导的细胞代谢和自由基线粒体损伤。在本研究中,灌胃松花粉提取物和非那雄胺均降低了血清 DHT 的含量,显著抑制了睾酮诱导的小鼠前列腺增生的发展。

血清中 PACP 主要来自前列腺组织,故血清 PACP 活性的变化可以反映前列腺的状态。前列腺组织增生加强,血清中 PACP 活性升高,本实验显示中、高剂量松花粉提取物可以显著抑制血清中 PACP 的升高,因而说明了 MPPE 对前列腺组织生长的抑制作用。

很多研究发现 BPH 发生过程中伴随着炎症反应

的进行^[10,11], 本研究数据表明, 非那雄胺组和花粉提取物组可以降低前炎性细胞因子(pro-inflammatory cytokines)的升高。

代谢组学分析发现马尾松花粉提取物可以显著调节 BPH 模型小鼠血清中 PAF C-16、LysoPC(16:0)与芥酸酰胺水平的改变。其中 PAF C-16 与 LysoPC (16:0)均与磷脂合成途径有关, 在脂质代谢中起信号传导的作用。血小板活化因子(PAF)可以促进肿瘤坏死因子的产生; 调节白介素、金属蛋白酶组织抑制因子-1、基质金属蛋白酶-1 等的分泌加重炎症反应, 图 3 模型组小鼠血清相关炎性因子水平显著增高的结果可能正是因为这一点。另外, PAF 还可作用于花生四烯酸(AA), 增加前列腺素(PGs)的释放, 而 PGs 的增加会加重前列腺肥大。Murphy 等^[12]也曾发现利用非甾体类抗炎药抑制催化 AA 转化为 PGs 的重要限速酶环氧合酶, 干扰 PGs 的合成, 可以缓解 BPH 合并前列腺炎患者的疼痛症状。而且, PAF 受体与 G 蛋白偶联后, 磷酸酯酶 C 被激活, 作用于 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇, 使其分解产生第二信使三磷酸肌醇和二酰基甘油, 这两种物质可分别诱导细胞 Ca^{2+} 浓度的升高和激活蛋白激酶 C^[13]。这与 $\alpha 1$ 肾上腺素受体介导的膀胱平滑肌收缩信号转导途径相同^[14]。平滑肌的收缩, 会导致 BPH 患者尿道压力的闭合性增强, 引起尿流梗阻及膀胱刺激症状。

溶血磷脂酰胆碱(LPC)在前列腺癌和乳腺癌研究中均有报道。在人体内, LPC会在溶血磷脂酶D的作用下转变成溶血磷脂酸(LPA), LPA是一种细胞膜脂类衍生物, 它可以促进细胞增殖^[15]。在前列腺肥大小鼠中, 其表达水平升高, 很可能是导致前列腺增生的原因之一。有研究发现LPC可以通过巨噬细胞上的PAF受体转移 Ca^{2+} , 影响 Ca^{2+} 在胞浆中的水平^[16]。芥酸酰胺是脂肪酸酰胺, 通常以受体介导的方式调节各种生理功能。Hamberger^[17]等在对腹泻的研究中从猪的血浆中曾发现芥酸酰胺, 有调节水分平衡的作用, 但芥酸酰胺确切的生物学功能尚未确定。

血清代谢组学分析结果提示马尾松花粉提取物在小鼠体内调节 BPH 过程中涉及磷脂代谢, 与细胞增殖、调节炎症因子以及第二信使蛋白激酶有关。Mimikjoo^[18]等人的研究也指出含有花粉成分的临床药物舍尼通(Cernilton)可以剂量依赖性地抑制 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的升高, 该作用可能与抑制第二信使调节蛋白激酶有关。有关 BPH 血清代谢组学的研究与前列腺癌的研究相比报道较少, 本文所发现的三种代谢标志物与 BPH 的关系仍需进一步探究。

4 结论

总之, 马尾松花粉提取物可以有效地降低 BPH 发生过程中炎症因子的升高, 有效改善增生状况, 调节标志性代谢物的水平, 且有一定的剂量依赖效应。因此, 马尾松花粉提取物可通过适当强化或作为保健品, 预防 BPH 的发生。

参考文献

- [1] Veeresh B S, Veeresh B, Patil A A, et al. Lauric acid and myristic acid prevent testosterone induced prostatic hyperplasia in rats [J]. Eur. J. Pharmacol., 2010, 626(2-3): 262-265
- [2] 丛涛,赵霖,鲍善芬.松花粉对大鼠前列腺增生治疗作用的研究[J].军医进修学院学报,2005,5:395-396
CONG Tao, ZHAO Lin, BAO Shan-fen. Study on the treatment of rats with benign prostatic hypertrophy by *Masson Pine* [J]. Pollen. Acad. J. PLA Postgrad. Med. Sc., 2005, 5: 395-396
- [3] Aslamazov E G, Akhvlediani N D, Vinarov A Z, et al. Cernilton in the treatment of prostatic adenoma and chronic prostatitis [J]. Urologiia, 2007, 1:52, 54-56
- [4] Wu H, Liu T, Ma C, et al. GC/MS-based metabolomic approach to validate the role of urinary sarcosine and target biomarkers for human prostate cancer by microwave-assisted derivatization [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 401(2): 635-646
- [5] Saylor P J, Karoly E D, Smith M R. Prospective Study of changes in the metabolomic profiles of men during their first three months of androgen deprivation therapy for prostate cancer [J]. Clinical Cancer Research, 2012, 18(13): 3677-3685
- [6] Thysell E, Surowiec I, Hörmberg E, et al. Metabolomic characterization of human prostate cancer bone metastases reveals increased levels of cholesterol [J]. Plos One, 2010, 5(12): e14175
- [7] Cheeseman K H. Mechanisms and effects of lipid peroxidation [J]. Mol. Aspects. Med., 1993, 14(3): 191-197
- [8] Xueting L. Investigate oxidative stress on the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer in value [J]. Guide of China Medicine, 2013: 474-475
- [9] Ali M I, Kondreddi H D, Veeresh B. Protective effect of 2-hydroxy-4-methoxy benzoic acid on testosterone induced benign prostatic hyperplasia in Wister rats [J]. Eur. J Pharmacol., 2013, 698(1-3):397-403
- [10] Guo-hua S, Fang-xia N, Yu-jun X. The Significance of expression of IL-10, TNF- α in prostate hyperplasia and prostate cancer tissues [J]. Urology Journal (Electronic), 2012,

- 1: 25-28
- [11] Wei Z, Ruifa H. Expression and significance of CD8, CD20, IL-6 and IL-23 in tissue of benign prostatic hyperplasia [J]. Tianjin Medical Journal, 2011, 8: 711-713
- [12] Murphy A B, Macejko A, Taylor A, et al. Chronic prostatitis [J]. Drugs, 2009, 69(1): 71-84
- [13] Qi Y, Xiaohua Z, Yanjing Q. Research advances in PAF and its receptor antagonist [J]. Journal of Chinese medicine, 2011, 26(7): 1568-1571
- [14] Bartsch G, Rittmaster R S, Klocker H. Dihydrotestosterone and the role of 5 alpha-reductase inhibitors in benign prostatic hyperplasia [J]. Der. Urologe. Ausg. A, 2002, 41(5): 412-424
- [15] Zhao Z, Xiao Y, Elson P, et al. Plasma lysophosphatidylcholine levels: potential biomarkers for colorectal cancer [J]. Journal of Clinical Oncology, 2007, 25(19): 2696-2701
- [16] 亢爱春. 溶血磷脂酰胆碱在动脉粥样硬化中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(12): 1083-1086
- KANG Ai-chun. Lysophosphatidylcholine's effect in atherosclerosis [J]. Chinese Journal of Atherosclerosis, 2006, 14(12): 1083-1086
- [17] Hamberger A, Stenhagen G. Erucamide as a modulator of water balance: new function of a fatty acid amide [J]. Neurochemical Research, 2003, 28(2): 177-185
- [18] Mirnikjoo B, Brown S E, Kim H F, et al. Protein kinase inhibition by omega-3 fatty acids [J]. J. Biol. Chem., 2001, 276(14): 10888-10896