

# 猴头菌提取物抗衰老作用研究

刘浩<sup>1</sup>, 李华<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>中国人民解放军海军总医院, 北京 100037; <sup>2</sup>第三军医大学军职干休所)

猴头菌 (HEP) 又名花菜菌、刺猬菌等, 属多孔菌目齿菌。其味甘, 能利五脏, 助消化, 降血脂, 增强免疫力, 抗突变延缓衰老。文献报道猴头菌临床用于消化道和肿瘤疾病具有较好疗效<sup>[1,2]</sup>, 但其作用机制有待进一步探讨。2007年6月~2008年3月, 本文研究猴头菌对 D-半乳糖致衰老小鼠模型的多项衰老相关生理指标的影响, 初步探讨其延缓衰老的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

跳台实验仪 (北京医科大学仪器厂); HSHW-420 电热恒温水箱 (北京长安科学仪器厂); 组织匀浆机 (江浙机械厂)。D-半乳糖 (上海恒信化学试剂有限公司); 超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、单胺氧化酶 (MAO) 和丙二醛 (MDA) 检测试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品; 维生素 EC 合剂 (北京双鹤制药厂)。猴头菌提取物由本研究室自制<sup>[3]</sup>。实验动物为 7~8 周龄雌性清洁级昆明种小鼠 72 只, 体质量 18~22g, 购自北京维通利华公司。饲养温度 (23±2) °C, 照明时间 12h/d。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组:** 将实验动物随机均分为 6 组: 对照组、模型组、阳性对照组及 HEP 高、中、低 3 个剂量组, 各 12 只。

模型组、阳性对照组及 3 个 HEP 治疗组按 100mg/(kg·d) 皮下注射 D-半乳糖造模, 对照组以相同方式给予同剂量生理盐水。

同时阳性对照组给予维生素 EC 合剂

40mg/(kg·d), HEP 低、中、高治疗组分别按 1.5、3.0 和 4.5g/(kg·d) 给予 HEP 提取物, 对照组和模型组给予同剂量蒸馏水, 连续实验 4 周。

**1.2.2 记忆能力测试实验:** 采用跳台法<sup>[4]</sup>。将小鼠放入跳台实验仪中, 训练小鼠受到电击跳上平台来躲避伤害性刺激, 24h 后重新测试, 记录小鼠第 1 次跳下平台的潜伏期和 3min 内的错误次数; 若停留时间超过 3min, 其潜伏期按 3min 计, 比较不同组间小鼠记忆成绩的差异。

**1.2.3 自由基检测:** 小鼠末次给药并进行跳台实验后, 眼眶取血后处死, 取全脑、肝脏, 生理盐水洗净、剪碎, 用冰冷生理盐水制成 10% 的匀浆液, 离心, 取上清液, 按试剂盒方法标示法测定组织中 SOD、GSH-Px、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 、MAO 及 MDA 活性, 以考马斯亮兰法测定蛋白含量。

**1.2.4 统计学方法:** 采用 SAS.V8.0 统计软件进行处理, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 单因素方差分析进行组间统计学比较。以  $P \leq 0.05$  为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 HEP 对衰老小鼠学习能力的影响

模型组动物与对照组比较 (表 1), 潜伏期明显缩短, 错误次数增多 ( $P < 0.01$ ), 说明造模小鼠在实验处于明显记忆障碍状态, 实验造模成功。与模型组比较, EC 组及 HEP 中、高剂量组使衰老小鼠潜伏期延长, 错误次数减少 ( $P < 0.05$ ), 说明给药后能改善 D-半乳糖致衰老小鼠的学习记忆障碍。

表1 HEP对衰老小鼠记忆能力的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	潜伏期 (s)	错误次数 (次)
对照组	165.4±31.3	1.8±0.7
模型组	55.2±18.2 <sup>△</sup>	5.3±0.7 <sup>△</sup>
阳性对照组	145.2±33.1 <sup>△</sup>	2.7±1.2 <sup>*</sup>
HEP 低剂量组	65.2±37.2 <sup>△</sup>	4.2±1.3 <sup>*</sup>
HEP 中剂量组	84.5±16.5 <sup>*</sup> #	2.5±1.8
HEP 高剂量组	155.2±24.2 <sup>△</sup>	1.50±1.4 <sup>#</sup>

注: 与对照组比较, \*P < 0.05, <sup>△</sup>P < 0.01; 与模型组比较, #P < 0.05, <sup>△</sup>P < 0.01

## 2.2 老化相关自由基表达 (表 2)

表2 各组衰老小鼠中老化相关自由基的表达( $x \pm s$ , n=10)

组别	SOD (U / mg)		GSH-Px (U / mg)		MAO (U / mg)	Na <sup>+</sup> - K <sup>+</sup> - ATP (mmol / mg)
	脑	肝	脑	肝		
对照组	28.8±5.2	67.9±5.8	55.8±4.5	50.4±6.0	9.24±0.65	2662.9±208.8
模型组	13.3±4.5 <sup>*</sup>	42.9±12.6 <sup>*</sup>	45.8±5.5 <sup>*</sup>	35.9±2.2 <sup>△</sup>	15.82±2.09	1910.8±255.3 <sup>*</sup>
阳性对照组	23.5±2.0 <sup>△</sup>	56.3±5.9 <sup>△</sup>	55.9±11.3 <sup>#</sup>	44.4±2.6 <sup>△</sup>	10.22±1.05	2420.3±409.9 <sup>#</sup>
HEP 低剂量组	19.7±3.5 <sup>*</sup> #	43.4±4.9	45.7±10.6 <sup>#</sup>	37.2±2.6 <sup>*</sup>	14.40±0.92	2002.5±1971.2
HEP 中剂量组	21.3±5.9 <sup>#</sup>	50.6±6.0 <sup>#</sup>	55.2±8.3 <sup>#</sup>	40.5±4.4 <sup>#</sup>	10.32±1.19	2415.4±96.6 <sup>#</sup>
HEP 高剂量组	22.5±0.6 <sup>△</sup>	54.50±7.7 <sup>#</sup>	58.2±10.4 <sup>△</sup>	43.8±1.8 <sup>△</sup>	9.80±1.11	2602.4±108.6 <sup>#</sup>

注: 与对照组比较, \*P < 0.05, <sup>△</sup>P < 0.01; 与模型组比较, #P < 0.05, <sup>△</sup>P < 0.01

## 3 讨论

目前衰老的病理机制尚不完全清楚, 存在多种学术观点<sup>[5]</sup>。自由基学说是其中较重要的一种观点, 其认为衰老的产生是由于机体自由基代谢失衡, 使肌体自由基过剩, 导致组织器官的结构及功能紊乱, 机体呈衰老体征<sup>[6]</sup>。D-半乳糖可导致机体代谢中产生超量超氧自由基, 氧化应激引起机体细胞功能损伤及氧化酶活性下降, 导致衰老<sup>[7]</sup>。研究证明, D-半乳糖所致动物衰老模型, 在学习记忆能力和免疫生化指标变化方面, 与自然衰老动物相一致<sup>[8]</sup>。本文中, 造模组动物较正常对照组动物学习记忆能力下降明显, 衰老小鼠模型给予维生素 EC 合剂或 HEP 后, 其脑、肝 SOD 活性显著上升, 且在肝中 HEP 对 SOD 活性保护呈较明显的剂

量相关性。模型组肝、全血 GSH-Px 活性降低明显, 而 HEP 高、中剂量组能改善衰老小鼠肝、全血 GSH-Px 活性水平, 并在肝中呈量效关系, 且高剂量组对 GSH-Px 在水平的改善效果已接近或超过了阳性组。提示 HEP 可提高小鼠体内 SOD 活性, 并能有效改善 GSH-Px 活性水平, 有利增强机体清除自由基的能力。模型组较正常对照组脑中 MAO 明显上升, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶水平下降。HEP 组中、高剂量治疗组使衰老小鼠 MAO 水平下降、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶水平回升, 接近阳性组水平, 提示 HEP 可能具改善衰老小鼠脑中衰老相关酶的活性。模型组脑、肝、血清 MDA 含量均明显高于正常对照组。在经三个剂量 HEP 治疗后, 衰老小鼠脑中 MDA 含量显著下降, 并呈剂量依赖性。中、高剂量 HEP

可显著降低肝中 MDA 含量, 而高剂量亦可降低血清中 MDA 含量。总体上表明 HEP 可降低衰老小鼠的过氧化脂质水平, 且以脑中降低水

平更为显著。

(下转第 150 页)

