

- 球菌和其他细菌生物被膜形成的抑制作用[J]. 中国科学:生命科学, 2011, 41(7):586-592.
- [16] 邱良雪. 柠檬提取物体外对新城疫病毒和柯萨奇病毒 B<sub>3</sub> 的杀灭作用及其抑菌作用的研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2006.
- [17] 方德秋. 柠檬醛及香精油的抗菌性研究概述[J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(2):75-77.
- [18] 马艳丽, 齐树亭, 樊盛菊. 柠檬酸对 3 种常见水产病原菌的抑菌作用[J]. 城市环境与城市生态, 2005, 18(3):14-16.
- [19] Bullitt E, Makowski L. Structural polymorphism of bacterial adhesion pili[J]. Nature, 1995, 373(6510):164-167.
- [20] Flemming H C, Wingender J. The biofilm matrix[J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8(9):623-633.
- [21] 戚韩英, 汪文斌, 朱亮. 生物膜形成机理及影响因素探究[J]. 微生物学通报, 2013, 40(4):677-685.
- [22] 张娜, 韩北忠, 李敏, 等. 食品接触表面对金黄色葡萄球菌生物被膜形成的影响[J]. 食品研究与开发, 2006, 127(7):33-35.

## 研究报告

# 柠檬苦素对自然衰老大鼠抗氧化和学习记忆能力的影响

李林子, 胡文敏, 唐靓, 张岭, 张丽婧, 胡志航, 陈建国, 刘冬英, 刘臻, 王茵  
(浙江省医学科学院, 浙江 杭州 310013)

**摘要:**目的 探讨柠檬苦素(limonin)对自然衰老大鼠学习记忆能力及因衰老而导致机体氧化损伤的影响。方法 采用 18 月龄雄性 SD 大鼠作为自然衰老模型, 随机分为衰老对照组和 Limonin 组(50、150 mg/kg), 连续灌胃 6 周。试验第 7 周时采用 Morris 水迷宫测定大鼠学习记忆能力, 并进行大鼠血清及脑组织氧化水平及抗氧化能力检测。结果 与衰老对照组相比, Limonin 高、低剂量组大鼠在隐藏平台获得试验中潜伏期和游泳总路程均明显减少, 在空间探索试验中穿过原安全平台次数、原安全平台所在象限活动时间和活动路程均明显增加, 同时 Limonin 能降低衰老模型小鼠血清及脑组织丙二醛、脂褐素水平, 提高血清及脑组织中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力及脑组织中总抗氧化的能力。结论 Limonin 能改善自然衰老大鼠的学习记忆能力, 提高脑组织的抗氧化能力, 具有一定的延缓脑衰老的作用。

**关键词:**柠檬苦素; 衰老; 抗氧化; 学习记忆; Morris 水迷宫; 抗衰老; 保健食品

中图分类号: R155.5; S865.1<sup>+</sup>2 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)01-0022-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.01.005

## Effect of limonin on learning and memory ability and antioxidant capacity of natural apolexis rats

LI Lin-zi, HU Wen-min, TANG Liang, ZHANG Ling, ZHANG Li-jing, HU Zhi-hang,  
CHEN Jian-guo, LIU Dong-ying, LIU Zhen, WANG Yin  
(Zhejiang Academy of Medical Sciences, Zhejiang Hangzhou 310013, China)

**Abstract: Objective** This study aims to investigate the effects of limonin on learning and memory abilities and antioxidant capacity of natural apolexis rats. **Methods** 18 months male SD rats was used as natural apolexis model, and randomly divided into control group and limonin group (50, 150 mg/kg), and then continuous lavage for 6 weeks. At seventh week of the experiment, the learning and memory ability were determined by Morris water maze, and the oxidation and anti-oxidation ability was detected in rat serum and brain tissue. **Results** Different doses of limonin could reduce the time of reaching the end and the total distance of swimming, the times through original security platform, the original security platform in quadrant activity time and distance in space exploration test were significantly increased, and limonin could reduce MDA and Lipo levels in natural apolexis rats serum and brain tissue, increase the SOD, GSH-Px activities in serum and brain tissue and the ability of T-AOC in brain tissue. **Conclusion** Limonin could improve the learning and memory ability of natural apolexis rats, improve the antioxidant ability of brain tissue, delay the aging of the brain function.

收稿日期: 2015-09-26

基金项目: 食品(保健食品)质量安全评价研究实验室建设(2015F10014); 浙江省医药卫生平台重点资助计划(2014ZDA004); 浙江省营养学医学支撑学科建设(11-zc03); 浙江省科技厅项目(2011F20038); 浙江省 151 人才培养项目

作者简介: 李林子 男 初级研究员 研究方向为生物活性物质的功效与毒理学 E-mail: lilinzi1989@163.com

通信作者: 王茵 女 研究员 研究方向为营养与健康关系 E-mail: wy3333@163.com

**Key words:** Limonin; apolexis; antioxidant; learning and memory abilities; Morris water maze; anti-aging; health food

随着人类平均寿命的延长,世界人口结构的老龄化趋势日益突显,人口老龄化的时代已经来临。衰老(aging senescence)是指生物体在正常状况发育成熟后,随着年龄增加,机体在退化时期生理功能下降和紊乱的综合表现,是不可逆的生命过程<sup>[1]</sup>。在神经系统中,与年龄增加相关的最主要的衰退之一是认知功能障碍,学习记忆能力作为认知功能的一部分,大量研究已经证实人和动物的学习和记忆能力都存在增龄性衰退现象<sup>[2-3]</sup>。学术界对老年学习记忆减退的机制进行了大量的研究,也取得了一定进展。其中比较公认的几个假说是:老化的自由基假说、老化的胆碱能假说、老化的一氧化氮假说。1956年,Harman提出衰老自由基学说,即当机体衰老时,其相关活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的产生增多,ROS的积累可以引起脂质的过氧化从而破坏生物膜的稳定性、产生褐脂素、损伤核内DNA和线粒体DNA以及引起蛋白氧化损失和大分子交联、降低相关抗氧化酶活性<sup>[4]</sup>。同时氧化应激可损伤神经元、破坏细胞内信号传导,最终导致神经元凋亡或坏死。研究表明大量ROS可导致记忆障碍<sup>[5]</sup>,因此筛选出具有抗氧化、预防衰老作用的药物成为21世纪世界生命科学研究的热点之一。

柠檬苦素(limonin)又名黄柏内酯、吴茱萸内酯,主要存在于芸香科和楝科的多种植物中,特别在柑橘属(*Citrus*)中含量丰富<sup>[6]</sup>,研究表明,柠檬苦素类物质具有抗癌<sup>[7-8]</sup>、抗疟疾<sup>[9]</sup>、降低低密度胆固醇<sup>[10]</sup>、防止动脉粥样硬化形成及抑菌、除虫等生物活性<sup>[11]</sup>。同时,试验表明柠檬苦素具有较强的抗氧化能力<sup>[12-13]</sup>,其活力是维生素C(Vc)的12.5~17.2倍<sup>[14]</sup>,然而关于柠檬苦素改善自然衰老大鼠学习记忆能力鲜见报道,故本试验旨在对柠檬苦素是否具有改善自然衰老大鼠抗氧化能力及学习记忆能力进行探讨,以便为柠檬苦素改善记忆研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验动物

SPF级6周龄雄性SD大鼠12只、体质量180~200g,18月龄雄性SD大鼠36只、体质量530~580g均购自浙江省医学科学院实验动物中心[生产许可证号:SCXK(浙)2014-0001],饲养于浙江省医学科学院实验动物中心[合格证号:SYXK(浙)2011-0166],室温20~25℃,相对湿度40%~70%。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

Morris水迷宫(中国医学科学院药物研究所)、酶标仪(美国Molecular Device)、LP123电子天平、低速冷冻多管离心机。

柠檬苦素(20140309-2,纯度40.9%,浙江省海正药业股份有限公司),用蒸馏水配制成150、50mg/kg两种剂量。蛋白定量试剂盒(20141125)、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒(20140924)、丙二醛(MDA)测试盒(20141124)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测试盒(20141124)、脂褐素(Lipo)测试盒(20141015)、总抗氧化能力(T-AOC)测试盒(20141015)均购自南京建成生物工程研究所。

## 1.2 方法

### 1.2.1 动物分组及处理

大鼠适应性喂养一周后,眼眶采血,检测血清中SOD、MDA水平。36只18月龄雄性SD大鼠按照体质量和血清中SOD、MDA水平随机分为3组,分别为自然衰老模型对照组、Limonin高剂量组(150mg/kg)、Limonin低剂量组(50mg/kg),12只6周龄雄性SD大鼠作为正常对照组。正常组、模型组每日灌胃双蒸水,Limonin高、低剂量组每日灌胃给予相应受试药,灌胃体积为0.1ml/10g,连续6周,4周后进行学习记忆能力测试和生化指标检测,末次给药后禁食12h,腹主动脉采血,检测血清中SOD、GSH-Px活力和MDA含量,同时迅速取右侧大脑组织(在冰面上操作),制成10%组织匀浆,测定脑组织蛋白浓度(考马斯亮蓝法),SOD、T-AOC、GSH-Px活力和Lipo、MDA含量。

### 1.2.2 Morris水迷宫行为测试试验

Morris圆形水迷宫主要由圆形不锈钢水池(直径120cm,高50cm)和隐藏平台(直径9cm,高27cm)组成,水池上空通过一个数字摄像机与计算机相连接,对动物活动进行全程跟踪。试验时将水池内的水用黑色墨汁染色,同时水面高出平台表面1cm以隐藏平台,水温控制在(22±0.5)℃。整个试验过程分为隐藏平台获得试验和空间探索试验两部分。

隐藏平台获得试验旨在评价大鼠的学习和记忆能力。试验开始前,让大鼠自由游泳2min以适应周围环境。试验正式开始时,随机从东、西、南、北4个入水点选择一个,将大鼠面向池壁放入水中,记录其寻找并爬上平台所需时间即逃避潜伏期。如果大鼠在90s内未找到平台,将其引至平台停留30s,潜伏期记为90s;若大鼠找到平台,需停留

10 s。试验历时 5 d,每天每只大鼠训练 2 次。计算每天各组 2 次寻找平台潜伏期和游泳速度的平均值记为当天的寻找平台潜伏期和游泳速度<sup>[15]</sup>。

空间探索试验旨在评价大鼠空间位置记忆保持的能力。训练 5 d 后,全体大鼠休息 24 h 后,于第 7 天去除平台,任选一个入水点将大鼠放入水中,记录 60 s 内,大鼠在目标象限(原平台所在象限)穿越目标次数,记为穿越次数。

### 1.3 统计学分析

本研究数据用 SPSS 17.0 软件统计并分析,计量资料数据结果均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异做两样本均数比较的  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表 1 对自然衰老模型大鼠 Morris 水迷宫测试潜伏期的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 1 Effect on latency of Morris water maze test in natural apolexis rats

组别	Limonin 剂量 /(mg/kg)	潜伏期/s				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	—	55.01 ± 22.14	39.93 ± 15.96	36.29 ± 26.59	27.05 ± 18.62	18.44 ± 11.21
模型对照组	—	65.77 ± 31.11	49.83 ± 27.79	53.90 ± 25.61	51.00 ± 23.42 <sup>△△</sup>	34.05 ± 18.00 <sup>△△</sup>
Limonin 高剂量组	150	55.56 ± 22.43	44.47 ± 27.16	38.50 ± 26.87	19.40 ± 13.62 <sup>**</sup>	17.51 ± 9.38 <sup>**</sup>
Limonin 低剂量组	50	49.83 ± 27.90	42.41 ± 27.53	49.87 ± 25.88	39.41 ± 30.54	21.93 ± 15.01 <sup>*</sup>

注:△为与正常对照组比较  $P < 0.05$ ; △△为与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; \* 为与模型对照组比较  $P < 0.05$ ; \*\* 为与模型对照组比较  $P < 0.01$ ; — 为无剂量

表 2 对自然衰老模型大鼠 Morris 水迷宫测试游泳路程的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 2 Effect on swimming distance of Morris water maze test in natural apolexis rats

组别	Limonin 剂量 /(mg/kg)	总路程/cm				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	—	713.05 ± 314.47	552.21 ± 198.89	472.55 ± 349.73	382.39 ± 253.66	247.87 ± 140.41
模型对照组	—	950.33 ± 437.11	740.06 ± 396.50	804.00 ± 368.22 <sup>△</sup>	794.35 ± 313.86 <sup>△△</sup>	603.52 ± 349.71 <sup>△△</sup>
Limonin 高剂量组	150	830.13 ± 431.23	641.89 ± 374.89	613.69 ± 376.17	339.04 ± 245.34 <sup>**</sup>	302.27 ± 182.46 <sup>**</sup>
Limonin 低剂量组	50	705.14 ± 366.35	558.74 ± 327.45	739.71 ± 387.39	542.32 ± 357.79 <sup>*</sup>	343.29 ± 237.16 <sup>*</sup>

注:△为与正常对照组比较  $P < 0.05$ ; △△为与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; \* 为与模型对照组比较  $P < 0.05$ ; \*\* 为与模型对照组比较  $P < 0.01$ ; — 为无剂量

空间探索试验:由表 3 可知,模型对照组与正常对照组比较,在空间探索试验中穿越安全台次数减少、潜伏期延长、在原安全平台所在象限活动时间和活动路程均降低,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型对照组比较, Limonin 高剂量组(150 mg/kg)在空间探索试验中穿越安全台次数增加、潜伏期减少、同时原安全平台所在象限活动时间和活动路程均增加,均差异有统计学意义( $P <$

## 2 结果

### 2.1 Limonin 对自然衰老模型大鼠学习记忆能力的影响

隐藏平台获得试验:由表 1、2 可知,衰老模型对照组与正常对照组比较,在训练第 4 天开始潜伏期和第 3 天开始的游泳路程均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较, Limonin 高剂量组(150 mg/kg)从训练第 4 天开始潜伏期和游泳路程均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); Limonin 低剂量组(50 mg/kg)在训练第 5 天潜伏期下降,从训练第 4 天开始游泳路程下降,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

0.05); Limonin 低剂量组(50 mg/kg)在空间探索试验中穿越安全台次数增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),潜伏期的缩短差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但在原安全平台所在象限活动时间和活动路程均增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

各组大鼠在水迷宫训练最后一天(第 5 天)的典型游泳轨迹,如图 1 所示,正常对照组大鼠可以以最佳的游泳模式找到平台,而模型对照组大鼠则表

表 3 对自然衰老模型大鼠 Morris 水迷宫实验的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 3 Effect on natural apolexis rats in Morris water maze test

组别	Limonin 剂量 /(mg/kg)	潜伏期/s	穿越平台次数 /次	平台象限活动时间占	平台象限活动路程占
				总时间百分比/%	总路程百分比/%
正常对照组	—	10.31 ± 3.68	5.00 ± 2.04	31.90 ± 6.28	42.64 ± 15.03
模型对照组	—	18.41 ± 8.18 <sup>△△</sup>	3.33 ± 1.72 <sup>△</sup>	26.20 ± 5.89 <sup>△</sup>	30.91 ± 8.52 <sup>△</sup>
Limonin 高剂量组	150	12.81 ± 7.27 <sup>*</sup>	4.92 ± 1.68 <sup>*</sup>	34.97 ± 11.66 <sup>*</sup>	42.67 ± 13.22 <sup>**</sup>
Limonin 低剂量组	50	14.48 ± 9.59	4.83 ± 1.85 <sup>*</sup>	31.39 ± 5.82 <sup>*</sup>	41.67 ± 18.96 <sup>*</sup>

注:△为与正常对照组比较  $P < 0.05$ ; △△为与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; \* 为与模型对照组比较  $P < 0.05$ ; \*\* 为与模型对照组比较  $P < 0.01$ ; — 为无剂量

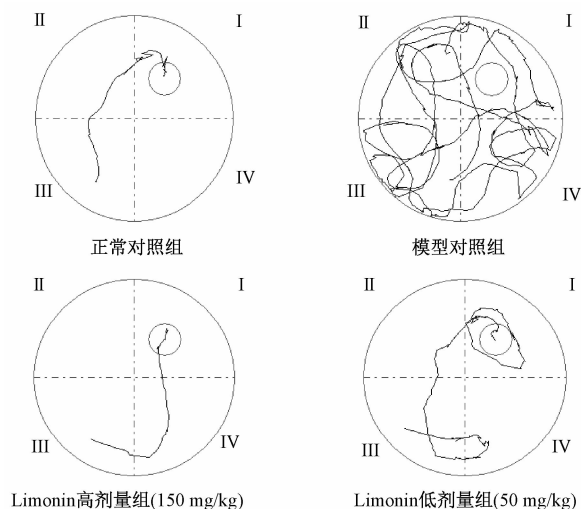


图1 各组大鼠在水迷宫试验最后一天(第5天)的典型游泳轨迹  
Figure 1 Representative swimming paths of the different groups on last day (day 5) in the Morris water maze test

现为在池中穿梭寻找平台,但是并不能确定平台的确切位置。Limonin 高、低剂量组大鼠寻找平台的模式明显优于模型对照组大鼠,并且接近于正常对照组大鼠的寻找模式。

## 2.2 Limonin 对自然衰老模型大鼠血清及脑组织氧化指标的影响

### 2.2.1 Limonin 对自然衰老模型大鼠血清中氧化指标的影响

由表4可知,模型对照组与正常组比较,血清中SOD、GSH-Px 活力均降低、MDA 含量升高,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较,Limonin 高剂量组(150 mg/kg)血清中MDA 含量降低、SOD、GSH-Px 活力升高,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ );Limonin 低剂量组(50 mg/kg)血清中MDA 含量降低、GSH-Px 活力升高,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但血清中SOD活力的升高差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表4 Limonin 对自然衰老模型大鼠血清中SOD、MDA、GSH-Px 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 4 Effect on natural apolexis rats in serum of SOD、MDA、GSH-Px

组别	Limonin 剂量 /(mg/kg)	SOD /(U/L)	MDA /(nmol/ml)	GSH-Px /(U/L)
正常对照组	—	183.07 ± 8.75	6.71 ± 1.33	1 065.64 ± 68.79
模型对照组	—	176.14 ± 7.38 <sup>△</sup>	10.52 ± 1.38 <sup>△△</sup>	982.10 ± 101.44 <sup>△</sup>
Limonin 高剂量组	150	187.77 ± 9.30 <sup>*</sup>	9.04 ± 2.10 <sup>*</sup>	1 107.62 ± 114.97 <sup>**</sup>
Limonin 低剂量组	50	181.26 ± 10.99	9.07 ± 1.84 <sup>*</sup>	1 067.35 ± 67.06 <sup>*</sup>

注:△为与正常对照组比较  $P < 0.05$ ; △△为与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; \* 为与模型对照组比较  $P < 0.05$ ; \*\*为与模型对照组比较  $P < 0.01$ ;—为无剂量

### 2.2.2 Limonin 对自然衰老模型大鼠脑组织中氧化指标的影响

表5为Limonin对脑组织中抗氧化能力的影响,模型对照组与正常组比较,脑组织中SOD、GSH-Px 活力均降低、T-AOC 能力降低,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较,Limonin

高剂量组(150 mg/kg)脑组织中T-AOC 能力增强,同时SOD、GSH-Px 活力升高,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ );Limonin 低剂量组(50 mg/kg)脑组织中T-AOC 能力升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但其SOD和GSH-Px 活力升高均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表5 Limonin 对自然衰老模型大鼠脑组织中SOD、T-AOC、GSH-Px 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 5 Effect on natural apolexis rats in brain tissue of SOD、MDA、GSH-Px

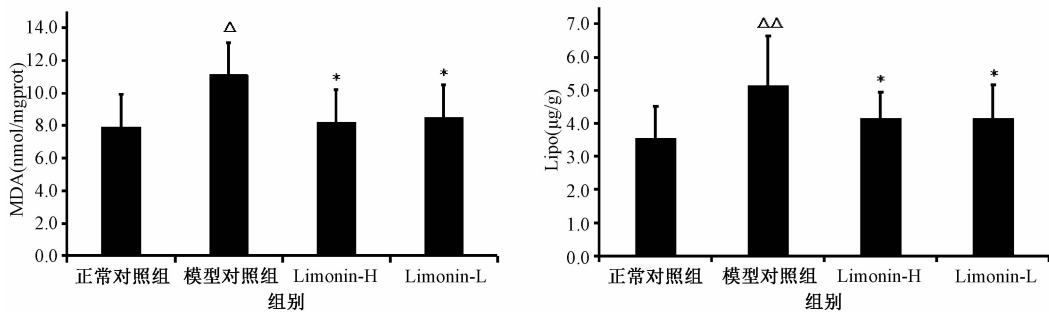
组别	Limonin 剂量 /(mg/kg)	SOD /(U/mgprot)	T-AOC /(U/mgprot)	GSH-Px /(U/mgprot)
正常对照组	—	114.05 ± 22.04	3.30 ± 1.00	423.26 ± 129.31
模型对照组	—	99.45 ± 14.47 <sup>△</sup>	2.61 ± 0.75 <sup>△</sup>	353.40 ± 95.22 <sup>△</sup>
Limonin 高剂量组	150	111.72 ± 14.21 <sup>*</sup>	4.46 ± 2.09 <sup>**</sup>	438.61 ± 105.00 <sup>*</sup>
Limonin 低剂量组	50	105.34 ± 23.70	3.57 ± 1.33 <sup>*</sup>	385.51 ± 82.49

注:△为与正常对照组比较  $P < 0.05$ ; △△为与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; \* 为与模型对照组比较  $P < 0.05$ ; \*\*为与模型对照组比较  $P < 0.01$ ;—为无剂量

Limonin 对脑组织中MDA、Lipo 含量的影响见图2,模型对照组与正常组比较,脑组织中MDA、Lipo 含量均增加,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较,Limonin 高、低剂量组(150、50 mg/kg)脑组织中MDA、Lipo 含量均降低,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

衰老是任何生物体无法避免的一个生物学过程。在中枢神经系统中,与年龄增加相关的最主要衰退之一是认知功能障碍,学习记忆能力作为认知功能的重要组成部分也会随着机体的老化出现明显减退<sup>[2]</sup>。



注:△为与正常对照组比较  $P < 0.05$ ; △△为与正常对照组比较  $P < 0.01$ ; \* 为与模型对照组比较  $P < 0.05$ ; \*\* 为与模型对照组比较  $P < 0.01$

图2 Limonin对脑组织中MDA、Lipo含量的影响

Figure 2 Effect on natural apolexis rats in brain tissue of MDA、Lipo

本试验选择18月龄雄性SD大鼠作为衰老模型,通过Morris水迷宫进行空间学习记忆能力评价,可见其与6周龄雄性SD大鼠的学习记忆能力比较明显下降,同时发现Limonin能明显缩短自然衰老大鼠在隐藏平台获得试验和空间探索试验中潜伏期的时间,具有改善自然衰老大鼠学习记忆障碍的作用。

关于学习记忆的过程非常复杂,有关学习记忆的神经生物化学机制是神经科学的研究热点之一,老化的自由基假说是比较公认的作为老年学习记忆减退的机制之一。自由基与年龄相关性的生理功能障碍密切相关,这其中包括神经退行性病变及认知功能下降。与其他器官相比,脑组织更易受到自由基的攻击<sup>[16]</sup>,这是因为:①脑组织的重量虽仅占人体重量的2%,但其耗氧量则占全身的20%,故在氧化代谢过程中将产生大量的自由基;②金属在自由基产生过程中起着主要的催化作用,包括铁、铝、汞、铜、锌等离子,脑部含有大量可催化自由基生成的铁离子,临床研究发现铁离子的代谢过程参与阿尔茨海默病(AD)的发生,AD病人脑中发现铁、铁蛋白和转铁蛋白的存在,且铁离子的含量是升高的<sup>[17]</sup>;③脑组织中含有高浓度的多不饱和脂肪酸,其对脂质过氧化作用高度敏感;④脑组织中抗氧化能力(如SOD、GSH-Px等活性)均低于其他主要器官<sup>[18]</sup>。氧化应激可损伤神经元、破坏细胞内信号传导,最终导致神经元凋亡或坏死,氧化应激的年龄相关性增加可明显增加神经中枢系统的氧化损伤。

MDA含量在体内较稳定,它是生物膜磷脂中多不饱和脂肪酸受自由基攻击而产生的终产物之一,MDA含量变化可以间接反映自由基的产生以及膜损伤程度。MDA与含游离氨基的物质交联生成Lipo,可损伤细胞膜,引起神经系统的功能障碍<sup>[19-20]</sup>。Lipo含量的多少反映了细胞受损的程度,测定Lipo可以了解体内自由基的反应强度。本试验结果显示,Limonin能明显降低自然衰老大鼠血清和脑组织中MDA水平和脑组织中Lipo水平。SOD、GSH-Px是体

内抗氧化酶类的主要成分,SOD广泛分布于各种生物体内,是目前为止发现的唯一一种以自由基为底物的酶,能将 $O_2^-$ 歧化为 $H_2O_2$ 和 $O_2$ ,是机体内对抗自由基的第一道防线<sup>[21]</sup>。GSH-Px是一种含硒的广泛存在于细胞线粒体、胞浆内以及生物膜上的水溶性四聚体蛋白酶,可特异性催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应,对由活性氧和羟自由基诱发的脂质过氧化及过氧化氢有极强的清除能力。T-AOC是全面反映血浆中的酶与非酶全部的抗氧化能力的一个良好指标。本研究显示,Limonin能明显提高自然衰老大鼠血清及脑组织中SOD、GSH-Px活力,增强脑组织T-AOC的能力,对因衰老导致的脑组织氧化损伤具有一定的保护作用。

综上所述,柠檬苦素能预防因衰老而产生的机体氧化损伤,从而改善因氧化损伤而导致的神经退行性病变及认知功能下降,为开发抗衰老及神经退行性变、提高学习记忆能力的植物源性保健食品及药物提供了理论基础,其相关机制在今后的研究中值得进一步探讨。

## 参考文献

- [1] Martin G M. The biology of aging:1985-2010 and beyond[J]. The FASEB Journal,2011,25(11):3756-3762.
- [2] Hänninen T, Hallikainen M, Koivisto K, et al. A follow-up study of age-associated memory impairment: neuropsychological predictors of dementia[J]. Journal of the American Geriatrics Society,1995,43(9):1007-1015.
- [3] Koivisto K, Reinikainen K J, Hanninen T, et al. Prevalence of age-associated memory impairment in a randomly selected population from eastern Finland[J]. Neurology,1995,45(4):741-747.
- [4] Harman D A. Aging:a theory based on free radical and radiation chemistry[J]. Journal of Gerontology,1956,11(3):298-300.
- [5] Gonenc S, Uysal N, Acikgoz O, et al. Effects of melatonin on oxidative stress and spatial memory impairment induced by acute ethanol treatment in rats[J]. Physiol Res,2005,54(3):341-348.
- [6] Champagne D E, Koul O, Isman M B, et al. Biological activity of limonoids from the Rutales[J]. Phytochemistry,1992,31(2):377-394.

- [ 7 ] Langeswaran K, Jagadeesan A J, Revathy R, et al. Chemotherapeutic efficacy of limonin against aflatoxin B<sub>1</sub> induced primary hepatocarcinogenesis in Wistar albino rats [ J ]. *Biomedicine&Aging Pathology*, 2012, 2(4) :206-211.
- [ 8 ] Lam L K T, ZHANG J, Hasegawa S. Citrus limonoid reduction of chemically induced tumorigenesis [ J ]. *Food Technology*, 1994, 48(11) :104-108.
- [ 9 ] Nathan S S, Kalaivani K, Murugan K. Effects of neem limonoids on the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) [ J ]. *Acta Tropica*, 2005, 96(1) :47-55.
- [ 10 ] Roza J M, ZHENG X L, Guthrie N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects [ J ]. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 2007, 13(6) :44-48.
- [ 11 ] Manners G D. Citrus limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects [ J ]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(21) :8285-8294.
- [ 12 ] YU J, WANG L M, Walzem R L, et al. Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins [ J ]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(6) :2009-2014.
- [ 13 ] Hamdan D, El-Readi M Z, Tahrani A, et al. Secondary metabolites of *Ponderosa lemon (Citrus pyriformis)* and their antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities [ J ]. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-Journal of Biosciences*, 2011, 66(7/8) :385-393.
- [ 14 ] 孙崇德. 柑桔柠檬苦素、诺米林、吡啶酮的检测及相关含量与生物活性研究 [ D ]. 杭州:浙江大学, 2006.
- [ 15 ] Bucearusce J J. *Methods of behavior analysis in neuroscience* [ M ]. New York: CRC Press LLC, 2001: 148-162.
- [ 16 ] Ralf D. *Metabolism and functions of glutathione in brain* [ J ]. *Prog Neurobiol*, 2000, 62(6) :649-671.
- [ 17 ] Loeffler D A, Connor J R, Juneau P L, et al. Transferrin and iron in normal, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease brain regions [ J ]. *Journal of Neurochemistry*, 2002, 65(2) :710-716.
- [ 18 ] Kedar N P. Can we prevent Parkinson's and Alzheimer's disease? [ J ]. *J Postgrad Med*, 2003, 49(3) :236-245.
- [ 19 ] Lynch T, Cherny R A, Bush A I. Oxidative processes in Alzheimer's disease: the role of A  $\beta$ -metal interactions [ J ]. *Experimental Gerontology*, 2000, 35(4) :445-451.
- [ 20 ] Varadarajan S, Yatin S, Aksenova M, et al. Review: Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity [ J ]. *Journal of Structural Biology*, 2000, 130(2/3) :184-208.
- [ 21 ] 刘奇, 刘雪平. *抗衰老学* [ M ]. 北京: 军事医学科学出版社, 2006: 16.

## 研究报告

# 一起食物中毒病原菌斯坦利沙门菌的分子分型及耐药性分析

王丽丽, 陈倩

(北京市疾病预防控制中心营养与食品卫生所 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

**摘要:**目的 对引起跨区域食物中毒的斯坦利沙门菌分离株进行耐药性检测和分子分型分析, 追溯并明确病因食品, 为该菌防控工作提供科学依据。方法 采用微量肉汤稀释法对 15 株斯坦利沙门菌进行 18 种抗生素敏感性试验, 同时对菌株基因组 DNA 经限制性内切酶 *Xba* I 酶切后进行脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 分子分型, 并与数据库中其他沙门菌比较。结果 此次疫情分离菌株中食品分离株和腹泻患者分离株血清型一致, 耐药谱基本一致。经 PFGE 溯源分析后具有 100% 同源的 PFGE 带型, 数据库中无相同带型的菌株。结论 本起跨区域食物中毒是由斯坦利沙门菌污染的煮花生引起, 分离菌株对红霉素耐药, 对氯霉素处于中介, 对其他抗生素敏感。

**关键词:** 斯坦利沙门菌; 食物中毒; 脉冲场凝胶电泳; 分子分型; 耐药; 食源性致病菌

中图分类号: R155; Q93-3 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)01-0027-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.01.006

## Molecular subtyping and antibiotic resistance analysis of *Salmonella* Stanley isolated from a foodborne disease outbreak

WANG Li-li, CHEN Qian

(Institute for Nutrition and Food Hygiene, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

收稿日期: 2015-09-09

基金项目: 首都卫生科研发展专项 (2014-4-1013); 北京市预防研究中心公益应用类课题 (2014-BJYJ-10)

作者简介: 王丽丽 女 主管技师 研究方向为食源性疾病 E-mail: wangll4585@163.com

通信作者: 陈倩 女 主任技师 研究方向为病原微生物实验室检测 E-mail: cchenqian@263.net