

高原牦牛胎盘粉对衰老模型小鼠抗氧化作用的研究 I

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

摘要 [目的] 研究高原牦牛胎盘粉的抗氧化作用。[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, 将后 5 组用 D-半乳糖造亚急性衰老小鼠模型; 低海拔胎盘组、中海拔胎盘组和高海拔胎盘组的小鼠在建模 11 d 后每天灌胃牦牛胎盘粉 40 mg/只, 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、肾组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力和丙二醛(MDA)含量。[结果] 高原牦牛胎盘粉可提高小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中 SOD ($P < 0.01$) 和 GSH-Px ($P < 0.01$) 活力, 明显抑制小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中 MDA ($P < 0.01$) 的形成。[结论] 高原牦牛胎盘粉有很好的抗衰老作用。

关键词 D-半乳糖; 高原牦牛胎盘粉; 抗衰老作用; GSH-Px; SOD; MDA

中图分类号 S823.8⁺5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)18-08525-02

Study on the Anti-oxidative Effect of Plateau Yak Placenta Powder on Subacute Aging Model Mice

CHANG Lan et al (College of Agriculture and Animal Science, Xining, Qinghai 810003)

Abstract [Objective] The purpose was to study the anti-oxidative effect of the plateau yak placenta powder on the senescent mice. [Method] The healthy mice were randomly divided into normal control group, model group, positive control group, low-elevation, middle-elevation and high-elevation placenta groups. 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 gavaged with yak placenta powder with its dose being of 400 mg/kg, respectively, positive control group were gavaged with Vitamin E 100 mg/kg. After 45 days, the content of SOD, GSH-Px, MDA in heart, liver, spleen, lung and kidney, skeleton muscle were determined. [Result] The results showed that yak placenta powder could improve activity of SOD ($P < 0.01$) and GSH-Px ($P < 0.01$) and obviously inhibit the formation of MDA ($P < 0.01$) in heart, liver, spleen, lung and kidney of mice. [Conclusion] The yak placenta powder has good anti-aging effect.

Key words D-galactose; Plateau yak placenta powder; Anti-aging effect; GSH-Px; SOD; MDA

我国是世界上最早发现胎盘具有神奇功效并加以利用的国家之一。胎盘历来被视为珍贵的补品, 随着现代科学技术的发展, 人类逐渐开发利用同自身胎盘具有相同营养成分的替代物。研究表明人胎盘^[1]、鹿胎盘^[2]、羊胎盘^[3]都具有调节机体免疫力, 抑制肿瘤生长, 改善微循环, 降低胆固醇, 调节内分泌, 有效抑制分解黑色素, 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, 牦牛具有生存能力强、体格强壮、抗寒、抗疾病能力强等生物学特征。据报道牦牛胎盘具有较高的氨基酸和微量元素^[5]、能增强小鼠的免疫能力以及抗缺氧能力^[6]。

SOD 是生物体内与防御氧的毒性相关的一类金属酶, 它在机体抗辐射、防衰老、抗肿瘤和抗炎症等方面起重要作用, 成为衡量机体天然免疫水平的重要参考指标。机体保护系统对各种氧化应激反应的主要特点是 GSH-Px 活性增加。衰老过程中肝细胞中 GSH-Px 大量释放入血, 催化血液中脂质过氧化物分解, 防止脂质过氧化物均裂和引发脂质过氧化的链式支链反应, 从而减少脂质过氧化物形成, 是机体抗衰老的重要防御机制之一^[7]。研究表明, D-半乳糖致亚急性动物模型对自由基损伤和免疫指标的变化与人体衰老指标改变规律基本一致, 它造成拟衰老的根本原因也是在代谢过程中形成过量的自由基过氧化反应。为了进一步研究牦牛胎盘的药用价值, 笔者选取不同海拔高度牦牛胎盘为原料, 以 SOD、GSH-Px、MDA 为 3 个检测指标, 进行小鼠抗衰老试验,

来探讨高原牦牛胎盘的抗衰老作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 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。

1.1.2 原料与试剂。高原牦牛胎盘粉, 采自青海高原(海拔 3 000 ~ 4 500 m 以上)健康牦牛胎盘制成, 分高海拔(> 4 500 m)、中海拔(3 500 ~ 4 000 m)、低海拔(3 000 ~ 3 500 m) 3 个海拔组; D(+) - 半乳糖(上海蓝季科技发展有限公司, 批号: 080711); SOD 试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20080818); MDA 试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20080818); GSH-PX 试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20080818); 蛋白定量测试盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20080818)。

1.1.3 仪器。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); UV-1601 紫外可见分光光度计(日本岛津有限公司); 电子天平; BECKMAN J2-21 高速离心机; 恒温水浴箱等。

1.2 方法

1.2.1 高原牦牛胎盘粉的制备。牦牛胎盘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) 成年健康牦牛的胎盘。生产工艺流程: 取材 → 清洗 → 消毒 → 干燥箱(60 °C, 24 h) → 粉碎、研磨 → 过 80 目筛 → 米黄色粉末, 冰箱冷藏备用。

1.2.2 动物分组和动物模型制作及给药方法。取体重 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 组每天颈背部注射重量百分比浓度为

1.25%的D-半乳糖(用生理盐水配制),每次注射量为0.3 ml/只,连续注射45 d,造亚急性糖代谢衰老模型,而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剂的小鼠每天灌服浓度为40 mg/只(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。

1.2.3 指标测定。按照试剂盒说明分别测定小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中的SOD和GSH-Px活力,以及MDA含量。

1.2.4 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 结果与分析

2.1 牦牛胎盘粉对小鼠组织中SOD的影响 超氧化物歧化酶(SOD)对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用。由表1可知,模型组心、肝、脾、肺、肾组织SOD含量造模后,比正常对照组SOD有明显降低($P < 0.01$);而阳性对照组、高、中、低海拔组均能明显升高。心、肝、脾、肺、肾组织SOD活力水平,与模型组比较均差异显著($P < 0.05$),3个海拔组含量与阳性对照组比较,虽有所变化,但无统计学意义(表1)。

表1 牦牛胎盘粉对小鼠组织中SOD的影响

Table 1 The effect of Yak placenta powder on SOD in some organs of mice

nmol/ml, ($\bar{X} \pm S$)

组别 Group	心 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肺 Lung	肾 kidney
正常对照组 Normal control group	20 190.95 ± 25.99	47.01 ± 9.11	303.81 ± 114.78	171.20 ± 64.99	86.41 ± 23.85
模型组 Model group	20 144.92 ± 42.18**	42.85 ± 9.31*	251.30 ± 80.47**	139.08 ± 27.23*	78.66 ± 19.11*
阳性对照组 Positive control group	20 150.94 ± 17.40* ^Δ	74.06 ± 10.53** ^Δ	337.62 ± 160.98* ^Δ	149.14 ± 25.80* ^Δ	154.07 ± 38.40** ^{ΔΔ}
低海拔胎盘组 Low-elevation placenta group	20 168.83 ± 12.52* ^Δ	75.10 ± 20.83** ^Δ	356.79 ± 190.23* ^{ΔΔ}	162.81 ± 72.89 ^Δ	127.34 ± 10.87** ^Δ
中海拔胎盘组 Middle-elevation placenta group	20 181.35 ± 41.98* ^{ΔΔ}	68.40 ± 19.34** ^Δ	310.00 ± 82.19 ^Δ	172.44 ± 29.39 ^{ΔΔ}	104.41 ± 40.75** ^Δ
高海拔胎盘组 High-elevation placenta group	20 190.78 ± 63.38 ^{ΔΔ#}	63.42 ± 15.04** ^Δ	285.87 ± 102.8 ^Δ	166.44 ± 17.70 ^Δ	117.11 ± 45.78** ^Δ

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 $P < 0.05$,ΔΔ为 $P < 0.01$;与阳性对照组比较:#为 $P < 0.05$,##为 $P < 0.01$ 。下同。

Note: Compared with normal control group, ** stands for $P < 0.01$, * stands for $P < 0.05$; Compared with model group, Δ stands for $P < 0.05$, ΔΔ stands for $P < 0.01$; Compared with positive control group, # stands for $P < 0.05$, ## stands for $P < 0.01$. The same follows.

2.2 牦牛胎盘粉对小鼠组织中GSH-Px的影响 GSH-Px是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,特异性地催化还原型谷胱甘肽(GSH)对过氧化氢(H_2O_2)的还原反应,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。由表2可知,模型组心、肝、脾、肺、肾组织GSH-Px含量,造模后比

正常对照组有明显降低($P < 0.01$);而阳性对照组、高、中、低海拔组,均能明显升高心、肝、脾、肺、肾组织GSH-Px的活力水平,与模型组比较均有显著意义($P < 0.01$),3个海拔组含量与阳性对照组比较,虽有所升高,但无统计学意义(表2)。

表2 牦牛胎盘粉对小鼠组织中GSH-Px的影响

Table 2 The effect of Yak placenta powder on GSH-Px in some organs of mice

nmol/ml, ($\bar{X} \pm S$)

组别 Group	心 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肺 Lung	肾 kidney
正常对照组 Normal control group	20 96.51 ± 28.43	154.81 ± 9.19	324.61 ± 44.89	236.02 ± 109.05	119.16 ± 50.26
模型组 Model group	20 54.06 ± 41.04**	109.54 ± 17.82*	171.48 ± 60.84**	135.09 ± 40.68**	32.76 ± 24.80**
阳性对照组 Positive control group	20 64.53 ± 7.92** ^{ΔΔ}	112.35 ± 0.06 ^Δ	174.09 ± 81.97**	229.45 ± 60.19 ^Δ	81.62 ± 0.28 ^{ΔΔ}
低海拔胎盘组 Low-elevation placenta group	20 174.76 ± 63.66* ^{Δ#}	212.21 ± 13.70** ^{Δ#}	243.76 ± 39.97* ^{Δ#}	141.59 ± 31.91*	89.67 ± 51.68 ^{ΔΔ}
中海拔胎盘组 Middle-elevation placenta group	20 181.42 ± 53.96* ^{ΔΔ#}	216.53 ± 18.58** ^{ΔΔ#}	275.73 ± 67.17* ^{Δ#}	204.93 ± 24.72 ^Δ	84.18 ± 16.01 ^{ΔΔ}
高海拔胎盘组 High-elevation placenta group	20 117.76 ± 33.52* ^{Δ#}	227.06 ± 8.40** ^{ΔΔ##}	268.75 ± 65.57* ^{Δ#}	198.00 ± 45.07* ^Δ	84.37 ± 11.86 ^{ΔΔ}

2.3 牦牛胎盘粉对小鼠组织中MDA的影响 MDA可反映机体内脂质过氧化的程度,间接地反映了细胞损伤的程度。由表3可知,模型组心、肝、脾、肺、肾组织MDA含量,造模后比正常对照组MDA有明显增高($P < 0.05$),而阳性对照组、高海拔组、中、低海拔组均能明显降低心、肝、脾、肺、肾

组织MDA水平,与模型组比较均有显著意义($P < 0.05$),三个海拔组含量与阳性对照组比较,虽有所升高,但无统计学意义(表3)。

这可能与该试验中吴茱萸用量较小有关。

表1 香连丸及其组方的抗菌作用

Table 1 Antibacterial activities of xianglian Pill and its formulas

菌种 Bacterial	药品 Medicine	药物稀释倍数 Antibacterial activities of different diluted multiple medicines									阴性对照 Aseptic group	阳性对照 Control group
		1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/1024	1/2048		
志贺氏痢疾杆菌	黄连	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	黄连+木香	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	黄连+吴茱萸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	黄连+木香+吴茱萸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
福氏痢疾杆菌	黄连	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	黄连+木香	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	黄连+吴茱萸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	黄连+木香+吴茱萸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
金黄色葡萄球菌	黄连	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
	黄连+木香	±	±	±	±	±	±	+	+	+	-	+
	黄连+吴茱萸	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
	黄连+木香+吴茱萸	-	-	±	±	±	±	+	+	+	-	+

注：“-”表示有杀菌作用；“±”表示抑菌作用；“+”表示无抑菌作用。

Note:“-”means germicidal effect; “±”means bacteriostasis; “+”means no bacteriostasis.

该试验发现,黄连煎液与吴茱萸煎液混合时有土黄色沉淀产生,与木香煎液混合时有黑色微小颗粒产生。据报道,黄连与吴茱萸同煎,小檗碱含量显著降低,并有沉淀产生^[4],这可能是吴茱萸、木香使黄连抗菌作用减弱的主要原因之一。

香连丸为治痢名药,其临床疗效得到广泛肯定。而该试验结果表明,黄连、吴茱萸与木香配伍后,其抗痢疾杆菌的作用反而减弱,这可能与试验方法、供试液配制方法及剂型有关。该研究进行的是体外抗菌试验药物的抗菌作用与体内试验存在一定差异。另外,加味香连丸采用黄连(吴茱萸制)与木香细粉混合制丸,吴茱萸、黄芩、黄连、木香有效成分在

体内溶解后大多可被立即吸收,不易相互反应产生沉淀。木香含较多挥发油,具有多种生理功能,虽其对痢疾杆菌无直接作用,但其芳香健胃、解痉止痛之功对黄连治痢具有一定的辅助作用,而木香磨粉制丸将能保存挥发油。以上分析表明,加味香连丸的药效以丸剂最佳,汤剂、粉剂次之。

参考文献

[1] 北京中医医院. 实用中医学上册[M]. 北京:人民出版社,1975:503.
 [2] 江苏新医学院. 中药大辞典下册[M]. 北京:人民出版社,1977:2026.
 [3] 王浴生,邓文龙,薛春生. 中药药理与应用[M]. 北京:人民出版社,1983:65,169,521.
 [4] 李志. 调剂配伍对黄加小檗碱溶出率的影响[J]. 中药通报,1981(4):16.

(上接第 8526 页)

表3 牦牛胎盘粉对小鼠组织中MDA的影响

Table 3 The effect of Yak placenta powder on MDA in some organs of mice

组 Group	心 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肺 Lung	肾 kidney	
正常对照组 Normal control group	20	14.78 ± 6.57	8.79 ± 1.29	11.62 ± 6.50	5.99 ± 1.17	2.92 ± 0.58
模型组 Model group	20	23.57 ± 17.94**	18.79 ± 3.89**	14.00 ± 2.17*	7.03 ± 1.60*	2.60 ± 1.24*
阳性对照组 Positive control group	20	1.22 ± 0.66**△△	4.68 ± 0.81**△△	4.19 ± 1.42**△△	5.48 ± 1.13	1.39 ± 1.19**△△
低海拔胎盘组 Low-elevation placenta group	20	21.25 ± 6.68**△#	10.80 ± 3.82*△#	12.20 ± 3.13*△#	7.81 ± 2.40**	1.47 ± 0.76*△
中海拔胎盘组 Middle-elevation placenta group	20	20.40 ± 8.75**#	10.09 ± 3.10*△#	7.01 ± 4.71*△△#	4.76 ± 2.29△	0.92 ± 0.71**△△
高海拔胎盘组 High-elevation placenta group	20	21.38 ± 4.30**#	9.24 ± 2.67*△#	2.79 ± 1.17**△△#	4.50 ± 1.78△	1.01 ± 0.42*△△

3 结论

高原牦牛胎盘粉可提高小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中SOD和GSH-Px活力(P < 0.01),明显抑制小鼠心、肝、脾、肺、肾组织中MDA的形成(P < 0.01),有很好的抗衰老作用。

参考文献

[1] 邱祥珍,刘泉明,蒋澄,等. 人胎盘成分分析[J]. 苏州医学院学报,1995,15(4):658-659.
 [2] 杨桂芹,邹兴准. 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.

[3] 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.
 [4] 徐桂花. 羊胎盘全粉的开发与研究[J]. 甘肃畜牧兽医杂志,2002,30(3):16-17.
 [5] 高丽英,尚海忠,张寿,等. 高原牦牛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] 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.