

壮精合剂对初老大鼠血清、肝、脑、卵巢中 T-SOD、 GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响^①

刘军杰¹, 黄忠仕², 曾庆春¹, 黄岑汉²②

(1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001 E-mail: 513567797@qq.com;

2. 右江民族医学院, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 观察壮精合剂对初老大鼠血清、肝、脑、卵巢中总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及丙二醛(MDA)含量的影响,探讨其抗衰老作用。**方法** 选用 12 月龄,体重(300±20)g 初老大鼠 50 只,随机分为 5 组,空白对照组、阳性药对照组、壮精合剂高、中、低剂量组,每组 10 只。各组分别灌胃相应药物 8 周后,分光光度法检测大鼠血清、肝、脑、卵巢中 T-SOD、GSH-Px、MDA 值。**结果** 与空白对照组比较,壮精合剂各组、阳性药对照组大鼠血清、肝、脑、卵巢 T-SOD 和 GSH-Px 活性显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),MDA 含量显著降低($P < 0.01$);与阳性药对照组比较,壮精合剂高、中剂量组大鼠血清、肝、脑、卵巢 T-SOD 和 GSH-Px 活性显著升高,MDA 含量显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。**结论** 壮精合剂能明显提高血清、肝、脑、卵巢中 T-SOD、GSH-Px 活性和降低 MDA 含量,提高机体对自由基损害的防御能力,增强其抗氧化能力,提示壮精合剂能起到抗衰老的作用。

关键词: 壮精合剂;抗衰老;总超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;丙二醛

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2014)01-0004-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2014.01.002

Effects of Zhuang Jing mixture (Chinese herbal medicine) on the activities of T-SOD and GSH-Px, the contents of MDA in the serum, liver, brain and ovary of the initial aging rats

Liu Junjie¹, Huang Zhongshi², Zeng Qingchun¹, Huang Cenhan²

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi, China

E-mail: 513567797@qq.com;

2. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of Zhuang Jing mixture (Chinese herbal medicine) on the activities of total superoxide dismutase (T-SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), the contents of malondialdehyde (MDA) in the serum, liver, brain and ovary of the initial aging rats, and to investigate the anti-aging mechanism of Zhuang Jing mixture (ZJM). **Methods** Fifty initial senile rats at 12 months of age and weight of (300 ± 20) g were randomized to 5 groups: blank control group, low-, mid- and high-dose groups of ZJM, positive-medicine control group, with 10 rats in each group. After 8 weeks' drug administration, a spectrophotometric method was used to detect the contents of T-SOD, GSH-Px, MDA in the liver, brain, ovary and other tissues as well as the serum of them. **Results** Compared with the blank control group, ZJM of each dose groups and the positive-medicine control group could improve the activities of T-SOD and GSH-Px ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and decrease the contents of MDA ($P < 0.01$) in the serum, liver, brain and ovary of aging rats obviously. Compared with the positive-medicine control group, high dose and middle dose of ZJM could improve the activities of T-SOD and GSH-Px and decrease the contents of MDA in the serum, liver, brain and ovary of aging rats obviously ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** Zhuang Jing mixture can significantly improve the contents of T-SOD, GSH-Px in the serum, liver, brain and ovary, and lower the level of MDA, and increase the defense capability to free radical damage, and enhance the anti-oxidative capacity, which suggest that Zhuang Jing mixture have anti-aging effect.

① 基金项目:广西自然科学基金面上项目(合同编号:2010GXNSFA013265)

② 通讯作者,E-mail:hchgx@sina.com

Key words: Zhuang Jing mixture; anti-aging; superoxide dismutase; glutathione peroxidase; malondialdehyde

衰老一直被认为是生命发展过程中的必然规律,是不可避免的。但近年来,人们逐渐认识到采取干预措施延缓衰老对人体更有益。《内经》曰:“夫精者生之本。”明代虞传《医学正传》曰:“肾气盛则寿延,肾气衰则寿夭。”王正引等^[1]认为肾虚是人体衰老的主要原因。气血^[2]是人体生命活动的物质基础。气血充足则健康长寿;气血虚则生病、衰老。壮精合剂是根据壮医学理论及虚则补之的治疗原则,从精血论治的角度由土人参、绞股蓝、扶芳藤、大地棕根等配伍而成。全方能够补益精气、调经养血,使精气旺盛、气血调和、龙路通达。笔者通过分析壮精合剂对初老大鼠血清、肝、脑、卵巢等组织总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及丙二醛(MDA)含量的影响,以探讨其抗衰老作用,从而为临床选用抗衰老药物提供科学数据及参考。现将实验方法及结果报告如下:

1 实验材料

1.1 动物 选用 12 月龄健康雌性 SD 大鼠 50 只,体重(300±20) g,由右江民族医学院实验动物中心提供(许可证:SCXK 桂 2012-0003)。自动控制光照,在通风、温度及湿度适宜的动物室内常规饲养。

1.2 药物及试剂 壮精合剂(土人参 30 g,绞股蓝 25 g,扶芳藤 20 g,大地棕根 10 g)。阳性药对照组:古汉养生精(批号:902630-126904)。T-SOD(总超氧化物歧化酶试剂盒,批号:20131030)、GSH-PX(谷胱甘肽过氧化物酶试剂盒,批号:20131026)、MDA(丙二醛试剂盒,批号:20131106)均由南京建成生物工程研究所提供。

2 方法

2.1 模型建立 采用自然老化法。初老大鼠模型:选 12 月龄雌性大鼠,采取阴道脱落细胞涂片巴氏染色连续观察 4 个动情周期,以阴道细胞学表现动情周期长,之后持续动情、反复假妊娠时,作为自然衰老的初老大鼠模型^[3-5]。

2.2 分组与给药 将造模成功的 50 只 12 月龄雌性 SD 初老大鼠随机分为 5 组,分别为空白对照组、壮精合剂低剂量组、壮精合剂中剂量组、壮精合剂高剂量组、阳性药对照组,每组 10 只。空白对照组给予纯净水,10 ml·kg⁻¹,壮精合剂低、中、高剂量组分别给予壮精合剂 6 g·kg⁻¹、15 g·kg⁻¹、30 g·kg⁻¹,阳性药对照组给予古汉养生精 4.8 g·kg⁻¹。以上各组每日灌胃给药 1 次,连续 8 周。

2.3 仪器与设备 高速分散匀质机,WFZ-UV2000 紫外可见分光光度计,离心机,水浴锅,移液器,电子天平等均由右江民族医学院科学实验中心提供。

2.4 样本处理和指标测定 治疗结束后,摘大鼠眼球取血,血液经 3 000 r/min⁻¹离心 10 min,分离血清;同时迅速剥离大鼠脑组织,摘取肝、卵巢等组织于 4℃ 预冷的生理盐水漂洗除去血液,用滤纸吸干多余水分,于电子天平上称重,并分别加 9 倍体积(重量/体积)的冰生理盐水,用高速分散匀质机制成 10% 的相应组织匀浆,按试剂盒操作说明分别对各组大鼠血清、脑匀浆、肝匀浆、卵巢匀浆等进行 SOD、GSH-Px、MDA 测定。

2.5 统计学方法 数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,各指标以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间样本均数比较采用方差分析和 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠血清中自由基含量测定 见表 1。统计处理表明,与空白对照组比较,阳性药对照组及壮精合剂高、中、低剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与阳性药对照组比较,壮精合

剂高剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 1 壮精合剂对各组初老大鼠血清中自由基含量检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	T-SOD	GSH-Px	MDA
空白对照组	130.24±5.42	141.50±6.24	10.85±1.15
阳性药对照组	153.72±4.51 ^b	223.57±19.19 ^b	7.04±0.96 ^b
壮精合剂高剂量组	163.74±7.96 ^{bc}	270.78±14.36 ^{bd}	6.28±0.58 ^{bc}
壮精合剂中剂量组	151.08±7.49 ^b	224.26±15.96 ^b	7.16±0.53 ^b
壮精合剂低剂量组	140.71±6.72 ^a	190.59±15.42 ^b	7.66±0.45 ^b

注:与空白对照组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$;与阳性药对照组比较,c: $P < 0.05$,d: $P < 0.01$

3.2 大鼠肝脏组织中自由基含量测定 见表 2。统计处理表明,与空白对照组比较,阳性药对照组及壮精合剂高、中、低剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与阳性药对照组比较,壮精合剂高剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),壮精合剂中剂量组 MDA 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 壮精合剂对各组初老大鼠肝脏中自由基含量检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	T-SOD	GSH-Px	MDA
空白对照组	176.88±4.60	638.59±34.80	22.55±2.37
阳性药对照组	201.01±8.12 ^b	972.85±40.49 ^b	18.59±1.40 ^b
壮精合剂高剂量组	219.94±7.78 ^{bd}	1152.59±49.07 ^{bd}	15.99±1.51 ^{bd}
壮精合剂中剂量组	206.50±7.97 ^b	53.39±32.61 ^b	16.81±1.16 ^{bd}
壮精合剂低剂量组	185.18±6.22 ^b	770.88±29.97 ^b	17.93±1.24 ^b

注:与空白对照组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$;与阳性药对照组比较,c: $P < 0.05$,d: $P < 0.01$

3.3 大鼠脑组织中自由基含量测定 见表 3。统计处理表明,与空白对照组比较,阳性药对照组及壮精合剂高、中、低剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与阳性药对照组比较,壮精合剂高剂量组 GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 3 壮精合剂对各组初老大鼠脑中自由基含量检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	T-SOD	GSH-Px	MDA
空白对照组	82.62±5.22	16.19±1.97	6.28±0.92
阳性药对照组	116.39±8.94 ^b	26.83±1.88 ^b	2.83±0.65 ^b
壮精合剂高剂量组	116.17±7.70 ^b	31.26±2.63 ^{bd}	2.32±0.36 ^{bc}
壮精合剂中剂量组	105.64±7.40 ^b	27.86±1.41 ^b	2.82±0.20 ^b
壮精合剂低剂量组	93.03±7.85 ^b	23.03±1.50 ^b	3.31±0.65 ^b

注:与空白对照组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$;与阳性药对照组比较,c: $P < 0.05$,d: $P < 0.01$

3.4 大鼠卵巢组织中自由基含量测定 见表 4。统计处理表

明,与空白对照组比较,阳性药对照组及壮精合剂高、中、低剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与阳性药对照组比较,壮精合剂高剂量组 T-SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表4 壮精合剂对各组初老大鼠卵巢中
自由基含量检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	T-SOD	GSH-Px	MDA
空白对照组	25.12±1.85	5.13±0.38	5.42±0.50
阳性药对照组	39.46±2.59 ^b	8.09±0.59 ^b	2.97±0.46 ^b
壮精合剂高剂量组	48.52±2.47 ^{bd}	11.61±0.90 ^{bd}	2.95±0.16 ^b
壮精合剂中剂量组	40.79±2.39 ^b	7.93±0.89 ^b	3.14±0.31 ^b
壮精合剂低剂量组	32.36±2.14 ^b	6.75±0.61 ^b	3.57±0.31 ^b

注:与空白对照组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$;与阳性药对照组比较,c: $P < 0.05$,d: $P < 0.01$

4 讨论

衰老机制的研究从整体水平和器官水平到细胞水平与分子水平已取得重大的进展。1956年由英国学者 Harman^[6]首先提出的自由基学说(free radical theory)是具有代表性的衰老学说之一。其认为在人体内存在清除自由基的防御系统比如 T-SOD、GSH-Px 等。伴随年龄的增长,机体抗氧化防御物质合成和活性下降,清除自由基的能力亦随之降低,导致自由基代谢产物 MDA 等大量堆积,从而加速机体的衰老^[7-9]。因此,在抗衰老的实验中,测定自由基的代谢含量有重大意义。

中医药在抗衰老抗氧化的研究中,以其特有的效果占据着越来越重要的地位。中医认为脏腑虚衰是导致人衰老、死亡的原因^[10-11]。肾虚是人体衰老的主要原因。根据治病求本的原则,由黄芪、枸杞、黄精、淫羊藿等药物组成的古汉养生精,补肾益气、填精补髓,具有抗衰老的功效,已上市销售,故选作阳性药对照组。

4.1 壮精合剂抗氧化作用 本实验结果显示给予初老大鼠壮精合剂灌胃 8 周以后,与空白对照组比较,壮精合剂各组大鼠血清及肝、脑、卵巢等组织 T-SOD、GSH-Px 含量有明显提高;与阳性对照组相比,壮精合剂高剂量组血清及肝、卵巢等组织 T-SOD、GSH-Px 有明显提高,大鼠脑组织 GSH-Px 含量有明显提高。在壮精合剂高、中、低剂量组对比中,高剂量数据在趋势上呈现出明显优势,可以初步判断高剂量效果最佳。

4.2 壮精合剂清除代谢产物的能力 本实验结果显示给予初老大鼠壮精合剂灌胃 8 周以后,与空白对照组比较,壮精合剂

各组大鼠血清及肝、脑、卵巢等组织 MDA 含量有高度明显降低;与阳性药对照组相比,壮精合剂高剂量组大鼠血清及肝、脑等组织 MDA 含量有降低,在卵巢组织中比较差异无统计学意义,说明壮精合剂高剂量组在卵巢中与古汉养生精作用差异无统计学意义,在血清及肝、脑等组织作用明显优于古汉养生精。

综上所述,壮精合剂能够明显提高初老大鼠机体抗氧化能力和降低自由基的生成,从而起到延缓衰老的功效。但是中药的成分是复杂多样的,复方更是如此,对于机体的调节是多种成分综合作用的结果,壮精合剂对体内其他激素变化是否存在作用尚需进一步实验证实。

参考文献:

- [1] 王正引,张小如,梁海凌. 近 10 年补肾方药延缓衰老实验研究述要[J]. 中华中医药杂志, 2011,26(11): 2648-2651.
- [2] 王印川. 浅谈年老与气血[J]. 陕西中医, 2012,33(11): 1568.
- [3] 谢启文. 现代神经内分泌学[M]. 上海:上海医科大学出版社,1999:385-389.
- [4] 程化奇,熊舜华,殷新尤. 大鼠更年期实验模型研究[J]. 上海实验动物科学,1993,13(4):192-196.
- [5] 姜艳,陈志良,王春霞. 齐墩果酸对更年期大鼠作用的实验研究[J]. 中药材, 2005,28(7): 584-586.
- [6] Harman D. Aging:a theory based on free radical and radiation chemistry [J]. Gerontol, 1956, 11(3): 298-300.
- [7] Vohra BP, Sharma SP, Kansal VK. Age-dependent variations in mitochondrial and cytosolic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different regions of central nervous system of guinea pigs[J]. Indian J Biochem Biophys, 2001,38(5):321-326.
- [8] LIU Kunzhi. The effect of deoxyrmonucleic acid on the activity of SH-pemxide dismutase and peroxides [J]. Acta Laser Biology Sinica,2002,11(2):119-121.
- [9] 贾秀月,高艳华,赵晓莲,等. 自由基与抗衰老的研究概况[J]. 黑龙江医药科学,2007,30(2):75-76.
- [10] 侯乐,张智琳,唐咏,等. 中医抗衰老源流及现代研究概况[J]. 中医杂志,2004,45(11):870-872.
- [11] 田清涓. 中医学对衰老的认识[J]. 江苏经贸职业技术学院学报,2013(4):62-64.

收稿日期:2014-01-06