

补肾抗衰老延缓衰老作用的实验研究

吕胜启 詹炳炎 王玲珑 张孝斌 金化氏(武汉 430060 湖北医科大学附一院泌尿外科)

摘要 目的:了解新研制中药合剂对衰老过程的影响。方法:给不同处理组大鼠口服补肾抗衰老一月后,测定 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和血浆丙二醛含量。结果:雄性大鼠无论是否去势,其红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性明显高于对照组($P < 0.05$),同时血浆丙二醛含量则明显低于对照组($P < 0.05$)。结论:补肾抗衰老能促进机体内自由基的清除,并提高红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性。

关键词 补肾抗衰老;延缓衰老; $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶;丙二醛

A Experimental study of BSKSL on delaying senescence in male rats

Lu Shengqi *et al* (Dept. of Urology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To know the effect of a new herb medicine, BSKSL, on edlaying senescent process. **METHOD:** The animals were divided into 5 groups which were treated differently. After BSKSL was given orally for 1 month, the activity of $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ ase in RBC membrane and the plasma level of MDA were determined. **RESULTS:** The activity of $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ ase in RBC membrane of rats wheater castrated or not was much higher than the contrast groups ($P < 0.05$), but the level of MDA was much lower ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** BSKSL can promote the elimination of free radical in the living things and raising the activity of $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ ase in RBC membrane.

KEY WORDS BSKSL, delaying senescence, $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ ase, MDA

许多中药均具有延年益寿的功效,就其机理来说各不相同,也众说不一。从生物化学观点来分析,生命的物质基础是新陈代谢。如果代谢途径和细胞物质的更新发生衰退性变化,最后会导致细胞、组织器官及整个机体的形态和功能衰老。酶和激素是控制代谢的重要因素,酶和激素的合成和功能受限,都会引起代谢失调,从而影响细胞的结构和功能,导致细胞和机体的衰老。近代研究认为衰老与自由基引起生物膜的脂类过氧化,导致膜结构损伤和功能失调具有密切关系。本文新研制一种中药合剂-补肾抗衰老,喂服雄性大鼠一月后,处死,采血,测定红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和血浆中 MDA 含量,以期了解此中药合剂是否具有抗衰老的作用。

1 材料与方法

1.1 中药配制

1.1.1 中药方剂:选用淫羊藿、蛇床子、五味子、补骨脂和菟丝子等中药联合组方,此方设计通过了专家评审认可。

1.1.2 中药合剂制备

按方称取中药,加 7 倍蒸馏水浸泡 1h,煮沸 30min,过滤,将药渣加 5 倍水再煮沸 30min,过滤;合并两次滤液,使最终含生药浓度为 5%,即为实验用制剂。

1.2 动物及分组

雄性 SD 大鼠共 50 只,月龄为 2 月,由湖北医科大学动物中心提供。按体重随机分成 5 组:去势组(C 组);去势+

服中药组(CC 组),去势+口服甲基睾丸素+HCG 皮下注射组(CM 组),正常对照组(N 组)和正常大鼠+口服中药组(NC 组)。去势大鼠均在 6 周龄时施行双侧睾丸切除。(见表 1)

表 1 实验动物分组及处理

组别	例数	处 理
C 组	10	去势+普通饲养
CC 组	10	去势+灌服中药 100ml/kg/d
CM 组	10	去势+灌服甲睾素 5mg/kg/d+HCG 50u/kg/d 皮下注射 Qod
N 组	10	正常大鼠+普通饲养
NC 组	10	正常大鼠+灌服中药 100ml/kg/d

各组大鼠均在服药一月后处死,留取血标本,进行测定。

1.3 红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性测定:

将底物 ATP 和酶制备加入在含有 Na^+ 、 K^+ 和 mg^{++} 的反应液中,在 37℃ 温浴一定时间,ATP 被酶分解为 ADP 和 pi,通过测定释放出的 pi 量,从而得出 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的活性^[1]。

1.4 血浆丙二醛(MDA)测定:

一分子丙二醛(MDA)与二分子 TBA 缩合成一个呈色复合物,吸收峰在 533nm。通过测定 OD 值,则能测出 MDA 的含量^[2]。

2 结果

2.1 红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性:

去睾后服中药组大鼠红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性为 53.07 ± 13.74 , 明显高于去睾后不服药组; 两组比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 2

表 2 不同处理组 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性

组别	例数	酶活性($\mu\text{mol Pi}/\text{mg Protein} \cdot \text{h}^{-1}$)
C 组	10	38.99 ± 7.47
CC 组	10	53.07 ± 13.74
CM 组	10	53.82 ± 15.69
N 组	10	74.68 ± 7.97
NC 组	10	92.32 ± 22.73

2.2 血浆丙二醛(MDA)含量:

去睾后大鼠服中药一月, 其血浆中 MDA 含量为 $7.71 \pm 3.07 \text{ nmol/ml}$, 明显低于去睾后不服中药组 ($P < 0.05$), 且接近正常大鼠水平(正常对照组血浆 MDA 含量为 $7.28 \pm 3.17 \text{ nmol/ml}$)。正常大鼠服中药后其血浆 MDA 含量亦明显低于正常对照组 ($P < 0.05$)。但去睾后服甲睾素 + HCG 皮下注射组无明显降低血浆 MDA 作用 ($P < 0.05$)。

表 3 不同处理组大鼠血浆 MDA 含量

组别	例数	MDA(nmol/ml)
C 组	10	12.35 ± 3.18
CC 组	10	7.71 ± 3.07
CM 组	10	10.02 ± 3.28
N 组	10	7.28 ± 3.17
NC 组	10	4.73 ± 1.65

3 讨论

3.1 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶与衰老:

$\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶广泛存在于生物体内, 是体内新陈代谢重要酶类, 它为生命活动提供能源物质。其功能包括: 主动转运、维持生命活动和细胞代谢, 进行能量转换和信息传递等。生物衰老过程中必然伴随机体各种生理生化反应的变化。ATP 是机体许多组织和细胞能量储存形式。ATP 酶能催化 ATP 分解, 释放能量供机体组织细胞进行各种生理活动。如果 ATP 酶活性降低, 必然会影响机体某些代谢的主动供能过程, 使细胞代谢发生障碍, 最终会导致细胞的衰退。

近年来研究表明: 体内某些脏器的 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性随年龄增长而降低。张宗玉^[3]等报道小鼠 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性随增龄发生有规律的变化, 14 月龄前呈直线上升, 18 月龄时急剧下降, 提示此酶与生物衰老过程密切相关。陶国枢^[4]等, 发现人 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性随增龄而递减, 从而认为 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性是反映机体早期功能衰退的一项极为敏感的指标。

本文通过研制一种新的中药制剂, 以 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ -$

ATP 酶活性作为观察指标, 发现此中药合剂不论对去睾或正常大鼠均具有提高 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性作用, 从而提示具有延缓衰老的作用。

3.2 过氧化脂质与衰老:

有关衰老的理论很多, 但自由基学说是目前公认的重要学说之一。自由基是一种具强氧化反应的物质, 当它与膜脂质相互作用时即产生 LPO(过氧化脂质), 破坏膜结构, 使功能减退; 它还可使蛋白质形成交联多聚体, 从而失去活性, 这一系列连锁反应可导致细胞及机体的衰亡。体内自身产生或外界进入体内而转化的自由基相当多, 但并不对身体产生后果, 主要是体内存在清除自由基和抑制自由基反应的酶系统, 如 SOD、过氧化氢酶、过氧化物酶和谷胱甘肽过氧化物酶(GSHPx)等都能有效地清除自由基。

自由基在体内随增龄而增加, 但化学特性非常活泼、很不稳定、半衰期极短, 不易直接测定。为了解自由基产生及清除的平衡关系, 多采用测定 SOD 或 LPO 来判断衰老状态。资料显示: SOD 随增龄而下降、而 LPO 随增龄而上升。因而提示 SOD 和 LPO 可作为研究机体衰老的指标之一。

本文通过给雄性大鼠灌服中药一月后, 测定血浆中 MDA 含量, 来反映机体中 LPO 浓度, 表明: 服中药组大鼠, 不论是否去睾, 其血浆 MDA 含量明显低于不服中药组, 提示此中药能清除机体内自由基, 具有抗衰老效应。

3.3 补肾抗衰老的延缓衰老效应

本文研制的中药合剂中有多味中药具补益气血, 提高机体免疫功能的作用。本文从分子生物学角度, 挑选 RBC 膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和血浆 MDA 二项指标来研究该中药制剂的抗衰老作用, 证实此中药合剂具有延缓衰老功能, 并可推测抗衰老作用与提高机体红细胞膜 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和清除机体自由基有关。

参考文献

- 1 Muszbek L, Bernardi M, Findley JC, *et al.* A highly sensitive method for the measurement of ATPase activity. *Anal biochem* 1997, 77: 286.
- 2 Ohkawa H, Ahmed SR, Wernse E, *et al.* Assay for lipid Peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979, 95: 351.
- 3 张宗玉, 陈林, 许敏等. 小鼠红细胞膜与大脑细胞 $\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性随年龄的改变. *中华老年医学杂志*, 1988, 7: 113.
- 4 陶国枢, 方清之, 李文等. 四项衰老指标的探讨. *中华老年医学杂志*, 1988, 7: 167.

收稿日期: 2000-10-23