

- (9) 刘煜德, 王嵩, 吴伟, 等. 多重危险因素致小鼠动脉粥样硬化协同作用[J]. 中国公共卫生 2011 27(9): 1145-1147.
- (10) 刘煜德, 王嵩, 吴伟, 等. 高脂饮食及 CPn 感染致动脉硬化协同作用[J]. 中国公共卫生 2009 25(1): 44-46.
- (11) Kim H, Lee MJ, Kim JE, et al. Genistein suppresses tumor necrosis factor-alpha induced proliferation via the apoptotic signaling pathway in human aortic smooth muscle cells[J]. J Agric Food Chem, 2010 58(3): 2015-2019.
- (12) Maeda T, Wakisaka S. CTRP3/cartducin is induced by transforming growth factor-beta1 and promotes vascular smooth muscle cell proliferation[J]. Cell Biol Int 2010 34(3): 261-266.

收稿日期: 2011-09-16

(王奕编辑 范会清校对)

【实验研究】

蒺藜皂苷对衰老小鼠睾丸生精功能影响*

朱辛为, 田洪艳, 李质馨, 徐冶, 潘晓燕, 刘忠平, 林冬静

摘要:目的 探讨蒺藜皂苷对 D-半乳糖所致衰老小鼠睾丸生精功能影响, 为临床延缓衰老研究奠定实验基础。方法 健康昆明种小鼠 40 只, 随机分为对照组、衰老模型组、蒺藜皂苷组和维生素 E 组, 每组 10 只。经颈背部皮下注射 5% D-半乳糖, 连续 6 周, 建立小鼠亚急性衰老模型。蒺藜皂苷和维生素 E 组分别灌胃给予蒺藜皂苷和维生素 E, 对照组和衰老模型组给予等体积纯净水。检测全血中过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力; 附睾精子密度、精子活率和活精子百分率。结果 蒺藜皂苷组小鼠全血 CAT 及 GSH-Px 活力分别为(24.28 ± 1.53) U/mgHb 和(205.65 ± 10.94) 酶活力单位, 明显高于衰老模型组小鼠(P < 0.01)。蒺藜皂苷组小鼠附睾精子密度、精子活率和活精子百分率分别为(6.34 ± 0.24) × 10⁵ 个/mL、(73.28 ± 1.60)% 和(76.61 ± 2.19)% , 与衰老模型组比较, 明显提高, 差异有统计学意义(P < 0.01)。结论 蒺藜皂苷可通过抗氧化作用改善衰老小鼠生精功能。

关键词: 蒺藜皂苷; 衰老; 小鼠; 生精功能

中图分类号: R 321.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)05-0636-02

Effects of caltrop saponin on spermatogenic function of testis in aging mice ZHU Xin-wei, TIAN Hong-yan, LI Zhi-xin, et al. Department of Histology and Embryology, Jilin Medical College (Jilin 132013, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of caltrop saponin on spermatogenic function of testis in D-galactose-induced aging mice and to provide experimental basis for anti-aging research. **Methods** Forty healthy Kunming mice were randomly divided into four groups (control group, model group, caltrop saponin group, and vitamin E [VE] group), ten for each group. D-galactose of 5% was employed by cervical subcutaneous injection to build subacute aging model. Treated groups were intragastrically administered with caltrop saponin and VE. The control and model group were given equal volume of pure water. After six weeks, the catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities of whole blood were detected. Sperm density, sperm motility, and percentage of live sperm were detected as well. **Results** In the caltrop saponin group, the activities of CAT (24.28 ± 1.53 U/mgHb) and GSH-Px (205.65 ± 10.94 U) were obviously higher than those in the model group (P < 0.01). Compared with the model group, density (6.34 ± 0.24 × 10⁵/mL) and motility of sperm (73.28 ± 1.60%), percentage of live sperm (76.61 ± 2.19%) were increased obviously in the caltrop saponin group, with significant differences between the two groups (P < 0.01 for all). **Conclusion** Caltrop saponin can improve spermatogenic function in aging mice by anti-oxidation.

Key words: caltrop saponin; aging; mice; spermatogenic function

人类的衰老与性腺结构和功能退化密切相关⁽¹⁻²⁾。随着衰老, 睾丸结构和功能出现不同程度退化, 生精功能减弱、精子活力下降、血清睾酮水平降低⁽³⁾, 进而导致机体整体水平衰退。氧化应激的增加与衰老息息相关, 而抗衰老药物可以拮抗氧化应激对人体的氧化损伤, 提高生命质量, 改善人类体质, 并能在生理限度内有效延长机体寿命, 抑制和延缓机体衰老进程⁽⁴⁻⁵⁾。蒺藜皂苷是从中药蒺藜中提取分离的有效成分, 能够通过多种途径实现抗衰老功效, 其抗衰老机理涉及自由基清除、增加免疫功能、促进损伤细胞修复和增强神经调节

等, 在抗衰老方面具有独特优势。本实验采用 D-半乳糖衰老小鼠模型, 通过观察蒺藜皂苷对机体抗氧化酶活性及精子活力影响, 探讨蒺藜皂苷在对抗睾丸衰老过程中的作用机制及其意义。

1 材料与与方法

1.1 实验动物及分组 清洁级健康雄性昆明种小鼠(吉林大学动物实验中心) 40 只, 体重(20 ± 2) g, 许可证号: SCXK-(吉)2008-0005。随机分为对照组、衰老模型组、蒺藜皂苷组和维生素 E 组(阳性对照), 每组 10 只, 分笼饲养, 饲养温度为 18℃ ~ 22℃, 相对湿度 45% ~ 55%, 规律光照, 自由饮食, 适应性饲养 1 周后开始实验。

1.2 主要试剂及仪器 蒺藜皂苷(陕西森弗生物技术有限公司), 用前以纯净水配成所需浓度; D-半乳糖(上海蓝季科技发展有限公司); 维生素 E(大连天宇奥森制药有限公司); 过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione

* 基金项目: 吉林省教育厅科学技术研究项目资助(2008400; 2009505)

作者单位: 吉林医药学院组织学与胚胎学教研室, 吉林 吉林 132013

作者简介: 朱辛为(1959-), 女, 吉林人, 副教授, 学士, 主要从事生殖与衰老研究。

通讯作者: 田洪艳, E-mail: thy20080808@yeah.net

peroxidase ,GSH-Px)、考马斯亮兰蛋白测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。TD-SA 型离心机(河南凯达科学仪器有限公司);WFJ-7200 型分光光度计(尤尼可(上海)仪器有限公司)。

1.3 动物模型制备及取材 衰老模型组、蒺藜皂苷组和维生素 E 组小鼠,每日经颈背部皮下注射 5% D-半乳糖 25 mL/kg,建立小鼠亚急性衰老模型;对照组给予等体积生理盐水。同时蒺藜皂苷组每日灌胃给予蒺藜皂苷 600 mg/kg;维生素 E 组每日灌胃给予维生素 E 500 mg/kg;对照组和衰老模型组每日灌胃给予等体积纯净水。连续 6 周,第 7 周取材。小鼠用 10% 水合氯醛 3~4 mL/kg,腹腔注射麻醉,腹主动脉取全血注入肝素钠管中,检测全血中 CAT、GSH-Px 活力;同时取附睾精子,测定精子密度、精子活率及活精子百分率。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 全血 CAT 及 GSH-Px 活力测定 分别取 50 μL、20 μL 全血加蒸馏水至 5 mL 和 1 mL,充分混匀后放置 10 min,配成 1:99 和 1:49 溶血液,用以测定全血 CAT 及 GSH-Px 活力。操作步骤参照试剂盒说明书方法进行。

1.4.2 精子各项指标测定 取双侧附睾,置于盛有 1 mL 生理盐水平皿中,刺破附睾尾,再将平皿置于 37 °C 平板上 5 min 精子自由浮出。精子密度采用血细胞计数板测定法检测,每只小鼠测 2 块板,取其平均值(个/mL);精子活率采用目测评定法检测,用直线前进运动精子数与总精子数的比值表示;活精子百分率采用 1% 刚果红染色法检测,死精子头部着红色,活精子头部不着色,用活精子数与总精子数的比值表示。

1.5 统计分析 应用 SPSS 13.0 统计软件处理,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 蒺藜皂苷对衰老小鼠全血 CAT 及 GSH-Px 活力影响(表 1) 与对照组比较,衰老模型组小鼠全血 CAT 及 GSH-Px 活力降低($t = -14.525, 8.970, P < 0.01$);蒺藜皂苷组和维生素 E 组可明显提高全血 CAT 及 GSH-Px 活力($t = -6.988 \sim -12.097, P < 0.01$),且蒺藜皂苷组较维生素 E 组作用更明显。

表 1 蒺藜皂苷对衰老小鼠全血 CAT 及 GSH-Px 活力影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	CAT(U/mgHb)	GSH-PX(酶活力单位)
对照组	26.15 ± 1.64	213.61 ± 20.43
衰老模型组	17.19 ± 1.05 ^a	150.63 ± 10.33 ^a
蒺藜皂苷组	24.28 ± 1.53 ^b	205.65 ± 10.94 ^b
维生素 E 组	20.59 ± 1.12 ^b	193.85 ± 11.20 ^b

注:与对照组比较, ^a $P < 0.01$;与衰老模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

2.2 蒺藜皂苷对衰老小鼠精子各项指标影响(表 2) 与对照组比较,衰老模型组小鼠精子密度、精子活率和活精子百分率均明显降低($t = -46.816, -36.406, -28.404, P < 0.01$);与衰老模型组小鼠比较,蒺藜皂苷组和维生素 E 组小鼠精子密度、精子活率和活精子百分率明显提高($t = -19.186 \sim -41.340, P < 0.01$),蒺藜皂苷组较维生素 E 组作用更明显。

表 2 蒺藜皂苷对衰老小鼠精子各项指标影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	精子密度($\times 10^5$ 个/mL)	精子活率(%)	活精子百分率(%)
对照组	6.65 ± 0.22	76.51 ± 1.62	80.01 ± 1.65
衰老模型组	2.71 ± 0.14 ^a	38.43 ± 2.88 ^a	52.26 ± 2.65 ^a
蒺藜皂苷组	6.34 ± 0.24 ^b	73.28 ± 1.60 ^b	76.61 ± 2.19 ^b
维生素 E 组	5.79 ± 0.23 ^b	68.16 ± 2.35 ^b	74.25 ± 2.47 ^b

注:与对照组比较, ^a $P < 0.01$;与衰老模型组比较, ^b $P < 0.01$ 。

3 讨论

性腺功能衰退与机体衰老密切相关。性腺萎缩是内分泌系统最明显的衰老变化,其结果是导致免疫机能下降,最终导致机体衰老。衰老的自由基学说认为机体衰老是由于体内氧自由基产生过多和机体抗氧化能力下降引起的^[6-7]。因此研究性腺衰老有助于揭示机体衰老机制。研究表明^[8-10],多种中药具有一定抗氧化作用,能提高血、组织中过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶及超氧化物歧化酶活力,对羟自由基及超氧阴离子自由基等均有较强的清除作用,并能抑制脂质过氧化,减少脂褐素类物质堆积,可有效起到延缓衰老作用。

过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等被认为是消除自由基、抗肿瘤、抗衰老、提高机体免疫力、限制炎症等方面最有价值的物质,可通过对抗自由基对 DNA、蛋白质、脂类等物质的损伤而起到保护细胞膜、延缓细胞衰老进程作用。本研究结果表明蒺藜皂苷可提高衰老小鼠全血 CAT 及 GSH-Px 活力,提高附睾精子密度、精子活率和活精子百分率,提示蒺藜皂苷具有抗 D-半乳糖致衰老小鼠睾丸生精功能低下作用。其作用机制可能与蒺藜皂苷提高机体抗氧化能力、自由基清除、增加免疫功能、促进损伤细胞修复有关。

参考文献

- (1) Kaufman JM, Vermeulen A. The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications [J]. *Endocr Rev* 2005 26(6): 833-876.
- (2) Andersson AM, Jensen TK, Juul A, et al. Secular decline in male testosterone and sex hormone binding globulin serum levels in Danish population surveys [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 2(12): 4696-4705.
- (3) 成之福, 张桂英, 祝英坤, 等. 蒺藜皂苷对 D-半乳糖衰老模型小鼠的作用 [J]. *中国医院药学杂志*, 2007, 27(9): 1228-1230.
- (4) 郭凯华, 高福禄, 牛嗣云, 等. 何首乌饮对衰老雄性大鼠睾丸生精功能的影响 [J]. *承德医学院学报* 2010 27(2): 133-136.
- (5) 牛嗣云, 王小杰, 高福禄, 等. 睾丸生精功能局部调节因素的改变对衰老大鼠生精功能的影响 [J]. *中国老年学杂志* 2009 29(12): 1469-1471.
- (6) 黄瑾, 郑玉建, 王维山, 等. 狗枣猕猴桃根对小鼠抗氧化作用 [J]. *中国公共卫生* 2008 24(1): 75-76.
- (7) 贺娟, 梁惠, 李元海, 等. 兔素对 D-半乳糖诱导衰老小鼠抗氧化作用 [J]. *中国公共卫生* 2009 25(9): 1122-1123.
- (8) 李维祖, 李卫平, 尹艳艳, 黄芪总苷及黄芪甲苷对糖皮质激素诱导衰老大鼠氧自由基代谢的影响 [J]. *中国中药杂志* 2007 32(23): 2539-2542.
- (9) 王玥, 李应东, 黄芪与细胞衰老研究综述 [J]. *医学信息* 2011, 24(4): 2168-2169.
- (10) 刘家兰, 李德清. 竹节人参提取物对衰老模型小鼠的作用 [J]. *湖北民族学院学报: 医学版* 2006 23(1): 8-10.

收稿日期: 2012-01-05

(解学魁编辑 范会清校对)