

D-半乳糖衰老模型观察的新指标

李笑萍, 喻培先, 赵冬 (武汉科技大学医学院药理教研室, 湖北 武汉 430080)

摘要:目的 观察 D-半乳糖衰老模型与正常小鼠之间衰老指标的差别。方法 采用 D-半乳糖 sc 造成衰老小鼠模型, 测定脑组织 Ca^{2+} 含量、 Ca^{2+} -ATP 酶(钙泵)、 Na^{+} -ATP 酶(钠泵)、NO 和 AngII 胰岛素(ISN) 活性。结果 D-半乳糖衰老模型小鼠与对照组比较脑组织 Ca^{2+} 含量($P < 0.01$)、NO 水平($P < 0.05$) 明显增加; Ca^{2+} -ATP 酶、 Na^{+} -ATP 酶活性下降($P < 0.01$), 胰岛素、AngII 水平明显下降($P < 0.01$), $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$ 比值有显著性差异。结论 D-半乳糖衰老模型小鼠与正常小鼠之间在组织 Ca^{2+} 含量、 Ca^{2+} -ATP 酶(钙泵)、 Na^{+} -ATP 酶(钠泵)、NO、AngII 和胰岛素活性有显著性差异, $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$ 比值下降, 可作为抗衰老药物研究的模型。

关键词: D-半乳糖衰老模型; Ca^{2+} 、钙泵、钠泵、NO; AngII; 胰岛素

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2004)06-0442-03

New indices in tissue of senile model

LI Xiaoping, YU Peixian, ZHAO Dong (The Department of Pharmacology, Wuhan Sci-Tech University, Wuhan 430080, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To study the indices difference of senile mouse model induced by D-galactose and normal mouse. **METHOD** Senile mouse model was induced by injecting subcutaneously D-galactose. The content of Ca^{2+} , Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, Na^{+} - K^{+} -ATPase, NO, AngII and insulin(ISN) in brain were determined. **RESULTS** Compared with the normal, the content of Ca^{2+} and NO in brain were increased ($P < 0.05$; $P < 0.01$) and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, Na^{+} - K^{+} -ATPase, AngII and ISN were decreased($P < 0.01$) in senile mouse model. And there existed obvious difference in the ratio of $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$ and immunologic function. **CONCLUSION** There existed obvious difference in the content of Ca^{2+} , Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, Na^{+} - K^{+} -ATPase, NO, AngII and insulin(ISN) in brain and the ratio of $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$, immunologic function between the senile mouse model and normal. These indices can be new indices in tissue of senile model.

KEY WORDS: Senile model induced by D-Galactose; Ca^{2+} , Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase, Na^{+} - K^{+} -ATPase; NO; AngII; insulin (ISN)

近年研究发现 Ca^{2+} 超载是许多老年性疾病产生的细胞学基础, 提出衰老与胞内 Ca^{2+} 调节失平衡有关^[1], 并从降低胞内 Ca^{2+} 的思路, 提出钙拮抗剂、补钙不同角度进行抗衰老研究^[2,3]。作者在研究抗衰老药物时采用了 D-半乳糖造成的亚急性衰老模型, 观察了新的指标, 模拟出类似老年性疾病中 Ca^{2+} 超载及 Ca^{2+} 泵、 Na^{+} 泵活性下降现象, 并比较了组织中 NO、AngII、胰岛素改变情况, 可作为抗衰老药物研究的新指标。

1 材料与仪器

1.1 动物

昆明♀性小鼠(25±2)g, 40只, 湖北省动物实验中心提

供。

1.2 药品、试剂

D-半乳糖(上海伯奥生物科技有限公司); Ca^{2+} -ATPase, Na^{+} -ATPase, 一氧化氮检测试剂盒(南京建成生物试剂有限公司)。胰岛素、血管紧张素 II 放免试剂盒(解放军总医院科技开发中心放免研究所)。

1.3 仪器

SN-682 型放射免疫 γ 计数器(上海核福光电仪器有限公司); 752 型紫外分光光度计(上海分析仪器三厂); 3200 型原子分光光度计(上海分析仪器三厂)。

2 模型与方法

2.1 模型

将小鼠随机分成模型组与正常组,给予正常比例饲料。模型组:颈部皮下注射(sc)半乳糖 1 000 mg·kg⁻¹·d⁻¹(5%, 0.5 mL),对照组:颈部皮下注射等量生理盐水0.5 mL/鼠,连续注射6周。

2.2 方法

给药结束后,小鼠断头处死,取血,胸腺称重。取 300 μL 血浆检测血浆血管紧张素 II;余血 3000 r/min 离心 5 min,取血清低温保存。检测血中一氧化氮、胰岛素、胰岛素抗体、红细胞计数;4℃下,将脑(肝)组织以生理盐水制成 10%组织匀浆,检测脑(肝)一氧化氮、Ca²⁺-ATP 酶、Na⁺-ATP 酶含量(检测方法参照试剂盒说明)、Ca²⁺;取匀浆 1 mL 加等量高氯酸-浓盐酸(1:1)消化,加 0.2%氯化铈作为释放剂,用原子吸收光谱法测定 Ca²⁺含量。

3 测定结果

小鼠脑组织 Ca²⁺-ATP 酶、Na⁺-ATP 酶活性变化

表 1 小鼠 D-半乳糖组 Ca²⁺-ATP 酶、Na⁺-ATP 酶活性改变

Tab 1 Effects of D-Galactose on the activities of Ca²⁺-ATPase, Na⁺-ATPase in brain($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (mL)	Ca ²⁺ -ATP 酶 (μmol pi/10 ⁷ RBC/h)	Na ⁺ -ATP 酶 (μmol pi/10 ⁷ RBC/h)
对照组	20	0.5	0.0035 ± 0.0002	0.0031 ± 0.0004
模型组	20	0.5	0.0006 ± 0.0002 ²⁾	0.0003 ± 0.0001 ²⁾

注:²⁾ P < 0.001

小鼠脑组织中 Ca²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺ 改变见表 2。

表 2 小鼠 D-半乳糖组 Ca²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺/Cu²⁺ 比值改变($\bar{x} \pm s$) (μg/mL)

Tab 2 Effects of D-Galactose on the levels of Ca²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺/Cu²⁺ in brain($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ca ²⁺	Zn ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺ /Cu ²⁺ 比值
对照组	20	0.90 ± 0.11	0.52 ± 0.04	0.046 ± 0.02	11.30 ± 0.08
模型组	20	1.31 ± 0.40 ¹⁾	0.76 ± 0.08 ¹⁾	0.324 ± 0.05 ²⁾	2.34 ± 0.42 ²⁾

注:¹⁾ P < 0.01; ²⁾ P < 0.001

小鼠胸腺重量与红细胞(RBC)数量改变见表 3。

表 3 D-半乳糖组胸腺重量与红细胞变化($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of D-Galactose on thymus and RBC($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (mL)	胸腺 (mg)	RBC (×10 ¹² /L)
对照组	20	0.5	63.80 ± 11.0	7.19 ± 0.70
模型组	20	0.5	26.33 ± 6.2 ²⁾	5.72 ± 1.20 ¹⁾

注:¹⁾ P < 0.01; ²⁾ P < 0.001

小鼠体内 NO 含量的影响见表 4。

表 4 D-半乳糖组对小鼠体内不同部位 NO 含量的改变($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effects of D-Galactose on the levels of NO($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mL)	脑	肝	血清
对照组	0.5	6.06 ± 2.42	36.12 ± 4.67	34.85 ± 4.00
模型组	0.5	10.00 ± 1.82 ¹⁾	43.64 ± 8.35 ¹⁾	67.88 ± 4.85 ²⁾

注:¹⁾ P < 0.01; ²⁾ P < 0.001

小鼠血清胰岛素、胰岛素抗体含量的改变见表 5。

表 5 D-半乳糖组小鼠血清胰岛素、胰岛素抗体含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 5 Effect of D-Galactose on the level of insulin and insulin antibody in serum($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mL)	胰岛素(μmol/L)	胰岛素抗体(U/L)
对照组	0.5	16.15 ± 6.95	0.70 ± 0.05
模型组	0.5	8.86 ± 1.81 ²⁾	0.49 ± 0.07 ²⁾

注:²⁾ P < 0.001

小鼠血浆 AngII 含量的改变见表 6。

表 6 D-半乳糖组对小鼠血浆 AngII 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 6 Effect of D-Galactose on the level of Ang- II in vivo($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mL)	AngII(μmol/L)
对照组	0.5	276.78 ± 14.68
模型组	0.5	169.31 ± 30.20 ²⁾

注:²⁾ P < 0.001

4 讨论

D-半乳糖造成衰老模型是因机体产生大量自由基,降低机体抗氧化能力,脂质水平增加所引起亚急性衰老^[4],其表现多种抗氧化酶活性下降。近年研究衰老及老年性疾病发现衰老与胞内 Ca²⁺ 超载有密切相关,并从调整 Ca²⁺ 平衡预防、治疗疾病^[5-7],本实验观察到 D-半乳糖造成衰老模型小鼠脑组织中 Ca²⁺ 增加, Ca²⁺-ATP 酶、Na⁺-ATP 酶活性大幅度下降(P < 0.001)与衰老及老年性疾病变化相似,对进一步研究衰老本质,是有一定的实际意义,并可应用该指标探讨抗衰老药物的作用机制,寻找更有效的药物提供一种方法。

我们采用 D-半乳糖衰老模型观察到 AngII、胰岛素及抗体含量、免疫下降,血清 NO 含量上升等变化,反映了衰老后激素、内皮功能改变,该指标基本符合人体衰老的变化,对研究老年疾病如高血压、糖尿病、脑血管等疾病提供了较好的模型,为进一步探讨、研究抗衰老药物提供手段。

中药抗衰老研究发现,许多药物能够增加 Zn²⁺/Cu²⁺ 比值,推测具有增加 Zn²⁺/Cu²⁺ 比值的药物能有抗衰老作用^[8]。本模型可造成一个 Zn²⁺/Cu²⁺ 比值大幅下降的指标,通过该指标可进一步研究中草药治病环节及机体药物发生的各种变化,对深入了解中药药理作用是有益的。

参考文献

[1] Foster TC, Norris CM. Age-associated changes in Ca²⁺-dependent processes: relation to hippocampal synaptic plasticity [J]. Hippocampus, 1997, (7): 602-612.
[2] 温宝书,张敏,白生华. 钙拮抗剂延缓衰老的作用[J]. 中国药理学杂志,1998,233(5):265-268.
[3] 李云峰. 血管周围感觉神经 Ca²⁺ 受体及血压调节新假说[J]. 国外医学·药学分册,1999,26(3):150-152.
[4] 崔旭,李文彬,张炳烈等. D-半乳糖对神经元和成纤维细胞老化的实验研究[J]. 中国应用生理学杂志,1997,13(2):

131-133.

- [5] 张均田. 老化、老年性痴呆症与钙代谢失衡及其治疗新途径
[J]. 药学学报, 1993, 28(9): 614-615.
- [6] 陈良怡, 邹寿彬, 康华光. 线粒体和细胞内钙自稳平衡[J]. 生
物化学与生物物理进展, 2000, 27(5): 483-487.

- [7] 冯征, 张均田. 中枢神经系统钙稳失调和老龄脑功能[J]. 生理
科学进展, 2000, 31(2): 102-108.
- [8] 曹冶权. 微量元素与中医药[M]. 北京: 中国中医药出版社,
1993, 93.

收稿日期: 2003-07-16