维普资讯 http://www.cqvip.com

蛤蚧对大鼠小肠自由基代谢的影响

临床生化教研室 薛长江 陈国千 周小梅 刘建武 吴春梅 王俊文

提 要 本文观察了蛤蚧乙醇提取液对18月龄大鼠小肠匀浆中超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH—Px）活性及还原型谷胱甘肽（GSH）和过氧化脂质（LPO）含量的影响。结果显示蛤蚧对大鼠小肠的自由基代谢有着积极的意义，使SOD、GSH—Px和CAT活性明显增强，GSH水平增高，而LPO含量明显下降。同时表明，蛤蚧尾部的作用大于体部；延长用药时间能明显增强蛤蚧的作用

关键词 蛤蚧；超氧化物歧化酶；还原型谷胱甘肽；过氧化氢酶；谷胱甘肽过氧化物酶；过氧化脂质；衰老；大鼠；小肠

中图分类号 Q54；R332

衰老是所有多细胞有机体的共同特征。在衰老的发生和发展中，自由基及其诱导的氧化反应的长期毒害作用，是引起机体衰老的重要因素。老年人普遍地存在着各种胃肠疾患，这些疾患占老年病死亡率20%[1]。许凤芝[2]等通过测定血浆中LPO水平证明：胃肠疾患组的LPO水平明显高于对照组。经研究表明氧自由基与血管内皮和薄壁组织细胞受损而引起肠缺血有关[3]。近年来的研究证明，胃肠道不仅具有消化功能，而且是机体的一个最大的内分泌器官。因而研究胃肠道自由基代谢的变化，对探讨机体抗衰老作用有着一定的意义。

中药蛤蚧为壁虎科动物蛤蚧（Gekko gecko Linnaens）去内脏后的躯体。简裁氏和三轮卓氏曾先后报道整体蛤蚧有性激素样作用[4,5]。覃俊佳等[6]报道蛤蚧干品的乙醇提取物具有双相性激素样作用。也有报道蛤蚧乙醇提取物中含有15种氨基酸[7]；其活品水提取物中含有17种元素[8]。但从小肠自由基代谢的角度对蛤蚧抗衰老作用的研究却未见报道。为此，我们用蛤蚧乙醇提取液对衰老前期（18月龄）大鼠小肠的抗自由基作用进行了实验观察，并初步研究了蛤蚧体、尾部提取液的功效差异和用药时间对功效的影响。

材料和方法

1. 动物及分组

雌性Wistar大鼠（18月龄）35只，由本校实验动物中心提供。随机分为四组：对照组9只；注射体部提取液10天组9只（以下简称体Ⅰ组）；注射尾部提取液10天组9只（以下简称尾组）；注射体部提取液20天组8只（以下简称体Ⅱ组）。

2. 蛤蚧提取液的制备

将蛤蚧干品（重庆中药材站提供）体、尾部分别烘干，剪碎和打粉，用渗滤法分别提取醇溶有效成份，过程参照覃俊佳[6]等的方法稍有改进。最后按4体积氯仿和1体积提取液的比例进行洗涤，弃氯仿层，得橙黄色清亮透明液体。所得提取液浓度相当于原药：体部为0.33g/ml；尾部为0.32g/ml。

维普资讯 http://www.cqvip.com

3. 给药剂量和方法

给药组按分组以2g(原药)/kg剂量每天一次腹腔注射。对照组每只每天注射2ml生理盐水（共10天）。各组均于末次注射后24小时断头处死取标本。

4. 小肠匀浆的制备

取距十二指肠曲近段0.5g，加入5ml 4℃匀浆介质（含0.32M蔗糖、5mM HEPES、0.5mM EDTA、pH7.4），手术台中用内刃式电动匀浆器迅速制备匀浆。匀浆液4℃，3,000rpm离心10分钟，取上清液进行各项指标的测定。

5. 各项指标的测定

（1）SOD活性测定按亚硝酸盐形成法[9]；GSH-Px活性测定按夏奕明[10]法；CAT活性测定按速率法[11]。结果均以u/mg蛋白表示。

（2）GSH含量测定按McMurtry[12]法；LPO含量测定按Ohkawa[13]法。结果分别以nmol GSH/mg蛋白和nmolMDA/mg蛋白表示。

（3）蛋白定量按改良Lowry[14]法，以牛血清白蛋白为标准。

6. 主要试剂

黄嘌呤氧化酶(Sigma公司)；5,5′—二硫代双（—二硝基苯甲酸）（TDNB）、硫代巴比妥酸（TBA）(均为Fluka公司)；黄嘌呤（AR，上海东海制药厂）；还原型谷胱甘肽(GSH)，N-2—羟乙基哌嗪N-2-乙磺酸（HEPES)(均为生化试剂，上海生物化学研究所)；其余试剂均为国产分析纯试剂。

7. 主要测试仪器

岛津UV-265型紫外分光光度计；岛津RF-540型荧光分光光度计；岛津AEL-200型电子分析天平；湘西牌GL-20A型冷冻离心机；浙西牌内切式电动匀浆器。

8. 数据统计处理

方差分析（F检验)后进行各组间两两比较(Duncan's法)。

结　果

结果见表

表　蛤蚧对大鼠小肠自由基代谢的影响($\bar{X}\pm SD$)

	SOD (u/mg蛋白)	GSH-Px (u/mg蛋白)	CAT (u/mg蛋白)	GSH (nmolGSH/mg蛋白)	LPO (nmolMDA/mg蛋白)
对照组 (n)	10.3±3.06 (9)	12.77±5.86 (9)	4.90±1.58 (8)	23.43±8.61 (9)	1.83±0.13 (9)
体Ⅰ组 (n)	11.18±3.26 (9)	29.33±9.06* (9)	6.93±2.39 (9)	40.51±7.77** (9)	1.62±0.62 (9)
体Ⅱ组 (n)	18.07±4.08**▲▲ (8)	50.54±20.21**▲▲ (8)	14.32±3.93**▲▲ (8)	26.34±12.45 (8)	0.78±0.08**▲▲ (8)
尾　组 (n)	18.80±5.79**▲▲ (9)	39.21±11.28** (9)	4.29±2.79 (8)	35.51±7.71* (9)	0.94±0.25**▲▲ (9)

注：**—与对照组比较$P<0.01$
*—与对照组比较$P<0.05$
▲▲—与体Ⅰ组比较$P<0.01$
■■—与尾组比较$P<0.01$

1. SOD活性的变化

用药组的SOD活性均高于对照组，其中体Ⅱ组和尾组较对照组均有极显著增强（$P<0.01$）。体Ⅱ组和尾组与体Ⅰ组比较亦均有显著增强($P<0.01$)。

2. GSH-Px活性的变化

用药组的GSH-Px活性均较对照组显著增强(其中体Ⅰ组$P<0.05$；体Ⅱ组和尾

维普资讯 http://www.cqvip.com

组$P<0.01$)。体Ⅱ组较Ⅰ组亦有显著增强($P<0.01$)。

3. CAT活性的变化

除尾组CAT活性稍低于对照组外，体Ⅰ组和体Ⅱ组的CAT活性均高于对照组，但体Ⅰ组无统计学意义($P>0.05$)，唯体Ⅱ组较其余三组均有显著增强(均$P<0.01$)。

4. GSH含量的变化

用药组的GSH含量均高于对照组。体Ⅰ组GSH含量增高最多，与对照组比较有显著增高($P<0.01$)；尾组次之($P<0.05$)；体Ⅱ组变化最少，与对照组比较无统计学意义($P>0.05$)。

5. LPO含量的变化

用药组LPO含量均低于对照组（其中体Ⅱ组和尾组$P<0.01$)，体Ⅰ组较对照组无统计学意义($P>0.05$)，体Ⅱ组和尾组较体Ⅰ组亦有显著降低(均$P<0.01$)。

讨　论

随增龄，胃肠道的消化、吸收、运动和分泌功能明显下降，形态也有一定的变化。由于在早期不同器官和细胞功能衰退的累积性作用，整体的机能随年龄的增加而加速了衰退，对疾病的易感性增加。因此衰老本身就是胃肠疾患的危险因素[1]。

我们的研究表明蛤蚧提取液对衰老前期大鼠小肠的自由基代谢的改善有着积极的意义。除尾组CAT活性较对照组稍低外(可能与例数少有关)，其余各用药组的SOD、GSH-Px和CAT活性及GSH含量均较对照组明显增强，LPO含量也较对照组明显降低。从表中看出小肠LPO含量的降低与清除自由基、过氧化氢的酶活性和非酶物质(GSH)水平的增高呈反比。说明LPO为氧自由基及H_2O_2等的氧化产物，SOD、GSH-Px和CAT活性增高清除了氧自由基及H_2O_2，则脂质过氧化物生成减少。从而有力地表明蛤蚧的抗衰老功效与改善自由基代谢有关。又GSH与GSH-Px在用药组均增高的前提下，GSH-Px活性明显增高的体Ⅱ组，其GSH含量却增高不明显，而体Ⅰ组GSH-Px活性增高不明显，其GSH含量增高最多，此可能与GSH为GSH-Px底物之一有关，GSH-Px活性高则消耗GSH也多。

我们的研究还表明，在同样的用药时间内，尾部提取液清除自由基的功效略大于体部，此结论支持蛤蚧尾部功效大于体部的观点[6,7]。但若延长体部提取物的用药时间，清除自由基的功效较尾部(不延长用药时间)有所增强，说明用药时间长短是重要的。

参 考 文 献

[1] Levitan R. Geriatrics 1989; 44(9):53

[2] 许凤芝，等. 《自由基第二届全国会议论文汇编》1989；150

[3] Svingen B.A, et al. Photochem Photobiol 1978; 28:803

[4] 简裁. 日本药理学杂志 1959; 55(3):83

[5] 三轮卓. 日本药理学杂志 1960; 56(3):96

[6] 覃俊佳，等. 广西中医药 1983; (2):37

[7] 范玉林，等. 中成药 1989; 11(1):35

[8] 姜达衢，等. 药学通报 1981; 16(3):54

[9] Eistner EF. Anal Biochem 1976; 70:616

[10] 夏奕明，等. 卫生研究 1987; 16(4):29

[11] 蒋传葵，等. 《工具酶的活力测定》上海科技出版社 1982; P36

[12] McMurtry, RJ, et al. Toxicol and Appl Pharm, 1978; 46:87

[13] Ohkawa, H. et al. J. Lipid, Res. 1978; 19:1053

[14] Lowry. OH, et al. J. Biol Chem. 1951; 193:265

(收稿日期：1991—10—15)