

文章编号:1001-0580(2002)07-0769-02

【论 著】

## 硒对衰老小鼠脑神经细胞及线粒体的保护作用\*

华东师范大学生命科学学院(上海 200062) 高良才 陈婉蓉 傅中滇  
上海市预防医学研究所 阮素云

**摘要:**目的 探讨硒对老化神经及线粒体的作用机理。方法 采用 D-半乳糖致小鼠衰老模型,观察硒对衰老小鼠脑细胞的 SOD、MDA、GSH-Px、GSH、MAO-B、脂褐素以及线粒体形态结构的影响。结果 硒可以明显提高 D-半乳糖衰老小鼠脑细胞 SOD、GSH-Px 的酶活性,增加 GSH 含量,减少脂褐素和 MDA 的含量,抑制 MAO-B 的酶活性,保护脑线粒体结构完整。结论 硒可以通过提高机体的抗氧化能力来延缓神经细胞和线粒体老化。  
**关键词:**硒;神经细胞;线粒体;D-半乳糖;衰老

中图分类号:R363.1 文献标识码:A

**Protective Effects of Selenium on Neuron and Mitochondria of Senile Mice** GAO Liangcai, CHEN Wanrong, FU Zhongdian, et al. East China Normal University (Shanghai 200062, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of selenium on neuron and mitochondria of senile mice. **Methods** Using D-galactose induced aging model, the activities of SOD, GSH-Px, MAO-B and levels of MDA, GSH in brain were measured. The changes of LPF and mitochondria were observed by using transmission electron microscope. **Results** Selenium can obviously enhance the activities of SOD and GSH-Px, increase the level of GSH, decrease the levels of LPF and MDA, inhibit the activity of MAO and protect the mitochondria from being destroyed. **Conclusion** Selenium can raise the antioxidation ability of mouse brain and delay the aging of neuron and mitochondria.

**Key words:** selenium; neuron; mitochondria; D-galactose; aging

衰老是生物体随着年龄的增长所发生的全身性的、多方面的、复杂的、循序渐进的退化过程。近年来研究表明<sup>[1]</sup>,衰老的自由基学说在预防疾病、延缓衰老方面已越来越显示出其重要性并受到广大学者的关注。目前认为,自由基攻击生物膜多不饱和脂肪酸、DNA、蛋白质和其他生物大分子而引发的氧化损伤是导致机体老化及许多老年病的重要因素。硒作为人体必需的微量元素,已报道具有抗氧化、增强机体免疫力等功能。本研究采用 D-半乳糖致小鼠衰老模型<sup>[2]</sup>,观察和探讨硒延缓神经细胞及线粒体衰老的作用机理。

### 1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 昆明种雄性小鼠 40 只,3~4 月龄,体重 40 ± 2.5g,随机分为对照组、衰老模型组、模型给药低硒组和高硒组,每组各 10 只。衰老模型组和模型给药组每天腹腔注射 D-半乳糖(150mg/kg·d),对照组补以等量生理盐水,连续 30 天;自第 21 天起,模型给药组分别注射低硒(15μg/kg·d)和高硒(30μg/kg·d),对照组、衰老模型组补以等量生理盐水,连续 10 天后,4 组一同剖杀,取全脑观测各项指标。

### 1.2 生化指标测定

1.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性测定 用生理盐水制备全脑匀浆,12 500g 离心取上清液按南京建成生物公司试剂盒说明,用黄嘌呤氧化酶法测 SOD 活性,用 DTNB 显色法测 GSH-Px 活性。

1.2.2 单胺氧化酶(MAO-B)活性测定 以 0.2mol/L 磷酸缓冲液制备脑匀浆和肝匀浆,1 000g 离心取上清,再以 17 000 r/min 离心,弃上清,取沉淀以 0.2mol/L 磷酸缓冲液重悬,用盐酸苯胺法测 MAO-B 活性,所有操作均在 4℃ 进行。

1.2.3 还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定 以 5%三氯乙酸制备脑匀浆,3 000r/min 离心取上清液用 DTNB 显色法测定 GSH 含量。

1.2.4 MDA 含量测定 取脑匀浆上清液 0.5ml,用硫代巴

比妥酸(TBA)法测脂质过氧化产物(MDA)含量。

1.2.5 蛋白含量测定 采用 Folin 酚法。

1.3 透射电镜观察 小鼠剖杀后迅速取脑皮质,2.5%戊二醛和 1%锇酸双重固定,常规乙醇梯度脱水,618 环氧树脂包埋,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,超薄切片。用 JEM-100CX 透射电镜观察摄片。

1.4 数据处理 实验数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示,用 *t* 检验比较组间显著性差异。

### 2 结果

2.1 硒对衰老小鼠脑 SOD、GSH-Px 酶活性的影响 与对照组相比,衰老模型组小鼠脑 SOD、GSH-Px 活性都明显下降( $P < 0.01$ );加硒后 SOD、GSH-Px 活性均显著上升,且低硒组明显高于高硒组(表 1)。

表 1 硒对衰老小鼠脑 SOD、GSH-Px 活性的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | SOD(Nu/mg.pro)  | GSH-Px(U/mg.pro) |
|-----|-----------------|------------------|
| 对照组 | 119.02 ± 7.42   | 35.10 ± 4.06     |
| 模型照 | 100.05 ± 13.79* | 15.59 ± 3.49*    |
| 高硒组 | 117.57 ± 3.75#  | 28.64 ± 2.90     |
| 低硒组 | 128.18 ± 4.17#  | 40.83 ± 3.87     |

注:与对照组比较 \* $P < 0.01$ ,与模型组比较 # $P < 0.05$ , $P < 0.01$   $n = 10$

2.2 硒对衰老小鼠脑和肝脏 MAO-B 酶活性的影响 与对照组相比,衰老模型组小鼠脑 MAO-B 活性显著增强( $P < 0.01$ ),肝脏 MAO-B 活性无明显变化( $P > 0.05$ );加硒后脑 MAO-B 活性显著下降( $P < 0.01$ ),且低硒组降得更加厉害,而肝脏 MAO-B 活性变化不大( $P > 0.05$ )(表 2)。

表 2 硒对衰老小鼠脑和肝脏 MAO-B 活性的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 脑 MAO-B(U/mg.pro) | 肝 MAO-B(U/mg.pro) |
|-----|-------------------|-------------------|
| 对照组 | 3.83 ± 1.20       | 17.50 ± 3.33      |
| 模型照 | 9.73 ± 0.28*      | 18.82 ± 4.38      |
| 高硒组 | 8.11 ± 0.31       | 19.30 ± 4.43      |
| 低硒组 | 5.84 ± 1.20       | 19.17 ± 2.25      |

注:与对照组比较 \* $P < 0.01$ , $P < 0.01$   $n = 10$

\*国家自然科学基金资助项目(No. 39670637)

2.3 硒对衰老小鼠脑 GSH、MDA 含量的影响 衰老模型组的 GSH 含量明显低于对照组,而 MDA 含量则明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。加硒后 GSH 含量显著增加 ( $P < 0.01$ ),MDA 含量则明显减少 ( $P < 0.05$ ),其中低硒组效果优于高硒组(表 3)。

表 3 硒对衰老小鼠脑 GSH、MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | GSH( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ ) | MDA(nmol/mg.pro)  |
|-----|-----------------------------------|-------------------|
| 对照组 | 863.0 $\pm$ 32.8                  | 4.15 $\pm$ 0.19   |
| 模型组 | 371.0 $\pm$ 19.0 *                | 6.30 $\pm$ 0.11 * |
| 高硒组 | 821.7 $\pm$ 26.0                  | 2.40 $\pm$ 0.15 # |
| 低硒组 | 909.0 $\pm$ 28.7                  | 2.56 $\pm$ 0.17 # |

注:与对照组比较 \*  $P < 0.01$ ,与模型组比较 #  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$   $n = 10$

2.4 硒对衰老小鼠脑神经细胞及线粒体形态结构的影响 衰老模型组脑神经细胞内明显可见大量脂褐素,线粒体严重水肿、空泡化、内嵴断裂并向旁边缩移,形成微环(图 1)。加硒组神经细胞内均看不到脂褐素。其中高硒组线粒体形态结构基本正常,无水肿、内嵴正常无微环产生,极少数线粒体开始有小空泡产生(图 2),低硒组线粒体均十分正常,无水肿、无空泡化等现象,内嵴正常无微环产生(图 3)。

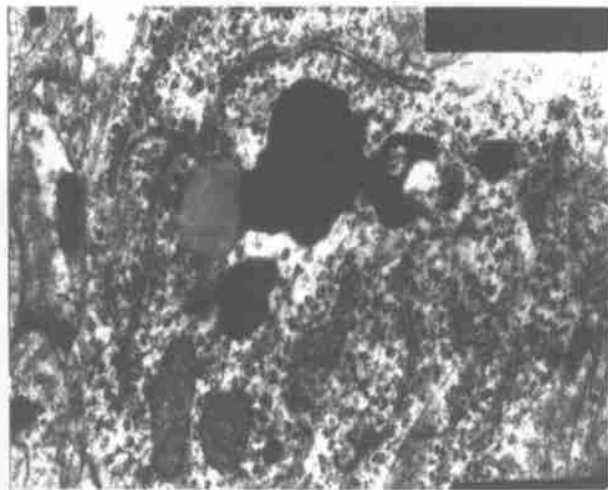


图 1 模型组小鼠脑神经细胞及线粒体的透射电镜照片( $\times 20\ 000$ )

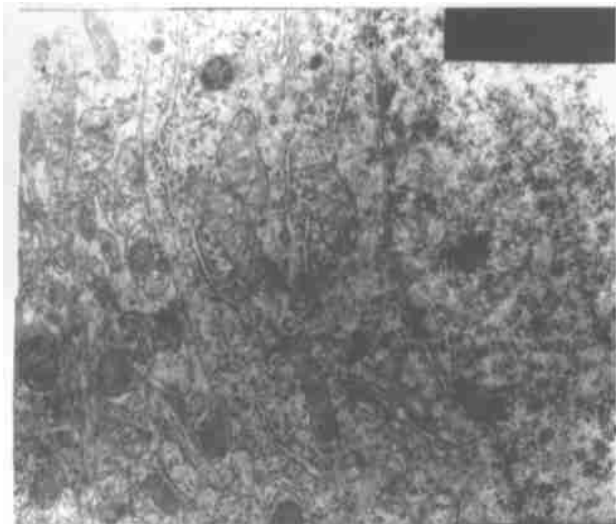


图 2 高硒组小鼠脑神经细胞及线粒体的透射电镜照片( $\times 14\ 000$ )

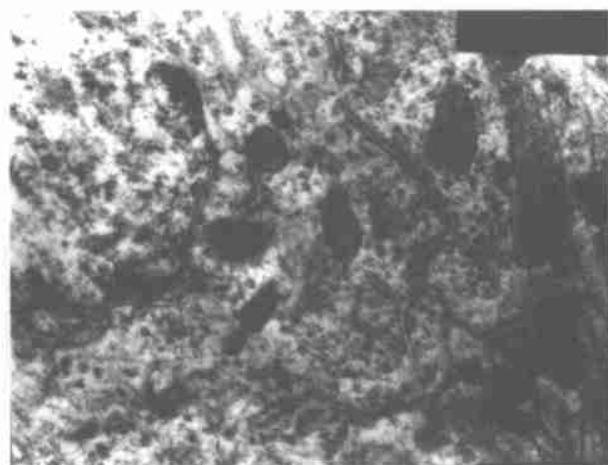


图 3 低硒组小鼠脑神经细胞及线粒体的透射电镜照片( $\times 20\ 000$ )

### 3 讨论

实验中,模型组小鼠脑细胞 SOD、GSH - Px 活性显著下降,GSH 含量明显减少,MDA 含量则明显增加,透射电镜可见神经细胞内存在大量脂褐素,加硒后这些老化状况均得到明显的改善。提示硒可增强机体抗氧化能力,保护神经细胞和线粒体免受自由基损害。另外,低浓度硒的效果明显优于高浓度硒,这与我们曾研究的硒对神经细胞的增殖和分化的影响的结果是一致的<sup>[3]</sup>。其原因与过高浓度硒的细胞毒性有关<sup>[4]</sup>。

各种单胺类神经递质对记忆形成和维持起着很重要的作用。脑中的 MAO - B 活性随年龄增加而升高,能使递质高度氧化、神经中单胺类神经异常<sup>[5]</sup>,因单胺类物质需在肝脏降解,因此肝脏 MAO - B 活性不能受明显抑制。本研究表明硒可明显抑制衰老小鼠脑 MAO - B 活性的增强但不影响肝脏 MAO - B 活性,提示适量的硒可增强记忆并延缓衰老。

脑细胞清除自由基及修复损伤的能力较弱,易受到自由基的损伤而诱发各种老年性疾病<sup>[6]</sup>。线粒体呼吸链活性随增龄而降低,细胞产能减少导致细胞衰老与死亡<sup>[7]</sup>。我们在电镜下观察到老化神经细胞除有大量脂褐质外,胞体和突起中线粒体具明显的老化特征。细胞老化首先表现为线粒体老化<sup>[8]</sup>。本研究表明一定浓度硒对线粒体老化有明显的保护作用,提示硒在延缓神经细胞衰老,防治老年性疾病方面具有重要的应用价值。

作者简介:高良才(1976 - ),男,福建人,在读硕士,研究方向:细胞生化与药理学。

### 参 考 文 献

- [1] 沈玉先,岑德意,魏伟,等. 松果腺及褪黑素与衰老[J]. 中国药理学通报,1999,15(5):387 - 390.
- [2] 龚国清,徐赓本. 小鼠衰老模型研究[J]. 中国药科大学学报,1991,22(2):101 - 103.
- [3] 陈婉蓉,鲁心安,傅中滇,等. 硒对大鼠胚胎神经细胞增殖和分化的影响[J]. 中国公共卫生,2000,16(11):992 - 994.
- [4] 吴建民,陈婉蓉,傅中滇,等. 亚硒酸钠诱发大鼠胚胎中脑神经细胞凋亡的观察[J]. 卫生毒理学杂志,2001,15(1):11 - 14.
- [5] 张熙. D - 半乳糖亚急性中毒拟衰老生化改变[J]. 中国药理学与毒理学杂志,1990,4(4):309 - 310.
- [6] Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology[J]. Br Med Bull,1993,49:577 - 587.
- [7] Boffoli D, Scacco SC, Vergari R, et al. Decline with age of the respiratory chain activity in human skeletal muscle[J]. Biochim. Biophys. Acta,1994,1226:73 - 82.
- [8] 李莉,刘耕陶. 五味子酚对氧自由基引起大鼠脑突触体和线粒体损伤的保护作用[J]. 药理学,1998,33(2):81 - 86.

(2001-05-21 收稿 2001-07-02 修回 李溪莹编辑 宋艳萍校对)