DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.01.030

抗衰七宝液对小鼠抗应激、记忆力、过氧化脂质及脂褐质的影响

戴裕光 杨国汉 周海鹰 谢培元 高 唱 熊 敏 （第三军医大学大坪医院中医科）630042

抗衰七宝液即明·万密斋延寿丹方(加减)。由何首乌、枸杞子、补骨脂等药组成。具有补益肝肾精血亏虚的作用[1]。临床对乌须发、补脑益肾，提高中老年人的工作与生活精力有显著疗效。为进一步研究其抗衰老作用，我们做了抗衰七宝液(以下简称七宝液)对小鼠抗应激能力、记忆力及肝脑组织过氧化脂质、脂褐质的影响。现报告如下：

1 实验材料

昆明种小鼠 130 只，8 月龄，体重 38±2.0g，雌雄兼用，由野战外科研究所动物室提供。七宝液由我院药材科制剂室制成，浓度相当于 1g/ml 生药，使用时浓度稀释成 0.4g/ml。其它试剂由我院中心实验室购得。

2 方法与结果

2.1 对小鼠抗疲劳、耐缺氧、抗低温的作用

取小鼠 60 只，随机分成 6 组，每组 10 只。七宝液组 3 组，每只小鼠每天给七宝液 0.6ml 灌胃。对照组 3 组，以等量生理盐水灌胃。连续 7d。第 8 天将给药组与对照组配对，参照文献[2]分别做小鼠抗应激(游泳、耐缺氧、抗低温)实验。

2.1.1 小鼠游泳实验

每只小鼠尾部负重为其体重的 10%，水温 23±1℃，记录小鼠从入水至沉到水底无力冲出水面为止的时间，结果给药组小鼠的生存时间为 14.66±2.29min，较对照组的 10.66±3.67min 显著延长($P<0.01$)。提示七宝液能延长小鼠游泳时间。

2.1.2 耐缺氧实验

取容积为 250ml 的广口瓶，瓶底放入钠石灰 10g，再放入滤纸，室温 25℃，放入小鼠后塞紧瓶盖，加凡士林密封，记录窒息死亡时间。结果给药组为 30.50±3.92min，较对照组 21.4±1.95min 显著延长($P<0.01$)。提示七宝液能增强小鼠耐缺氧能力。

2.1.3 抗低温实验

将小鼠分别放入用铁丝编织扁形笼中，置-10℃冰箱内，从第 30min 开始每隔 5min 打开冰箱观察 1 次，记录存活时间。结果给药组为 95.52±19.69min，较对照组 80.14±10.70min 显著延长，提示七宝液能明显提高小鼠的抗低温能力(见表 1)。

表 1 七宝液对小鼠游泳、窒息、耐寒时间的影响
($\bar{x}\pm s$)

组别	例数 (n)	游泳 (min)	窒息 (min)	耐寒 (min)
七宝液组	10	14.66±2.29*	30.50±3.92*	98.52±19.69*
对照组	10	10.66±3.69	21.40±1.95	80.14±10.70

注 *与对照组比较 $P<0.01$

2.2 对小鼠肝、脑组织过氧化脂质、脂褐质的影响

将小鼠 40 只随机分成 4 组，即给药组和对照组各两组，每组 10 只。给药方法同前，连续 17 d，第 18 天颈椎脱臼处死，取肝、脑组织测定过氧化脂质及脂褐质。

2.2.1 过氧化脂质测定

分别取一定量组织制成匀浆，按硫代巴比妥酸(TBA)反应法[3]；以荧光分光光度仪测定每克鲜组织丙二醛(MDA)生成量(以 nmol/g 表示)代表过氧化脂质含量，结果见表 2。

表 2 七宝液对小鼠肝、脑 MDA 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	肝 (nmol/g)	脑 (nmol/g)
七宝液组	10	120.62±27.43**	297.30±64.67*
对照组	10	212.98±53.97	355.95±87.72

注 *与对照组比较 $P<0.05$，**$P<0.01$

2.2.2 肝、脑脂褐质测定

按文献方法[4]分别测定小鼠肝、脑组织荧光强度，计算每克组织中所含相当于标准液荧光强度的荧光物质微克数。结果见表 3。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 3 七宝液对小鼠肝、脑脂褐质的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	肝 (μg/g)	脑 (μg/g)
七宝液组	10	0.897±0.133	0.114±0.029*
对照组	10	0.853±0.227	0.178±0.034

注 *与对照组比较 $P<0.01$

2.3 对小鼠记忆力的影响

采用 Y 型迷路法[2]:实验用 Y 型盒分成相等的 3 臂,相邻各臂间成 120°角,其中一臂有一安全区,另一臂有一起步点。各臂宽 8cm、长 18cm、高 15cm。全底铺导电铜丝,通电可调电压为 30～60V。各臂加用玻璃盖。实验时将小鼠放在起步点 1min 以适应环境。打开闸门,通电刺激,调压使其逃避,鼠在奔逃中偶尔窜到安全区,停留 10s 以巩固记忆。然后从安全区取回起步点休息 1min,再第 2 次刺激,鼠又逃至安全区,如此反复训练,直至鼠在连续 10 次电击中有 9 次进入安全区即为获得记忆。以获得记忆鼠 30 只,随机分成 3 组,每组 10 只,即七宝液组、对照组、单味中药组(给药方法同前,单味中药为 10%的具有助阳作用的蛇床子水提液),连续给药 3 周,再进行上述迷路试验,每只小鼠电击 10 次,以连续 9 次以上进入安全区者为保持记忆。以各组保持记忆的动物例数与本组动物数之比值为正确率。结果七宝液组的正确率较其它两组均显著提高(见表 4)。

表 4 七宝液对小鼠记忆力的影响

组别	例数	正确数	正确率 (%)
七宝液组	10	8	80.00
单味药组	10	5	50.00
对照组	10	3	30.00

3 讨论

中医学认为肾为先天之本,与人体的生长发育、衰老有密切的关系。《素问·上古天真论》说:"肾受五脏六腑之精藏之……男不过尽八八,女不过尽七七,而天地之精气皆竭矣"。北京医院、中国中医研究院老年病研究室等通过病理解剖、社会调查等方法,发现老年患者肾病理变化的发生率为 86.7%,老年人肾虚型占 77.4%,表明肾虚在中医衰老学说中占有重要地位。而补肾法在中医药延缓衰老的偿试中,越来越多地为大家所重视。由枸杞子、何首乌、补骨脂等组成的延寿丹为传统的益寿古方,文献记载其具有补肾益脑作用,临床应用能提高中老年人生活和工作精力。本实验观察到由延寿丹方加减制成的抗衰七宝口服液能显著延长小鼠在缺氧状态下的生存时间,增强其抗疲劳和耐寒冷的能力,并能显著提高小鼠记忆力。提示七宝液能增强小鼠抵抗不良因素刺激的能力,有利于提高机体的生存质量。

在解释衰老机制的多种假说和理论中,Harman 提出的自由基理论占有重要位置,该理论认为与年龄有关的变化是由于自由基和脂质过氧化物引起细胞损害的积累所致[5]。自由基作用于多不饱和脂肪酸产生双键脂基,它可与分子氧加成产生脂质过氧化基,最终产生过氧化脂质(LPO)。LPO 水平随增龄而增加,所以抗衰老研究中检测 LPO 含量来判断衰老。脂褐质由脂质过氧化作用所产生的醛类与蛋白质、磷脂及核酸的胺形成,它在溶酶体内不被消化,随增龄而不断积累,老年人的神经细胞、心肌、肝、肾上腺的细胞里都能找到,因此,脂褐质常作为衰老的重要指标[6],而且脂褐质沉积有可能对细胞造成机械性损害,排开细胞内超微结构,扰乱氧和营养物质的弥散通道,使细胞器损失,细胞萎缩退变。本实验观察到七宝液能显著降低小鼠肝、脑组织中 LPO 水平和脑组织中脂褐质含量。提示七宝液具有一定的抗衰老作用。

(侯淦泉副主任技师协助部分检测,特此致谢。)

关键词 应激,记忆;过氧化脂质类;七宝液

参考文献

1. 张炬 冯世伦 李秀敏 编。古今延年益寿方汇粹。北京:北京出版社,1988:28
2. 许士凯。抗衰老药物的药理与应用。上海:上海中医学院出版社,1987:49
3. Ohkawa H,et al. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Biochem,1979;95:351
4. 陈可冀 主编。抗衰老中药学。北京:中医古籍出版社,1989:46
5. 刘时中。自由基与衰老。生理科学进展,1983;14(2):147
6. 罗光 王容。抗衰老研究进展。生理科学,1988;8(2):65

(收稿:1992-04-11;修回:1992-06-19)

原发性肝癌、肝硬化血清铜、锌、锰含量的变化

罗元辉 袁俊力 (第三军医大学西南医院消化内科) 630038

近年文献报道肝硬化与肝癌患者体内微量元素有不同程度的失调。关于血清中微量元素与肝硬化和肝癌的关系研究较少。本文对肝硬化和肝癌患者血清中微量元素进行了分析,结果报告如下:

1 材料及方法

1.1 病例选择

本组共 74 例。正常人 20 例;均为健康献血员,肝功能正常。肝硬化 28 例;临床确诊,并经 B 超或 CT 排除肝占位性病变。原发性肝癌 26 例,符合中国常见恶性肿瘤诊治规范原发性肝癌中的临床诊断标准,部份经手术及病理证实。

1.2 测定方法

空腹抽血,分离血清,置-20℃冰箱保存,注射器及检测用试管均经严格的预处理以防污染。采用美国 IL951 型原子吸收光谱仪分析法测定每标本的铜(Cu)、锌(Zn)、锰(Mn)含量。为避免测定中批间差异的影响,标本备齐后一次测定完毕。

2 结果

2.1 肝癌及肝硬化患者血中 Cu、Zn 含量

正常人血中 Cu 平均 112.05±21.66 μg%,肝硬化患者 Cu 含量下降,平均 94.58±24.15 μg %,与正常人相比差异显著($P<0.05$),但肝癌患者 Cu 含量无显著变化。正常人血 Zn 101.52±15.67 μg%,肝硬化及肝癌患者血 Zn 均显著降低,分别为 75.73±21.84 及 83.05±25.67 μg% ($P<0.01$),肝硬化与肝癌之间无差别,由于血 Zn 降低,故 Cu/Zn 比值均较正常人显著升高(肝硬化、肝癌 Cu/Zn 比值为 1.40±0.54;正常人 Cu/Zn 比值为 1.11±0.25)。

2.2 肝癌及肝硬化患者血中 Mn 含量

正常人血中 Mn 平均 16.36±5.74μg%,肝硬化及肝癌患者 Mn 含量显著降低,分别为 8.4±4.77μg%及 8.44±6.36μg% ($P<0.05$)。肝硬化与肝癌之间无差异($P>0.05$)。

3 讨论

流行病学调查发现环境中微量元素含量与肿瘤发病率相关。硒与肝癌的关系已有较明确的结论,低硒与肝癌发病呈明显的负相关。其它微量元素与肝癌的关系亦正在研究中[2]。Cu、Zn、Mn 等元素参与体内脂质代谢、核酸代谢,并与诱发恶性细胞的发生及生长有关。本文研究结果表明肝癌及肝硬化患者血锌含量较正常对照组显著降低,原因可能与摄入减少,血浆蛋白降低而结合减少,以及 Zn 与氨基酸结合后由尿中丢失增多有关。血清 Cu 的变化各家报道不一致,Inutsuka[3]等报告消化道恶性肿瘤患者血清 Cu 升高,姜氏[1]等报告早期及晚期肝硬化血清 Cu 无显著变化,而肝癌时升高。但以上资料均显示 Cu/Zn 比值无论在肝硬化或肝癌患者中均有显著升高,结果与本文一致。因此认为采用 Cu/Zn 比例较单独一项元素的测定结果更可靠。

已知肝癌患者发 Mn 及血 Mn 含量均显著降低,与本文结论相同。肝脏是 Mn 新陈代谢的关键组织,Mn 是一些金属酶的组成部分和协同因子,在体内主要靠胆汁分泌调节,肝

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net