

脑力智宝对拟衰老模型小鼠的益智作用

江雪华, 李 锐, 周莉玲(广州中医药大学, 广州 510405)

关键词: 脑力智宝; D-半乳糖; 自由基; 胆碱酯酶

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)01-0053-03

人类社会年龄结构比例日趋老龄化, 老年人因神经系统结构和功能的老化, 老年性痴呆的患者日趋增多, 资料报道, 5~15% 的老年人有不同程度的痴呆症状^[1]。益智中药的研究开发, 将有助于延缓老年人生理性记忆衰退, 改善老年性痴呆。本实验观察了脑力智宝对 D-半乳糖致拟衰老模型小鼠的益智作用。

1 材料与方法

1.1 动物 NIH 小鼠, 9 月龄, 雄性, 60 只, 由广东省卫生厅实验动物场提供, NIH 小鼠, 3 月龄, 雄性, 10 只, 由广州中医药大学实

验动物中心提供。

1.2 药品与试剂 脑力智宝由龟甲、枸杞子、石菖蒲、核桃仁、益智仁、当归、远志、红花等组成, 水煎浓缩成 1g 生药/ml; D-半乳糖, 上海试剂二厂产品, 批号 970722; 甲磺酸双氢麦角毒碱片(Hydergine), 天津华津制药厂产品, 批号 981196; 丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、胆碱酯酶(AChE)、总蛋白试剂盒, 南京建成生物工程研究所产品。

1.3 仪器 直径为 30cm 的圆形有机玻璃回避反应箱, 箱底铺有铜栅, 可以连接刺激电

流,电压为 30v,箱内一角设一直径和高均为 5cm 的绝缘橡皮塞为安全区;722 光栅分光光度计,上海第三分析仪器厂产品。

1.4 分组给药 将 9 月龄小鼠按体重随机分为 6 组,即初老年组 D-半乳糖拟衰老模型组,Hydergine 组,脑力智宝低、中、高剂量组;3 月龄小鼠作为青年组。模型组和治疗组小鼠每天腹腔注射 5% D-半乳糖 0.5ml 连续 6 周^[2];青年组、初老年组腹腔注射等体积生理盐水。同时,Hydergine 组给予 Hydergine 0.6mg·kg⁻¹,脑力智宝低、中、高剂量组分别给予脑力智宝 2.4、8g·kg⁻¹,青年组、初老年组、模型组分别给予等体积的生理盐水。各组动物均按 20ml·kg⁻¹灌胃,每日 1 次。

1.5 学习记忆能力测试 6w 后,于给药 2h 后进行跳台训练,训练开始时,先将小鼠放入圆形回避反应箱内熟悉环境 2~3min,轻放于平台上,当动物从跳台上跳下四肢接触铜栅时,即给予 30v 电压刺激,记录小鼠逃避至平台上的潜伏期,并记录 5min 内的触电次数(错误次数),以此作为学习功能的评价指标。24h 后测试,将小鼠置平台上,记录其第一次跳下受电击的时间(潜伏期)及其 3min 内的触电次数(错误次数),以此作为记忆功能的评价指标。测试时,若小鼠在平台上超过 3min,其潜伏期即以 180s 计。

1.6 脑、脾、胸腺指数测定 跳台法测试结束后,小鼠称重脱椎处死,迅速取出脑、脾及胸腺称重,分别计算脑、脾及胸腺指数。

脑(脾、胸腺)指数=脑(脾、胸腺)重量(mg)/体重(g)

1.7 生化指标检测 脑组织称重后,用预冷的生理盐水制成 1:10 (W/V) 的匀浆,3000rpm 离心 10min,取上清液,用黄嘌呤氧化酶法^[3]测 SOD 活力,用硫代巴比妥酸法^[4]测 MDA 含量,用 DTNB 直接法^[5]测 GSH-Px 活力,用碱性羟胺比色法^[6]改良测 AChE 活性,并用 Lowry 法^[7]测脑匀浆中组织蛋白含量。

1.8 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,

组间比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 脑力智宝对 D-半乳糖致拟衰老模型小鼠外观及学习记忆能力的影响 结果显示,与青年组及初老年组相比,D-半乳糖组小鼠毛发枯黄、无光泽、行动迟缓、自主活动明显降低,各给药组则有明显改善。由表 1 可知,D-半乳糖模型组小鼠学习记忆能力明显下降,训练时,逃避至平台上的潜伏期延长,测试时,在平台上停留的潜伏期缩短,错误次数增多,与青年组和初老年组比较,差异显著或非常显著;各给药组均能提高模型小鼠的学习记忆能力,与 D-半乳糖组比较,差异显著或非常显著。

表 1 脑力智宝对拟衰老模型小鼠学习记忆能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	学习能力		记忆能力	
		潜伏期(s)	错误次数	潜伏期(s)	错误次数
青年组	-	17.5 ± 11.3**	3.8 ± 2.1	128.4 ± 52.0***	1.8 ± 2.0*
初老年组	-	50.9 ± 25.2*	4.5 ± 2.8	88.9 ± 32.1*	1.9 ± 0.9**
D-半乳糖	-	120.1 ± 09.8	4.6 ± 3.2	48.4 ± 34.4	5.3 ± 2.7
Hydergine	6 × 10 ⁻⁴	59.6 ± 47.1	4.5 ± 2.1	80.8 ± 51.2*	2.4 ± 1.8*
脑力智宝	2	36.8 ± 20.5*	3.3 ± 1.7	98.0 ± 67.0*	1.7 ± 1.8*
脑力智宝	4	36.9 ± 25.0*	3.3 ± 2.2	117.8 ± 65.7**	1.4 ± 1.7**
脑力智宝	8	29.7 ± 15.8**	3.7 ± 2.6	108.9 ± 66.1**	1.4 ± 1.5**

注:与 D-半乳糖组比较* *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, *** *P* < 0.001; 以下表同

2.2 脑力智宝对 D-半乳糖致拟衰老模型小鼠脑、脾及胸腺指数的影响 由表 2 可知,与青年组及初老年组相比,D-半乳糖组小鼠脑、脾及胸腺指数明显下降,各给药组则有不同程度回升。

2.3 脑力智宝对 D-半乳糖致拟衰老模型小鼠脑组织中 MDA 含量、SOD、GSH-Px、AChE 活性的影响 由表 3 可知,与青年组及初老年组相比,D-半乳糖组小鼠脑组织中 MDA 含量明显升高,SOD、GSH-Px 活力明显下降,AChE 活性明显升高,差异显著或非常显著;各给药组均可降低脑组织中 MDA 含量,提高 SOD 及 GSH-Px 活力,并降低 AChE 活性,差异显著或非常显著。

表2 脑力智宝对模型小鼠脑、脾脏及胸腺指数的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	Dose ($g \cdot kg^{-1}$)	脏器指数(mg/g 体重)		
		脑	脾	胸腺
青年组	—	13.5 ± 1.6***	5.2 ± 1.2*	1.8 ± 0.6***
初老年组	—	12.1 ± 1.2*	5.1 ± 1.9	1.4 ± 0.8*
D-半乳糖组	—	10.4 ± 1.2	4.0 ± 1.3	0.8 ± 0.4
Hyderygine 组	6×10^{-4}	12.0 ± 1.0*	5.4 ± 1.7*	1.0 ± 0.1
脑力智宝	2	11.9 ± 1.0	4.2 ± 0.8	1.2 ± 0.6
脑力智宝	4	12.2 ± 1.3*	5.2 ± 1.1*	1.3 ± 0.7
脑力智宝	8	11.8 ± 0.6*	5.3 ± 1.5*	1.3 ± 0.3**

表3 脑力智宝对拟衰老模型小鼠脑内MDA含量、SOD、GSH-Px及AChE活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	Dose (g/kg^{-1})	MDA (nmol/mg)	SOD (nU/mg)	GSH-Px (U/mg)	AChE (U/mg)
青年组	—	6.9 ± 0.6	6.2 ± 0.2	3.7 ± 1.2**	1.5 ± 1.0**
初老年组	—	7.1 ± 0.1	6.2 ± 0.2	3.0 ± 0.4	2.4 ± 0.6
D-半乳糖	—	7.4 ± 1.2	6.1 ± 0.2	2.4 ± 0.8	3.1 ± 1.1
Hyderygine	6×10^{-4}	5.5 ± 0.8**	6.5 ± 0.2**	3.3 ± 0.7*	2.0 ± 0.7*
脑力智宝	2	4.1 ± 0.0**	6.6 ± 0.2**	3.6 ± 0.8**	1.8 ± 0.6*
脑力智宝	4	3.6 ± 1.2**	6.9 ± 0.3**	4.2 ± 1.0**	1.6 ± 0.7*
脑力智宝	8	2.8 ± 1.3**	6.9 ± 0.4**	4.3 ± 0.8**	1.9 ± 0.5*

3 讨论

D-半乳糖亚急性中毒状态下,体内产生大量超氧阴离子自由基,对组织产生过氧化损害.这种生化和组织结构的变化与自然衰老表现基本吻合,同时实验表明,在D-半乳糖亚急性中毒状态下,动物的学习记忆行为受到明显损害,具有类似衰老的学习记忆障碍特征^[8]。

实验结果表明脑力智宝能明显改善D-半乳糖致拟衰老模型小鼠的学习记忆能力,

提示脑力智宝可通过增强机体免疫能力,提高抗氧化酶活性,清除自由基,减少过氧化脂质产物,抑制AChE活性,减少ACh分解,提高脑内ACh水平,从而发挥改善学习记忆能力等脑功能的作用。

参考文献:

- [1] 周志宽. 益智中药的现状和开发[J]. 中国中医药信息杂志, 1995, 2(2): 18
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 937~ 939
- [3] Mizuno Y. Changes in Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activities and Thiobarbituric Acid Reactive Product Levels in Early Stages of Development in Dystrophic Chickens[J]. *Exp Neurol*, 1984, 84(1): 58
- [4] Ohkawa H. Assay for Lipid Peroxide in Animal Tissue by Thiobarbituric Acid Reaction[J]. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351
- [5] 夏奕明, 朱莲珍. 血和组织中谷胱甘肽过氧化酶活力的测定方法 I. DTNB 直接法[J]. 卫生研究, 1987, 16(4): 29
- [6] 李凤珍, 孙曼霁. 微量羟胺比色法测量胆碱酯酶活性[J]. 军事医学科学院院刊, 1988, 10(3): 211
- [7] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent [J]. *J Biol Chem*, 1951, 193: 265
- [8] 张熙, 张葆樽, 杨新平, 等. D-半乳糖诱导拟衰老动物模型的记忆行为改变[J]. 中国老年学杂志, 1996, 16(4): 230

(收稿日期: 1999-05-31)