

化痰开窍方对 D-半乳糖大鼠衰老模型 自由基的影响

皮明钧 陈北阳 吴润秋 邓常青 文彬 汤淑兰
(湖南中医学院 长沙 410007)

随着年龄的增加,机体各脏腑功能衰退,导致痰饮瘀血等病理产物在体内积聚,可加速衰老进程并导致一系列老年病的发生。因此,采用化痰、活血等治法可通过清除体内的代谢产物而延缓衰老^[1]。自由基是导致机体衰老的重要物质^[2],D-半乳糖可以促进自由基的产生,增强氧化作用,从而引起类似于衰老的变化^[3,4]。因此,本文采用大鼠 D-半乳糖模型研究了化痰开窍方对自由基体系有关指标的影响。

1 材料与方法

1.1 药物 该方由法半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 9g, 石菖蒲 *Acorus gramineus* Soland. 10g, 郁金 *Curcuma aromatica* Salisb. 10g, 陈皮 *Citrus reticulata*

Blanco. 9g, 茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf. 15g, 枳壳 *Citrus aurantium* L. 10g, 竹茹 *Phyllostachys nigra* (Lodd.) Munro var. *henonis* (Mitf.) Stapf et Rendle. 10g, 炙甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 6g 组成。药物由本院专家门诊部 1 次性购齐,由湖南中医学院第一附属医院主管药师吴玲玲鉴定。按常规方法浸泡,煎煮 3 次,合并药液过滤,浓缩药液至生药含量为 1g/ml 和 2g/ml,冷藏备用。

1.2 实验方法 参照谭子虎等造模方法^[3]。体重 130~180g 的 SD 大鼠,雌雄兼用,由湖南省医药工业研究所动物室提供。动物随机分为正常对照组(简称正常组),D-半乳糖模型对照组(简称模型组)、维生素 E 对照组

(简称 VitE 组),化痰开窍方等效剂量组(简称化 I 组)和化痰开窍方二倍等效剂量组(简称化 II 组)。各组动物在实验前禁食 12h 后进行实验。除正常组外,其余各组每日皮下注射 0.48%D-半乳糖 48mg/kg,同时模型组灌胃蒸馏水 10ml/kg。VitE 组灌胃 VitE 油剂(上海第九制药厂出品,批号 961101)141mg/kg。化 I 组灌胃 1%化痰开窍方 10g/kg。化 II 组灌胃 2%化痰开窍方 20g/kg。给药体积与模型组相同。正常组每日皮下注射等量生理盐水,并灌胃等量蒸馏水。连续 40d 后,于第 41d 处死动物,立即取血和脑皮质,血液按常规方法分离血清或溶血后测定各指标,脑皮质以 0.1M pH7.4 的磷酸盐缓冲液在冰浴下制成匀浆后待测。血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性和脑匀浆液 SOD 活性按黄嘌呤氧化酶法测定,血清过氧化脂质产物丙二醛(MDA)和脑匀浆 MDA 含量按硫代巴比妥酸法,以上测定药盒由南京建成生物工程研究所提供。全血谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和脑匀浆 GSH-Px 活性按 DTNB 法^[5]。脑匀浆液蛋白定量采用考马斯亮兰法。

1.3 统计分析 所有数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。各组数据方差齐者采用方差分析和 q 检验,方差不齐则用秩和检验进行比较。

2 结果

2.1 对血清 T-SOD 活性和脑 SOD 活性的影响 见表 1。模型组血清 T-SOD 活性明显低于正常组。其它各组血清 T-SOD 活性虽

表 1 血清 T-SOD 和脑 SOD 活性的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	T-SOD (nU/ml)	脑 SOD (nU/mg · pr)
正常组	—	10	95.18±10.55	6.04±0.79
模型组	—	13	78.48±23.33*	5.09±0.78**
VitE 组	0.141	10	80.01±21.68	5.62±0.62
化 I 组	10	12	87.90±14.60	6.21±0.54 ^{ΔΔ}
化 II 组	20	9	84.35±12.26	5.83±0.89

注:与正常组比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较 ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$,下表同

高于模型组,差异均无显著性意义。模型组脑匀浆 SOD 活性明显低于正常组。其它各组下降幅度均小于模型组,化 I 组脑匀浆 SOD 活性明显高于模型组甚至高于正常组。

2.2 对血清和脑匀浆 MDA 含量的影响 见表 2。模型组血清 MDA 含量显著高于正常组。而 VitE 组、化 I 组和化 II 组均显著低于模型组而与正常组相近。3 组相比差异无显著性意义。模型组脑匀浆 MDA 含量显著高于正常组。VitE 组显著低于模型组和正常组。化 I 组也明显低于模型组。

表 2 各组血清和脑匀浆 MDA 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	血清 MDA (nmol/ml)	n	脑 MDA (nmol/mg · pr)
正常组	—	9	8.74±3.18	10	5.20±0.95
模型组	—	12	12.11±3.40*	12	6.33±1.63*
VitE 组	0.141	10	7.89±3.33 ^{ΔΔ}	9	2.30±0.84** ^{ΔΔ}
化 I 组	10	12	8.88±3.31 ^Δ	12	5.16±1.08 ^Δ
化 II 组	20	9	8.34±2.18 ^{ΔΔ}	9	5.65±1.23

2.3 对全血和脑匀浆 GSH-Px 活性的影响 见表 3。全血 GSH-Px 活性各组相比差异均无显著性意义。模型组脑匀浆 GSH-Px 活性与正常组相比,差异无显著性意义。化 II 组脑匀浆 GSH-Px 活性高于模型组。

表 3 各组全血和脑匀浆 GSH-Px 活性的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	血 GSH-Px (U/8μl 血)	n	脑 GSH-Px (u/mg · pr)
正常组	—	10	17.15±3.26	10	7.25±1.43
模型组	—	11	17.61±3.23	13	7.33±1.04
VitE 组	0.141	9	19.24±4.09	9	10.80±5.23
化 I 组	10	12	19.12±3.65	12	9.68±4.13
化 II 组	20	9	20.08±4.74	9	8.57±1.24 ^Δ

3 讨论

自由基在衰老的发生发展过程中具有重要的作用。研究表明,随着增龄的变化,体内产生的氧自由基增加^[6]。自由基可与细胞生物膜的脂质、蛋白质和核酸等发生交联反应,从而损伤组织细胞,导致细胞死亡^[7];同时体内清除自由基的酶系统如 SOD、GSH-Px 等活性均降低,故测定自由基产物及相关酶的变化可反映机体的衰老程度,(下转第 65 页)

(上接第 50 页)

对抗自由基的损害作用可延缓衰老的发展^[8]。本文结果也表明,注射 D-半乳糖后,血清和脑组织 MDA 含量显著升高,脑组织 SOD 活性降低。表明该法造模是成功的。化痰开窍方可显著抑制血清和脑 MDA 含量的升高,提高脑组织 SOD 活性,并且还可提高脑组织 GSH-Px 活性。VitE 也可明显抑制 D-半乳糖所致的血清和脑组织 MDA 含量的升高,尤其是脑组织 MDA 含量下降幅度更大,表明 VitE 抑制脂质过氧化的作用强于化痰开窍方。此外,VitE 也可升高脑组织 GSH-Px 活性。以上研究表明,化痰开窍方具有较好的抗自由基作用,这为该法抗衰老作用的研究提供了实验基础。

参考文献

1 杜怀棠,周丽珍.近十年中医衰老学说研究述评.

北京中医药大学学报,1996,18(12):2

- 2 曾昭惠,张宗玉.自由基对线粒体 DNA 的氧化损伤与衰老.生物化学与生物物理进展,1996,22(5):429
- 3 谭子虎,吕维端,朱明方.加减薯蓣丸对 D-半乳糖衰老作用的影响.中华老年医学杂志,1995,14(5):268
- 4 李端,徐翔,李丹,等.水解珍珠粉对 D-半乳糖或臭氧所致衰老模型小鼠的抗氧化作用.中药药理与临床,1996,12(5):32
- 5 李仪奎.中药药理实验方法学.上海:上海科学技术出版社,1991.208
- 6 李鸿香.对衰老机理及抗衰老问题的探讨.天津药学,1996,8(4):3
- 7 惠安襄,赵小宁,金明,等.自由基与细胞凋亡.生物化学与生物物理进展,1997,23(1):12
- 8 薛文隽,吴国忠.活血化痰中药抗衰老作用的现代药理学研究进展.中医药研究,1998,14(1):53

(收稿:1998-10-05)