

补肾填精方对老龄大鼠脑细胞脂褐素及外周血 SOD、LPO 含量的影响观察

李思成 刘 钺 张文英 宋 英 王 枢 郭蓉晓 李 娟
(成都中医药大学附属医院 610071)

摘要 补肾填精方具有降低老龄鼠脑细胞脂褐素的含量、改善外周血 SOD、LPO 浓度的作用,有一定的延缓衰老的功能。

关键词 补肾填精方 脂褐素 超氧化物歧化酶(SOD) 过氧化脂质(LPO)

The Effect of Bushen Tianjing Formula on Lipofuscin of Brain Cell, and Blood SOD and LPO on Aged Rats

Li Sicheng, Liu Yue, Zhang Wenyong, Song Ying, Wang Shu, Guo Rongxiao, Li Juan (Chengdu University of TCM, 610071)

Abstract: The effect of Bushen Tianjing formula on wistar rats 24 months old was observed. It was found that the formula could lower lipofuscin content in brain cells, and increase blood SOD level, while blood LPO level was decreased, indicating that the formula may possess antiaging action.

Key words: Bushen Tianjing Formula, lipofuscin, SOD, LPO

1 材料与方

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物与分组 50 只 Wistar 大鼠,雌雄各半,由四川省医学科学院实验中心提供,本室购入饲养至 24 月龄,按体重、性别随机分为 5 个组,每组 10 只,分别为大、中、小剂量组,阳性药物对照组,生理盐水对照组;另设 3 月龄 Wistar 大鼠(150~180g/只)10 只为成年对照组。共计 6 个组平行对照实验。

1.1.2 实验用药及给药方法 补肾填精方由桑椹、枸杞、鹿茸等组成,制成浸膏(每毫升含生药 3g),按实验动物体重分别口服灌胃 26.25,11.25,3.75g/kg 剂量的补肾填精方药,阳性药物组灌服 1.5mg/kg“Hydergin”(瑞士山度士药厂),老年对照组、成年对照组

灌服等体积的生理盐水;以上各组每天灌服一次,连续 60 天。

1.1.3 实验仪器 721 分光光度仪(Japan),FJ-2008Pr-计数器(中国 262 厂),光学显微镜(Japan)。

1.1.4 实验试剂 过氧化脂质测定试剂盒(四川省卫生干部管理学院生理教研室),超氧化物歧化酶(SOD-1)放免试剂盒(上海第二军医大学 369 研究室)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 实验动物在未次给药后 1 小时,快速断头并剥离大脑,切取皮层,立刻浸泡入 10%甲醛中,常规石蜡包埋切片,作 PSP 染色;同时取血,快速分离出血细胞,将血浆置于 37℃ 中水浴 1.5h,分离血清。

1.2.2 测定方法 (1)大鼠脑细胞脂褐素含

量的测定:取大鼠脑切片作PSP染色,每只动物脑切片随机计数100个左右神经元细胞,统计各组动物脑神经细胞的脂褐素阳性细胞的百分率。(2)超氧化物歧化酶测定:用血清20 μ l与抗体125I-SOD-1竞争结合反应,37 $^{\circ}$ C水浴1小时,加入第二抗体37 $^{\circ}$ C水浴45min,3500rpm离心15min,吸取上清液,测定各管数据,数据用四参数方程处理。(3)过氧化脂质测定:用0.3ml血清,经0.05M HCl酸化处理后,加入硫代巴比妥酸混匀,加盖沸水浴30min,反应后用冷流水速降至室温,加入抽提液萃取,振摇1min,3000rpm离心10min,取上层液,用535nm比色。

2 结果

2.1 对老鼠脑神经细胞脂褐素含量的影响

结果表明(见表1),老龄对照组与成年组比较,其脑神经细胞脂褐素含量明显增加;经灌服补肾填精方药后,各剂量组与老龄对照组比较,脑神经细胞脂褐素都有减少,尤以中剂量组明显;而阳性对照组与老龄对照组比较无明显的改变。

表1 对老龄大鼠脑神经细胞脂褐素含量的影响

组别	脂褐素阳性细胞率(%) ($\bar{x} \pm s$)
成年对照	2.38 \pm 1.42
老年对照	7.59 \pm 5.36 $\Delta\Delta\Delta$
补肾大组	6.37 \pm 4.27*
补肾中组	5.24 \pm 3.27**
补肾小组	5.93 \pm 4.72**
Hydregin	6.91 \pm 4.82

老年组与成年组比较 $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; 实验各剂量组、阳性组与老龄组比较 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ (下表同)

2.2 对老龄鼠外周血SOD、LPO浓度的影响

结果见表2。(1)老龄对照组与成年对照组比较,其外周血SOD、LPO浓度有明显改变,表现为老龄组血SOD浓度明显降低,而LPO浓度较成年组明显增高。(2)补肾填精方各剂量组与老龄对照组比较,外周血SOD增高,以中剂量组明显;而外周血LPO中、小

剂量试验组较老龄对照组下降,中剂量组更明显。(3)阳性对照组与老龄对照组比较,其外周血LPO浓度有所变化,但SOD无变化。

表2 对老龄鼠LPO、SOD含量的影响

组别	剂量(g/Kg)	LPO (nmol/ml)	SOD (ng/ml) ($\bar{x} \pm s$)
成年对照		0.42 \pm 0.03	287.32 \pm 107.83
老年对照		1.28 \pm 0.12 $\Delta\Delta\Delta$	174.55 \pm 82.31 $\Delta\Delta\Delta$
补肾大组	26.25	1.17 \pm 0.13	204.74 \pm 78.42*
补肾中组	11.25	0.82 \pm 0.09**	240.38 \pm 95.94**
补肾小组	3.75	0.93 \pm 0.10*	191.36 \pm 80.40*
Hydregin	1.5mg	1.22 \pm 0.08	193.52 \pm 74.75*

3 讨论

中医对衰老的治疗常用补肾的方法,主要是因其“藏精,生髓通于脑”之故,我们用补肾益阴的桑椹、枸杞,佐以生精养髓的鹿茸等组方,旨在通过补肾填精的方法,达到延缓衰老的目的;在临床中以此方对老年性痴呆肾虚证型的观察表明,对改善其临床症状有较明确的疗效。我们用此方对延缓衰老进行了多方面的实验研究,其中在对脑细胞脂褐素、外周血SOD、LPO的实验观察中发现,该处方能使老龄鼠血中SOD的含量增加,这就增加了体内对自由基的清除作用,使体内自由基的含量和活性降低,表现在血中所产生的LPO含量减少。由于改善了血中SOD、LPO的含量,其脂褐素在脑神经细胞内的沉积也减少。由此可见该处方延缓衰老的进程之一在于增加了体内SOD的含量,降低了自由基的浓度和活性,减少了LPO的形成,减轻了脂褐素在脑神经细胞内的沉积,从而使脑细胞的正常生理功能得以发挥。

从实验结果中观察到,补肾大剂量组效果不及中剂量组,在该方的长期毒性试验观察时发现,大剂量组可使受试动物的肝系数增加(文章另发),表明该方在大剂量使用时可能存在一定的毒性作用,而使其疗效发生变化;这一结果从侧面也表明,用补肾的方法达延缓衰老的目的时,也必须注意用药不能过量。

(收稿:1996-03-11)