

五味子粉对 *D*-半乳糖致小鼠衰老模型的影响

苗明三, 彭孟凡, 刘保松, 方晓艳, 王 坦

河南中医药大学, 河南 郑州 450046

摘要:目的 观察五味子粉对 *D*-半乳糖所致小鼠衰老模型的影响。方法 72 只昆明种小鼠随机分为对照组、模型组、脑康灵 (0.810 g/kg) 组和五味子粉高、中、低剂量 (3.00、1.50、0.75 g/kg) 组。小鼠颈背部 sc 1.25 g/kg *D*-半乳糖制备衰老模型, 连续 40 d, 于第 11 天开始 ig 给予相应剂量的药物, 连续给药 30 d。于第 39 天进行小鼠行为学避暗实验; 末次给药后 2 h, 检测小鼠脑匀浆、肝匀浆及血浆中丙二醛 (MDA) 水平, 全血中过氧化物酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性及还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平; 光镜下观察各组小鼠脑、肝脏、胸腺、脾脏的形态变化。**结果** 与模型组比较, 各剂量五味子粉均可延长小鼠避暗潜伏期, 减少小鼠明暗穿梭次数; 不同程度降低小鼠脑匀浆、肝匀浆及血浆中 MDA 水平, 升高全血中 CAT、SOD 活性及 GSH 水平; 不同程度升高小鼠脾脏、胸腺和脑指数, 降低肝脏指数。**结论** 五味子粉可显著改善衰老模型小鼠的各项生化指标和组织病理状态。

关键词: 五味子粉; 衰老模型; *D*-半乳糖; 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶; 还原型谷胱甘肽; 丙二醛

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2018)13 - 3074 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.13.018

Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on *D*-galactose-induced aging model mice

MIAO Ming-san, PENG Meng-fan, LIU Bao-song, FANG Xiao-yan, WANG Tan

Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To investigate effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder in *D*-galactose-induced aging model mice. **Methods** Seventy-two Kunming mice were randomly divided into normal group, model group, Naokangling group (0.810 g/kg), and low-, mid-, and high-dose (3.00, 1.50, 0.75 g/kg) *Schisandrae Chinensis Fructus* powder groups. Aging mice model was established by sc injection of *D*-galactose 1.25 g/kg at neck back once daily for 40 d. Naokangling and *Schisandrae Chinensis Fructus* powder were orally administrated on day 11 for 30 d. Then the learning and memory ability was assessed by step-through test on day 39. Two hours after the last administration, the contents of malonaldehyde (MDA) in brain homogenate, liver homogenate, and plasma and the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), and catalase (CAT) in whole blood were detected; The morphological changes of brain, liver, thymus, and spleen in each group of mice were observed by light microscope. **Results** Compared with model groups, the *Schisandrae Chinensis Fructus* powder groups can improve the incubation period and reduce the number of times of light and dark shuttle of model mice; The *Schisandrae Chinensis Fructus* powder groups can reduce the level of MDA in plasma, brain, and liver homogenate, and increase the levels of CAT, SOD, and GSH in the whole blood in different degrees; It also can elevate the index of spleen, thymus, and brain, and decrease the indexes of liver in different degrees. **Conclusion** *Schisandrae Chinensis Fructus* powder can significantly improve the biochemical indexes and pathological status of aging model mice.

Key words: *Schisandrae Chinensis Fructus* powder; aging model; *D*-galactos; catalase; superoxide dismutase; glutathione; malonaldehyde

衰老是生命过程中正常而又复杂的病理生理学现象, 与高血压、2 型糖尿病、动脉粥样硬化、老年痴呆等疾病密切相关。衰老伴随着细胞凋亡、记

忆力下降、免疫力低下、氧化物水平升高以及脑、肝、肾、胸腺等组织的退化及病变, 因此, 研究效果更好、作用机制清楚的抗衰老药物具有重要意义^[1]。

收稿日期: 2017-11-27

基金项目: 国家国际合作基地项目 (2016-151); 河南省成果转化项目 (142201610011)

作者简介: 苗明三, 男, 教授, 博士, 主要从事中药药理学教学与研究。E-mail: miaomingsan@163.com

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Hist. 的成熟果实, 含有木脂素类、多糖类、挥发油类以及氨基酸、有机酸等多种成分, 其中木脂素含量最高, 具有镇静安神、收敛固涩、益气生津、补肾宁心等功效^[2]。现代药理研究表明, 五味子乙素为木脂素主要活性成分, 具有明显的保肝、抗炎、抗细胞凋亡、提高记忆力、增强免疫力和抗氧化等作用^[3-4]。五味子多糖具有较好的抗衰老、保肝作用, 不仅可通过增强免疫功能抗衰老, 还可促进神经细胞发育, 延缓衰老所致的免疫机能、神经功能减退^[5]。脑康灵(复方吡拉西坦脑蛋白水解物片)为一种大脑所特有的肽能神经营养药物, 能以多种方式作用于中枢神经, 促进脑内蛋白质的合成, 具有抗缺氧的保护能力, 是公认的治疗痴呆、智力发育迟缓、脑神经功能障碍及记忆力减退等疾病的药物。

本实验以脑康灵为阳性药, 通过 sc *D*-半乳糖制备小鼠衰老模型, 评价五味子粉对小鼠衰老模型肝、脑组织和血浆中丙二醛(MDA)水平, 全血中过氧化物酶(CAT)、还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)活性及脑、肝脏、胸腺、脾脏形态变化的影响, 验证五味子粉的抗衰老作用。

1 材料与仪器

1.1 动物

昆明种小鼠, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 山东省实验动物中心提供, 动物许可证号 SCXK(鲁)20140007。饲养于河南中医学院实验动物中心。饲料为消毒饲料, 垫料为消毒垫料, 均由河南省实验动物中心提供。饮水为消毒蒸馏水。饲养条件为温度 20~25 °C, 相对湿度 40%~60%, 自然光照, 每笼 6 只, 常规饲养, 隔天更换垫料。

1.2 药物与试剂

五味子药材由北京同仁堂制药厂提供, 批号 15030410, 经河南中医药大学代丽萍教授鉴定为木兰科植物五味子 *S. chinensis* (Turcz.) Baill. Hist. 的成熟果实; 五味子粉自制(五味子药材置于高速多功能粉碎机内粉碎, 将粉碎所得药材粉末过 150 目筛, 即得); 脑康灵, 弘美制药(中国)有限公司, 批号 20140602; *D*-半乳糖, Sigma-Aldrich LLC. 公司, 批号 G5388, 质量分数≥98%; 氯化钠注射液, 河南科伦药业有限公司, 批号 C114092201-2; 甲醛, 中国莱阳市双双化工有限公司; 水合氯醛, 天津市光复精细化工研究所; MDA、CAT、SOD、GSH ELISA 检测试剂盒, 苏州卡尔文生物科技有限公司。

1.3 仪器

FA(N)/JA(N)系列电子天平, 上海民桥精密仪器有限公司; HWS12 型电热恒温水浴锅, 上海一恒科学仪器有限公司; KDC-160HR 高速冷冻离心机, 科大创新股份有限公司中佳分公司; 680 型酶标仪, 美国 Bio-Rad 公司; XLW-2500Y 高速多功能粉碎机, 深圳市鑫龙威电子有限公司; 可调式移液器, 上海雷勃分析仪器有限公司; BA-200 小鼠避暗仪, 成都泰盟软件有限公司。

2 方法

2.1 分组

取 18~22 g 的小鼠 72 只, 雌雄各半, 随机分为 6 组(雌雄分笼饲养), 即对照组、模型组、康脑灵组和五味子粉高、中、低剂量组, 每组 12 只。

2.2 造模与给药

造模方法参考文献方法^[6-8], 模型组及各给药组小鼠每日颈背部 sc 5% *D*-半乳糖生理盐水溶液 25 mL/kg (1.25 g/kg), 对照组 sc 等量生理盐水, 每 4 天称体质量 1 次, 依据体质量调整剂量, 连续 40 d。从实验第 11 天开始, 康脑灵组 ig 脑康灵 (0.810 g/kg, 10 mL/kg), 五味子粉高、中、低剂量组 ig 不同剂量五味子粉 (3.00、1.50、0.75 g/kg, 10 mL/kg); 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 每日 1 次, 连续给药 30 d, 每 4 天称体质量 1 次, 根据体质量调整用药量。

2.3 行为学检测

实验第 38 天进行避暗法训练小鼠学习能力, 暗室通以 33 V 电压, 将小鼠放入明室, 趋暗习性使小鼠奔向暗室, 受到电击后马上逃回明室, 如此训练 5 min。第 39 天进行记忆测试, 以进入暗室为错误反应, 以每只鼠从放入明室至进入暗室遇到电击所需的时间为潜伏期, 记录 5 min 内的穿梭次数和首次进入暗室的潜伏期, 并进行统计学处理。

2.4 生化指标检测

末次给药 2 h 后(禁食不禁水 12 h), 小鼠称体质量后眼眶取血, EP 管内加入肝素抗凝剂制备全血, 按照试剂盒说明书测定全血中 CAT、GSH、SOD 活性。部分全血离心, 分离得到血浆, 按照试剂盒说明书测定血浆中 MDA 水平。

2.5 各脏器形态检测

于末次给药前禁食不禁水 12 h, 给药 2 h 后脱颈椎处死小鼠。处死小鼠后, 断头, 迅速取出全脑, 称质量, 分离左右脑, 左脑于 10% 甲醛溶液中固定,

石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察各组脑组织的形态变化。右脑制备脑匀浆液,按照试剂盒说明书测定脑匀浆中 MDA 水平。取肝脏,称质量,一部分肝脏匀浆,检测 MDA 水平。取肝脏中叶及胸腺、脾脏称质量,于 10%甲醛溶液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察各组肝脏、胸腺、脾脏组织的形态变化。采用 Ridit 检验评价小鼠各脏器组织形态变化。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计包进行数据资料的统计学处理,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,方差检验齐性用 LSD 法,方差不齐性用 Games-Howell 法检验,等级资料采用 Ridit 检验。

3 结果

3.1 五味子粉对衰老模型小鼠避暗行为的影响

由表 1 可知,与对照组比较,模型组小鼠穿梭次数显著增多,潜伏期显著缩短 ($P < 0.01$)。与模型组比较,脑康灵可以显著减少小鼠明暗穿梭的次数 ($P < 0.05$),五味子粉高、中、低剂量均可显著减少小鼠明暗穿梭的次数 ($P < 0.01$);脑康灵和五味子粉高、中、低剂量均可显著延长小鼠潜伏期 ($P < 0.01$)。

3.2 五味子粉对衰老模型小鼠生化指标的影响

3.2.1 对全血中 CAT、SOD 活性和 GSH 水平的影

表 2 五味子粉对衰老模型小鼠全血中 CAT、SOD 活性和 GSH 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on CAT, SOD activity and GSH level in whole blood of aging model mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	CAT/(U·mL ⁻¹)	GSH/(ng·mL ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
对照	—	170.68 ± 7.74	260.25 ± 9.96	204.73 ± 16.81
模型	—	113.87 ± 9.79 ^{△△}	173.10 ± 13.28 ^{△△}	89.02 ± 16.08 ^{△△}
脑康灵	0.81	152.89 ± 8.50 ^{**}	231.98 ± 11.25 ^{**}	121.71 ± 14.60 ^{**}
五味子粉	3.00	169.67 ± 6.82 ^{**}	254.63 ± 11.10 ^{**}	203.58 ± 17.27 ^{**}
	1.50	152.50 ± 6.44 ^{**}	236.57 ± 10.07 ^{**}	154.83 ± 8.85 ^{**}
	0.75	149.41 ± 5.21 ^{**}	234.16 ± 10.26 ^{**}	131.55 ± 13.76 ^{**}

表 3 五味子粉对衰老模型小鼠血浆、肝匀浆以及脑匀浆中 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on MDA levels in plasma, liver homogenate and brain homogenate of aging model mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)		
		血浆	肝匀浆	脑匀浆
对照	—	4.89 ± 0.62	5.93 ± 1.00	5.34 ± 0.91
模型	—	16.15 ± 0.88 ^{△△}	18.38 ± 1.07 ^{△△}	17.27 ± 1.01 ^{△△}
脑康灵	0.81	8.00 ± 0.63 ^{**}	12.13 ± 0.92 ^{**}	8.93 ± 0.72 ^{**}
五味子粉	3.00	6.07 ± 0.63 ^{**}	7.62 ± 0.76 ^{**}	11.29 ± 0.88 ^{**}
	1.50	9.82 ± 0.67 ^{**}	10.45 ± 0.83 ^{**}	6.90 ± 0.73 ^{**}
	0.75	8.79 ± 0.84 ^{**}	11.41 ± 0.80 ^{**}	9.74 ± 0.91 ^{**}

表 1 五味子粉对衰老模型小鼠避暗行为的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on dark avoidance behavior of aging model mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/s	穿梭次数
对照	—	46.58 ± 3.46	11.75 ± 2.18
模型	—	11.65 ± 2.25 ^{△△}	16.17 ± 3.04 ^{△△}
脑康灵	0.81	38.46 ± 3.26 ^{**}	13.75 ± 3.33 [*]
五味子粉	3.00	27.63 ± 2.92 ^{**}	12.25 ± 2.26 ^{**}
	1.50	26.47 ± 3.44 ^{**}	12.75 ± 3.17 ^{**}
	0.75	26.64 ± 3.67 ^{**}	12.50 ± 2.43 ^{**}

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 表 2、3 同

^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as tables 2 and 3

响 从表 2 知,与对照组比较,模型组小鼠全血 CAT、SOD 活性和 GSH 水平均显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,脑康灵和五味子粉高、中、低剂量均可显著升高衰老小鼠全血 CAT、SOD 活性和 GSH 水平 ($P < 0.01$)。

3.2.2 对血浆、肝匀浆、脑匀浆中 MDA 水平的影响 从表 3 知,与对照组比较,模型组小鼠血浆、肝匀浆以及脑匀浆中 MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,脑康灵和五味子粉高、中、低剂量均可显著降低衰老小鼠血浆、脑匀浆、肝匀浆中 MDA

水平 ($P < 0.01$)。

3.3 五味子粉对衰老模型小鼠脏器组织的影响

3.3.1 对脾脏、胸腺、脑、肝脏指数的影响 由表 4 知, 与对照组比较, 模型组小鼠脾脏指数、脑指数、胸腺指数显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 肝脏指数显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 脑康灵能显著升高小鼠脾脏和胸腺指数 ($P < 0.01$); 五味子粉高剂量可显著升高小鼠脾脏和胸腺指数 ($P < 0.01$), 显著降低肝脏指数 ($P < 0.01$), 明显升高小鼠脑指数 ($P < 0.05$)。五味子粉中剂量可显著升高小鼠胸腺指数和脑指数 ($P < 0.01$), 显著降低肝脏指数 ($P < 0.01$)。五味子粉低剂量组可显著升高小鼠胸腺指数和脑指数 ($P < 0.01$), 显著降低肝脏指数 ($P < 0.05$)。

3.3.2 对脑组织形态的影响 电镜观察结果 (图 1) 表明, 对照组小鼠大脑皮质神经细胞丰富、排列整

齐、着色正常; 海马区锥体细胞排列紧密, 细胞核圆而大, 核仁清晰。模型组小鼠大脑皮质神经细胞明显减少, 排列疏松、着色变浅, 残存神经细胞固缩变圆, 胞浆内出现空泡改变; 海马区锥体细胞层数减少, 神经元细胞密度下降, 排列稀疏、紊乱, 可见核固缩现象。脑康灵组和五味子粉中剂量组小鼠大脑皮层细胞以及海马区神经细胞均有所改善; 大脑皮层神经细胞数量有所增多, 细胞核变大, 排列整齐, 着色相比模型组有所加深; 海马区锥体细胞排列紧密, 规则, 神经元细胞核圆而大, 核仁清晰。五味子粉高、低剂量组小鼠大脑皮层神经细胞有所增加, 神经细胞核变大, 着色加深; 海马区锥体细胞排列整齐, 神经细胞核变大。

由表 5 可知, 经 Ridit 检验, “-”表示大脑皮质神经细胞丰富, 排列整齐, 着色正常; 海马区锥体细胞排列紧密, 细胞核圆而大, 核仁清晰; “+”

表 4 五味子粉对衰老模型小鼠脾脏、胸腺、脑、肝脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on indexes of spleen, thymus, brain, and liver ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾脏指数/%	胸腺指数/%	肝脏指数/%	脑指数/%
对照	—	0.30 ± 0.03	0.26 ± 0.05	3.71 ± 0.15	0.86 ± 0.06
模型	—	0.27 ± 0.03 [△]	0.18 ± 0.03 ^{△△}	4.22 ± 0.22 ^{△△}	0.80 ± 0.09 [△]
脑康灵	0.81	0.41 ± 0.05 ^{**}	0.27 ± 0.04 ^{**}	3.85 ± 0.31	0.82 ± 0.07
五味子粉	3.00	0.32 ± 0.03 ^{**}	0.27 ± 0.04 ^{**}	3.54 ± 0.28 ^{**}	0.85 ± 0.09 [*]
	1.50	0.29 ± 0.04	0.28 ± 0.03 ^{**}	3.75 ± 0.27 ^{**}	0.88 ± 0.11 ^{**}
	0.75	0.29 ± 0.04	0.27 ± 0.04 ^{**}	3.75 ± 0.35 [*]	0.86 ± 0.09 ^{**}

与对照组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

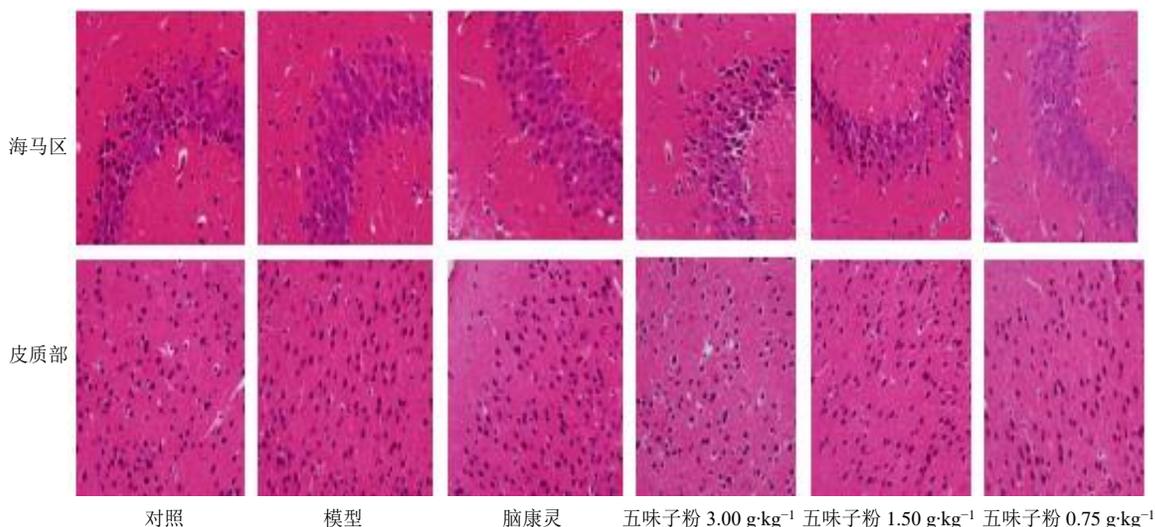


图 1 五味子粉对衰老模型小鼠脑组织形态的影响

Fig. 1 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of brain tissue in aging model mice

表 5 五味子粉对衰老模型小鼠脑组织形态的影响 (n = 12)

Table 5 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of brain tissue in aging model mice (n = 12)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	脑组织形态分级/只			
		-	+	++	+++
对照	—	12	0	0	0
模型	—	0	3	4	5
脑康灵	0.81	3	4	5	0
五味子粉	3.00	4	2	4	2
	1.50	4	4	3	1
	0.75	3	3	4	2

表示大脑皮层神经细胞丰富,排列整齐,着色变浅,神经细胞固缩变小;海马区锥体细胞排列紧密,规则,神经元细胞核圆而大,核仁清晰;“++”表示大脑皮层细胞数量有所减少,排列整齐,着色变浅,神经细胞固缩变圆,胞浆出现空泡;海马区锥体细胞排列整齐,神经细胞体积轻微变小,出现核固缩现象;“+++”表示大脑皮质神经细胞数量显著减少,排列疏松,着色变浅,残存神经细胞固缩变圆,胞浆内出现空泡改变;海马区锥体细胞层数减少,神经元细胞密度下降,排列稀疏、不规则,细胞体积变小,可见核固缩现象。与对照组比较,模型组小鼠脑组织中大脑皮质神经细胞和海马区锥体细胞出现明显的病理变化 (P<0.01)。与模型组比较,脑

康灵、五味子粉中剂量可显著改善衰老小鼠脑组织中大脑皮质神经细胞和海马区锥体细胞出现的病理变化 (P<0.01),五味子粉高、低剂量可明显改善衰老小鼠脑组织中大脑皮质神经细胞和海马区锥体细胞出现的病理变化 (P<0.05)。

3.3.3 对肝脏组织形态的影响 电镜观察结果 (图 2) 显示,对照组小鼠肝脏细胞无变性、无坏死,肝细胞索排列规则,无炎细胞浸润;模型组小鼠肝脏细胞高度水肿,炎性细胞浸润严重,肝细胞索排列紊乱,可见灶性坏死;脑康灵组小鼠肝细胞病变不明显,肝细胞索排列规则,有少量炎性细胞浸润,局部轻度水肿;五味子粉高、中、低剂量组小鼠肝细胞病变程度减轻,水肿部位较少,肝细胞索排列较规则,几乎没有炎性细胞浸润。

由表 6 可知,经 Ridit 检验,“-”表示肝小叶结构清楚,肝细胞索排列规则;“+”表示肝细胞疏松,肿胀,肝细胞索排列紊乱,可见少量炎性细胞浸润;“++”表示肝细胞索排列紊乱疏松,空泡坏死和灶性坏死,可见多个炎性细胞浸润;“+++”表示广泛细胞空泡坏死和灶性坏死,肝小叶内炎性细胞浸润明显。与对照组比较,模型组小鼠肝细胞高度水肿和坏死,炎性细胞浸润严重 (P<0.01)。与模型组比较,脑康灵组小鼠肝细胞病变不明显,水

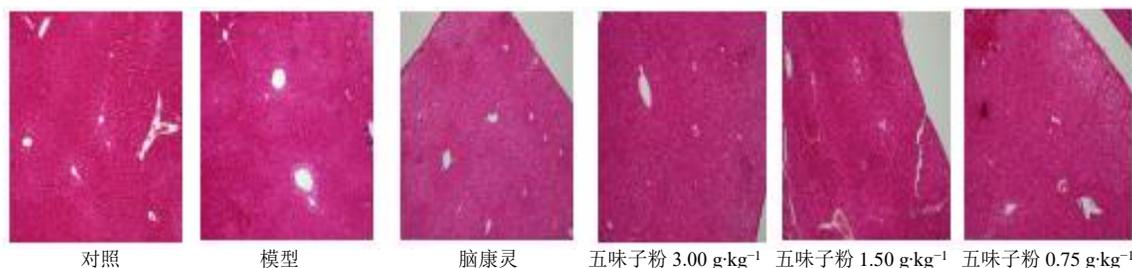


图 2 五味子粉对衰老模型小鼠肝脏组织形态的影响

Fig. 2 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of liver tissue in aging model mice

表 6 五味子粉对衰老模型小鼠肝脏组织形态的影响 (n = 12)

Table 6 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of liver tissue in aging model mice (n = 12)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肝脏组织形态分级/只			
		-	+	++	+++
对照	—	12	0	0	0
模型	—	0	1	4	7
脑康灵	0.81	2	4	4	2
五味子粉	3.00	4	4	2	2
	1.50	3	5	4	0
	0.75	3	3	5	1

肿明显改善,炎性细胞浸润明显减轻 (P<0.05),五味子粉高、中、低剂量组小鼠肝细胞病变和水肿、炎性细胞浸润显著改善 (P<0.01)。

3.3.4 对脾脏组织形态的影响 电镜观察结果 (图 3) 表明,对照组小鼠脾脏红髓和白髓分界清晰,脾小结正常,淋巴细胞正常;模型组小鼠红髓和白髓分界模糊,脾小结变小,淋巴细胞正常但稀疏;脑康灵组和五味子粉高、中剂量组小鼠脾脏红髓和白髓分界清晰,脾小结、淋巴细胞未见明显的病理改变;五味子粉低剂量组小鼠脾脏红髓和白髓分界清

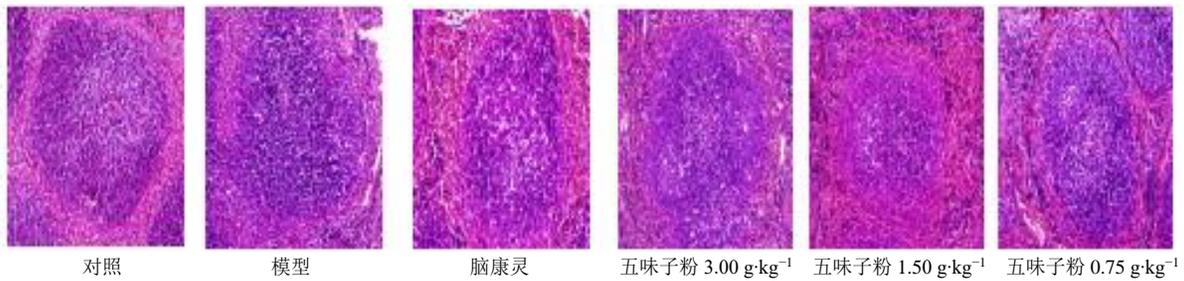


图 3 五味子粉对衰老模型小鼠脾脏组织形态的影响

Fig. 3 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of spleen tissue in aging mice

晰，脾小结、淋巴细胞均基本正常。

由表 7 可知，经 Ridit 检验，“-”表示脾脏红髓和白髓分界清晰，脾小结、淋巴细胞正常；“+”表示红髓和白髓分界清晰，脾小结、淋巴细胞基本正常；“++”表示红髓和白髓分界较清晰，脾小结、淋巴细胞病变不明显；“+++”表示红髓和白髓分界模糊，脾小结变小，淋巴细胞稀疏。与对照组比较，模型组小鼠脾脏病变明显，红髓和白髓分界模糊，脾小结变小 ($P < 0.01$)；与模型组比较，五味子粉低剂量组小鼠脾脏红髓和白髓分界清晰，脾小结、淋巴细胞均明显改善 ($P < 0.05$)，五味子粉高、中剂量均可显著改善小鼠脾小结、淋巴细胞的病变 ($P < 0.01$)。

表 7 五味子粉对衰老模型小鼠脾脏组织形态的影响 ($n = 12$)
Table 7 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of spleen tissue in aging model mice ($n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾脏组织形态分级/只			
		-	+	++	+++
对照	—	12	0	0	0
模型	—	0	2	3	7
脑康灵	0.81	3	3	6	0
五味子粉	3.00	4	4	3	1
	1.50	5	4	2	1
	0.75	3	4	3	2

3.3.5 对胸腺组织形态的影响 电镜观察结果(图 4)表明，对照组小鼠胸腺小叶边界清楚，髓质皮质分界清晰，淋巴细胞密集正常；模型组小鼠胸腺小叶边界不清，皮质变薄，淋巴细胞排列稀疏；脑康灵组和五味子粉高、中、低剂量组小鼠胸腺小叶边界清楚，髓质皮质分界清晰，淋巴细胞密集未见明显病理改变。

由表 8 知，经 Ridit 检验，“-”表示胸腺小叶边界清楚，髓质皮质分界清晰，淋巴细胞正常，排列密集；“+”表示胸腺小叶边界清楚，髓质皮质分界清晰，淋巴细胞基本正常；“++”表示胸腺小叶边界清楚，髓质皮质分界较清晰，淋巴细胞病变不明显；“+++”表示胸腺小叶边界不清，皮质变薄，淋巴细胞疏松。与对照组比较，模型组小鼠胸腺组织小叶边界不清，髓质皮质变薄，淋巴细胞减少 ($P < 0.01$)；与模型组比较，五味子粉高、中、低剂量组小鼠小叶边界清楚，髓质皮质分界清晰，淋巴细胞密集，胸腺组织的病变显著改善 ($P < 0.01$)。

4 讨论

衰老是多器官功能减退的生理过程，是生命过程的必然规律。但衰老可诱导阿尔茨海默病、帕金森病、骨质疏松等年龄相关退行性疾病以及代谢综合征、卒中等代谢性疾病的发展，因此有必要研究效果好、作用机制清楚的抗衰老药物^[9]。动物长期注射 D-半乳糖会引起全身代谢紊乱，导致各器官衰

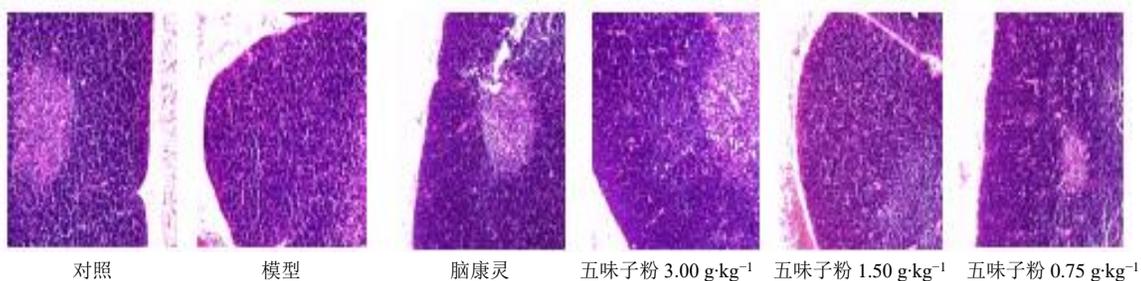


图 4 五味子粉对衰老模型小鼠胸腺组织形态的影响

Fig. 4 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of thymus tissue in aging model mice

表 8 五味子粉对衰老模型小鼠胸腺组织形态的影响 ($n = 12$)
Table 8 Effect of *Schisandrae Chinensis Fructus* powder on morphology of thymus tissue in aging model mice ($n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺组织形态分级/只			
		-	+	++	+++
对照	—	12	0	0	0
模型	—	0	1	2	9
脑康灵	0.81	4	3	3	2
五味子粉	3.00	5	6	1	0
	1.50	5	4	2	1
	0.75	6	3	2	1

退,这一过程与机体的自然衰老过程相似,是衰老研究中常用的一种动物模型^[10]。《神农本草经》将五味子列为上品,具补益强壮之功、奏固涩生津之效,能对人体五脏——心、肝、脾、肺、肾发挥平衡作用。现代研究证实其可作用于心脑血管系统、中枢神经系统、呼吸系统等多个组织系统,具有抗氧化、抗衰老、调节免疫、增强记忆力等功效^[11]。且五味子价廉易得,几乎没有毒副作用。故本实验通过 sc *D*-半乳糖建立衰老小鼠模型,评价五味子粉对衰老小鼠模型影响,验证五味子粉的抗衰老作用。

机体的免疫功能与衰老过程密切相关。胸腺与脾脏是机体 2 种重要的免疫器官,胸腺指数与脾脏指数数值的高低一定程度上能够反映机体胸腺和脾脏免疫功能的状况^[12]。肝细胞受到一种或多种可诱发衰老的刺激后,通过反馈调节机制,促进其他肝细胞启动衰老进程,并伴随一系列炎症反应^[13]。大脑中的神经细胞是学习记忆存在的基础,海马结构及功能与学习记忆能力密切相关,大脑皮质神经细胞与海马神经元衰老或丢失将严重影响学习与记忆能力^[14-15]。故本实验选取胸腺、脾脏、肝脏和大脑组织作为评价五味子粉药效的病理指标。此外,避暗法实验结果表明给予五味子粉治疗后小鼠学习记忆能力明显改善,与已有文献报道的五味子总木脂素或五味子乙素对 *D*-半乳糖所致衰老小鼠显著的记忆改善作用相一致^[16]。

机体氧化应激程度的加剧是衰老发生的重要原因之一,GSH 是体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂,能有效缓解机体内的氧化损伤,其含量是衡量机体抗氧化能力的重要指标;MDA 是脂质过氧化最重要的产物之一,积累过多可造成细胞结构和功能受损。SOD 是脂质过氧化的重要酶,能有效地清

除生物氧化产生的超氧阴离子自由基,降低自由基代谢产物 MDA 的生成,并有终止自由基连锁反应的作用。SOD 清除超氧离子自由基,但生成过氧化氢,CAT 分解过氧化氢,两者协同方能彻底清除超氧离子。所以 CAT、GSH、SOD 和 MDA 可作为反映机体抗氧化能力和清除自由基能力的指标^[17-19]。本实验发现,模型组小鼠全血中 CAT、GSH、SOD 水平显著降低,血浆、肝匀浆以及脑匀浆中 MDA 水平显著升高,表明衰老小鼠模型体内存在氧化应激损伤;各剂量五味子粉能够通过提高 *D*-半乳糖致衰老小鼠全血中抗氧化酶(SOD、CAT、GSH)的活性和抑制自由基代谢产物(MDA)的生成,改善机体紊乱的自由基代谢,减轻脂质过氧化损伤,从而发挥抗衰老作用。

本研究表明,五味子粉能升高 *D*-半乳糖致衰老模型小鼠全血中 CAT、GSH、SOD 水平,降低血浆、肝匀浆以及脑匀浆中 MDA 水平,提高小鼠记忆力,改善脑、肝脏、胸腺、脾脏组织的病理状态与脏器指数,提示该药具有一定的抗衰老功效。

参考文献

- [1] 宋朝春,魏冉磊,樊晓兰,等.衰老及抗衰老药物的研究进展[J].中国生化药物杂志,2015,35(1):163-170.
- [2] 史琳,王志成,冯叙桥.五味子化学成分及药理作用的研究进展[J].药物评价研究,2011,34(3):208-212.
- [3] 肖瑞颖,王伟,钱俊峰.五味子不同产地、部位及提取工艺对木脂素成分含量影响的研究[J].天津药学,2016,28(5):8-11.
- [4] Li L B, Zhang T R. Schisandrin B attenuates acetaminophen-induced hepatic injury through heat-shock protein 27 and 70 in mice [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(3): 640-647.
- [5] 周燕燕.五味子的现代药理作用研究进展[J].海峡药学,2016,28(3):183-184.
- [6] 王艳红,高江霞,孟敏,等.马栗籽提取物对 *D*-半乳糖所致小鼠衰老模型的影响[J].中国新药杂志,2017,26(2):208-213.
- [7] 申晋昌,王灵,吕宏迪,等.心脑宁片对 *D*-半乳糖致小鼠亚急性衰老模型胸腺组织的影响[J].中医学报,2015,30(3):402-404.
- [8] 周新萍,邹玲,吴翠云,等.新疆灰枣叶黄酮对衰老模型小鼠抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2017,38(23):289-294.
- [9] 贺洁宇,刘峰.mTOR 信号通路衰老及衰老相关重大疾病[J].生物化学与生物物理进展,2014,41(3):257-265.

- [10] 丁云录, 张莲珠, 赵昱玮, 等. 卷柏总黄酮对 *D*-半乳糖衰老模型小鼠的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(2): 293-294.
- [11] 周燕燕. 五味子的现代药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2016, 28(3): 183-184.
- [12] 王 晶, 王 勇, 张金花, 等. 党参水提物对 *D*-半乳糖致衰老小鼠胸腺、肾脏组织形态和 Bax 及 VEGF 表达的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(1): 141-145.
- [13] 谭 超, 刘朝奇, 沈雪莲, 等. 肝细胞衰老及其在肝脏疾病和肝细胞移植中作用的研究进展 [J]. 生命科学, 2015, 27(7): 908-913.
- [14] 姜秀梅, 徐小磊, 杨 聪, 等. 金针菇多糖对 *D*-半乳糖衰老小鼠学习记忆能力的影响 [J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2017, 18(5): 603-605.
- [15] 向 玥, 陈粼波, 姚 辉, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对 *D*-半乳糖所致衰老小鼠海马的保护机制 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3789-3795.
- [16] 敬 舒, 刘 健, 李 宁, 等. 北五味子木脂素对 *D*-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的影响 [J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2016, 17(6): 745-749.
- [17] 斯 琴, 刘铜华. 蒙药手掌参-37 味丸对亚急性衰老模型小鼠血清 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量的影响 [J]. 中医药导报, 2014, 20(4): 10-11.
- [18] 曾 宇, 邢增智, 梅寒芳, 等. 当归芍药散及其有效部位对认知障碍模型小鼠学习记忆功能的影响 [J]. 广东药科大学学报, 2017, 33(5): 629-634.
- [19] Peng X, Kong B, Yu H, *et al.* Protective effect of whey protein hydrolysates against oxidative stress in *D*-galactose-induced ageing rats [J]. *Inter Dair J*, 2014, 34(1): 80-85.