

定志小丸对 D-半乳糖致衰老模型小鼠学习、记忆能力及抗氧化活性的影响

瞿 融¹, 马世平², 夏卫军¹, 詹莹²(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029; 2. 中国药科大学, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 研究定志小丸对 D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠学习记忆能力和脂质过氧化的影响。方法 小鼠背部皮下注射 D-半乳糖造成早衰模型, 采用跳台法测小鼠学习记忆能力, 血清和脑组织 SOD、MDA。结果 定志小丸使致 D-半乳糖衰老小鼠跳台错误潜伏期显著延长, 错误次数显著减少, 血清和脑组织 SOD 活力提高, MDA 含量降低。结论 定志小丸能改善 D-半乳糖致衰小鼠的学习记忆功能, 其机制可能与降低脑组织中脂质过氧化物的含量有关。

关键词:@ 定志小丸; D-半乳糖; 学习记忆; 抗氧化

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)09-0815-02

定志小丸源于唐代孙思邈的《备急千金要方》, 由人参、茯苓、菖蒲、远志等味组成, 原书治疗“心气不定, 五脏不足, 甚者忧愁悲伤不乐, 忽忽喜忘, 朝差暮剧, 暮差朝发狂眩”^[1]。现已成为临床用于改善或治疗以记忆障碍为早期临床表现的老年痴呆的最常用最基础的方剂之一。本研究观察了定志小丸对 D-半乳糖致衰模型小鼠学习记忆功能和血清、脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)和脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的影响。

1 材料和方法

1.1 试验药物 定志小丸方中的各药材均购于南京药业股份有限公司, 并经本校中药分析教研室王强教授鉴定。人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的干燥根。远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根。石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Acorus gramineus* Soland. 的干燥根茎。茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核。以上四味药物按原方用量比例, 用现代工艺技术提取浓缩而成, 得率 24%。实验所用剂量均以该粉末计, 实验前用蒸馏水混悬成不同浓度。尼莫地平, 由中国药科大学制剂教研室提供; SOD、MDA 测试盒, 南京建成生物工程研究所产品; D-半乳糖, 上海试剂二厂产品, 批号 921212。

1.2 实验动物 昆明种小鼠, 18~20g, 4 周龄, 雌雄兼用, 由中国药科大学实验动物中心提供。

1.3 仪器 XT-911 型小鼠跳台条件反射测试仪, 上海第二军医大学制造; 721 型分光光度计, 上海第三分析仪器厂产品。

1.4 分组、给药 小鼠随机分为 6 组, 定志小丸组给药剂量分别为 50、100、200mg/kg; 正常组与模型组分别给予蒸馏水; 阳性组给予尼莫地平 30 mg/kg。各给药组每日灌胃 1 次。给药同时, 除正常组背部皮下注射等量生理盐水外, 其余各组动物每天背部皮下注射 5% D-半乳糖 0.5mL/只, 连续 56 天^[2]。

1.5 学习记忆功能训练与测试 参照文献方法^[3], 于末次给药 1h 后进行小鼠学习记忆功能的测试。训练时将每批 4 只

小鼠分别放入跳台仪的 4 个格子中, 先适应环境 3min, 然后通电, 小鼠受电击后, 多数跳上跳台, 逃避电击。跳下时以小鼠双足同时接触铜栅为触电, 视为错误反应, 训练 5min, 24h 后重新测试。测试时先将小鼠放在跳台上, 同时开始计时, 记录小鼠第一次跳下时间, 此为触电潜伏期(即为错误潜伏期), 并记录 5min 内跳下次数(即为错误次数), 作为观察指标。

1.6 SOD、MDA 的测定 小鼠学习记忆功能测定结束后第 2 天, 断头取血得血清; 同时取全脑(除去小脑)用无菌匀浆介质制备 10% 脑匀浆, 3000rpm 离心 10min, 取脑浆上清液, 分别进行血清、脑匀浆的超氧化物歧化酶(SOD)、和丙二醛(MDA)含量测定。

1.7 胸腺指数的测定 上述小鼠处死后, 取胸腺称重, 计算胸腺指数。

2 结果

2.1 对学习记忆功能的影响

结果表明, 模型小鼠与正常组相比, 错误次数显著增加, 潜伏期显著缩短, 说明 D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠的学习记忆功能明显降低。定志小丸能使模型小鼠错误潜伏期显著延长, 错误次数显著减少(见表 1)。

表 1 定志小丸对 D-半乳糖致衰小鼠学习记忆的影响 (Mean ± SD)

Tab 1 Effects of DZXW on improper learning and memory function of sub-acute aging mice induced by D-gal (Mean ± SD)

组 别	剂量 (mg/kg × d)	鼠数	错误次数	潜伏期 (秒)
正 常 组	—	16	0.44 ± 0.81 **	266.5 ± 77.18 **
模 型 组	—	16	1.50 ± 0.89	181.9 ± 116.6
定志小丸组	50 × 56	16	0.56 ± 0.63	253.3 ± 64.9
	100 × 56	16	1.50 ± 2.25	236.4 ± 102.1 *
	200 × 56	16	0.56 ± 0.89 **	254.8 ± 80.5 **
尼莫地平组	30 × 56	16	0.44 ± 0.89 *	264.0 ± 74.8 **

与模型组相比, * P < 0.05; ** P < 0.01

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control

2.2 对脑内 SOD、MDA 的影响

结果表明,D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠脑内 SOD 活性显著降低,MDA 含量显著升高。定志小丸能提高 SOD 活力、降低 MDA 含量。见表 2。

表2 定志小丸对 D-半乳糖致衰小鼠脑内 SOD、MDA 的影响 (Mean ± SD)

Tab 2 Effect of DZXW on cerebral SOD and MDA production of D-gal induced mice (Mean ± SD)

组 别	剂量 (mg/kg × d)	鼠数	SOD (Nu/mL)	MDA (nM/mL)
正 常 组	—	16	142.9 ± 19.6 **	3.2 ± 1.6 *
模 型 组	—	16	99.6 ± 48.9	4.3 ± 1.2
定志小丸组	50 × 56	16	116.5 ± 18.7	3.8 ± 2.0
	100 × 56	16	117.1 ± 36.2	3.7 ± 1.7
	200 × 56	16	133.0 ± 15.4 *	3.6 ± 1.4 *
尼莫地平组	30 × 56	16	123.9 ± 37.7	3.5 ± 1.5 *

与模型组相比, * P < 0.05; ** P < 0.01

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control

2.3 对血清 SOD、MDA 的影响

结果表明,D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠血清 SOD 活性显著降低,MDA 含量显著升高。定志小丸能提高 SOD 活力、降低 MDA 含量。见表 3。

表3 定志小丸对 D-半乳糖致衰小鼠血清 SOD、MDA 的影响 (Mean ± SD)

Tab 3 Effect of DZXW on serumal SOD and MDA production of D-gal induced mice (Mean ± SD)

组 别	剂量 (mg/kg × d)	鼠数	SOD (Nu/mL)	MDA (nM/mL)
正 常 组	—	16	108.5 ± 49.2 **	4.8 ± 1.6 *
模 型 组	—	16	46.0 ± 30.3	6.8 ± 2.5
定志小丸组	50 × 56	16	82.3 ± 51.8 *	4.8 ± 1.6
	100 × 56	16	102.9 ± 41.5 **	5.3 ± 1.9
	200 × 56	16	84.1 ± 38.6	4.8 ± 1.3 *
尼莫地平组	30 × 56	16	104.3 ± 52.7 **	4.9 ± 1.0 *

与模型组相比, * P < 0.05; ** P < 0.01

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control

2.4 对胸腺指数的影响

结果见表 4,定志小丸能提高 D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠胸腺指数。

3 讨论

老年性痴呆是一组慢性进行性神经元退行性疾病,是以智力、记忆力减退为特点的临床综合症,其病因和发病机理尚不清楚,目前认为脑的衰老是本病发生的基础。氧自由基

表 4 定志小丸对 D-半乳糖致衰小鼠胸腺指数的影响 (Mean ± SD)

Tab 4 Effect of DZXW on the exponent of thymus of sub-acute aging mice induced by D-gal (Mean ± SD)

组 别	剂量 (mg/kg × d)	鼠数	胸腺指数 (mg/10g 体重)
正 常 组	—	16	36.9 ± 15.4 *
模 型 组	—	16	26.4 ± 7.0
定志小丸组	50 × 56	16	32.9 ± 8.7 *
	100 × 56	16	31.6 ± 8.8
	200 × 56	16	34.0 ± 5.7 **
尼莫地平组	30 × 56	16	34.9 ± 6.0 **

与模型组相比, * P < 0.05; ** P < 0.01

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control

能导致核酸、蛋白质、脂质膜的损伤,是导致脑老化的重要因素。D-半乳糖化小鼠有与自然衰老相似的代谢紊乱特征,能较好模拟衰老表现。长期大剂量注射 D-半乳糖可造成动物糖代谢障碍,进而影响蛋白质代谢和脂类代谢,使小鼠活性氧水平升高,脂质过氧化亢进,脑功能减退。D-半乳糖致衰小鼠模型学习记忆能力下降,心、肝、脑组织中脂褐素、MDA 增加,SOD 活性显著降低,皮质海马神经元 DNA 转录活性低下,C-fos 和 H-ras mRNA 水平下降,蛋白质含量和神经元密度降低^[4-6]。

而定志小丸 100、200mg/kg 能使 D-半乳糖致衰老模型小鼠跳台错误潜伏期延长,错误次数减少,显著改善 D-半乳糖致衰小鼠的学习记忆功能。同时定志小丸还能明显提高模型小鼠血清及脑组织中 SOD 活力,降低 MDA 含量,提示该方益智和抗衰老作用可能与其抗氧化作用有关。

参考文献

[1] 孙思邈. 备急千金要方. 北京:人民卫生出版社影印,1982: 265.

[2] 陈勤. 抗衰老研究实验方法. 北京:中国医药科技出版社, 1996:p. 111.

[3] 陈奇. 中药药理研究方法学,北京:人民卫生出版社,1993: 738.

[4] 李文彬. D-半乳糖衰老模型与脑老化研究. 中药免疫药理学. 周金黄主编,1994:63.

[5] 陈可冀. 新编抗衰老中药学. 北京:人民卫生出版社,1998: 153.

[6] 李文彬、韦丰、范明,等. D-半乳糖在小鼠上诱导的拟脑老化效应. 中国药理学与毒理学杂志. 1995;9(2):93.

收稿日期:2003-05-21