

中药 PT 液对衰老小鼠谷胱甘肽、免疫功能及元素的影响

李笑萍 喻培先 赵冬 姚建华(武汉 430080 武汉科技大医学院药理教研室)

摘要 目的:观察 PT 液对脑老化指标变化。方法:用 D-半乳糖制造小鼠衰老模型同时服用 PT 液观察脑组织中 GSH 总抗氧化能力、MDA 及 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、胸腺、子宫重量变化。结果:PT 液能增加脑组织中 GSH 含量,降低 MDA 生成($P < 0.05$),脑组织中 Ca^{2+} 含量下降,Zn/Cu 比值上升($P < 0.01$),小鼠胸腺重量增加近 2-3 倍($P < 0.01$),红细胞、脑组织蛋白量也随着药浓增加而增加,子宫重量恢复正常。结论:PT 提取液能增加脑组织抗氧化能力,通过降低 Ca^{2+} 、Zn/Cu 比值,提高机体免疫功能及恢复性腺水平而产生抗衰老作用。

关键词 中药提取物;D-半乳糖;抗衰老

The influence of PT in traditional Chinese medicine to GSH, immunity function and element in aged little mouse

Li xiaoping, Yu Peixiang, yao gianha, Zao dong (the Wuhan big medicine reason of science and technology of college of medicine teaching and research section 430080)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To observe the influence of PT extract to brain aging index. **METHOD:**Use D-half production of milk sugar little mouse aged model at the same time take PT liquid observation brain organization in GSH fight oxidize ability, MDA and always Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} ion, chest gland, womb weight change. **RESULTS:**PT extract can increase brain tissue in GSH content and reduce the production of MDA ($P < 0.05$), the Ca^{2+} content brain is reduced, the ratio of Zn/Cu increases ($P < 0.01$), mouse chest gland weight increases 2-3 near times ($P < 0.01$). The protein content in red blood cell and brain increase as drug concentration womb weight returns to normal. **CONCLUSION:**PT extract will increase anti-oxidize ability of brain by reducing Ca^{2+} concentration and the ratio of Zn/Cu, improving organism immunity function and recovering the level of sexual gland.

KEY WORDS Traditional Chinese medicine, D-half milk sugar, antiaging

脑老化是临床上常见的衰老症状,寻找预防、延缓衰老的药物是十分迫切的课题。现代研究:机体衰老时,体内多种酶活性下降,胞内 Ca^{2+} 增加,引起 Ca^{2+} 超载,细胞受损^[1]。PT 是传统抗衰老药物,长期补充是否能延缓脑老化,起保护作用,还影响机体哪些功能,是我们本次实验需要研究的问题。

1 材料与方法

1.1 实验药品

D-半乳糖,上海伯奥生物科技有限公司;PT 提取物:由蚕砂、枸杞、当归、党参、人参、分心木、白芍等十多味中药组成,经 70%乙醇提取 2 次后再用水提取 2 次,分别回收、浓缩,4℃放置,除去沉淀。合并提取液进一步浓缩,制成含 30g/100 ml 生药的提取液。谷胱甘肽试剂盒、总抗氧化能力试剂盒、丙二醛试剂盒、蛋白试剂盒,由南京建成生物试剂有限公司提供。

1.2 检测仪器

PRO STD 型全自动生化分析仪(芬兰康艺公司);3200 型原子分光光度计(上海分析仪器三厂);752 型紫外分光光度计(上海分析仪器三厂);F820 型血细胞自动分析仪(日本东亚医用电子)。

2 实验动物与方法

2.1 实验分组与给药

健康昆明小白鼠 40 只,♀ 体重 25-30g,由湖北省动物实验中心提供。随机分成 A、B、C、D 4 组,每组 10 只。A 组: D-半乳糖 $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,颈部 Sc 注射,灌胃 $0.5 \text{ ml} \cdot \text{d}^{-1}$ 生理盐水。B、C 组:除颈部注射同等剂量 D-半乳糖外,同时 PT 液 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。D 组:对照组,颈部注射等量生理盐水,灌胃等量生理盐水。连续给药 8 周。

2.2 组织取材与测定

2.2.1 实验结束后,小鼠断颈处死,采集血液 1 ml,将血液分离成血清及血细胞;并迅速取出脑组织、胸腺、子宫称重;将脑组织洗涤后称重,加 9 倍量生理盐水制成 10%组织匀浆低温保存。测定时按试剂盒要求,方法分别处理、测定。

2.2.2 血细胞:分离红细胞,全自动生化分析仪测定红细胞数。血浆:3000/min 离心,测血浆蛋白质含量。10%脑组织匀浆:测定组织酶、氧化指标。匀浆 1 ml 加等量高氯酸-浓盐酸(1:1)硝化,用原子吸收光谱法测定 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 含量, Ca^{2+} 加 0.2%氯化锶作为释放剂,分别在最佳分析条件下测定。

2.2.3 数据经 SAS 进行方差分析,SNK 比较。

3 实验结果

3.1 PT液对衰老小鼠脑组织中 GSH 总抗氧化能力的影响

实验观察到 PT 提取液能增加衰老小鼠的谷胱甘肽 (GSH) 水平,高剂量降低丙二醛 (MDA) 水平,升高总抗氧化能力,SOD 无影响。见表 1。

表 1 PT 对衰老小鼠脑谷胱甘肽 总氧化能力的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	数量 (只)	GSH (mg prot)	总抗氧化 (单位/毫克蛋白)	MDA (nmol/ ml)
模型组	10	4.643 ± 0.340	0.156 ± 0.031	5.535 ± 0.093
低剂组	10	6.369 ± 0.158 ^{**}	0.106 ± 0.013	5.241 ± 0.820
高剂组	10	6.865 ± 0.123 ^{**}	0.165 ± 0.005 [△]	4.643 ± 0.924 [*]
正常组	10	8.470 ± 0.309	0.123 ± 0.003	4.480 ± 0.169

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ [△] $P < 0.05$

3.2 PT 液对衰老小鼠脑组织元素的影响

实验观察到用药组与模型组比较,脑组织中 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 水平下降($P < 0.01$), Fe^{2+} 水平上升($P < 0.01$),并可提高 Zn/ Cu 比值。见表 2 3

表 2 PT 对衰老小鼠脑组织元素的影响($\bar{x} \pm s$) ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

元素	正常组	衰老模型组	低剂量组	高剂量组
Ca^{2+}	0.90 ± 0.11	1.31 ± 0.40	0.87 ± 0.21 ^{**}	1.11 ± 0.36 [*]
Mg^{2+}	4.77 ± 0.14	5.80 ± 0.18	5.01 ± 0.34 [*]	5.16 ± 0.25
Zn^{2+}	0.52 ± 0.04	0.76 ± 0.08	0.53 ± 0.07 [*]	0.53 ± 0.03 [*]
Cu^{2+}	0.046 ± 0.02	0.324 ± 0.05	0.114 ± 0.02 ^{**}	0.088 ± 0.01 ^{**}
Fe^{2+}	5.90 ± 0.47	0.324 ± 0.05	6.56 ± 0.84 [*]	7.24 ± 0.11 ^{**}

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.001$

表 4 PT 对衰老小鼠的组织 and 细胞作用($\bar{x} \pm s$)

组别	动物 (只)	胸腺重量 (mg)	子宫重量 (mg)	RBC ($10^{12}/\text{L}$)	脑蛋白含量 (mg/ ml)
模型组	10	26.33 ± 6.2	101.21	5.72 ± 0.12	18.53 ± 0.37
低剂组	10	64.66 ± 9.4 ^{**}	56.50 ± 16 ^{△△}	7.47 ± 0.93 ^{**}	19.03 ± 0.41 [*]
高剂组	10	73.50 ± 13.1 ^{**}	62.12 ± 19 ^{△△}	7.97 ± 0.81 ^{**}	19.06 ± 0.55 [*]
正常组	10	63.80 ± 11.0	60.11 ± 13 ^{△△}	7.19 ± 0.70	18.821 ± 0.47

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{△△} $P < 0.01$

4.2 D 半乳糖所造成的亚急性衰老模型使小鼠抗氧化能力 SOD 水平下降,MDA 升高^[6],主要是增加自由基的损伤有关,本次实验 PT 液可对抗自由基的损伤使谷胱甘肽 (GSH) 水平增加($P < 0.05$),高剂量时使 MDA 水平下降($P < 0.05$),表示可降低机体对自由基损伤,脂质过氧化程度,对机体的保护作用。但对总抗氧化能力,对 SOD 影响不大。说明 PT 液对抗亚急性衰老的自由基损伤作用有一定限度的。

4.3 D 半乳糖造成的亚急性衰老模型组产生小鼠胸腺萎缩,与机体随年龄增加胸腺萎缩是一致的,表示该模型可观察衰老的多种指标。服用 PT 液后可非常显著的预防胸腺的萎缩,同时调整衰老小鼠子宫的重量,使其恢复到正常水平,提示 PT 液有保护和促进衰老鼠机体免疫功能。维持正常性腺水平。以上结果表明:中药 PT 提取液可降低脑组织 Ca^{2+} 水平减缓 Ca^{2+} 超载;降低 Zn/ Cu 比值;减少机体对自由基、

表 3 PT 对衰老小鼠脑 Zn/ Cu 比值的调节作用

组 别	n	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Zn/ Cu 比值
衰老组	10	0.76 ± 0.08	0.324 ± 0.05	2.34 ± 0.42
低剂量组	10	0.53 ± 0.07 [*]	0.114 ± 0.02 ^{**}	4.65 ± 0.30 ^{**}
高剂量组	10	0.52 ± 0.03 [*]	0.088 ± 0.01 ^{**}	6.02 ± 0.22 ^{**}
正常组	10	0.52 ± 0.04	0.046 ± 0.02	11.30 ± 0.080

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.001$

3.3 PT 液对衰老小鼠的组织及细胞的作用

PT 组能增加衰老小鼠的胸腺重量,为衰老模型组的 3 - 4 倍,并高于正常组的胸腺水平,提示可大大提高小鼠的免疫功能,随着用药量增加,红细胞水平增加有显著性差异($P < 0.01$),脑蛋白含量有所增加($P < 0.05$)。结果见表 4

4 讨论

4.1 近年研究证明:机体细胞损伤及衰老、死亡与胞内 Ca^{2+} 超载有关,导致老年性疾病及衰老^[1-3]。降低组织 Ca^{2+} 水平、Zn/ Cu 比值和增加 Ca^{2+} -ATP 酶活性能延缓衰老^[4-5]。本次研究结果发现,补充 PT 提取液的脑组织中 Ca^{2+} 含量下降,显示中药提取液能够调节脑组织 Ca^{2+} 稳态水平,防止衰老引起的 Ca^{2+} 超载,可能与激活 Ca^{2+} -ATP 酶、 Na^{+} -ATP 酶活性有关,该酶通过 Ca^{2+} 泵, Na^{+} - Ca^{2+} 调节细胞内 Ca^{2+} ,从而减轻胞内 Ca^{2+} 超载引起的细胞损伤及死亡(研究结果待发表),预防延缓衰老过程。实验观察到 PT 液可使脑组织中 Zn/ Cu 比值大幅度下降,是大多数抗衰老中药共同作用之一。

脂质过氧化物等损伤,提高机体免疫功能,调节性腺而产生多种抗衰老作用,特别对脑老化具有保护、延缓其衰老作用。

参考文献

- 1 Sower JR . Am J Hypertens , 1997 ; 29 : 691 .
- 2 冯征,张均田.中枢神经系统钙稳态失调和老龄脑功能.生理科学进展,2000,2(31):102.
- 3 梁晚益,杨宗诚,黄跃生.线粒体 Ca^{2+} 转运与细胞代谢调节.生理科学进展,2000,4(31):357.
- 4 良怡,邹寿彬,康华光.线粒体和细胞内钙自稳平衡.生物化学与生物物理进展,2000,27(5):483.
- 5 苗键,高琦,许思来.微量元素与相关疾病.河南医科大学出版社,1998:94~95.
- 6 温宝书,张敏,白生华.钙拮抗剂延缓衰老的作用.中国药理学杂志,1998,33(5):265.

收稿日期:2001 - 02 - 26