

牦牛胎盘粉对亚急性衰老小鼠部分组织中 NO 含量的影响

高丽英¹, 尚海忠², 张寿³, 宁鹏³, 常兰³, 陈长江³ (1. 青海省海西州动物疫病预防控制中心, 青海海西州 817000; 2. 青海省海西州兽医卫生监督所, 青海海西州 817000; 3. 青海大学农牧学院, 青海西宁 810003)

摘要 [目的] 研究牦牛胎盘粉对亚急性衰老小鼠心、肝、脾、肺、肾、骨骼肌中一氧化氮(NO)含量的影响。[方法] 将健康小鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性对照组、低海拔胎盘组、中海拔胎盘组和高海拔胎盘组, 将除正常对照组外的其他5组用D-半乳糖, 造亚急性衰老小鼠模型; 然后对低、中和高海拔胎盘组的小鼠建模11 d后, 每天灌胃牦牛胎盘粉, 剂量为40 mg/kg。阳性对照组每天灌服维生素E 100 mg/kg, 45 d后观察心、肝、脾、肺、肾组织中一氧化氮(NO)含量。[结果] 高原牦牛胎盘粉可明显降低小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中一氧化氮(NO)含量($P < 0.01$)。[结论] 高原牦牛胎盘粉有很好的抗衰老作用。

关键词 牦牛胎盘; 小鼠; 抗衰老; NO

中图分类号 S823.8⁺5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)18-08523-02

The Effect of Yak Placenta Powder on NO Content in Some Organs of Subacute Aging Model Mice

GAO li-ying et al (Center of Animal Disease Control and Prevention, Haixi, Qinghai 817000)

Abstract [Objective] The purpose was to study the effect of yak placenta powder on NO content in heart, liver, spleen, lung and kidney, skeleton muscle of subacute aging model mice. [Method] The healthy mice were randomly divided into normal control group, model group, positive control group, low-elevation placenta group, middle-elevation placenta group and high-elevation placenta group. Five groups except for normal control group were used to construct subacute aging mice model by D-galactose. 11 days later, the mice of the low-elevation, middle-elevation and high-elevation yak placenta powder groups were gastically lavaged with yak placenta powder with its dose being of 400 mg/kg, respectively, positive control group were gastically lavaged with Vitamin E100 mg/kg. After 45 days, the content of NO in heart, liver, spleen, lung and kidney, skeleton muscle were determined. [Result] The results showed that yak placenta powder obviously decrease the content of NO in heart, liver, spleen, lung and kidney, skeleton muscle, indicating that the yak placenta powder has good anti-aging effect.

Key words Yak; Placenta powder; Mice; Anti-aging effect; NO

目前,有关衰老方面的研究进展迅速,人们逐渐开始利用各种生物制剂进行抗衰老试验研究,如尼古虫草^[1]、人胎盘^[1]、鹿胎盘^[2]、羊胎盘^[3]等。研究表明,其都具有调节机体免疫力,抑制肿瘤生长,改善微循环,降低血液中的胆固醇,调节人体内分泌,有效抑制分解黑色素的形成,具有抗皱、祛斑、抗衰和延年益寿的功效^[4]。

牦牛是在青藏高原特定生态环境下经过长期的自然选择而形成的特殊牛种,大部分生活在海拔3 000~5 000 m的高寒地区,其具有生存能力强、体格强壮、抗寒、抗病能力强等生物学特征。据报道,牦牛胎盘含有较高的氨基酸和微量元素,能够增强小鼠的免疫能力以及抗缺氧能力^[5-6]。为了进一步研究牦牛胎盘的药用价值,笔者用青藏高原牦牛胎盘粉为材料,对小鼠进行了抗衰老试验,测定NO在亚急性衰老小鼠心、肝、脾、肺、肾、骨骼肌当中的含量,来探讨高原牦牛胎盘的抗衰老作用。

1 材料与方法

1.1 试验动物 昆明种小鼠120只,6~8周龄,雌雄各半,质量18~22 g,由青海地方病研究所实验动物中心提供。

1.2 主要试剂和仪器 D(+)-半乳糖(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20050711); NO试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20051108); 蛋白定量测试盒(南京建成生物工程研究所,批号:20051220); DF-II集热式磁力加热搅拌器(山东鄞城嘉德仪器厂); RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); XW-80A 微型漩涡混合仪(上海沪西仪器分析厂); LD4-40型低速大容量离心机(北京医用离心机厂); SP-2102 UV型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 高原牦牛胎盘粉的制备。 首先采集青海省海西州天峻县和玉树州治多县(海拔3 000~4 500 m以上)成年健康牦牛的胎盘。制备工艺流程:取材→清洗→消毒→干燥箱(60℃, 24 h)→粉碎、研磨→过80目筛→米黄色粉末,置于冰箱冷藏备用。

1.3.2 动物分组和动物模型制作及给药。 取质量18~22 g小鼠120只,雌雄各半,随机分为6组,分别为正常对照组、模型组、阳性对照组、低海拔胎盘组、中海拔胎盘组、高海拔胎盘组。其中后5组每天颈背部注射浓度为50 mg/ml的D-半乳糖(用生理盐水配制),每次注射量为0.025 ml/g,连续注射45 d,造亚急性糖代谢衰老模型。正常对照组每天注射等量生理盐水。另从建模的第11天开始,分别对低海拔胎盘组、中海拔胎盘组和高海拔胎盘组的小鼠每天灌服浓度为400 mg/kg(正常对照组和模型组每天灌服等量生理盐水,阳性对照组灌服维生素E 100 mg/kg)。最后一次处理2 h以后,处死小鼠立即取出心、肝、脾、肺、肾组织,用生理盐水洗净,滤纸吸去多余水分,称重,制备组织均浆,用于各项指标测定。

1.3.3 NO含量测定。 按照试剂盒说明测定小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中的NO含量。

1.3.4 数据统计。 采用Excel进行数据分析,结果用($\bar{X} \pm S$)表示,组间比较采用t检验。

2 结果

不同海拔牦牛胎盘粉对D-半乳糖造亚急性衰老小鼠心、肝、脾、肺、肾、骨骼肌中NO含量的影响见表1。

表1 牦牛胎盘粉对小鼠组织中NO的影响

Table 1 The effect of yak placenta powder on NO in some organs of mice

nmol/ml

组别		心	肝	脾	肺	肾	骨骼肌
Group		Heart	Liver	Spleen	Lung	Kidney	Skeleton muscle
正常对照组	16	5.35 ± 2.04	2.11 ± 0.26	4.67 ± 1.49	4.83 ± 0.89	4.79 ± 2.57	4.38 ± 3.19
Normal control group							
模型组	16	7.89 ± 0.47**	4.21 ± 1.68**	7.90 ± 0.42**	7.76 ± 0.72**	7.60 ± 0.35**	7.02 ± 2.49**
Model group							
阳性对照组	16	2.86 ± 0.27** $\Delta\Delta$	1.24 ± 0.47** $\Delta\Delta$	3.46 ± 0.28** $\Delta\Delta$	3.56 ± 0.77** $\Delta\Delta$	2.84 ± 1.71** $\Delta\Delta$	4.29 ± 2.79 $\Delta\Delta$
Positive control group							
低海拔胎盘组	16	4.38 ± 3.45 $\Delta\Delta$ *	2.64 ± 3.34 $\Delta\Delta$ *	4.62 ± 0.28 $\Delta\Delta$	3.67 ± 3.15 $\Delta\Delta$	4.16 ± 5.13 $\Delta\Delta$ *	5.28 ± 0.03 $\Delta\Delta$
Low-elevation placenta group							
中海拔胎盘组	16	4.72 ± 1.03 $\Delta\Delta$ *	2.15 ± 29.09 $\Delta\Delta$ *	3.03 ± 0.82 $\Delta\Delta$	3.57 ± 1.27 $\Delta\Delta$	3.12 ± 2.01 $\Delta\Delta$	5.17 ± 2.43 $\Delta\Delta$
Middle-elevation placenta group							
高海拔胎盘组	16	4.04 ± 1.59 $\Delta\Delta$ *	2.46 ± 1.07 $\Delta\Delta$ *	3.04 ± 5.56 $\Delta\Delta$	3.62 ± 1.50 $\Delta\Delta$	4.15 ± 0.68 $\Delta\Delta$ *	6.07 ± 1.70 Δ
High-elevation placenta group							

注:与正常对照组比较:**为 $P < 0.01$, *为 $P < 0.05$;与模型组比较: Δ 为 $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ 为 $P < 0.01$;与阳性对照组比较:#为 $P < 0.05$,##为 $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, ** stands for $P < 0.01$, * stands for $P < 0.05$; Compared with model group, Δ stands for $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ stands for $P < 0.01$; Compared with positive control group, # stands for $P < 0.05$, ## stands for $P < 0.01$.

3 分析与讨论

NO是一种难溶于水的脂溶性气体,也是一种自由基,它在体内广泛参与调节神经系统、心血管系统的功能和介导免疫应答等诸多病理和生理过程,其产生异常与临床多种疾病的发生发展有密切关系,同时影响着衰老的进程。正常情况下,神经元合成并释放适量NO,并不产生毒性。如果神经元释放过量NO,就会产生细胞毒性作用致使神经细胞死亡,从而引起脑功能的衰退^[7-8]。NOS存在于体内许多脏器细胞,在体内有多种异构体。NOS可催化L-精氨酸形成NO,是NO产生的关键酶,其表达也不是永远不变的,随着年龄增长,各种类型NOS表达水平会发生相应变化,从而改变了细胞内NO水平。当NOS活性升高,细胞中NO也相应增多,因此在NOS活性较高的老年动物中,组织细胞中NO的含量也较多^[9]。孔德娟等曾发现自然衰老大鼠与D-半乳糖催老小鼠血浆中的NO和NOS均有所增加^[10]。

D-半乳糖衰老模型是目前较常用的一种人工催老模型,具有衰老变化明显,模型稳定的特点,其原理是使机体产生大量自由基,降低机体抗氧化能力,而脂质水平增加而引起亚急性衰老,其表现为多种抗氧化酶活性下降^[11]。一般认为,其机制可能与糖代谢紊乱、D-半乳糖中毒和活性氧自由基过剩有关^[12-14]。在本研究中,用高原牦牛胎盘粉灌服D-半乳糖衰老模型小鼠45d后,D-半乳糖衰老模型小鼠的心、肝、脾、肺、肾、骨骼肌中NO含量明显低于比对照组小鼠

这表明牦牛胎盘粉具有一定的抗衰老作用。

参考文献

- [1] 刘安军,祝长美,朱振元,等.古尼虫草多糖对衰老模型小鼠的影响[J].现代食品科技,2008,24(3):201-203.
- [2] 邱祥珍,刘泉明,蒋滢,等.人胎盘成分分析[J].苏州医学院学报,1995,15(4):658-659.
- [3] 杨桂芹,邹兴淮.不同鹿胎及胎盘制剂中微量元素和氨基酸的组成[J].兽医科技,2005,37(5):48-49.
- [4] 陆晖,闫晓梅,张双全.羊胎盘活细胞素微量元素和氨基酸组成的分析[J].南京师范大学学报:自然科学版,2001,24(1):79-81.
- [5] 高丽英,尚海忠,张寿,等.高原牦牛孕早期胎盘营养成分的测定与分析[J].中国牛业科学,2009(1):34-35.
- [6] 张寿,尚海忠,常兰,等.牦牛胎盘粉对小鼠耐受力的影响[J].安徽农业科学,2008,36(33):14552-14554.
- [7] DAWSON V L, DAWSON T M, LONDON E D. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical culture [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 6368.
- [8] NOWICKI J P, DUVAL D, POIGNET H. Nitric oxide mediates neuronal death after focal cerebral ischemia in the mouse [J]. Eur J Pharmacol, 1991, 204: 339.
- [9] 王怀颖,张秋燕,肖锋,等.一氧化氮与衰老的研究[J].医学综述,2005,11(4):302.
- [10] 孔德娟,陈永春,李恩,等.老年大鼠体内NO、NOS、AGEs和SOD水平与衰老的关系[J].中国老年学杂志,1999,19(3):175-176.
- [11] 崔旭,李文彬,张炳烈,等.D-半乳糖对神经元和成纤维拟老化作用的实验研究[J].中国应用生理学杂志,1997,13(2):131-133.
- [12] SONG X, BAO M, LI D, et al. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model [J]. Mech Ageing Dev, 1999, 108: 239-251.
- [13] 崔旭,李文彬,张炳烈,等.自由基损伤与D-半乳糖所致细胞老化关系[J].基础医学与临床,2000,20(1):24-26.
- [14] 刘晓秋,李卫东,唐惠琼,等.D-半乳糖衰老大鼠自由基代谢状况分析[J].中国老年学杂志,2001,21(6):456-458.