

猴头菌提取物抗衰老作用研究

刘浩¹, 李华²

(¹中国人民解放军海军总医院, 北京 100037; ²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^[1,2],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)、Na⁺-K⁺-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^[3]。实验动物为7~8周龄雌性清洁级昆明种小鼠72只, 体重18~22g, 购自北京维通利华公司。饲养温度(23±2)℃, 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^[4]。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、Na⁺-K⁺-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≤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 [△]	5.3±0.7 [△]
阳性对照组	145.2±33.1 [△]	2.7±1.2 [*]
HEP低剂量组	65.2±37.2 [△]	4.2±1.3 [*]
HEP中剂量组	84.5±16.5 [*] #	2.5±1.8
HEP高剂量组	155.2±24.2 [△]	1.50±1.4 [#]

注:与对照组比较, *P<0.05, [△]P<0.01;与模型组比较, #P<0.05, [△]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 ⁺ -K ⁺ -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 [*]	42.9±12.6 [*]	45.8±5.5 [*]	35.9±2.2 [△]	15.82±2.09	1910.8±255.3 [*]
阳性对照组	23.5±2.0 [△]	56.3±5.9 [△]	55.9±11.3 [#]	44.4±2.6 [△]	10.22±1.05	2420.3±409.9 [#]
HEP低剂量组	19.7±3.5 [*] #	43.4±4.9	45.7±10.6 [#]	37.2±2.6 [*]	14.40±0.92	2002.5±1971.2
HEP中剂量组	21.3±5.9 [#]	50.6±6.0 [#]	55.2±8.3 [#]	40.5±4.4 [#]	10.32±1.19	2415.4±96.6 [#]
HEP高剂量组	22.5±0.6 [△]	54.50±7.7 [#]	58.2±10.4 [△]	43.8±1.8 [△]	9.80±1.11	2602.4±108.6 [#]

注:与对照组比较, *P<0.05, [△]P<0.01;与模型组比较, #P<0.05, [△]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^[5]。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^[6]。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^[7]。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^[8]。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⁺-K⁺-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⁺-K⁺-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)

