

· 短篇论著 ·

益智合剂对模型鼠脑海马脂褐素和细胞凋亡的影响

邱南 席先成 朱振铎 郭廷凯 高鑫 王培杰 白云静

老年性痴呆(Alzheimer's disease, AD)是老年性神经系统退行性疾病。纯中药制剂“益智合剂”经长期临床应用表明,对AD有较好的疗效。我们已经报道了它对D-半乳糖加速衰老模型大鼠学习记忆能力有改善作用,能降低乙酰胆碱酯酶,增加超氧化物歧化酶、一氧化氮含量及 Na^+ - K^+ -ATP酶活力^[1]。本研究对脑海马区切片脂褐素和细胞凋亡进行了检测,探讨益智合剂的抗衰老作用机制。

1 材料和方法

1.1 药物 益智合剂由熟地、酸枣仁、巴戟天等中药组成,水煎过滤浓缩。脑复康和D-半乳糖分别用蒸馏水配制成混悬液和溶液。

1.2 试剂 细胞凋亡试剂盒购自南京建成生物工程研究所,PAS染色试剂盒由福建三强生物化工有限公司生产。

2 方法

2.1 模型复制及给药方法 10月龄雄性Wister大鼠,禁食8h后腹腔注射D-半乳糖,健康对照组以蒸馏水代替。同时灌胃给药:健康对照组及模型对照组给予蒸馏水,脑复康组给予脑复康,益智合剂小、中、大剂量组分别给予等容积益智合剂5, 10, 20 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,共6周。

2.2 脂褐素测定 取脑海马区切片,脱蜡后做PAS染色,显微镜下观察海马C3区脂褐素阳性细胞分布情况。每片随机取3个不同高倍镜视野计数80个神经细胞,统计脂褐素阳性细胞百分率。

2.3 细胞凋亡 选择健康对照组、模型对照组和益智合剂中剂量组脑海马组织切片各3张,保持组间断面一致,按照凋亡检测试剂盒步骤操作,于显微镜下观察显色进程,细胞核中有棕色颗粒为阳性细胞,观察凋亡细胞的数目。

2.4 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,成组资料均数比较用 t 检验。

3 结果

3.1 脂褐素阳性细胞 健康对照组(30.68 ± 7.23)%,模型对照组(68.32 ± 8.44)%,二者差异有统计学意义($P < 0.01$)。益智合剂小、中、大剂量组分别为(54.16 ± 9.62)%、(40.52 ± 7.86)%、(46.65 ± 9.21)%,与模型对照组比较差异有显著性($P < 0.01$),与脑复康组(60.42 ± 6.52)%比较,差异有显著性($P < 0.05$)。

3.2 细胞凋亡检测结果 模型对照组切片可见散在的凋亡细胞,健康对照组和益智合剂中剂量组未发现凋亡细胞。

4 讨论

衰老在AD发病过程中起重要作用。用D-半乳糖建立衰老动物模型是国内外近年来运用较广泛的方法^[2],海马的病理改变与AD的发病及进展有一定的关系^[3]。脂褐素是细胞衰老过程中具有的特征性物质,神经元内脂褐素蓄积是神经系统老化的标志之一。近年国内外研究表明,凋亡过程可能是AD神经退行性变的机制之一^[4]。本实验观察到益智合剂能降低衰老模型大鼠脑海马脂褐素含量,抑制海马区神经元细胞凋亡。提示益智合剂抗衰老作用可能与降低脑海马脂褐素含量、抑制海马神经元凋亡有关。

参考文献

- 1 邱南,朱振铎,田梅,等.益智合剂对D-半乳糖致衰模型大鼠学习记忆作用实验研究.山东中医杂志,2002,21:615-617.
- 2 陈勤.抗衰老研究实验方法.北京:中国医药科技出版社,1996.111-113.
- 3 盛树力.老年性痴呆——从分子生物学到临床诊治.北京:科学技术出版社,1998.350.
- 4 Smale G, Nichols NR, Brady DR, et al. Evidence for apoptotic cell death in Alzheimer's disease. Exp Neurol, 1995,133:225-230.

收稿日期:2004-11-30

作者单位:271000 山东泰安市,解放军第88医院(邱南、席先成、郭廷凯、高鑫、王培杰、白云静);250011 山东济南市,山东中医药大学附属医院(朱振铎)

作者简介:邱南,女,1967年7月生,山东省泰安市人,医学硕士,副主任医师。E-mail:qiunan2890@sina.com