

论著

老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平变化及海洋胶原肽对其影响的研究

刘志刚 裴新荣 张召锋 梁江 王楠 王军波 李勇
(北京大学公共卫生学院营养与食品卫生学系,北京 100191)

摘要:目的 探讨老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平变化及海洋胶原肽对其血清睾酮水平的影响。方法 48 只 SPF 级健康初断乳雄性 SD 大鼠,随机分为对照组和海洋胶原肽剂量组(饲料中海洋胶原肽含量分别为 2.25%、4.50%和 9.00%),每组 12 只,长期单笼喂养,测定 12、18、24 月龄时血清中睾酮水平及 12、18 月龄时血清丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。结果 对照组在 12、18、24 月龄时血清睾酮含量分别为 0.89 ± 0.16、0.58 ± 0.23 和 0.30 ± 0.11 ng/ml;海洋胶原肽干预后,12 月龄时,4.50%剂量组血清睾酮含量显著高于对照组,而 9.00%剂量组却显著减少;18 月龄时各组血清睾酮含量较 12 月龄时均显著降低。12 月龄时,与对照组相比,各剂量组血清 MDA 含量显著降低,SOD 及 GSH-Px 活性显著升高。18 月龄时,4.50%、9.00%剂量组血清 MDA 含量显著低于对照组,3 个剂量组血清 SOD 活性仍显著高于对照组。随年龄增长,各组血清 MDA 含量均呈现上升趋势,SOD 和 GSH-Px 活性均呈现下降趋势。结论 老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平呈增龄性递减趋势,海洋胶原肽可通过其抗氧化作用影响雄性 SD 大鼠老年时血清睾酮含量。

关键词:肽;胶原;睾酮;抗氧化;衰老;生物医学研究

Serum Testosterone Levels of Aging SD Male Rats and Effects of Marine Collagen Peptides

LIU Zhi-gang, PEI Xin-rong, ZHANG Zhao-feng, LIANG Jiang, WANG Nan, WANG Jun-bo, LI Yong
(Department of Food and Nutritional Hygiene, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: Objective To investigate the serum testosterone level of aging SD male rats and the effect of marine collagen peptides (MCPs) on them. **Method** 48 SD male rats were randomly divided into 4 groups according to their different doses of MCPs (0 control, 2.25%, 4.50% and 9.00%) with 12 rats in each. Serum testosterone was measured at the ages of 12, 18 and 24-month. MDA contents and SOD, GSH-Px activities in blood serum were measured at the ages of 12, 18 and 24-month. **Results** Serum testosterone levels of 12, 18 and 24-month-old rats in control group were 0.89 ± 0.16, 0.58 ± 0.23, 0.30 ± 0.11 ng/ml. Serum testosterone level of 4.50% dose group was significantly higher than those of control group and serum testosterone level of 9.00% dose group was significantly lower at the ages of 12-month. Compared with the 12-month-old rats, serum testosterone levels of all groups in 18-month-old rats were significantly lower. Compared with control group, MDA levels of serum were significantly lower and the activities of serum SOD and GSH-Px were obviously higher in three dose groups at 12-month-old. At 18-month-old, serum MDA levels of 4.50% and 9.00% dose group were lower than control group and the activities of serum SOD in three dose groups were still higher. The serum MDA levels of all the groups increased, and the activities of serum SOD and GSH-Px decreased as the rats got older. **Conclusion** Serum testosterone level of aging SD male rats decreased, and MCPs could affect them as the antioxidants if the rats were treated at an early age.

Key word: Peptide; Collagen; Testosterone; Antioxidant; Aging; Biomedical Research

[14] GOESSLER W, PAVKOV M. Accurate quantification and transformation of arsenic compounds during wet ashing with nitric acid and microwave assisted heating [J]. Analyst. 2003, 128 (6): 796-802.
gastric juice and acidic environments using IC-ICP-MS and IC-ESI-MS/MS[J]. Analyst, 2002, 127: 781-785.
[15] GAMBLE B M, GALLAGHER P A, SHOEMAKER J A, et al. An investigation of the chemical stability of arsenosugar in simulated
[16] REGMI R, MILNE B F, FELDMAN J. Hydride generation activity of arsenosugars and thioarsenicals[J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 388: 775-782.

[收稿日期:2008-11-20]

中图分类号:R15;O613.63;O657.31;O657.72 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2009)02-0097-07

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD27B08)

作者简介:刘志刚 男 硕士生

通讯作者:李勇 男 教授/博士生导师

研究表明,男性自50岁开始,睾丸雄激素合成功能逐步衰退^[1,2]。目前,由于老年男性体内睾酮合成水平降低的发生机制尚未完全阐明,临床上针对老年男性雄激素部分缺乏(partial androgen deficiency in ageing male, PADAM)^[3]的治疗手段主要为睾酮补充治疗(testosterone supplement therapy, TST)。睾酮对身体的多个系统或器官均有影响,在长期睾酮补充治疗时,可能引发一些严重的不良反应。因此,开发一些功能食品,通过适当的早期干预,调节男性体内睾酮的合成,提高睾酮水平,对预防一些相关症状和疾病的发生、提高老年人的生活质量和实现健康老龄化具有一定的意义,是当前生物医学领域研究的重大课题之一。本研究用海洋胶原肽长期喂养雄性SD大鼠,观察其对大鼠老龄时血清睾酮水平的影响并尝试探讨其作用机制,为海洋资源的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 海洋胶原肽(marine collagen peptides, MCPs)

由北京某生物技术有限公司提供,是以深海鲑鱼的鱼皮为原料,经过清洗匀浆、复合偶联酶解、酶失活、脱脂、多级膜分离、渗透精制、浓缩、脱色、造粒干燥等工艺制成。其相对分子量在100~860 Da之间,主要集中在300~860 Da,占到总成分的86%左右,是一种主要结构为2~6肽的寡肽混合物。

1.1.2 试验动物 SPF级健康初断乳雄性SD大鼠48只,体重60~80 g,由北京大学医学部试验动物中心提供(动物合格证号:SCXK11-00-0004),清洁级动物房饲养(动物实验环境设施(SPF)合格证书:医动字第01-2055),饲养环境温度21~23℃,相对湿度50%~60%。

1.1.3 主要仪器和试剂 AXSYM全自动快速免疫发光分析仪(美国雅培公司)、UV7512GD型紫外可见分光光度计(上海欣益仪器仪表有限公司)、离心机(Eppendorf 5840 R)、电热恒温水浴箱(SHW-420,北京长安科学仪器厂)、XH2B型旋涡混匀器、电子天平。

睾酮酶免疫检测试剂盒(美国雅培公司)。

丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 雄性SD大鼠适应性饲养3 d后,随机分为4组,即对照组和3个海洋胶原肽剂量组,

每组12只。对照组喂饲普通基础饲料,3个海洋胶原肽剂量组分别喂饲2.25%、4.50%和9.00%海洋胶原肽替换粗蛋白的特殊加工饲料,长期单笼喂养。所有动物自由饮水、进食。

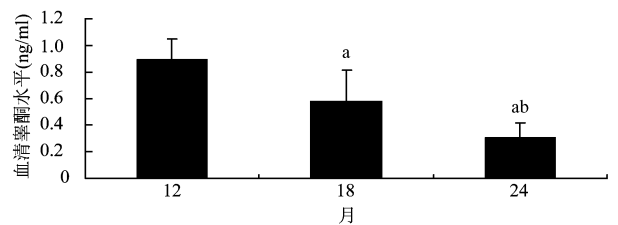
1.2.2 样本采集 分别在大鼠12、18和24月龄时取1 ml尾血,4℃、3 500 r/min离心15 min,分离血清,-80℃保存待测。

1.2.3 检测方法 按照睾酮酶免疫检测试剂盒说明书测定血清睾酮水平。按照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书测定血清中MDA含量及SOD、GSH-Px活性。

1.2.4 统计学分析 数据按组别及时间点分别录入SPSS 15.0数据库,组间比较采用方差分析方法,不同时间点采用配对t检验进行比较。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组老龄雄性SD大鼠血清睾酮水平变化见图1。



注:a表示与12月龄相比, $P < 0.05$;

b表示与18月龄相比, $P < 0.05$ 。

图1 老龄雄性SD大鼠血清睾酮水平变化

图1所示,与12月龄相比,18月龄和24月龄时雄性SD大鼠血清睾酮水平显著降低;24月龄时大鼠血清睾酮水平显著低于18月龄。随着年龄的增长,老年雄性大鼠血清睾酮水平呈递减趋势。

2.2 海洋胶原肽对雄性大鼠血清睾酮含量的影响

12月龄时,4.50%剂量组血清睾酮含量显著高于对照组,而9.00%剂量组血清睾酮含量却显著减少。与12月龄相比,18月龄时对照组和3个剂量组的血清睾酮含量均显著降低(见表1)。

表1 海洋胶原肽对雄性大鼠血清睾酮含量的

组别	影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)	
	12月龄	18月龄
对照组	0.89 \pm 0.16	0.58 \pm 0.23 ^b
2.25% MCPs	0.99 \pm 0.18	0.58 \pm 0.17 ^b
4.50% MCPs	1.42 \pm 0.26 ^a	0.74 \pm 0.23 ^b
9.00% MCPs	0.65 \pm 0.23 ^a	0.42 \pm 0.10 ^b

注:a表示与对照组相比, $P < 0.05$;b表示与12月龄同剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.3 海洋胶原肽对雄性大鼠血清 MDA 含量及 SOD、GSH Px 活性的影响

12 月龄时,3 个海洋胶原肽剂量组大鼠血清 MDA 含量显著低于对照组 ($P < 0.01$),与对照组相比,SOD ($P < 0.01$)及 GSH Px 活性 ($P < 0.05$)升高具有统计学意义。18 月龄时,4.50%、9.00%剂量组大

鼠血清 MDA 含量仍显著低于对照组 ($P < 0.05$),3 个剂量组大鼠血清 SOD 活性仍显著高于对照组 ($P < 0.01$)。随着年龄的增长,对照组和 3 个剂量组大鼠血清 MDA 含量均呈现上升趋势,SOD 和 GSH Px 活性均呈现下降趋势(见表 2)。

表 2 海洋胶原肽对雄性大鼠血清 MDA 含量及 SOD、GSH Px 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	MDA(nmol/ml)		SOD(U/ml)		GSH Px (EU)	
	12 月龄	18 月龄	12 月龄	18 月龄	12 月龄	18 月龄
对照组	15.77 ±1.34	17.01 ±1.10	140.19 ±14.69	120.82 ±16.36	1505.75 ±224.10	904.11 ±172.98
2.25% MCPs	13.74 ±0.94 ^b	16.31 ±0.75	162.10 ±15.40 ^b	137.37 ±10.83 ^b	1733.80 ±188.52 ^a	1016.79 ±134.28
4.50% MCPs	12.86 ±1.17 ^b	15.99 ±0.84 ^a	171.04 ±13.55 ^b	147.42 ±14.22 ^b	1681.18 ±163.28 ^a	1024.74 ±193.50
9.00% MCPs	14.31 ±1.32 ^b	16.27 ±0.74 ^a	172.56 ±14.38 ^b	147.21 ±11.68 ^b	1714.69 ±177.89 ^a	998.23 ±140.45

注:a 表示与对照组相比, $P < 0.05$; b 表示与对照组相比, $P < 0.01$ 。

3 讨论

对于中老年男性体内睾酮水平变化趋势这一问题,许多学者进行了大量的流行病学调查,但结果不完全一致。绝大多数研究倾向于中老年人随着年龄的增长,血清睾酮水平呈下降趋势^[4-7],而有些研究则认为睾酮水平并没有随年龄的增长而有明显改变^[8,9]。基于人群研究的复杂性,很难避免人群的健康状况、生活习惯等因素的影响,而动物实验可以较好地控制这些因素,在相同遗传背景和生活环境下更为真实地揭示事物的本质。本实验结果表明,老龄雄性 SD 大鼠血清睾酮水平呈递减趋势,与 Wang 等^[10]人研究的结果相一致。

本实验所采用的海洋胶原肽是以鲑鱼鱼皮为主要原料,采用生物酶解技术生产的产品,是由 2~6 个氨基酸组成,分子量范围在 200~860 的小分子混合寡肽类,它能够被小肠直接吸收。

从初断乳开始给雄性 SD 大鼠喂饲海洋胶原肽,可影响雄性 SD 大鼠老龄时血清睾酮水平,并显示出明显的低浓度促进、高浓度抑制的倒 U 型剂量效应关系曲线。12 月龄时,2.25% 剂量组并没有表现出海洋胶原肽的功效,而 9.00% 剂量组却使大鼠血清睾酮水平下降了 27% (与对照组相比),4.50% 剂量组血清睾酮水平比对照组提高了 59%,并在 18 月龄时仍然维持较高水平,说明 4.50% 剂量的海洋胶原肽延缓老龄大鼠睾酮水平降低的作用效果最佳。

参考文献

[1] GRAY A, FELDMAN A, MEKINLAYJ B, et al. Age, disease, and

changing sex hormone levels in middle-aged men: results of the massachusetts male aging study[J]. Clin Endocrinol Metab, 1991, 73:1016-1025.

[2] HARMAN S M, METTER E J, TOBIN J D, et al. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men [J]. Clin Endocrinol Metab, 2001, 86:724-731.

[3] MORALES A, LUNENFELD B. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. Official recommendations of ISSAM. International society for the study of the aging male [J]. Aging Male, 2002, 5(2):74-86.

[4] PURIFOY F E, KOOPMANS L H, MAYES D M. Age differences in serum androgen levels in normal adult males [J]. Human Biology, 1981, 53: 499-511.

[5] BREMNER W J, VITIELLO M V, PRINZ P N. Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with ageing in normal men [J]. Clin Endocrinol Metab, 1983, 56: 1278-1281.

[6] TENOVER J S, MATSUMOTO A M, HLYMATE S R et al. The effects of ageing in normal men on bioavailable testosterone and luteinizing hormone secretion: response to clomiphene citrate [J]. Clin Endocrinol Metab, 1987, 65: 1118-1126.

[7] FERRINI R L, BARRETT-CONNOR E. Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in community-dwelling men [J]. American Journal of Epidemiology, 1998, 147: 750-754.

[8] NIESCHLAG E, LAMMERS U, FREISCHEM C W, et al. Reproductive functions in young fathers and grandfathers [J]. Clin Endocrinol Metab, 1982, 55: 676-681.

[9] HARMAN S M, TSITOURAS P D. Reproductive hormones in ageing men. I. Measurement of sex steroids, basal luteinizing hormone, and Leydig cell response to human chorionic gonadotropin [J]. Clin Endocrinol Metab, 1980, 51: 35-40.

[10] WANGL, BANU J, MCMAHAN C A, et al. Male rodent model of age-related bone loss in men [J]. Bone, 2001, 29:141-148.

[收稿日期:2008-11-15]