

某保健酒免疫调节和延缓衰老作用的研究

尹武英 占团员 湖南省衡阳市卫生防疫站 (421001)
胡香利 李衡华

摘要 为研究天赐精元宝药酒的免疫调节和延缓衰老作用,进行了该酒对小鼠特异性和非特异性免疫功能的作用,对大鼠血、肝脂质过氧化水平和 SOD 活性影响的以及对果蝇寿命影响的试验。实验结果表明,在 15~50 mL/kg 剂量下,经二周时间,该受试物具有提高小鼠特异性和非特异性免疫功能的作用,具有延缓衰老和抗脂质过氧化的作用。

关键词 药酒 免疫系统 抗衰老药 小鼠 果蝇属 大鼠, WISTAR

天赐精元宝药酒是以淫羊藿、枸杞子、何首乌等中药为主要原料,经白酒浸泡、滤清、提取而成。经毒理学安全性评价后,又进行了小鼠免疫功能,果蝇寿命和大鼠血、肝脂质过氧化水平及超氧化物歧化酶(SOD)活性影响的实验研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物

小鼠为雌性(6~8 周龄,19~21 g 体重)昆明种小鼠,由北京医科大学动物部提供。

大鼠为 60 周龄以上,体重雄性 473 ± 41 g,雌性 378 ± 34 g 的 Wistar 大鼠,由北京医科大学动物部提供。

果蝇引种于北京大学生物系,美国野生型果蝇。

1.2 受试物 由天赐精元宝酒厂提供。系以淫羊藿、枸杞子、何首乌、龙眼肉、肉桂、大枣、红花等中药为原料,经白酒浸泡 20 d,过滤,取其深棕色澄清液体,酒精度 45 度。使用时将试样于 78℃ 水浴上挥发浓缩至 50%,然后用水稀释至各剂量组所需浓度。

1.3 仪器和试剂

RF-540 型荧光分光光度计(日本岛津)。

试剂除四乙氧基丙烷和黄嘌呤氧化酶为进口的,其余均为国家分析纯试剂或保证试剂。

1.4 实验方法⁽¹⁾

对小鼠特异性免疫功能影响的试验 40 只昆明种小鼠,随机分成 4 组,其中对照组用水,实验组分低剂量(5 mL/kg BW)、中剂量(15 mL/kg BW)和高剂量(45 mL/kg BW)3 个组。各组均自行饮用,平均每只每天饮用含受试物 2%、6%、18% 的水稀释液 5~6 mL,分别相当于 5、15 和 45 mL/kg BW 剂量,共进行 14 d。实验采用 Jerne 改良玻片法测定抗体形成细胞

(IgM-PFC);溶血素 HC₅₀法测定血清抗体水平;足跖肿胀法测定迟发型变态反应(DTH)。

对小鼠碳粒廓清影响的试验 剂量分组和饮用方式同上一试验。试验结束时每只小鼠经尾静脉注射用盐水 1:4 稀释的印度墨汁 0.2 mL,1 和 10 min 后分别从眼眶静脉丛取血测定碳粒廓清率(K 值)和碳粒廓清指数(a 值)。

对大鼠血、肝脂质过氧化水平和 SOD 活性影响的试验 将 30 只老龄大鼠(雌、雄各半)随机分成对照组,低剂量组(25 mL/kg BW)和高剂量组(50 mL/kg BW)3 组。经口灌胃(高剂量组用 1 倍浓缩液按 1.25 mL/100 g BW 一天灌胃二次,低剂量组用 1 倍浓缩液稀释一倍后按 1.25 mL/100 g BW 一天灌胃二次)15 d,末次灌胃后次日经眼眶静脉丛取血,断头处死大鼠取肝脏制成肝匀浆备用。以四乙氧基丙烷为标准,采用荧光法测定血浆和肝匀浆过氧化脂质;用邻苯三酚自氧化法测红细胞 SOD 活性;⁽²⁾用黄嘌呤氧化酶-NBT 法测定肝匀浆 SOD 活性。⁽³⁾

对果蝇寿命影响的试验 分为空白对照和低、中、高 3 个剂量组,剂量分别为 5 倍稀释液、原液和 5 倍浓缩液。收集 24 h 孵出的处女蝇,雌雄分别饲养,每 24h 统计其存活率,记录每只果蝇死亡时间,求其平均寿命。

2 结果与讨论

2.1 对小鼠特异性免疫功能的影响 各剂量组小鼠脾 IgM-PFC 数和溶血素 HC₅₀与对照组比较无显著性差异,但中、高剂量组有增高的趋势,见表 1。中高剂量组小鼠的 DTH 与对照组比较有显著性差异,见表 2。说明该受试物对小鼠的细胞免疫功能(DTH)有明显的增强作用。

表1 某保健酒对小鼠脾 IgM-PFC 和溶血素的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数只	IgM-PFC	溶血素 HC ₅₀
对照	10	54827 $\times \div$ 1.81	190 \pm 51
低剂量	10	49659 $\times \div$ 1.80	197 \pm 71
中剂量	10	77624 $\times \div$ 1.42	225 \pm 59
高剂量	10	71944 $\times \div$ 1.36	201 \pm 42

2.2 对小鼠碳粒廓清的影响 低剂量组未见明显变化,中、高剂量组小鼠的 K 值和 α 值均明显高于对照组,见表3。表明该受试物对小鼠巨噬细胞和网状内皮系统的吞噬功能有明显的增强作用。

表2 某保健酒对小鼠 DTH 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数只	足趾厚度 mm	t 值	P 值
对照	10	0.51 \pm 0.08		
低剂量	10	0.47 \pm 0.08	1.118	>0.05
中剂量	10	0.62 \pm 0.13	2.279	<0.05
高剂量	10	0.61 \pm 0.08	2.795	<0.02

表3 对小鼠碳粒廓清的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数只	K 值($\times 10^{-2}$)	t 值	α 值	t 值
对照	7	5.47 \pm 1.73		6.49 \pm 0.47	
低剂量	7	5.62 \pm 0.93	0.202	6.73 \pm 0.32	1.117
中剂量	7	7.35 \pm 0.96	2.514 ⁽¹⁾	7.10 \pm 0.34	2.782 ⁽¹⁾
高剂量	7	7.57 \pm 1.25	2.603 ⁽¹⁾	7.77 \pm 0.28	6.190 ⁽²⁾

表4。对 SOD 活性的影响,同样也是对肝 SOD 活性

表4 某保健酒对大鼠血浆和肝过氧化脂质水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数只	血浆 nmol/mL	肝	
			nmol/100 mg 蛋白	nmol/g 湿组织
对照	10	3.93 \pm 0.34	401.35 \pm 126.36	315.68 \pm 82.88
低剂量	10	3.72 \pm 0.73	429.71 \pm 145.15	328.80 \pm 94.08
高剂量	10	3.51 \pm 0.53 ⁽¹⁾	326.95 \pm 153.29	249.04 \pm 108.33

与对照组比较 (1) $P < 0.05$

表5 某保健酒对老龄大鼠 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数只	血红蛋白 U/g Hb	肝	
			U/mg 蛋白	U/g 湿组织
对照	10	1702.6 \pm 377.6	23.0 \pm 3.8	1801.7 \pm 257.7
低剂量	10	1990.1 \pm 590.2	23.6 \pm 4.3	1797.4 \pm 352.9
高剂量	10	2256.1 \pm 528.4 ⁽¹⁾	21.0 \pm 3.9	1626.3 \pm 292.9

(1)与对照组比较 $P < 0.05$

2.4 对果蝇寿命的影响 三个剂量组果蝇平均寿命均高于对照组。说明该受试物对果蝇寿命具有显著

的延长作用,见表6。

表6 对果蝇寿命的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	果蝇数只	平均寿命 d	t 值	P 值
空白对照	50	46.67 ± 11.95		
低剂量	50	64.21 ± 11.23	7.994	<0.001
中剂量	50	65.21 ± 7.51	9.289	<0.001
高剂量	50	73.48 ± 12.85	10.803	<0.001

3 结论

以上实验研究结果表明:该受试物在本文的试验条件下,具有提高小鼠特异性和非特异性免疫功能的作用;具有延缓衰老和抗脂质过氧化的作用。

4 参考文献

- 1 卫生部. 保健食品功能学评价程序和检验方法
- 2 程君毅. 过氧化物歧化酶临床测活法. 生化药物杂志, 1988, 2: 53~55
- 3 陈淑英, 等. 人红细胞内超氧化物歧化酶比色测定法. 中华老年医学杂志, 1986, 5(2): 117~119

[上接第4页]

代谢占主要地位。人在短时间剧烈运动及大强度运动后,肌细胞对能量需要量极大,机体处于高度缺氧状态而磷酸肌酸系统的快速供能仅能维持6~8秒,只能依靠无氧糖酵解供给能量,因而血乳酸显著升高。在较长时间的活动后,血乳酸浓度与安静状态无差别,这是由于机体对心脏、肌肉血流量调整之后,细胞含氧量基本能满足能量供应需要,主要以糖和脂肪有氧分解为主;还可能是长时间维持此强度运动时,血乳酸生成速率与消失速率几乎一致⁽⁴⁾造成的。随活动时间延长,强度增大,乳酸堆积于细胞内使pH下降,抑制了乳酸代谢酶的活性,不利于乳酸的清除,血乳酸生成率远大于清除率,使血乳酸的浓度保持较高水平。图2的血乳酸浓度变化曲线正体现了上述与人体一致的规律。但由于负重组的运动强度大造成负重组的变化曲线前移,少了血乳酸浓度缓慢上升这一变化过程。

运动强度增加,血乳酸清除率下降。这是由于运动强度越大,肌细胞缺氧现象越明显,乳酸产生增多,细胞内pH下降。由于乳酸清除的主要途径是在心肌和骨骼肌细胞内有氧氧化成二氧化碳和水,故在缺氧状态下,很难有氧清除;肌细胞的低pH环境使有氧代谢酶活性受到抑制,因而运动强度越大,血乳酸越难清除。

长时间游泳过程中,肌乳酸与血乳酸浓度已达到相对平衡状态,若再过15 min取血,则机体的清除过

程仍在继续,而糖酵解过程已停止,此时反映的是运动后乳酸被清除了15 min后的血乳酸浓度。且小鼠的体积小,代谢率较人体高,血乳酸清除速度也快。因此,建议在长时间持续运动后,测定血乳酸的最佳取血时间是运动后即刻。

本实验发现负重2%游泳60 min后测定血乳酸值,有25%的小鼠不能游至终点。若小鼠在濒死时捞起,测得的血乳酸增加量不够高,不能代表此运动组真正的血乳酸水平。因此不能将未游至60 min即将死亡的小鼠捞起,测定其血乳酸。由于不负重游泳90 min后即刻取血,血乳酸浓度显著升高,且无小鼠死亡,故建议以不负重游泳90 min后即刻取血测定血乳酸。

4 参考文献

- 1 杨奎生, 尤春英, 等. 运动强度—血乳酸水平曲线及数学表达式的探讨. 中国运动医学杂志, 1988, 7(3): 167~170
- 2 杨天乐, 秦孝梅. 血液乳酸测定的超微量改良法. 体育科学技术资料, 1964, 5: 23~27
- 3 金宗谦, 等. 功能食品评价原理及方法. 北京: 北京大学出版社, 1995, 10
- 4 Brooks G A. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research. Med Sci Sports Exerc, 1985, 17(1): 22