论著

文章编号:1000-5404(2005)15-1564-05

灵芝发酵液对衰老大鼠抗氧化作用及其性功能的研究

郭 芳[1],齐亚娟[2],张永健[1],王永利[1] ([1]河北医科大学药理学教研室,石家庄 050017;[2]华北煤炭医学院药理学教研室,唐山 063000)

提 要:目的 观察灵芝发酵液对衰老大鼠、D-半乳糖所致衰老大鼠的自由基相关酶和代谢产物、大脑皮层超微结构、红细胞膜及性功能的影响。**方法** ①选取24月龄SD大鼠,测定不同剂量灵芝发酵液对血和/或脑组织总抗氧化活力、维生素C、丙二醛、谷胱甘肽的活性或含量的影响。②SD大鼠,随机分6组,分别为空白对照组、模型对照组、灵芝发酵液(0.3、0.6、1.2 g/kg)、维生素E 0.8 g/kg组,除空白对照组外,各组均皮下注射D-半乳糖50 mg·kg^{-1}·d^{-1},测定血和脑组织中SOD、MDA、GSH-Px、MAO、LPF的活性或含量,并通过透射电镜观察大脑神经元超微结构的变化。③观察灵芝发酵液对红细胞膜上丙二醛含量的影响。④观察灵芝发酵液对阴茎勃起潜伏期、扑捉潜伏期、扑捉次数、射精次数、射精潜伏期的影响。**结果** ①灵芝发酵液1.2 g/kg可明显提高总抗氧化活力和抗坏血酸的含量,降低MDA含量,而对谷胱甘肽无明显影响。②灵芝发酵液0.3 g/kg可升高GSH-Px的活性,降低MDA、LPF的含量,而对其它相关酶及代谢产物无明显影响;0.6 g/kg组可降低LPF、MDA的含量,增加血清中SOD的活性;1.2 g/kg可使SOD、GSH-Px活性的升高,降低MDA和LPF含量,也可抑制MAO的活性。灵芝发酵液可剂量依赖性的减轻D-半乳糖引起的神经元变性。③灵芝发酵液0.6、1.2 g/kg组可使红细胞膜MDA含量明显降低,0.3 g/kg组则无明显影响。④灵芝发酵液1.2 g/kg可缩短阴茎勃起潜伏期,0.6 g/kg明显增加扑捉次数和射精次数,缩短扑捉潜伏期和射精潜伏期,0.3 g/kg组只缩短扑捉潜伏期。**结论** 灵芝发酵液能通过抑制脂质过氧化物的形成和/或提高抗氧化酶的活性,改善D-半乳糖导致脑超微结构变化,具有显著的抗氧化作用,且对性功能有一定的影响。

关键词: 自由基;抗氧化;灵芝发酵液;D-半乳糖;脂质过氧化;超微结构;性功能

中图法分类号: R285;R339.34 **文献标识码:** A

Antioxidation of mythic fungus broth on senile rat models induced by D-galactose

GUO Fang[1], QI Ya-juan[2], ZHANG Yong-jian[1], WANG Yong-li[1] ([1]Department of Pharmacology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, [2]Department of Pharmacology, North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China)

Abstract: Objective To study the effect of mythic fungus broth (FMF) on the free radicals, erythrocyte membrane, sexual function and ultrastructure of the brain mantle in D-galactose induced senile rats. **Methods** ①Thirty SD rats of 24 months old were divided into 3 groups: water control, FMF group (1.2 g/kg) and vitamin E group (0.8 g/kg). The action of antiaging in rats was studied by determining the oxidative activity of the plasma, the content of vitamin C, glutathin and malondialdehyde in the blood serum and the brain tissue. ②Sixty SD rats of 6 – 7 months were divided into 6 groups: control group, model group, 0.3 g/kg FMF group, 0.6 g/kg FMF group, 1.2 g/kg FMF group and vitamin E group. All rats except the control group were injected subcutanously with 1% D-galactose at the dose of 50 mg·kg^{-1}·d^{-1}. The antiaging action was studied by measuring the activities or content of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxide (GSH-Px), monoamine (MAO) and lipofuscin (LPF) in the blood serum or/and the brain tissue. The protein content in the brain tissue was determined by Coomassive technique. The ultrastructural change in the cerebral neurons was observed by transmission electron microscope. ③The effect of FMF on the erythrocyte membrance was studied by assaying the MDA content. ④The change of sexual function was studied by the copulation test in 40 female and 40 male SD rats of 4 – 5 months. **Results** ①In the aging rats, the 1.2 g/kg

作者简介:郭 芳(1971 –),女,河北省石家庄市人,博士研究生,讲师,主要从事心脑血管药理学方面的研究。电话:(0311)6266824

通讯作者:王永利,电话:(0311)6057291

收稿日期:2004-09-28;修回日期:2004-11-20

FMF increased the oxidative activities of the plasma ($P<0.01$) and the content of vitamin C of the blood serum ($P<0.01$), decreased the MDA content in the blood serum and the brain tissue ($P<0.05$), but had no significant effect on the GSH. ② 0.3 g/kg FMF enchanced the GSH-Px activities ($P<0.01$), decreased the MDA content in the blood and brain tissue ($P<0.01$) and the LPF content in the brain tissue ($P<0.05$), but had no effects on other enzyme and metabolites; 0.6 g/kg FMF decreased the LPF content ($P<0.05$) and MDA content ($P<0.01$), enchanced the SOD activities ($P<0.05$); 1.2 g/kg FMF increased the SOD activities($P<0.05$) and GSH-Px content ($P<0.05$), decreased the MDA content ($P<0.01$ or 0.05) and LPF content ($P<0.05$), and the MAO activities ($P<0.05$) in the blood serum and/or the brain tissue. D-galactose increased lipofuscin, made mitochondria swollen and degenerated, mitochondria broken and vacuolated, nucleus teratic, nuclear membrane plicated, nucleolus shifted to edge, and Golgi complex vacuolated. The FMF improved remarkedly the changes induced by D-galactose. ③ 0.6 g/kg FMF and 1.2 g/kg FMF decreased the contents of the MDA in the erythrocyte membrane ($P<0.01$), but 0.3 g/kg did not. ④In the test of strengthening sexual function, 1.2 g/kg FMF shortened the latency of the penis erection ($P<0.01$). In the mating test, 0.6 g/kg FMF increased the number of capture and ejaculation ($P<0.01$), shortened the latency of capture ($P<0.01$) and ejaculation ($P<0.01$), 0.3 g/kg FMF only shortened the latency of capture ($P<0.05$). **Conclusion** FMF can delay aging, decrease lipid oxidation, increase the activity of antioxidase, enhance the sexual function of male rats.

Key words: free radical; antioxidation; mythic fungus broth; D-galactose; lipid peroxidation; ultrastructure; sexual function

脑功能衰退是影响老年人生活质量的重要原因之一,探讨老化机制及研究有效抗衰老药物已经成为当今医学研究的重要课题之一。关于衰老产生的机制的众多种学说中,Harman 提出的自由基学说一直被大家所普遍关注。D-半乳糖衰老模型由徐敽本首次提出,许多学者在大鼠和小鼠上都证实该模型表现出几种与人类自然衰老相类似的生化改变[1,2];本实验所采用的灵芝发酵液是以灵芝为主料,加入其它物料,经过金顶侧耳发酵等多道工艺研制而成。而据史料记载灵芝"甘平、无毒、疗虚劳"。现代药理学研究也表明,灵芝提取液能明显延长果蝇的平均寿命和平均最高寿命,降低血中 MDA 的含量,增强 SOD 活力[2]。本实验主要研究其对自由基代谢酶、抗氧化剂、大脑神经元超微结构、生物膜、性功能方面的作用。

1　材料与方法

1.1　主要仪器和试剂

灵芝发酵液(主要含灵芝、甘草、金顶侧耳等)由河北大学生物技术研究中心提供,临用时用蒸馏水配成所需浓度;维生素 E(Sigma 公司),用玉米油配制成 25% 备用;谷胱甘肽还原酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、单胺氧化酶(MAO)、考马斯亮蓝试剂盒(南京建成生物工程研究所),丙二醛(MDA)试剂盒、维生素 C 试剂盒、总抗氧化活试剂盒(南京聚力生物工程研究所);D-半乳糖(上海恒信化学试剂有限公司),用生理盐水配制成 1% 浓度备用;Fluostar 多功能荧光板(BMG 公司);半自动生化测定仪(Eppendorf 公司),LKB-Ⅴ型超薄切片机,日立 H-7500 透射电镜。

1.2　动物

24 月龄 SD 大鼠 30 只,体质量 500 ~ 600 g,雌雄各半,由河北省实验动物中心提供,区组随机分为 3 组,每组 10 只,分别为对照组、灵芝发酵液组、维生素 E 组。各组均灌胃给药,对照组和灵芝发酵液组容积为 1 ml/100 g,维生素 E 组为 0.2 ml/100 g。灵芝发酵液组给予 1.2 g/kg 灵芝发酵液,维生素 E 组给予 0.8 g/kg 维生素 E,对照组给予生理盐水,连续给药 14 d。

6 ~ 7 月龄 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体质量 150 ~ 200 g,由河北省实验动物中心提供,区组随机分为 6 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型对照组、灵芝发酵液 0.3、0.6、1.2 g/kg 剂量组、维生素 E 0.8 g/kg 组。参照文献[4]除空白对照组外,各组均皮下注射 1 % D-半乳糖 50 mg · kg^{-1} · d^{-1}。各组均灌胃给药,灌胃容积为 1 ml/100 g,连续给药 50 d。

1.3　大脑脂褐素(LPF)含量的测定[5](荧光法)

停药后第 2 天,将大鼠脱脊柱处死,迅速取大脑皮层 200 mg,加氯仿-甲醇(2∶1)4 ml,匀浆,3 000 r/min,振荡 3 min,1 500 r/min,离心 10 min,取下层液,转移到另 1 试管,加氯仿至 5 ml,紫外灯下照射 30 s,激发波长 360 nm,发射波长 450 nm,以每毫升 0.05 mol/L 硫酸含 0.1 μg 硫酸奎宁的溶液的荧光强度为 10 U,计算每克湿组织的荧光计数单位,以 U/g 表示。

1.4　自由基相关代谢酶类的测定

于停药后第 2 天,眼眶取血,4 000 r/min 离心 10 min,取血清备用。大鼠脱脊柱处死,迅速取出大脑,去除丘脑、小脑、延髓,以 pH 7.4 磷酸盐缓冲液冰浴下配制成 1% 脑组织匀浆,1 500 r/min 离心,取上清液备用。采用试剂盒测定血清和脑组织中 SOD(黄嘌呤氧化酶法)、谷胱甘肽 GSH-Px(DTNB 法)、MAO、MDA(硫代 TBA 法)的含量或活性。脑组织中蛋白含量采用考马斯亮蓝法。

1.5 电镜样品制备

于实验前12 h禁食,12 h后大鼠脱脊柱处死,迅速取出大脑,去除丘脑、小脑、延髓,取左侧大脑中央后回皮质1 mm×1 mm×3 mm小块做透射电镜标本,经4%戊二醛(0.1 mol/L PBS pH 7.4缓冲液)固定2 h,1%锇酸固定1 h,梯度丙酮脱水,812环氧树脂包埋,半薄切片定位锥体细胞层,切片机切片,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,透射电镜观察。

1.6 对红细胞膜MDA的影响

1.6.1 红细胞影泡的制备 采用Dodge[6]低渗溶血方法制备。取4~5月龄大鼠5只,眼眶取血20 ml,置于事先肝素化(625 U/ml)的试管中,3 000 r/min,离心10 min。用1∶3生理盐水洗涤2次,1∶1悬浮在生理盐水,制成红细胞悬浮液。加入5 mmol/L,pH 8.4磷酸缓冲液(1∶30) 4 ℃ 1 h溶血,制成红细胞溶液。2 000 r/min,4 ℃离心,40 min,弃上清液,5 mmol/L,pH 8.4磷酸缓冲液洗涤3次,最后悬浮在5 mmol/L,pH 8.4磷酸缓冲液中,制成红细胞影泡悬浮液。

1.6.2 氧化红细胞影泡制备[7] 取制备好的红细胞影泡加邻苯三酚溶液(终浓度1 mmol/L),混匀37 ℃,水浴10 min,加6倍量的10 mmol/L,pH 7.4磷酸缓冲液(等渗)稀释,2 000 r/min,4 ℃离心40 min,沉淀即为氧化红细胞封闭影泡。

1.6.3 抗氧化红细胞影泡制备 取制备好的红细胞影泡悬浮液,分别加入灵芝发酵液1.2、0.6、0.3 g/kg,维生素E 0.8 g/kg(终浓度1 mmol/L),然后按1.6.2进行,沉淀即为抗氧化红细胞影泡。按1.4方法测定MDA的含量。

1.7 对大鼠性功能的影响

1.7.1 壮阳实验 4~5月龄SD大鼠30只,雄性,体质量200~300 g,由河北省实验动物中心提供,区组随机分为3组,每组10只,分别为雄狮丸组(1 g/kg)、灵芝发酵液组(1.2 g/kg)和空白对照组。各组均灌胃给药,灌胃容积为10 ml/kg,连续给药6 d。于末次给药后30 min,将刺激电极放置于大鼠阴茎部位,给予局部刺激,电流强度为4 mA。记录自刺激开始至阴茎勃起的时间(勃起潜伏期)。

1.7.2 交配实验 取4~5月龄SD大鼠40只,雌性,体质量200~300 g,2%戊巴比妥钠麻醉,行双侧卵巢切除术,术后肌注青霉素2万U/kg,连续3 d。卵巢切除2周后进行实验。在实验前48 h,皮下注射苯甲酸雌二醇(200 μg/kg),实验前4 h,皮下注射黄体酮(2 mg/kg)。另取SD雄性大鼠,4~5月龄,40只,区组随机分为4组,分别为雄狮丸组(1 g/kg)、灵芝发酵液组(0.6、0.3 g/kg)和空白对照组,每组均灌胃给药,容积均为10 ml/kg,连续给药6 d。于末次给药后30 min,将雄性大鼠放入笼中5 min,使其适应环境后,每笼加入1只雌鼠,观察40 min,并记录下列指标:①自雌鼠投入至雄鼠第1次扑捉雌鼠的时间(扑捉潜伏期);②40 min内,雄鼠扑捉雌鼠或爬背的动作次数(扑捉次数);③40 min,雄鼠扑捉雌鼠或爬背成功后出现添阴茎的次数(射精次数);④自雄鼠爬背成功出现添阴茎时间(射精潜伏期)。

1.8 统计学处理

实验数据采用$\bar{x} \pm s$表示,NDST统计软件行组间t检验。壮阳实验和交配实验进行秩和检验。

2 结果

2.1 灵芝发酵液对衰老大鼠自由基代谢产物和相关酶的影响

灵芝发酵液1.2 g/kg组能明显提高血浆总抗氧化活力和抗坏血酸的含量,降低血和脑组织中MDA含量($P<0.05$,$P<0.01$),而对GSH无明显影响,结果见表1。

表1 灵芝发酵液对衰老大鼠总抗氧化活力、抗坏血酸、GSH和MDA的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of FMF on the oxidative activity, vitamin C, glutathin GSH and MDA of the aging rats ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (g/kg)	Oxidative activity (U/ml)	Vitamin C (μg/ml)	GSH		MDA	
				Serum (mmol/L)	Brain (mmol/mg)	Serum (mmol/L)	Brain (mmol/mg)
Control	—	0.35±0.21	4.2±2.3	0.79±0.65	3.2±1.9	12.5±3.2	16.9±3.3
FMF	1.2	1.42±0.49**	19.1±8.9**	1.09±0.01	5.2±1.2	9.3±3.8*	11.4±2.6*
Vitamin E	0.8	2.10±0.41**	27.0±9.3**	1.55±0.19	4.7±1.3	6.5±1.0*	9.7±2.0**

FMF: mythic fungus broth; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* control

2.2 灵芝发酵液对D-半乳糖所致衰老大鼠血清中SOD、GSH-Px、MDA、MAO的影响

D-半乳糖模型对照组较空白对照组SOD、GSH-Px的活性降低,MDA的含量升高,MAO的活性增高。灵芝发酵液3个剂量组均可降低MDA的含量,0.3、1.2 g/kg组能明显提高GSH-Px的活性,0.6、1.2 g/kg组能明显提高SOD的活性,1.2 g/kg组抑制MAO的活性($P<0.01$),见表2。

2.3 灵芝发酵液对D-半乳糖所致衰老大鼠脑组织中SOD、GSH-PX、MDA、MAO的影响

D-半乳糖模型对照组较空白对照组SOD和GSH-Px的活性降低,MDA的含量升高,LPF含量明显增高。灵芝发酵液各剂量组可明显降低MDA、LPF的含量,1.2 g/kg组能明显提高SOD的活性,而对GSH-Px各剂量组均无明显影响,结果见表3。

表2 灵芝发酵液对D-半乳糖所致衰老大鼠血清中SOD、GSH-Px、MDA、MAO的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of FMF on the activities of SOD, GSH-Px, MDA and MAO in the blood serum induced by D-galactose ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (g/kg)	SOD (U/ml)	GSH-Px (U/L)	MDA (mmol/L)	MAO (U/L)
Control	—	123±20**	150±21*	10.04±0.23**	149±40*
Model	—	94±21	123±27	12.88±0.25	197±47
FMF	0.3	87±12	159±9**	8.18±0.16**	194±35
	0.6	118±21*	141±3	10.18±0.32*	193±36
	1.2	134±42*	142±2*	7.82±0.29**	151±34*
Vitamin E	0.8	108±18*	148±18*	8.51±0.39**	157±19*

FMF: mythic fungus broth; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* model

表 3　灵芝发酵液对脑组织中 SOD、GSH-Px、MDA、LPF 的影响（$n=10$, $\bar{x}\pm s$）

Tab 3　Effects of FMF on the activities of SOD, GSH-Px, MDA and LPF in the brain tissue induced by D-galactose ($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Group	Dose (g/kg)	SOD (U/mg)	GSH-Px (U/mg)	MDA (mmol/mg)	LPF (U/g)
Control	—	150 ± 13 *	54 ± 6 *	5.3 ± 1.8 **	125 ± 35 *
Model	—	134 ± 22	46 ± 6	7.2 ± 0.8	184 ± 61
FMF	0.3	146 ± 13	45 ± 8	5.7 ± 1.7 **	154 ± 32 *
	0.6	150 ± 11	44 ± 5	5.6 ± 0.8 **	130 ± 32 *
	1.2	157 ± 16 *	51 ± 6	6.2 ± 1.0 *	132 ± 36 *
Vitamin E	0.8	153 ± 15 *	55 ± 3 *	5.5 ± 0.5 **	120 ± 34 *

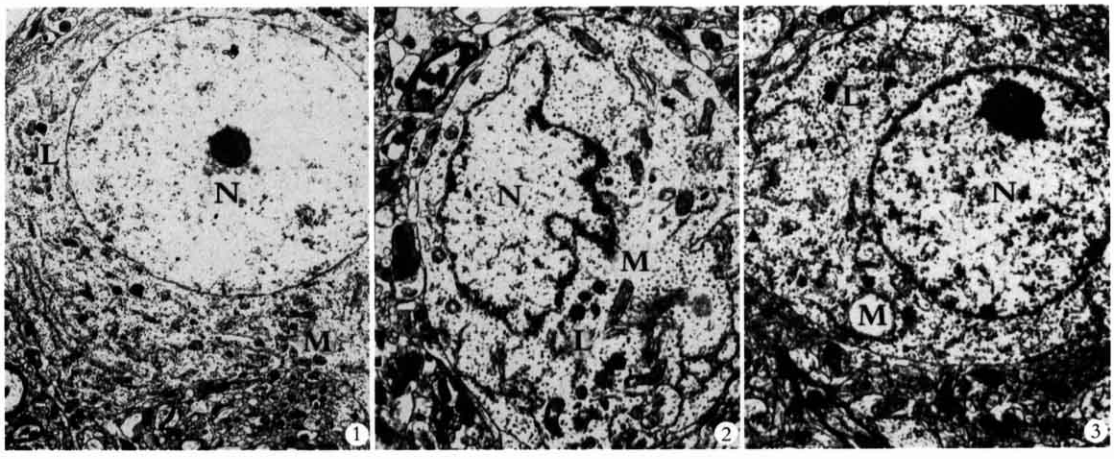
FMF: mythic fungus broth; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* model

2.4　电镜观察结果

空白对照组:细胞核内可见 1 ~ 3 个大而圆的核仁,常染色质多,异染色质少,核周细胞质内可见 1 ~ 2 个脂褐素,内含致密颗粒小体,边缘有空泡;线粒体一部分呈圆形,数量较少,一部分呈长椭圆形,形状大小不一,数量较多。可见大小和形状不一的线粒体嵴,线粒体内室基质的电子密度高,可见大小不等的粗大颗粒;高尔基复合体可见 3 ~ 8 层平行排列的扁平囊,呈弓形,在扁平囊形成面的周围可见球形,大小不等的小泡,在分泌面可见球形的大泡;初级溶酶体,近似圆形,小泡内容物呈均质性;粗面内质网外表面附有核糖体,分散呈群;可见游离核糖体(图 1)。

模型对照组:注射后 D-半乳糖后,神经元胞体的细胞核明显畸形,核膜突出或缺损;核仁偏移或消失;高尔基复合体明显空泡变;线粒体外形畸形,明显肿胀,嵴排列紊乱,部分嵴消失,部分线粒体膜破损,空泡变;脂褐素明显增多(4 ~ 6 个)(图 2)。

灵芝发酵液 0.3 g/kg 组、灵芝发酵液 0.6 g/kg 组和灵芝发酵液 1.2 g/kg 组可剂量依赖性的使 D-半乳糖引起的衰老改变明显减轻(图 3)。



M: Mitochondria; L: Lipofuscin; N: Nucleus

图 1　空白对照组:大脑神经元超微结构正常（Bar = 3.3 μm）

Fig 1　Normal cerebral neuron ultrastructure in control group（Bar = 3.3 μm）

图 2　模型对照组:细胞核畸形,核膜部分断裂,核仁消失（Bar = 2.0 μm）

Fig 2　Teratic nucleus, plicated nuclear membrane by D-galactose in model group（Bar = 2.0 μm）

图 3　灵芝发酵液 1.2 g/kg 组: 细胞核稍畸形（Bar = 2.5 μm）

Fig 3　Teratic nucleus in 1.2 g/kg FMF group（Bar = 2.5 μm）

2.5　灵芝发酵液对红细胞膜 MDA 的影响

给予邻苯三酚后,红细胞膜上 MDA 含量(0.57 ± 0.05) mmol/mg 较对照组(0.37 ± 0.03) mmol/mg 明显升高($P<0.01$)。灵芝发酵液 0.6 g/kg 及 1.2 g/kg 组可使红细胞膜 MDA 含量明显降低($P<0.01$),分别为(0.48 ± 0.03) mmol/mg 和 (0.42 ± 0.02) mmol/mg。

2.6　灵芝发酵液对大鼠性功能的影响

壮阳实验中,灵芝发酵液 1.2 g/kg 可使大鼠阴茎勃起潜伏期(9.9 ± 6.9) s 较对照组(41.8 ± 32.7) s 明显缩短($P<0.01$)。交配实验中,灵芝发酵液 0.6 g/kg 明显增加雄性大鼠交配实验中的扑捉次数和射精次数($P<0.01$),缩短扑捉潜伏期和射精潜伏期($P<0.01$),0.3 g/kg 组只缩短扑捉潜伏期,结果见表 4。

表 4　灵芝发酵液对交配实验的影响（$n=10$, $\bar{x}\pm s$）

Tab 4　Effects of FMF on the mating test of the rats ($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Group	Dose (g/kg)	CLP (1/s)	Capture times (times /min)	ELP(1/s)	ET (times/min)
Control	—	0.005 ± 0.003	23 ± 16	0.003 ± 0.002	18 ± 16
FMF	0.3	0.012 ± 0.010 **	30 ± 16	0.007 ± 0.006	26 ± 15
XSW	0.6	0.027 ± 0.026 **	56 ± 39 **	0.020 ± 0.010 **	51 ± 39 **
	1.0	0.018 ± 0.011 **	30 ± 16 **	0.006 ± 0.004	47 ± 15 **

CLP: Latent period of capture; ET: Times of ejaculation; ELP: Latent period of ejaculation; FMF: Mythic fungus broth; XSW: Xiong Shi Wan; **: $P<0.01$, *vs* control

3 讨论

随年龄增长，机体内物质代谢发生改变，酶活性降低，使自由基产生过多或清除能力下降，从而自由基的产生与清除失去平衡，引起衰老和各种疾病。灵芝提取物对自由基有较强的清除作用，在3种不同品种的灵芝提取物中，白灵芝的清除效果最佳，紫灵芝次之，而赤灵芝最差[8]。灵芝多糖可减少小鼠腹腔巨噬细胞内自由基的生成，清除活性氧自由基，并抑制氧化剂起的膜样变性和坏死，提高细胞的存活率，对四氧嘧啶引发的小鼠氧自由基损伤也有保护作用[9]。D-半乳糖亚急性大鼠衰老模型是根据衰老的代谢紊乱学说研制而成[9]。D-半乳糖可导致SOD、GSH-Px活性降低，MAO活性增高，MDA、LPF含量增高。本实验结果表明，灵芝发酵液可以提高SOD、GSH-Px的活性，降低MAO、MDA、LPF的含量，说明其抗衰老的机制可能是通过提高内源性抗衰老物质的活性，抑制脂质过氧化反应，或对自由基有直接清除作用。

D-半乳糖脑老化模型其机制是氧自由基介导的过氧化反应，特别是以O_2^-为主的自由基介导的脂质过氧化反应，O_2^-可使酶的孔隙增大、通透性增加、出现退行性变化，从而使内质网膜、线粒体膜、溶酶体膜等生物膜系统的液态镶嵌状态发生变化，导致广泛性损伤和病变。本实验通过观察D-半乳糖果所致衰老大鼠神经元超微结构的变化，发现灵芝发酵液与维生素E相似，能减轻D-半乳糖所致的神经元胞体的超微结构变化，并呈剂量依赖性，说明其抗氧化作用可能与抑制机体内的脂质过氧化作用有关。

红细胞膜是最容易得到的纯细胞膜的来源，它含有高浓度的血红蛋白，在一定条件下，可以刺激脂质过氧化物的分解，释放铁离子，促进脂质过氧化和产生羟自由基，在中等氧压力下，血红蛋白可以产生超氧阴离子自由基，红细胞不能进行生物合成，所以膜脂质和膜蛋白的氧化损伤无法修复。正常红细胞内有丰富的SOD、CAT、GSH、GSH-Px、VE，对氧化损伤有很强的抵抗能力。邻苯三酚在碱性条件下(pH 8.4)，能自氧化产生O_2^-，可使红细胞膜上的不饱和脂肪酸、花生四烯酸过氧化，产生MDA，类似衰老的细胞膜。本实验显示灵芝发酵液能明显降低红细胞膜上MDA的含量，进一步阐明其抗氧化机制与抑制体内脂质过氧化作用有关。

在抗衰老的实验过程中，我们观察到0.3 g/kg和0.6 g/kg剂量组大鼠有交配增多的现象，为进一步研究，选用壮阳实验和交配实验，结果表明灵芝发酵液可明显使大鼠阴茎勃起潜伏期明显缩短，明显增加扑捉次数和射精次数，缩短扑捉潜伏期和射精潜伏期，表明其具有一定增强性功能作用，其抗衰老作用是否与提高体内睾酮有关，还需要以后的实验进一步证明。

参考文献：

[1] 李绪全，杨晓彤. 灵芝多糖研究新进展[J]. 中国新医药杂志，2004，3(9)：57－59.

[2] 温仲民，包仕尧. 自由基、一氧化氮与衰老[J]. 医学综述，1999，5(9)：388－389.

[3] 游红育，林志彬. 灵芝多糖肽的抗氧化作用[J]. 药学学报，2003，38(2)：85－88.

[4] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，1993. 943.

[5] 陈冠敏，黄宗锈，刘少娟，等. 灵芝提取液延缓衰老作用的研究[J]. 海峡预防医学杂志，2000，6(5)：41－42.

[6] Melov S. Mitochondrial oxidative stress. Physiologic consequences and potential for a role in aging [J]. Ann N Y Acad Sci，2000，908：219－225.

[7] Barja G，Herrero A. Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum life span in the heart and brain of mammals [J]. FASEB J，2000，14(2)：312－318.

[8] 许 钢. 灵芝提取液清除自由基能力[J]. 无锡轻工业大学学报，2005，24(1)：92－94.

[9] You Y H，Lin Z B. Protecitve effect of Ganoderma lucidium polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by rective oxygen species[J]. Acta Pharmacol sin，2002，23(9)：787－791.

(编辑 陈聪连)

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中，引用英文文献的比例很高，但有不少作者将英、美人的姓名搞错，以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是：名-名-姓，“名”可以有1个、2个或3个，但“姓”只有1个。因此，从书籍或期刊中的姓名转录到文献时，要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的；“名”可以缩写，用第一个字母大写，不用缩写点。数据库在著录作者姓名时，已经调整为姓-名-名，可照录。

例如：John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部