

# 还原型谷胱甘肽对帕金森病大鼠氧化应激水平的影响

周厚广 鲍远程 陆建明 韩德强 尤年兴 薛建中 陆耀军

**【摘要】** 目的 观察还原型谷胱甘肽(GSH)对帕金森病(PD)大鼠模型黑质抗氧化水平和线粒体呼吸链功能的影响。方法 应用 6-羟基多巴胺(6-OHDA)立体定向注射制作 PD 大鼠模型。将 24 只大鼠随机分为 3 组(每组 8 只):模型组、治疗组、假手术组,分别给予相应处理 45d。给药后测定各组大鼠黑质区谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)、活性氧(ROS)及线粒体呼吸链酶复合体 I 水平。结果 (1) GSH 能使模型大鼠黑质区 GSH-Px 活性增强,MDA 和活性氧水平降低( $11.30 \pm 0.49$ ,  $1.26 \pm 0.15$ ,  $42.25 \pm 2.88$ )。(2)GSH 能增强黑质呼吸链酶复合体 I 活性( $2905.28 \pm 52.15$ )。结论 GSH 能减轻 PD 模型大鼠黑质区氧化应激损伤,并对线粒体呼吸链具有一定保护作用。

**【关键词】** 还原型谷胱甘肽; 帕金森病; 氧化应激; 线粒体呼吸链  
**The effect of glutathione on oxidation stress of Parkinson's disease rat** ZHOU Hou-gunag, BAO Yuan-cheng, LU Jian-ming, et al. The Department of Neurology, The Affiliated Changshu Hospital of Yangzhou University Medical College, Changshu 215500, China

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of glutathione on nigral antioxidation system, mitochondrial respiration-chain function of PD model rat. **Methods** The PD model rats were established through stereotaxic microinjection of 6-OHDA. The 24 rats were randomly divided into 3 groups: Model group (MG), Glutathione group (GG) and sham-operated group (SG). Every group was given relevant treatment for 45 days. The activity of GSH-Px, content of MDA, ROS and mitochondrionase complex I of nigra were assayed after treatment. **Results** (1) Glutathione could increase the GSH-Px activity and decrease the contents of MDA and ROS of nigral. (2) Glutathione could exert some protective effect on mitochondrial respiration-chain. **Conclusions** GSH could decrease the nigral oxidative stress of PD model rats, and exert some protective effect on mitochondrial respiration-chain.

**【Key words】** Glutathione; Parkinson's disease; Oxidative stress; Mitochondrial respiration-chain

左旋多巴(L-dopa)制剂目前仍是治疗帕金森病(PD)的最有效手段,可明显改善症状,但 50%~80% 的 PD 患者最终将出现运动方面的并发症,从开始服药至出现并发症平均为 4.1 年(0.3~18 年)<sup>[1]</sup>。因此,探索有效的神经保护性治疗方案已成为目前 PD 研究的新热点,我们应用还原型谷胱甘肽进行了有益的探索,并对其作用机制进行了深入探讨。

## 材料与方法

### 一、材料

SD 大鼠 40 只,2~3 月龄,雄性(河南省实验动物中心);还原型谷胱甘肽(GSH,商品名古拉定,600mg/支,香港积华药业有限公司);6-羟基多巴胺(6-OHDA),阿朴吗啡(APO),还原型辅酶 I (NADH)(美国 sigma 公司);ROS 测试盒,MDA 测试盒,GSH-Px 测试盒(南京建成生物工程公司);SR-6N 型大鼠脑立体定向仪(日本 Narishige 公司);T2-16R 型高速冷冻

离心机(上海离心机研究所)。

### 二、模型制作及分组

随机选取 32 只,采用 6-OHDA 两点注射法制作 PD 大鼠模型<sup>[2]</sup>,随机选取 16 只成功大鼠模型分为模型组和治疗组(各 8 只),另设假手术组(8 只)。

### 三、给药方法

GSH 注射剂用生理盐水配制成 25mg/ml 的溶液(现配现用,剩余溶液不能再用)。模型组:予生理盐水,10ml·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>行腹腔注射。假手术组:予生理盐水,10 ml·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>行腹腔注射。治疗组:予 GSH 125 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。以上各组均分 2 次给药,共 45d。

### 四、指标检测

将各组大鼠在 1%戊巴比妥麻醉下,迅速断头处死,冰浴中快速剥离大脑,参照大鼠脑立体定向图谱,准确切取中脑黑质组织,置于匀浆介质中,-60℃冰箱内保存待测,检测中脑黑质细胞的 ROS、MDA、GSH-Px 及 NADH,ROS、MDA、GSH-Px 均采用南京建成生物工程公司提供的试剂盒进行检测,NADH 参照报道的方法进行检测<sup>[3]</sup>。

### 五、统计学处理

计量资料均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料治疗前后

作者单位:215500 常熟,扬州大学医学院附属常熟医院神经内科(周厚广、陆建明、尤年兴、薛建中、陆耀军),安徽中医学院一附院神经内科(鲍远程),黑龙江鹤岗市红十字医院(韩德强)

比较用 *t* 检验,采用 SPSS (10.0 版)统计软件进行统计,以  $P<0.05$  为显著性差异。

结 果

模型组和治疗组的 GSH-Px 和复合体 I 含量均明

表 1 各组对黑质区 GSH-Px、复合体 I、活性氧及 MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	GSH-Px	复合体 I	活性氧	MDA
		(U/ mg. prot)	( $\mu$ mol/ L. min. mg. prot)	(u/ mg. prot)	(nmol/ mg. prot)
假手术组	8	17.48 $\pm$ 0.74	3372.41 $\pm$ 69.74	29.42 $\pm$ 2.18	1.0 $\pm$ 0.19
模型组	8	7.49 $\pm$ 0.42 $\triangle$	2516.67 $\pm$ 42.97 $\triangle$	62.95 $\pm$ 6.32 $\triangle$	2.26 $\pm$ 0.18 $\triangle$
治疗组	8	11.30 $\pm$ 0.49 $\triangle\blacktriangle$	2905.28 $\pm$ 52.15 $\triangle\blacktriangle$	42.25 $\pm$ 2.88 $\triangle\blacktriangle$	1.26 $\pm$ 0.15 $\triangle\blacktriangle$

注:与假手术组比较,  $\triangle P<0.05$ ,与模型组比较,  $\blacktriangle P<0.05$

讨 论

一、GSH 对黑质 ROS、MDA 及 GSH-Px 的影响

GSH 是机体内自由基防御系统中的一个重要物质,它能有效清除生物氧化产生的自由基,维持细胞内环境的稳定。此外,GSH 在对抗氧自由基过氧化并抑制由此引发的细胞凋亡、坏死及自稳态改变等方面亦发挥重要作用<sup>[4]</sup>。有研究发现,PD 病人黑质区和苍白球内 GSH 含量明显降低,而在多系统萎缩(MSA)或进行性核上性麻痹(PSP)病人黑质中 GSH 含量则无明显改变,这表明 PD 黑质 GSH 含量降低具有疾病和部位选择性,说明 GSH 在 PD 病理变化中起重要作用<sup>[5]</sup>。故我们认为,氧化反应异常与线粒体呼吸链功能障碍可能是 PD 不可逆性进展的核心环节。

ROS 既包括各种氧自由基如 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2\cdot^-$ 等,同时也包括与各种自由基行为密切相关的非自由基成分,如 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2$ 及次氯酸等。MDA 是过氧化脂质(LPO)的降解产物,MDA 含量可以反映 LPO 的水平。GSH-Px 主要位于线粒体内,特异性地催化 GSH 对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的还原反应。GSH 和 GSH-Px 是脑内最重要的自由基清除系统。

Sechi 等<sup>[6]</sup>在临床研究发现,将 GSH 应用于 9 例早期未经治疗的 PD 病人,所有病人临床症状均明显改善,运动不能症状下降 42%,停药后其临床疗效可维持 2-4 月。国内鲍远程等<sup>[7]</sup>亦在研究中发现 GSH 联合复方中药制剂亦能够部分改善 PD 模型大鼠旋转行为,并能减轻黑质区氧化应激损伤,降低 MAO-B 活性,调节纹状体 DA 含量及其代谢。本实验发现 GSH 可显著降低 ROS 和 MDA 水平( $P$ 均 $<0.05$ ),增强 GSH-Px 活性( $P<0.05$ ),从而增强机体的抗氧化能力。

二、GSH 对黑质线粒体呼吸链酶复合体 I 的影响

线粒体呼吸链是体内氧自由基产生的主要部位,

显低于假手术组( $P<0.05$ ),而活性氧和 MDA 水平则高于假手术( $P<0.05$ ),治疗组的上述前两种指标明显高于模型组( $P<0.05$ ),而后两种指标则显著低于模型组( $P<0.05$ )。结果见表 1。

呼吸链中任何部位受到抑制都会使自由基产生增多,复合体 I 缺陷会导致自由基生成增多,使线粒体膜脂质过氧化,损伤 mtDNA,加重线粒体功能障碍,从而形成毒性循环。同时增多的自由基可漏出线粒体,损伤细胞的蛋白质、脂肪及核基因,导致细胞死亡。有人通过免疫组化方法分析发现 PD 患者黑质呼吸链酶复合体 I 染色明显减弱,而且主要位于含有神经黑色素的神经元<sup>[8]</sup>。本实验发现,模型组酶复合体 I 含量明显低于假手术组( $P<0.05$ ),与以往报道的结果基本一致。GSH 能显著增加酶复合体 I 含量(与模型组相比 $P<0.05$ ),从而部分拮抗自由基生成链的恶性循环。

综上所述,GSH 可有效拮抗黑质区氧化应激损伤,保护线粒体呼吸链功能,推测可能在一定程度上延缓黑质多巴胺能细胞的进行性变性进程,其具体神经生物学机制仍有待进一步深入系统研究。

参 考 文 献

1 孙斌.帕金森病的药物治疗现状.中国综合临床,1999,15(4):295.  
2 周厚广,陆建明,鲍远程,等.6-羟基多巴胺帕金森病大鼠模型的建立与评价.中国行为医学科学杂志,2002,11(1):4.  
3 李燕,唐胜南,任期专.线粒体肌病患者呼吸链酶复合体的测定.中国实验临床免疫学杂志,1998,10(5):33-35.  
4 Uitti RJ, Calne DB. Pathogenesis of idiopathic Parkinsonism. Eur Neurol, 1993, 33(suppl 1): 6-23.  
5 Richter C. Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? FEBS Lett, 1988, 241(1-2): 1-5.  
6 Sechi G, Deeden MG, Bua G. Reduced intravenous glutathione in the treatment of early Parkinson's disease. Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry, 1996, 20: 1159-1170.  
7 鲍远程,周厚广,汪瀚,等.抗震止痉胶囊联合还原型谷胱甘肽治疗帕金森病的实验研究.安徽医学,2002,23(5):1-4.  
8 Schapira AHV, Cooper JM, Dexter D, et al. Anatomic and disease specificity of NADH CoQ reductase deficiency in Parkinson's disease. J Neurochem, 1990, 55: 2142-2145.

(收稿日期:2003-10-20)

(本文编辑:冯学泉)