

文章编号: 1004-4353(2016)04-0321-04

MS 活性糖对自然衰老小鼠的唾液酸、脂褐素及抗氧化的影响

李海飞¹, 崔美花², 姜成哲¹, 李洪龙¹, 崔明勋^{1*}

(1. 延边大学农学院 动物医学系, 吉林 延吉 133002;

2. 吉林敖东药业集团 延吉股份有限公司, 吉林 延吉 133001)

摘要: 为了观察 MS 活性糖对机体衰老方面的影响,以自然衰老小白鼠(197±18 d)为研究对象,按照衰老对照组(10 只)、高剂量组(9 只)、中剂量组(10 只)和低剂量组(10 只)分别投喂正常水和 0.4%、0.3% 及 0.2% 的 MS 活性糖溶液,测定小鼠血液中红细胞膜唾液酸含量、肝肾中的丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性、肝和脑中的脂褐素含量。结果表明:投喂低剂量组的小鼠与衰老对照组小鼠相比,红细胞膜唾液酸含量显著性地提高,脑中的脂褐素和肾脏中的 MDA 含量显著性地降低;高、中剂量组中的唾液酸、脂褐素、MDA 含量没有出现显著性变化。本文结果表明,0.2% 浓度的 MS 活性糖具有一定的抗衰老效果。

关键词: MS 活性糖; 自然衰老小白鼠; 唾液酸; 脂褐素; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

中图分类号: TS202

文献标识码: A

The effects of MS bio sugar on the sialic acid, lipofuscin and antioxidant for the natural aging mice

LI Haifei¹, CUI Meihua², JIANG Chengzhe¹, LI Honglong¹, CUI Mingxun^{1*}

(1. Department of Veterinary Medicine, Agricultural College, Yanbian University,

Yanji 133002, China; 2. Jilin Aodong Medicine Industry Group (Yanji) Co. Ltd., Yanji 133001, China)

Abstract: In order to check the effects of MS bio sugar for the aging of organism, feeding experiment was conducted in naturally senescent mice (197±18 d). 39 mice were divided into 4 groups including water group (10 mice), 0.4% MS group (9 mice), 0.3% MS group (10 mice) and 0.2% MS group (10 mice). Malondialdehyde (MDA) content and Superoxide Dismutase (SOD) activity from liver and kidney, lipofuscin content in liver and brain were determined. The results showed that the content of sialic acid on the erythrocyte membrane was significantly increased in 0.2% MS group compared with the water group, whereas the content of lipofuscin in the brain and the content of MDA in the kidney decreased markedly. There were no significant differences on the contents of sialic acid, lipofuscin and MDA contents in 0.4% and 0.3% MS groups as in 0.2% MS group. The whole results implied that 0.2% MS active biosugar solution possess better anti-senescent effect.

Keywords: MS bio sugar; natural aging mice; sialic acid; lipofuscin; Superoxide Dismutase; Malondialdehyde

0 引言

糖类是生物体的重要组成成分,除了作为细

胞的能量来源之外,也是构建细胞的主要物质,同时糖类对生物体的生命活动的调节也起到重要的作用;因此,对糖类活性的研究具有重要意义。MS

活性糖是一种能够提高体内营养物质吸收率的辅助食品用功能液,其制作工艺简单,成本低廉,具有较好的应用前景^[1].近年来,对 MS 活性糖相关功能的研究取得了一些成果,例如:陈伟等研究了 MS 活性多糖对细菌生长及生物学特性的影响^[1],宋明洲等研究了活性糖对蟾蜍坐骨神经干动作电位的影响^[2].目前,有关 MS 活性糖抗衰老的研究还鲜有报道,本实验以自然衰老小白鼠为对象,通过投喂不同浓度的 MS 活性糖溶液,观察其对小白鼠机体的影响,为进一步开发 MS 活性糖的应用提供实验参考.

本实验中研究的主要指标是唾液酸和脂褐素.研究显示:在初生儿的发育生长期和中老年的衰老期,外源性唾液酸的提供或提高内源性唾液酸合成水平对人体健康具有重要的作用^[3];唾液酸作为复合糖的组成部分,是防止红细胞聚集的一个重要因素^[4];在肿瘤细胞中高表达的唾液酸,有促进细胞转移抑制凋亡的作用,唾液酸的多少与细胞代谢旺盛度有关^[5];红细胞膜上的唾液酸含量与其细胞的“年龄”存在着一定的关系,细胞越衰老其含量越低,可作为衡量人体衰老的一项指标^[6].脂褐素是脂质发生过氧化反应的产物——MDA 与蛋白质等生命大分子交联聚合而成,其大量聚集会影响细胞代谢及其功能,从而造成人体器官功能衰退^[7].因此,人体内脂褐素的多少在一定程度上可以反映细胞状态的好坏.

1 材料与实验

1.1 材料

1.1.1 试剂与主要仪器 722S 分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;FA1004A 电子天平,上海精天电子仪器有限公司;DK-8D 型电热恒温水槽,上海精宏实验设备有限公司;CT15RT 台式高速冷冻离心机,中国天美科学仪器有限公司;超纯水系统,Millipore 公司;3,5-二羟基甲苯、冰醋酸、盐酸、氯化铁、正戊醇、氯仿、甲醇、硫酸奎宁、硫代巴比妥酸、氯化钠、联苯三酚等化学试剂均为分析纯;注射器、移液器枪头等均为市售一次性商品;MS 活性多糖由韩国 Mexcell Bio 研究所提供.

1.1.2 实验动物 昆明种小白鼠 45 只(母鼠),由本实验室自繁.

1.2 指标的测定与方法

1.2.1 取 39 只平均日龄在 197 ± 18 d 的小鼠,随机分成 4 组:衰老对照组(10 只)、高剂量组(9 只)、中剂量组(10 只)和低剂量组(10 只).衰老对照组给予正常水饮用,高、中和低剂量组分别给予 0.4%、0.3%和 0.2%的 MS 活性糖溶液作为饮水,连续给与 3 个月.另取平均日龄为 51 ± 4 d 的 6 只小鼠(母鼠)作为年轻对照组,饮用正常水.所有实验小鼠均自由采食及光照.在饲养小鼠期间,观察饮水和进食量,以及进行常规观察,包括外观、体征、行为活动等.每隔一周称一次体重.

1.2.2 在实验结束时,摘小鼠眼球采血,定量采抗凝血用于测定唾液酸含量.剖检取脏器称重,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用.

1.2.3 唾液酸含量的测定:眼球部位定量采血,加到含有肝素钠的生理盐水的试管内,用冷生理盐水洗涤 3 次,然后用低渗磷酸盐在低温下溶胀 1 h;洗去血红蛋白,将离心得到的血影蛋白加入 300 μL 的缓冲液,低温冷藏.测定时取一定量的血影蛋白溶液,并加入 Bialsche 试剂(称取 0.1 g 3,5-二羟基甲苯于 50 mL 容量瓶中,加入 40.7 mL 12 mol/mL 浓盐酸和 1 mL 1% FeCl_3 溶液,用双蒸水定容至 50 mL),沸水浴加热 12 min,冷却后加入正戊醇震荡,离心;取上清液,用 1 cm 的比色皿和 560 nm 比色测定^[8].

脂褐素的测定:定量称取脑组织,加入一定量氯仿-甲醇溶液(2:1)制成匀浆,加等量蒸馏水震荡;离心,取下层液体,以 360 nm 激发,450 nm 测定,并以 1 mg 硫酸奎宁的吸光度为 1 个单位,计算每克冷冻组织的荧光计数单位^[9].

SOD 活性测定采用联苯三酚自氧化法^[10];MDA 浓度测定采用硫代巴比妥酸法^[11];蛋白质含量的测定用考马斯亮蓝法(coomassie brilliant blue)^[12].

2 结果与分析

2.1 唾液酸与脂褐素的含量

在 3 个月的饲养过程中,共死亡 6 只小鼠,其中衰老对照组死亡 4 只,高剂量组和低剂量组各死亡 1 只.对死亡的小鼠进行剖检没有发现异常现象,且各组小鼠脏器指数均没有出现显著性差异.

小鼠血液中红细胞膜的唾液酸含量的测定结果见表 1.由表 1 可以看出,低剂量组的红细胞膜

唾液酸的含量最高,衰老对照组的最低,低剂量组的唾液酸含量显著性地高于衰老对照组和高剂量组.年轻对照组的红细胞膜唾液酸含量虽然高于衰老对照组,但没有出现统计学上的显著性差异,这一结果与文献[13]报道的人的红细胞膜唾液酸含量,老年对照组明显低于非老年对照组的结果相似.本文实验能否引起人体的红细胞膜唾液酸含量的变化还有待通过实验来验证.

小鼠肝脏和脑中脂褐素含量的测定结果见表 1.由表 1 可以看出,高剂量组的脂褐素含量最高,年轻对照组的脂褐素含量最低,且高、中剂量组的脂褐素含量显著性地高于年轻对照组($P<0.05$),低剂量组的脂褐素含量在老龄组中最低.衰老对照组和高剂量组的脑脂褐素含量较高,年轻对照组的脑脂褐素含量最低,且衰老对照组和高剂量组的脂褐素含量分别显著性地高于年轻对照组和低剂量组的脂褐素含量($P<0.05$).目前为止,脂褐素对细胞功能影响的研究较少,但有研究表明随着年龄的增加其含量呈升高趋势^[14].本实验中低剂量的 MS 活性糖显著性地降低了脑脂褐素的含量,而对肝脂褐素的含量虽有所降低,但没有出现显著性,这可能也与不同组织的代谢特点不同有关.

2.2 MDA 含量和 SOD 活性

小鼠肝脏和肾脏中 MDA 含量和 SOD 活性的测定结果见表 2.由表 2 可以看出,肾脏中低剂量组的 MDA 含量最低,其次是中剂量组,其他 3 组相似,其中衰老对照组和高剂量组的 MDA 含量显著性地高于低剂量组($P<0.05$),年轻对照组的 MDA 含量极显著地高于低剂量组($P<0.01$).肾脏中高剂量组的 SOD 活性最高,年轻对照组的最低,且各组之间都没有显著性差异.衰老组的 SOD 活性没有出现规律性变化,其原因需要进一步探究.肝脏中年轻对照组 MDA 的含量显著性地高于所有的衰老组,这一结果是否与小鼠的代谢旺盛程度有关还有待进一步证实.肝脏中低剂量组的 SOD 活性最高,说明低剂量的 MS 活性糖对肝脏有益.

研究^[15]表明,随着年龄的增加,动物的生产能力及免疫力等均会有所下降,体内 SOD 的活性降低,MDA 含量不断增加(体内的超氧自由基与过氧化脂质发生反应),而 MDA 含量的不断增加又促使个体衰老加速.本文实验结果中,MS 活性糖只是显著性地降低了肾脏的 MDA 含量,而其他指标的变化并不显著,因此 MS 活性糖对小鼠抗衰老的影响还需要从其他角度进行探讨.

表 1 红细胞膜的唾液酸含量和肝脏、脑中脂褐素的含量

组分	开始日龄/ d	数量/ 只	结束日龄/ d	数量/ 只	红细胞膜唾液酸 含量/(mmol/g)	肝脂褐素含量/ (U/g)	脑脂褐素含量/ (U/g)
衰老对照组	198±19	10	292±18	6	0.517±0.209 [*]	50.58±11.98	20.16±6.03 ^{*#}
高剂量组	199±20	9	288±17	8	0.580±0.200 [*]	50.96±5.86 [#]	22.06±6.51 ^{*#}
中剂量组	196±19	10	289±19	10	0.668±0.214	49.92±7.26 [#]	16.64±8.37
低剂量组	196±19	10	290±20	9	0.838±0.249	47.36±6.22	13.87±4.63
年轻对照组	—	—	51±4	6	0.645±0.208	40.20±7.10	12.38±4.99

注: * 表示与低剂量组相比差异显著, $P<0.05$; # 表示与年轻组相比差异显著, $P<0.05$.

表 2 肾脏和肝脏中的 MDA 含量和 SOD 活性

分组	只数	肾脏中 MDA 含量/(mmol/g)	肾脏中 SOD 活性/(U/mg)	肝脏中 MDA 含量/(mmol/g)	肝脏中 SOD 活性/(U/mg)
衰老对照组	6	1.21±0.47 [*]	188.1±64.4	0.58±0.05 ^{*#}	170.8±48.5
高剂量组	8	1.15±0.47 [*]	209.6±77.4	0.57±0.22 [#]	173.2±53.4
中剂量组	10	0.76±0.54	175.8±76.6	0.51±0.20 ^{*#}	195.2±75.8
低剂量组	9	0.66±0.26	186.3±57.3	0.59±0.17 [#]	218.0±90.1
年轻对照组	6	1.16±0.29 ^{**}	156.1±43.8	0.82±0.14	185.1±37.6

注: * 表示与低剂量组相比差异显著, $P<0.05$; ** 表示与低剂量组相比差异极显著, $P<0.01$; # 表示与年轻组相比差异显著, $P<0.05$; ## 表示与年轻组相比差异极显著, $P<0.01$.

3 结论

通过对小鼠投喂不同浓度的 MS 活性糖溶液后的实验结果表明,0.2% 的 MS 活性糖溶液(低剂量组)比其他实验组能够显著地提高红细胞膜的唾液酸含量,降低脑中脂褐素的含量和肾脏中 MDA 的含量,且 SOD 活性最高,这表明低剂量组的 MS 活性糖溶液对小鼠具有一定的抗衰老效果。

参考文献:

- [1] 陈伟,姜颖越,张腾腾,等. MS 活性多糖对细菌生长及生物学特性影响的初步研究[J]. 延边大学农学学报,2015,37(3):254-258.
- [2] 宋明洲,姜成哲,朴明淑,等. 活性糖对蟾蜍坐骨神经干动作电位影响的初步研究[J]. 黑龙江科技信息,2016(7):107-108.
- [3] 郑志永,詹晓北,朱德强,等. 聚唾液酸和唾液酸寡糖的生物合成及其在营养食品中的应用前景[J]. 食品科学,2013,34(15):361-368.
- [4] 程铖,高春芳. 唾液酸的生物学意义及其在肝病中的研究进展[J]. 检验医学,2013,28(4):333-336.
- [5] 韦安稳,汪淑晶. 唾液酸在疾病中作用的研究进展[J]. 大连医科大学学报,2015,37(6):610-614.
- [6] 吴虹,马小平,张小蕾,等. 人红细胞唾液酸含量与细胞“年龄”的关系[J]. 贵阳医学院学报,1991,1

(4):317-318.

- [7] 胡梅,刘群良,舒畅,等. 还少丹对老年小鼠脂褐素含量和 DNA 分子结构稳定性的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2011,31(3):33-35.
- [8] 秦德安,钮晓达,陈跃春. 用 Bialsche 试剂直接测定红细胞膜上唾液酸量[J]. 生物化学与生物物理进展,1987,14(4):63-65.
- [9] 吴春福,于庆海,刘雯,等. 依据自由基学说研究人参茎叶皂甙的抗衰老作用[J]. 沈阳药学院学报,1992,9(1):37-40.
- [10] 庞战军,周玖,陈媛. 自由基医学研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:110.
- [11] 向荣,王鼎年. 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展,1979,17(3):241-242.
- [12] 李留安,袁学军. 动物生物化学实验指导[M]. 北京:清华大学出版社,2013:43.
- [13] 刘希英,黄振学,赵秀珍,等. 老年人红细胞膜唾液酸含量与红细胞免疫功能的相关性[J]. 中华老年医学杂志,1998,17(2):110-112.
- [14] 顾振,郭晓东,王鹤鸣. 小鼠脑组织中脂褐素和丙二醛相关关系的观察[J]. 南京医科大学学报,1999,19(4):284-286.
- [15] 宁鹏. 中药复方对衰老小鼠部分组织中 SOD 活性和 MDA 含量的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2012(17):130-131.

(上接第 296 页)

参考文献:

- [1] Ernst T. Some results for q -functions of many variables[M]. Rend Padova, 2004.
- [2] Ernst T. q -Bernoulli and q -Euler polynomials, an umbral approach[J]. Int J Difference Equations, 2006,51(1):31-80.
- [3] Yang W G. Positive solutions for nonlinear semipositone fractional q -difference system with coupled integral boundary conditions[J]. Applied Mathematics and Computation, 2014,244:702-725.
- [4] Ricardo A, Natalia M. Existence results for fractional q -difference equations of order $[2,3]$ with three-point boundary conditions[J]. Commun Nonlinear Sci Numer Simulat, 2014,19:1675-1685.
- [5] Jiang M, Zhong S. Existence of solutions for nonlinear fractional q -difference equations with Riemann-Liouville type q -derivatives[J]. Applied Mathematics and Computation, 2015,47:429-459.
- [6] Li X H, Han Z L, Zhao Y. Existence and multiplicity of positives solutions for fractional q -difference equations with parameter[J]. International Journal of Dynamical Systems and Differential Equations, 2015,5(4):267-287.
- [7] 孙明哲,韩筱爽. 一类分数阶 q -差分边值问题的正解[J]. 延边大学学报(自然科学版),2013,39(4):252-255.
- [8] 葛琦,侯成敏. 一类分数阶 q -差分边值问题的多重正解的存在性[J]. 黑龙江大学自然科学学报,2015,32(2):163-170.
- [9] 葛琦,侯成敏. 一类分数阶差分方程边值问题多重正解的存在性[J]. 东北石油大学学报,2012,36(4):101-110.
- [10] Zhao Y L, Chen H B, Zhang Q M. Existence and multiplicity of positive solutions for nonhomogeneous boundary value problems with fractional q -derivatives[J]. Boundary Value Problems, 2013,2013:103.
- [11] Guo Y, Ge W. Positive solutions for three-point boundary value problems with dependence on the first order derivative[J]. Journal of Mathematical Analysis and Applications, 2004,209(1):291-301.