

蓝莓提取物对小鼠记忆力及抗衰老作用的研究

孟宪军¹,于欣灵¹,孙仁艳¹,张锐²

(1.沈阳农业大学 食品学院, 沈阳 110161;2.辽宁省农业科学院 食品与加工研究所, 沈阳 110161)

摘要:为了研究蓝莓提取物对 D-半乳糖所致小鼠记忆力减退及衰老的影响,采用 Morris 水迷宫试验和游泳试验的方法对记忆力下降及衰老小鼠进行研究。结果表明:蓝莓提取物可显著改善 D-半乳糖对小鼠记忆力减退及衰老,但蓝莓提取物高剂量组与蓝莓提取物低剂量组没有显著差异($p>0.05$),血清中 SOD 活性上升($p<0.05$),肝脏 MDA 含量显著下降($p<0.05$)。

关键词:蓝莓;记忆力;抗衰老;小鼠

中图分类号:S663

文献标识码:A

文章编号:1000-1700(2011)06-0740-03

Impacts of Blueberry Extract on the Memory and Anti-aging Role of Laboratory Mouse

MENG Xian-jun¹, YU Xin-ling¹, SUN Ren-yan¹, ZHANG Rui²

(1.College of Food Science, Shenyang Agricultural University,Shenyang 110161, China; 2.Food and Processing Research Institute, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161, China)

Abstract: The influence of blueberry extract on laboratory mouse with memory loss and aging induced by D-galactose was studied. Morris water maze test and swim test were used to examine, whether blueberry extract had a positive effect on laboratory mouse with memory loss and aging induced by D-galactose. The results showed that blueberry extract could significantly improve the memory loss and aging of the laboratory mouse induced by D-galactose. The effects between high-dose group and low-dose group of blueberry extract were not varied significantly ($p>0.05$), SOD activity in serum increased ($p<0.05$) and MDA content in liver decreased significantly ($p<0.05$).

Key words: blueberry; memory; anti-aging; laboratory mouse

蓝莓为杜鹃花科,越橘属植物。研究表明,蓝莓有益于视力及眼部健康,并且具有抗氧化、抗溃疡和抗炎等功能^[1]。对癌症、糖尿病、神经退化和高血脂等疾病具有一定作用,因此被联合国粮农组织(FAO)确定为人类五大健康食品之一^[2]。衰老是很多因素共同作用的结果,是机体分子、细胞、器官功能乃至整个功能衰退的综合复杂的生理、病理变化过程。虽然不是疾病,但是机体的结构和生理功能会发生显著的改变^[3]。目前解释衰老机制的理论或学说有近 300 种,分别从不同的角度探讨了衰老发生的机制和对策,其中以自由基学说最受重视。自由基学说的特点在于它与其他学说都有直接或间接的关系,受到众多实验的支持^[4]。多种衰老学说都提到细胞 DNA 或基因的氧化性损伤是导致衰老的原因。EDDINGTON D 等^[5-7]已证明无论用物理或化学的方法产生的活性氧都能损伤哺乳动物细胞的 DNA,DNA 受到活性氧破坏后生成 8-羟基去氧鸟嘌呤核苷酸。比较人、猩猩、猕猴、松鼠猴及小鼠等哺乳动物等哺乳动物肝中的含量,发现寿命越短的动物,这种 DNA 损伤的产物就越多。抗氧化物质通过提高机体抗氧化能力,清除衰老机体产生过多的自由基,抑制机体、组织、细胞的过氧化过程而起到作用。本研究采用 Morris 水迷宫试验和游泳试验的方法对记忆力下降及衰老小鼠进行研究,以期开发蓝莓的保健功能提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小鼠,SPF 级,雌雄各半,共 100 只,由沈阳医学院提供。蓝莓果,沈阳市双翼果业生产示范基地(7 月中旬采收);D-半乳糖,上海东风生化试剂有限公司;SOD 试剂盒和 MDA 试剂盒,由南京聚力生物医学工程研究所提供。

收稿日期:2011-09-03

作者简介:孟宪军(1960-),男,沈阳农业大学教授,博士,从事果蔬加工研究。

1.2 蓝莓提取物的制备

取蓝莓鲜果→乙醇浸提(用 pH3.0, 体积分数 60%的乙醇溶液按 1:15(m:v)的比例混合均匀, 于 40℃下浸提 2h)→过滤→离心→回收乙醇→花色苷提取液→AB-8(树脂吸附流速为 1mL·min⁻¹, 上样液浓度为 30mg·mL⁻¹, 用 5 倍柱床体积的 60%酸性乙醇作为洗脱液, 洗脱流速为 1mL·min⁻¹)→60%乙醇洗脱→回收乙醇→干燥→称重。

1.3 动物分组造模及给药

取 100 只小鼠, 适应环境 10d 后按照体重随机分成 4 组, 即空白对照组, 衰老模型组, 蓝莓提取物低剂量组, 蓝莓提取物高剂量组。具体操作方法为: 给空白对照组小鼠, 灌胃蒸馏水; D-半乳糖致亚急性衰老模型与自然衰老状态最为相似, 用生理盐水稀释 D-半乳糖, 按(5g·L⁻¹)125mg·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量, 连续小鼠颈背部皮下注射 35d, 造成衰老模型组; 颈背部皮下注射 D-半乳糖, 第 15 天开始, 分别灌胃蓝莓提取物 10 和 20mg·kg⁻¹·d⁻¹, 连续灌胃 21d。

1.4 提高记忆力功能性试验

1.4.1 Morriss 水迷宫试验 Morriss 水迷宫试验^[8]是用来研究动物空间学习能力的, 游泳中老鼠本能的寻找休息场所, 在寻找休息场所的过程中常需要一个复杂的记忆过程。恒温游泳池直径为 100cm, 深度约为 50cm, 水面约为 35cm, 在低于水面 2cm 处放置一个站台, 测试开始之前 3d 让各测试小鼠自由游泳 1min 适应环境。对小鼠做连续 4d 的试验, 每次选择一个随机的切入点, 把小鼠放在游泳池后, 记录小鼠找到游泳池的时间, 如果在 120s 未找到平台, 人工引致平台潜伏期记录为 120s。

1.4.2 抗衰老功能性试验 室温为 22~25℃, 水温约为 25~28℃, 水池深约为 30cm。小鼠尾部约挂有体重 20% 的重物。分别记录 4 组小鼠从入水到全部浸入水中的时间, 小鼠 20s 内未浮出水面视为计时结束。游泳试验用来测试小鼠体力及衰老情况。

1.5 小鼠超过氧化歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)含量的测定

行为学试验后, 摘眼球取血, 常规分离血清待测。肝脏指数的公式为: 肝器重量(mg)/小鼠体重(10g)。氮蓝四唑(NBT)光化还原法检测超过氧化歧化酶(SOD)活性, 硫化巴比妥酸(TBA)反应比色法检测丙二醛(MDA)含量。

1.6 统计学分析

采用单因素方差分析, 数据用平均数±标准偏差(X±s)表示, 组间比较采用 t 检验, 统计学处理采用 SPSS10.0 软件分析。

2 结果与分析

2.1 蓝莓提取物对小鼠 Morriss 水迷宫试验的影响

由表 1 可知, 与正常对照组比较, 模型组的错误次数明显增加了, 说明造模成功($p < 0.05$)。小鼠的神经元产生了退行性变化, 对其学习记忆能力产生了影响。蓝莓提取物高剂量组和蓝莓提取物低剂量组错误次数与模型对照组反应时间显著减少, 差异比较显著($p < 0.05$)。这说明蓝莓能改善衰老小鼠学习记忆障碍提高小鼠的空间分辨能力。但是蓝莓提取物高剂量组与蓝莓提取物低剂量组反应时间及错误次数的影响差异不显著($p > 0.05$)。

2.2 蓝莓提取物对小鼠游泳试验的影响

由表 2 可知, 与正常对照组比较, 模型组小鼠游泳的时间显著减少, 说明 D-半乳糖促使小鼠衰老。蓝莓提取物高剂量组和蓝莓提取物低剂量组明显增加了小鼠的游泳时间($p < 0.05$), 但是, 蓝莓提取物高剂

表 1 蓝莓提取物对小鼠学习记忆力的影响

Table 1 Blueberry extract's impacts on studying memory of laboratory mouse

组别 Group	N	学习能力 Ability of study		记忆力 Ability of memory	
		反应时间 React time	错误次数 Error times	错误次数 Error times	潜伏期 Incubation period
A	25	29.03±7.53*	1.79±1.42*	1.34±0.35*	60.39±14.27
B	25	100.43±4.97	4.13±215	4.89±1.41	104.34±12.45
C	25	67.43±7.45*	0.98±0.42*	0.72±0.59*	86.8±19.04*
D	25	56.56±6.45*	0.90±0.38*	0.89±0.45*	78.78±21.06*

注: A 组为空白组; B 组为模型组; C 组为蓝莓提取物高剂量组; D 组为蓝莓提取物低剂量组。与模型组相比较 * $p < 0.05$ 。

Note: Group A was the controls; Group B was the models; Group C was the high-dose group of blueberry; Group D was the low-dose group of blueberry. Compared with the control group * $p < 0.05$.

表 2 蓝莓提取物对小鼠游泳时间的影响

Table 2 Blueberry extract's impacts on swimming time of laboratory mouse

	空白组 Control group	模型组 Model group	高剂量组 High-dose group	低剂量组 Low-dose group
小鼠游泳时间/s Swimming time	480	210	330	345

量组与蓝莓提取物低剂量组增加小鼠游泳的时间差异不显著($p>0.05$)

2.3 蓝莓提取物对小鼠血浆 SOD 活性及肝脏 MDA 含量的影响

由表 3 可知,与正常对照组相比,模型组的小鼠血浆 SOD 活性明显下降,蓝莓提取物高剂量组和蓝莓提取物低剂量组的小鼠 SOD 活性高于模型组($p<0.05$),但是两组之间的差别不大($p>0.05$)与正常对照组相比,模型组的小鼠肝脏 MDA 含量增多,蓝莓提取物高剂量组和蓝莓提取物低剂量组小鼠肝脏 MDA 含量明显下降($p<0.05$)但是两组的差别不显著($p>0.05$)。

3 结论

研究结果表明,蓝莓提取物对小鼠学习记忆能力和抗衰老有显著作用,能降低由于衰老机体产生的丙二醛的增加,能够提高 SOD 的活性。为抵抗大脑老化,防止或延缓老年痴呆提供新的思路以及理论根据。该实验同时表明,虽然蓝莓提取物对小鼠的学习记忆及空间搜索能力有显著作用,但是蓝莓提取物的高剂量组和低剂量组效果的差异并不明显,这个结果还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 李颖畅,孟宪军.蓝莓花青素的提取及理化性质的研究[J].食品研究与开发,2008,29(9):187-189.

[2] 杨红澎,蒋与刚,庞伟,等.蓝莓花色苷单体改善老龄小鼠学习记忆的研究[J].营养学报,2009,31(6):583-587.

[3] 崔剑,李兆陇,洪啸吟.自由基生物抗氧化与疾病[J].清华大学学报:自然科学版,2000,40(6):9-12.

[4] JOHNSON JE.Free radicals,aging and degenerative diseases[M].NewYork:Alan R Liss Lnc,1986.

[5] EDDINGTON D.Exercise and longevity:evidence for a threshold age[J].Geront,1972,27(3):341.

[6] SOHAL RS.Relationship between fluorescent age pigment,physioloial age and physial activity in the housefly musa domestica[J].Mech Aging Dev,1981,15(3):243.

[7] BASSON ABK.A comparative study on the effects of aging and training on the level of lipofuscin in various tissues of the nat[J].Comp Bochem Physiol,1982,71A(3):369.

[8] 孟志卿,许愿,杨旭姜,等.感米酒对小鼠记忆力及抗氧化作用的影响[J].畜牧与饲料科学,2011,32(2):1-2.

[责任编辑 亓 国]

表 3 蓝莓提取物对小鼠血浆 SOD 活性及肝脏 MDA 含量的影响

Table 3 Blueberry extract's impacts on plasma SOD activity and liver MDA content

组别 Group	N	SOD/ $\mu\cdot\text{mg}^{-1}$	MDA/nmol $\cdot\text{mg}^{-1}$
A	25	142	14
B	25	64**	25*
C	25	204**	8*
D	25	195**	12*

注:A表示空白组;B表示模型组;C表示蓝莓提取物高剂量组;D表示蓝莓提取物低剂量组。与空白组比,模型组 ** $p<0.01$, * $p<0.05$ 。

Note:Group A was the controls; Group B was the models; Group C was the high-dose group of blueberry; Group D was the low-dose group of blueberry. Compared with the ontrol group** $p<0.01$, * $p<0.05$.