DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.06.024

不同治则的中药复方改善老年小鼠机体状况的实验研究

戴裕光* 杨国汉 (第三军医大学附属大坪医院中医科) 重庆, 400042

提 要 目的: 评价不同治则组方药物对老龄小鼠机体状况的改善程度。方法: 对照观察补肾方、益气方、活血方水提物灌胃对老龄小鼠自由基代谢、应激能力及脾淋巴细胞增殖的影响。结果: ① 补肾方和益气方均能提高谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性、降低过氧化脂质(LPO)及脑脂褐素(Lipofuscin)含量,而活血方仅能提高 SOD活性和降低脑脂褐素含量。② 三方均能提高小鼠在寒冷条件下的生存时间,益气方和补肾方还能提高小鼠耐缺氧生存时间。③ 三方对小鼠免疫反应均有调节作用。结论: 三方均有一定的改善衰老效应,其中补肾方与益气方作用效果相当,均优于活血方。

关键词 补肾方;益气方;活血方;抗衰老
中图法分类号 R285.5

中医中药延缓衰老精萃集中于培补肝肾、益气养血、活血化瘀等方面,临床应用都有一定的疗效,动物实验也在不同程度上阐述了有关药物的作用机理[1]。但对按不同治则组方的药物抗衰老作用的对比研究则少见报道。为此本实验观察了培补肝肾、益气养血、祛瘀活血等中药代表方对老年小鼠自由基代谢、应激能力及淋巴细胞增殖等的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物及试剂 中药复方水提液,培补肝肾液(补肾方,含何首乌、补骨脂等)、益气养血液(益气方,含黄芪、当归等)、祛瘀活血液(活血方,含丹参、远志等),分别按常规方法制成含生药 1 g/ml药液冷藏备用,必要时浓缩。主要试剂,有丝分裂素: 刀豆素 A(Con A),脂多糖(LPS)购自美国 Sigma Co.。^{3}H-TdR为上海原子能研究所生产。

1.1.2 动物 昆明种小鼠,2月龄 10只,体重 20± 2 g作为青年对照组; 18月龄 40只,体重 38± 2 g,作为其它组,包括老年组、活血组、益气组、补肾组,雌雄兼用,由野战外科研究所动物室提供。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药 实验小鼠随机分组,每组 10只,即: ① 青年对照组(A组); ② 老年对照组(B组); ③ 祛瘀活血组(C组); ④ 益气养血组(D组); ⑤ 培补肝肾组(E组)。各给药组每只小鼠每天给相应受试药物水提液口饲 0.5 ml,相当于成人日用量的 20倍,对照组给等量生理盐水,连续 20 d。

1.2.2 自由基代谢相关指标测定[2] 小鼠眼球采血,肝素抗凝备测。血浆过氧化脂质(LPO)测定(硫代巴比妥酸法); 红细胞超氧化物歧化酶(SOD)测定(邻苯三酚自氧化法); 全血谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定(DTNB法); 肝、脑组织匀浆中脂褐素测定采用比色法。

1.2.3 抗应激能力检测[3] 按常规方法分别做小鼠耐缺氧、耐寒冷、抗疲劳试验。

1.2.4 免疫相关指标试验[4] 淋巴细胞增殖试验: 将各组小鼠处死取脾,研碎制成单个细胞悬液(2.5× 10^6/ml),置入 96孔平底培养板中,每孔 0.2 ml,再分别加入 Con A(5μg/ml)、LPS(10μg/ml)置 37℃ 5% CO_2孵箱中培养 72 h,于终止培养前 8 h加入^{3}H-TdR 37 MBq/L(1μCi/ml),收获细胞测定放射活性。结果以刺激指数(Index of stimulation, SI)表示。SI= 加有丝分裂素(cpm值)/未加有丝分裂素(cpm值)。

小鼠对胸腺依赖抗原(Thymus-dependent antigen, TD)的免疫应答[4]: 以羊红细胞(Sheep red blood cell, sRBC)免疫小鼠,用血凝试验测定抗 sRBC抗体及足垫试验测定细胞免疫应答(迟发型变态反应)。

1.2.5 统计学处理 数据以 $\bar{x}\pm s$,采用 t检验。

2 结果

2.1 对小鼠自由基代谢的影响

B组小鼠血中 LPO和肝、脑组织中脂褐素含量明显高于A组,而 GSH-Px和 SOD活性则明显低于 A组; 各给药组小鼠 SOD活性均明显提高,且作用大致相当; 提高 GSH-Px活性,降低 LPO含量则以 D组和 E组明显; 各组对脂褐质的影响在不同脏器表现不同,脑脂褐质含量在各给药组均呈明显降低趋势,对肝脂褐质含量则影响不大,见表 1。

* 戴裕光,男,60岁,主任医师,教授

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 各组小鼠 GSH-Px LPO SOD及脂褐质测定 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Estimation of serum GSH-Px LPO SOD and tissue homogenate lipofusein of different groups in mice($\bar{x}\pm s$)

Group	GSH-Px ($\times 10^3$ u/ml)	LPO (nmol/ml)	SOD(u/g Hb)	Lipofuscin	
				Liver	Brain
A	88.4± 16.37	4.84± 0.70	3029.57± 578.71	0.647± 0.22	0.091± 0.014
B	33.9± 7.52**	5.68± 0.60**	1929.44± 841.39**	0.853± 0.22**	0.178± 0.034**
C	41.6± 11.85☆	5.89± 0.69☆	2733.40± 692.85△△	1.150± 0.31	0.121± 0.025△
D	71.3± 15.38△	5.04± 0.61△	3209.45± 538.68△△	0.863± 0.29	0.103± 0.074△
E	95.6± 17.63△	5.22± 0.50△	3050.18± 429.54△△	0.897± 0.13	0.114± 0.029△

△: $P<0.05$,△△: $P<0.01$ *vs* B;** : $P<0.01$ *vs* A;☆: $P<0.05$ C*vs* D, C *vs* E, D *vs* E

2.2 对小鼠应激能力的影响

与 A组比较,B组小鼠各项指标均明显偏低,与 B组比较,D组和 E组小鼠在缺氧、寒冷条件下的生存时间明显延长,C组小鼠在寒冷条件下生存时间延长,但耐缺氧生存时间无明显差异,抗疲劳作用各给药组均未见明显延长,见表 2

表 2 各组小鼠抗应激能力测定 (min,$\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Estimation of life term of different groups in mice (min,$\bar{x}\pm s$)

Group	Hypoxide	Frigidity	Fatigue
A	31.7± 2.8	96.84± 15.29	11.45± 4.16
B	21.4± 1.95**	80.64± 10.27*	10.66± 3.67
C	22.7± 2.14☆	100.75± 12.92△	11.88± 5.30
D	25.6± 2.36△	120.54± 23.39△△	11.77± 2.31
E	30.5± 3.92△△	98.52± 19.69△	11.66± 2.29

△: $P<0.05$,△△: $P<0.01$ *vs* B;* : $P<0.05$,
** : $P<0.01$ *vs* A;☆: $P<0.05$ C*vs* D, C *vs* E, D *vs* E

2.3 各组小鼠脾细胞对有丝分裂素的增殖反应

B组小鼠脾细胞对 Con A的增殖反应明显低于 A小鼠,但对 LPS的反应增高。各给药组小鼠脾细胞对 Con A的增殖反应较 B组明显增强,D组和 E组小鼠脾细胞对 LPS的反应性得到调整,并达到 A组小鼠水平,见表 3

表 3 各组小鼠脾细胞对有丝分裂素的增殖反应 (SI,$\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Multiplication of mice splenocyte sensitized by mitogen in different groups (SI,$\bar{x}\pm s$)

Group	A	B	C	D	E
Con A	10.3± 1.7	4.8± 0.6**	8.2± 1.2△	11.4± 0.8△△	10.5± 1.0△△
LPS	5.2± 2.0	7.4± 2.7*	6.7± 1.9☆	4.8± 1.8△	4.6± 1.7△

△: $P<0.05$,△△: $P<0.01$ *vs* B;** : $P<0.01$ *vs* A;
☆: $P<0.05$ C*vs* D, C *vs* E, D *vs* E

2.4 对各组小鼠免疫应答的影响

B组小鼠对 sRBC的免疫应答无论是抗体产生或者是迟发型变态反应均显著低于 A小鼠。各给药组小鼠抗 sRBC IgM效价达到 A组水平,抗 sRBC IgG及迟发型变态反应均显著增强,而组间差异不明显,见表 4

表 4 各组小鼠对 sRBC的免疫应答测定 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Influence of the three formulae on the immune response of mice sensitized by TD ($\bar{x}\pm s$)

Group	Hemagglutination (Log 2)		Plantar thickness mm
	IgM	IgG	
A	11.2± 1.7	7.4± 1.6	0.50± 0.07
B	7.80± 1.9*	4.3± 0.80**	0.20± 0.05**
C	10.9± 2.0△	6.7± 1.9△	0.36± 0.04△
D	11.3± 2.1△	7.3± 2.1△	0.44± 0.10△
E	10.3± 1.6△	6.2± 0.9△	0.40± 0.08△

△: $P<0.01$ *vs* B;** : $P<0.05$ *vs* A

3 讨论

中医药抗衰延寿主要以培补肝肾、益气养血、祛痰活血三法则为主。本实验亦首先选用体现上述三种治则的中药代表方以观察其抗衰延寿作用。

现代医学中衰老的自由基学说认为,机体主要由于自由基损伤而老化[2]。研究表明人或动物过氧化脂质 (LPO)水平、脑、心、肾上腺等器官脂褐素含量均随增龄而增加,而 SOD GSH-Px活性降低。免疫学说认为,免疫功能减退是机体衰老的特征之一。在衰老过程中,机体免疫系统最易受到损伤,对外源性刺激的免疫反应减弱,自身免疫反应增强。有研究表明:老年人末梢血中淋巴细胞对 PHA和 ConA的增殖反应以及 TCGF的产生显著低于青年人。在体内由异体抗原引

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

起的细胞介导的淋巴溶解作用可因衰老而显著降低。所以观察药物对老年小鼠自由基代谢和致丝裂原刺激反应及其它免疫参数的影响,作为筛选具有延缓衰老作用药物的方法,已在临床和实验中广泛应用[5]。

本实验选用补肾、益气、活血等中药复方,观察其对老年小鼠某些衰老参数的影响,结果表明:对自由基代谢的影响以益气、补肾两方效果明显,而活血方的作用不及前两者;增强或调节免疫功能,三方差异不明显;对应激能力的影响亦以活血方为差。综合评价,在本实验上述几方面的观察中三方都有明显的改善衰老作用,其中补肾方与益气方效果相当,活血方作用相对较差。这既反应出衰老过程的复杂性和多面性,又提示在抗衰老中药的选择应用中辨证论治原则和多方多法联合应用的重要性。

参考文献

1 戴裕光,杨国汉,周海鹰等.抗衰七宝液对小鼠抗应激、过氧化脂质、脂褐质及记忆力的影响.第三军医大学学报,1993,15(1):69

2 葛金文,田应翠,邓常青.自身免疫病血瘀证患者自由基损伤的研究.湖南中医学院学报,1994,14(3):47

3 程德新,朱承喜.抗应激实验.见:陈　奇 主编.中药药理实验方法.北京:人民卫生出版社,1994.163~166

4 殷金珠,金四立,马树俊等.CD_4 McAb对 TD抗原的免疫抑制作用.中华微生物学和免疫学杂志,1991,11(1):32

5 夏炎兴,陈　计,杨秋美.延寿方对小鼠生存期的影响及其与同类药物的比较.上海中医药杂志,1997,(1):38

(收稿:1997-07-04;修回:1997-10-12)

(编辑　汪勤俭)

Effects of different Chinese medical formulae on health in senile mice

Dai Yuguang, Yang Guohan (Department of Traditional Chinese Medicine, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract Objective: To evaluate the effects of different Chinese medical formulae (Bushen formula, Yiqi formula and Huoxue formula) on health of senile mice. Methods: After the senile mice were orally administered the water extracts of the above-mentioned three formulae, the effects of different formulae on metabolism of free radicals, stress function and immunological function were studied. Results: 1) Both Bushen and Yiqi formulae enhanced the activity of glutathione peroxidase and superoxide desmutase (SOD) and decreased the contents of lipoperoxide (LPO) in hematoplasma and lipofusein in brain tissue homogenate. Whereas Huoxue formula only enhanced the activity of SOD and decreased the content of lipofusein in brain tissue homogenate. 2) All the formulae significantly prolonged the life term of mice in frigid environment and the first two did this even under hypoxic condition. 3) All the formulae exerted marked regulative effects on immune reaction. Conclusion: All the formulae can exert anti-senility effects in senile mice and the first two are better than the last.

Key words Bushen formula; Yiqi formula; Huoxue formula; anti-senility; mouse

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net