

• 专题研究 •

D-半乳糖致脑老化动物模型及其机理

楚晋 李林*

[关键词] D-半乳糖;脑老化;动物模型;综述

中图分类号:R749.1 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2003)09-0521-02

D-半乳糖是一种生理性营养成分,在正常机体代谢中可转变为葡萄糖,参与葡萄糖代谢^[1],但过量供给会导致代谢紊乱。国外最早将 D-半乳糖动物模型用于白内障的研究^[2],我国学者近年来发展并逐步完善了该模型。利用小剂量 D-半乳糖建立衰老和脑老化动物模型,并逐步由浅入深,从整体水平到分子水平探讨模型发生发展的机制,从而对药物在抗衰老和脑老化方面进行药效学评价及阐明其作用机理。目前,D-半乳糖模型已成为国内公认的衰老和脑老化动物模型。

1 D-半乳糖致脑老化动物模型

1985 年,徐黻本等首次在延缓衰老药物疗效实验中使用 D-半乳糖模型作为衰老模型。他们给 3 个月龄小鼠眼球后注射 D-半乳糖 0.12 mg/g 1 个月后,与正常小鼠和 21 个月龄老年小鼠相比,发现 D-半乳糖模型小鼠在脑 MAO-B 活性、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性、脑心肝组织中脂褐质及血清中脂质过氧化物、SOD 活性等多项生理指标上与自然衰老的小鼠相近^[3]。随后,李文彬等采用颈后皮下注射代替眼球后注射^[4],并深入地探讨 D-半乳糖模型拟衰老和拟脑老化的作用机制,使之成为在衰老变化基础上的脑老化模型,为其进一步演变为以认知障碍为主的痴呆模型奠定了基础。

他们的研究显示,D-半乳糖模型小鼠学习记忆能力减退,脑皮层和海马神经元转录能力下降,蛋白合成能力减退,并发生了神经元退行性变化,提示 D-半乳糖模型拟衰老效应有基因表达和调控异常的基础。同时还发现,D-半乳糖模型大鼠皮层和海马部位 MDA 含量增加,SOD 活性下降,MAO-B 活性增加,皮肤羟脯氨酸含量降低,各指标变化幅度均接近衰老大鼠水

平,而氧自由基水平升高^[5],因而猜测活性氧应激可能是 D-半乳糖模型拟衰老效应的启动因子。

较新研究显示,D-半乳糖小鼠模型脑组织乙酰胆碱酯酶(AchE)活性明显下降^[6],单胺氧化酶活性明显升高^[7]。已知胆碱能系统与学习记忆关系密切,乙酰胆碱(Ach)为促学习记忆的神经递质,而 AchE 是降解 Ach 的酶,AchE 活性降低,间接说明胆碱能功能衰退,故 D-半乳糖小鼠脑组织 AchE 活性下降提示其中枢胆碱能功能发生障碍,从而使其学习记忆能力下降。张石宁等对 D-半乳糖致衰老大鼠海马部位单胺递质及其代谢物的含量测定发现,半乳糖化 SD 大鼠海马内去甲肾上腺素(NE)的代谢产物 3-甲氨基-4-羟基苯乙醇(MHPG)和 5-羟色胺(5-HT)的代谢产物 5-HIAA 均比正常对照组明显降低,高香草酸(HVA)水平无明显改变^[8],提示 D-半乳糖大鼠海马中 NE 和 5-HT 水平降低,D-半乳糖化动物脑内单胺能系统功能下降,这与 AD 患者脑内神经递质的变化一致。以往研究表明,动物衰老时学习记忆能力明显减退,这种行为学上的退行性变与其记忆相关脑区皮层、海马等突触界面形态结构的衰老性变化有关^[9]。神经形态学研究表明,D-半乳糖可导致小鼠学习记忆相关脑区海马 CA3 区兴奋性突触(Gray I 突触)界面结构发生类似正常衰老时的可塑性变化,如突触间隙变大,突触后致密物质(PSD)厚度明显变薄,但突触界面曲率等较粗大的结构指标变化不明显^[10],提示 D-半乳糖小鼠模型大脑神经元突触形态学的变化可能是脑功能衰退的物质基础之一。

赵咏梅等通过免疫组化实验发现,D-半乳糖模型小鼠海马内凋亡相关蛋白 Fas、Fas 配体(Fas-L)、c-Fos 及 Jun 的表达均明显高于正常对照组,海马内 NF- κ B 染色阳性神经元数目比正常对照组明显减少^[11],说明 D-半乳糖小鼠模型组小鼠脑神经元出现大量凋亡,且凋亡相关蛋白表达异常。王晶等电镜观察发现,D-半乳糖模型小鼠海马神经元中细胞器数量减少;线粒体膨胀呈空泡变性,嵴溶解消失;粗面型内质网分布紊乱,脱颗粒,内质网腔扩张变形;突触间隙不规则,单位面积内轴-棘突触的数量减少^[12]。孙异临等发现,D-半乳糖模型小鼠神经组织的超微病理改变主要为线粒

基金项目:北京市自然科学基金项目(No.7982006),北京市科委资助北京市重点科技实验室项目(No.951890600),首都二四八重大创新工程项目(H010210130113)。

作者单位:100053 北京市,首都医科大学宣武医院药理研究室,北京脑老化重点实验室。作者简介:楚晋(1973-),女,辽宁大连市人,助理研究员,硕士,主要研究方向:老年性痴呆的药物防治。*通讯作者:李林。

体肿胀、核糖体减少、内质网扩张、微管溶解和突触结构破坏^[13]。说明 D-半乳糖引起的小鼠海马超微结构的变化是 D-半乳糖导致脑功能下降的形态学基础之一。

2 D-半乳糖致脑老化动物模型造模机理

早期的研究认为,一定时间内连续注射 D-半乳糖,使机体细胞内半乳糖浓度增高,在醛糖还原酶催化下还原成半乳糖醇,这种物质不能被细胞进一步代谢而堆积在细胞内,影响正常渗透压,导致细胞肿胀,功能障碍,代谢紊乱,最终导致机体衰老。但这种途径多伴有白内障、髓鞘变性、神经传导速度减慢等糖尿病并发症、神经炎性改变,而对 D-半乳糖小鼠模型的研究多数报道并未发现这些改变,因此该机制还有待进一步证实。李文彬等在系统研究基础上提出,D-半乳糖化产生活性氧应激效应态是拟衰老和脑老化的启动因子学说。认为,D-半乳糖受半乳糖合成酶的作用,产生了 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 等活性氧,导致 SOD 活性下降,MDA 和脂褐质(LIP)水平升高,其中活性氧是 D-半乳糖拟老化作用的启动因子,而基因表达和调控过程受累是重要环节。目前,这一机制得到普遍公认。

由于衰老的启动因子不止一种,因此对 D-半乳糖模型的全面研究对于评价其作为衰老和脑老化模型尤其重要。为此,李电东等根据非酶糖基化(NEG)理论^[14-15]对 D-半乳糖小鼠模型进行 NEG 方面的研究。发现,D-半乳糖小鼠血清中高级糖基化终末产物(AGEs)水平显著升高,脑中小胶质细胞和星形胶质细胞活化,炎性介质 IL-1, IL-6, TNF- α 分泌增加,NO 和 iNOS 表达增加,活性氧增加,并与衰老小鼠变化相似^[16-17]。同时发现,对 D-半乳糖模型小鼠注射 AGEs 形成的抑制剂氨基胍(aminoguanidine)后,氨基胍可防止模型小鼠的衰老进程。因而提出,D-半乳糖致衰老和脑老化是由半乳糖在小鼠体内引发 NEG,损伤生物大分子的正常生理功能,同时由反应产物 AGEs 诱导自由基损伤进一步放大 NEG 效应而导致的。

对 D-半乳糖衰老和脑老化模型的研究,应进一步阐明其拟衰老和脑老化的机制,拓展其在脑老化方面的应用,如开展 D-半乳糖氧化酶的研究,以研究 D-半乳糖在负荷条件下的代谢过程及活性氧的发生规律;验证活性氧应激导致基因表达失调的作用。在神经退行性变方面开展研究,如研究 D-半乳糖化小鼠脑内 Ach 受体表达的变化以及与此相关的神经营养因子表达的变化,并深入探讨这些变化的机制以及它们之间的联系。

[参考文献]

- [1]董仓玉.糖类代谢[A].见:徐小利,马润泉.医学生物化学[C].北京:人民卫生出版社,1990.174—176.
- [2]Unakar NJ, Sui JY, Johnson MJ. Prefeeding of Aldose reductase inhibitor and galactose cataractogenesis[J]. Curr Eye Res, 1989, 8(10): 997—1010.
- [3]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.
- [4]李文彬,韦丰,范明,等.D-半乳糖在小鼠上诱导的拟脑老化效应[J].中国药理学与毒理学杂志, 1995, 9(2): 93—95.
- [5]张熙,张葆樽,杨新平,等.D-半乳糖诱导拟衰老动物模型的记忆行为改变[J].中国老年学杂志, 1996, 16: 230—232.
- [6]林志宏,朱丹妮,严永清,等.当归芍药散防治老年痴呆的物质基础与作用机理研究 II: 抗脑老化组方功效相似性研究[J].中国实验方剂学杂志, 2002, 8(4): 18—20.
- [7]杨军,王静,姜文.赤芍总甙对 D-半乳糖衰老小鼠学习记忆及代谢产物的影响[J].中国药理学报, 2001, 17(6): 697—700.
- [8]张石宁,肖红,王伟勇.D-半乳糖致衰老大鼠单胺类递质的改变[J].中国老年学杂志, 2000, 20: 366—367.
- [9]章子贵,杜红薰,姜建明,等.衰老中小鼠学习记忆与脑内突触参数变化的相关性[J].神经解剖学杂志, 1998, 14: 147—151.
- [10]徐晓虹.D-半乳糖致衰老小鼠记忆与海马突触形态学变化[J].卫生毒理学杂志, 2001, 15(4): 204—206.
- [11]赵咏梅,赵志炜,姬志娟,等. AP17 肽对 D-半乳糖脑老化模型小鼠神经元凋亡的影响[J].中华老年医学杂志, 2002, 21(3): 202—205.
- [12]王晶,孙异临,盛树力. AP17 肽对 D-半乳糖脑老化模型小鼠海马超微结构的影响[J].中国药理学通报, 2000, 16(3): 322—324.
- [13]孙异临,盛树力,曲宝清,等.实验性脑老化动物模型海马区的超微结构研究[J].中国医学影像学杂志, 2001, 9(2): 122—125.
- [14]Mitsubishi J, Ulassara H, Founds HW, et al. Standardizing the immunological measurement of advanced glycation end products using normal human serum[J]. J Immunol, 1977, 207: 79—88.
- [15]Bucala R, Cerami A. Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging[J]. Adv Pharmacol, 1992, 23: 1—4.
- [16]Song X, Bao MM, Li DD, et al. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model[J]. Mech Age Dev, 1999, 108: 239—251.
- [17]王真,李宗楷,李电东.老年大鼠大脑组织一氧化氮、一氧化氮合酶的变化及神经细胞凋亡研究[J].中华老年医学杂志, 2001, 20(6): 407—409.

(收稿日期: 2003-06-05 2003-07-28)