

抗衰老实验 与基础研究

(上册)

丁克祥 刘卫国 著



原子能出版社

61.7
X

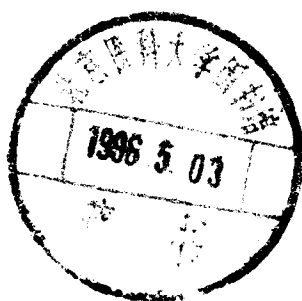
大学图书馆

7-172
DF07/29

抗衰老实验与基础研究

(上册)

丁克祥 著
刘卫国



原子能出版社

R161.7
DKX
V1



(京)新登字 077 号

图书在版编目(CIP)数据

抗衰老实验与基础研究 上册/丁克祥,刘卫国著. -北京:原子能出版社,1995.6

ISBN 7-5022-1351-1

I. 抗… II. ①丁… ②刘… III. 长寿-饮料-饮(中医)-研究 IV. R161.7
中国版本图书馆 CIP 数据核字(95)第 04265 号

内容简介

本书从生物学、生物化学、自由基医学和营养卫生学及抗衰老保健学的角度,比较详细和系统地介绍了抗衰老保健品(丁氏抗衰老果茶,简称 D'S-AAFP)的研制过程、工艺技术、对象方法、研究结果、分析讨论、作用机理及国内有关研究动态和文献资料;重点阐述了 D'S-AAFP 在衰老科学及老年保健的基础医学研究领域的科研成果,对于推动衰老科学研究、保健品研制生产、医药制剂加工和营养卫生学研究及食品工业技术的发展、促进科技成果的应用具有重要意义。

本书可供从事基础医学、临床医学、营养卫生学、食品饮料工业的科研、教学、生产的专业技术人员参考;同时对于从事衰老自由基生物学和医学研究的学者及有关专业院校师生也有一定的参考价值。

©

原子能出版社出版 发行

责任编辑:张书贤

社址:北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码:100037

北京圆丁胶印厂印刷 新华书店经销

开本:787×1092mm 1/16 印张 8.25 字数 205.00 千字

1995 年 6 月北京第一版 1995 年 6 月北京第一次印刷

印数:1—700

定价:13.80 元

前 言

药物补益,延年益寿在我国历史上渊源流长。延年益寿是人类在许多年以前就一直不懈努力追求的美好愿望。现代科学研究证明,大自然赋予人类的正常寿命比人们实际生存的寿命要高得多。如何使人类平均寿命不断延长,健康地达到最高寿命,人们进行了大量的探索和研究工作。

早在几千年以前,人们就对延年益寿十分关注。我国最早的医学经典著作《黄帝内经·素问》就有不少篇幅阐述人类养生健生问题;汉代华佗的《五禽戏》、晋代巢元方的《诸病源候论》、唐代孙思邈的《千金要方》与《千金翼方》、元代朱丹溪的《格致余论》、明代李挺的《保养论》、高廉的《遵生八笺》以及清代汪昂的《勿药元诠》等医书中,都涉及到养生健生的提法,指出了人类的寿限,描述了衰老的过程,分析了衰老的原因,提出了养生的办法。公元前460~377年希腊名医 Hippo Krates,公元二世纪著名医学家 Galenos,还有 DuLaurens, Farady, Hufeland 等医学名家分别提出了衰老的“温热学说”、“油灯学说”,为抗衰老延寿的研究工作奠定了基础。但由于历史条件和当时科学技术水平所限,因此,尚未取得明显的突破和进展。然而,“取其精华,弃其糟粕”仍是我们今后一个时期研究抗衰老延寿的方针。

随着科学技术水平和医疗保健事业的不断发展和进步,人们预测,人类社会将逐步趋于老龄化;这对老年人本身、对家庭、对社会,乃至对整个国家势必带来一系列新的问题。为了适应人口老龄化的发展,目前,许多国家或地区对人口老龄化问题采取一系列相应措施,特别是在维护老年人的身体健康和有效的延缓机体衰老进程等方面做了大量的工作。其中,在探讨海洋生物、植物和传统中医药的延缓衰老作用等方面,取得了一些突破性进展,在抗老延寿的方法学及各项客观指标的检测等领域也有了飞跃发展。

由于老年学和老年医学及保健事业的迅速发展,近几年来,抗衰老延寿、健身延年的保健品及高科技产品如雨后春笋破土而出,且不断传播和繁衍,在维持老年人健康长寿的过程中发挥着越来越重要的作用。然而,如何更加广泛和规范地进行抗衰老保健产品的应用研究,研制出更多科学、实用、新型、有效的抗衰老保健产品,特别是在抗衰老产品的研制过程中,如何更加完善地设计确有价值 and 说服力的各项实验方法和指标及检测数据,也是抗衰老保健产品今后一段时期能够蓬勃发展的重要保证。

《抗衰老实验与基础研究》一书就是在这种形势和前提下产生的。本书通过对作者研制的 D'S-AAFP 的介绍,详细而又明确地阐述了抗衰老产品的研制材料、方法、结果及其作用机制。此书体现了抗衰老产品的研制试验方法及应用特点,突出了成果研制的结果及其意义,贯穿了基础与临床结合,中医和西医结合,整体和离体结合的原则,反映了祖国传统医学与现代高新技术结合的优势,也体现了抗衰老科学在健康保健等方面的应用价值和前景,具有比较鲜明的特点,特别是本书以研究论文的形式出版,不仅有利于有关产品和科技成果的研制、应用单位参考,而且还将有力地促进和推动我国抗衰老保健品的生产和制造,同时,对抗衰老保健产品研制和生产的规范化、系统化、科学化、实用化的逐步形成,提供了坚实的科学依据,奠定了良好的科研基础。

考虑到本书的学术性和实用性,书中罗列了大量的研究数据以及研制和实验方法,并力求做到论文结构严谨、层次分明、论据充分、内容丰富,特别是对于引用的重要参考文献予以注

明,便于读者进行资料追踪和文献检索。本书实际上是一类学术专著,全部内容都是经过大量科学实验得出的科学结论。在整个研究和实验过程中,曾得到许多友好单位、兄弟部门和本单位研究人员以及有关专家、教授、学者们的大力支持、帮助和指导,由于篇幅所限,书中不能一一列出姓名,在此致以衷心地感谢和歉意。

在本书编著过程中,还曾得到海军抗衰老研究中心全体领导和同志们的帮助和支持,在此,也一并致以衷心感谢。

由于科研经费有限,课题设计中的有些实验和研究工作尚没有全部完成,因此,本书内容是一部分研究成果,其余部分研究成果将作为本书下册出版。同时,由于编著者专业所限,学术水平不足,加上编著时间仓促,缺点错误在所难免,殷切希望广大读者批评指正。

中国人民解放军421医院 副院长 丁克祥
中国人民解放军海军抗衰老研究中心 主任

1995年1月于广州

目 录

D'S-AAFP 对昆明种小白鼠耐缺氧影响的实验研究	(1)
D'S-AAFP 对小白鼠抗高温及耐寒冷应激性影响的研究	(8)
D'S-AAFP 对昆明种小白鼠持续游泳耐疲劳实验的研究	(18)
D'S-AAFP 对小白鼠在恶劣环境中生存时间的影响	(23)
D'S-AAFP 对昆明种小白鼠生存期影响的实验研究	(31)
D'S-AAFP 对红细胞膜寿命和稳定性影响的实验研究	(38)
D'S-AAFP 对果蝇平均寿命影响的实验研究	(45)
D'S-AAFP 对小鼠淋巴细胞体外存活率及免疫功能影响的实验研究	(52)
D'S-AAFP 对血浆和组织中脂质过氧化物含量影响的实验研究	(57)
D'S-AAFP 对体外超氧阴离子自由基和羟自由基清除作用的研究	(65)
D'S-AAFP 对全血和组织中超氧化物歧化酶活性的影响及其实验研究	(73)
D'S-AAFP 中三大营养素的分析测定	(82)
D'S-AAFP 中宏量和微量元素的分析测定	(90)
D'S-AAFP 中常见维生素含量的分析测定	(100)
D'S-AAFP 中游离氨基酸的分析测定	(109)
D'S-AAFP 中砷铅汞的含量及其分析测定	(117)
D'S-AAFP 的卫生学细菌检验	(123)

D'S-AAFP 对昆明种小白鼠耐缺氧影响的实验研究

摘要:本研究按照抗衰老药物筛选程序中动物耐缺氧试验方法,对试验组、对照组和安慰组昆明种小白鼠在缺氧状态下存活时间进行了系统的实验研究,证实了丁氏抗衰老果茶具有提高试验组受试动物耐缺氧的功能。研究结果表明,3~4月龄小白鼠10只灌胃丁氏抗衰老果茶(试验组)30天,每天每只小白鼠灌胃剂量为0.5g,其耐缺氧存活时间之和为404.0 min,分别较对照组和安慰组10只小白鼠耐缺氧存活时间之和358.6 min和343.8 min延长45.4 min和60.2 min,经配对资料 t 检验,差别均有非常显著性意义($P < 0.01$);而灌胃SZ-果茶的对照组和灌胃10%白糖水溶液的安慰组小白鼠缺氧存活时间比较变化不大,对照组10只小白鼠缺氧存活时间之和为358.6 min,虽较安慰组343.8 min延长14.8 min,但统计学处理,差别却无显著性意义($P > 0.05$)。同时,灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组,包括整体、雌性、雄性小白鼠耐缺氧平均存活时间较安慰组相对应的各组分别延长6.0 min、4.5 min和7.6 min,存活时间延长率分别为17.4%、12.4%和23.4%。除此之外,本研究还对试验组、对照组和安慰组三个受试组的同一受试动物不同性别小白鼠缺氧存活时间进行配对 t 检验,结果除安慰组外,差别均无显著性意义($P > 0.05$),表明同一受试组雌性和雄性小白鼠对缺氧刺激的耐受性和敏感性基本一致,且无明显的性别差异。所有这些结果说明,丁氏抗衰老果茶,无论是对雌性,还是对雄性小白鼠的耐缺氧存活时间均有积极作用,提示该产品具有明显的抗衰老效果。

关键词:耐缺氧 存活时间 存活时间延长率

丁氏抗衰老果茶(Ding's Antiaging Fruit Pulps,简称为D'S-AAFP)是根据近代营养学和生物学及生物医学的理论,参考并结合衰老的自由基学说和免疫功能下降学说,把加强机体清除自由基系统的作用,提高机体免疫功能和抗衰老酶活性、降低脂质过氧化反应作为延缓衰老的重要环节,通过大量基础医学和临床医学的研究,针对性地优选并提炼出纯天然的D'S抗衰老母液并把这种母液与新鲜山楂、胡萝卜等成分制成的SZ-果茶进行科学配制,使其既保持了SZ-果茶的色、香、味及口感,又加强和改善了其营养调理及保健作用,充分显示了其明显的抗衰老效果。为了进一步说明和验证丁氏抗衰老果茶的抗衰老效果,我们在对昆明种小白鼠进行持续游泳耐疲劳试验的基础上,进行了小白鼠耐缺氧试验,取得了有价值的科学结论。现将试验情况报告如下:

材料和方法

一、材料

(一)试验动物

昆明种小白鼠30只,雌雄各半,体重24~28g,3~4月龄,由同济医科大学动物实验中心提供。

(二)受试样品

1. 丁氏抗衰老果茶:将SZ-果茶中加入一定比例的D'S抗衰老母液,按照新工艺制成丁氏抗衰老果茶,该产品由河北抗衰老珍品开发公司提供。

2. SZ-果茶:新鲜原料(山楂、胡萝卜等)先经过筛选,清洗并去掉不用或不可食部分,然后,按照改进后果茶新工艺流程制备出SZ-果茶。该产品中不加入D'S抗衰老母液,产品由河北抗

衰老珍品开发公司提供。

3. 10% (W/V) 白糖水溶液: 实验室新鲜配制。

(三) 试验用器材

1. 容积 250ml 的无色透明磨口瓶: 武汉医用玻璃厂制。

2. 医用钠石灰: 其吸湿度 $< 7.5\%$, 干燥失重 $10\% \sim 15\%$; 二氧化碳吸引力 $< 19\%$; 试剂批号: 910303, 由上海五四化学试剂厂提供。

3. 秒表: 上海秒表厂制。

4. 电子定时钟: 北京环保研究所提供。

二、方法

(一) 实验动物的选择

选作实验的动物, 根据老化研究时实验动物选择的规定, 严格进行筛选。选择前, 先进行环境适应三天, 再进行三天检疫观察, 证明选作实验的动物健康、活泼, 食欲好、大小便正常, 生理孔周清洁而无异常分泌物。

(二) 饲养条件

选作实验的动物, 其饲养条件: 室温为 $20 \sim 30^{\circ}\text{C}$; 湿度为 $50 \pm 5\%$; 且雌雄分笼饲养, 面积为 $20 \times 30\text{cm}$, 每笼饲养 5 只小鼠。

(三) 饲养基础饲料

在老化动物的实验研究中, 实验动物的基础饲料配制有严格规定, 本实验用的基础饲料按以下比例配制: 玉米粉 20%、小米粉 20%、机米粉 24%、麦麸 5%、鱼粉 8%、黄豆粉 5.5%、蛋黄粉 3%、绿豆粉 5%、酵母粉 2%、小米 0.5%、鱼肝油 2%、麻油 3%、骨粉 1%、食盐 1%, 此外, 不断供给清洁的饮水。本实验动物基础饲料由同济医科大学动物实验中心提供。

(四) 分组及服用方法

将符合老化动物实验要求的 30 只昆明种小白鼠按完全随机分配法(即随机将雌雄动物分成两群, 每群再按一定顺序编号, 然后采用随机数字表将动物分配到各受试组中去)分为三组:

1. 试验组: 昆明种小白鼠 10 只雌雄各 50%, 每天除按正常标准饲料加水饲养外, 再将该组小白鼠按每天每只小鼠 0.5g 试验剂量分两次灌胃丁氏抗衰老果茶, 连续 30 天。

2. 对照组: 昆明种小白鼠 10 只, 雌雄各 50%。每天除按正常标准饲料加水饲养外, 再将该组小白鼠按每天每只小鼠 0.5g 对照剂量分两次灌胃 SZ-果茶连续 30 天。

3. 安慰组: 昆明种小白鼠 10 只, 雌雄各 50%。每天除按正常标准饲料加水饲养外, 再将该组小白鼠按每天每只小鼠 0.5g 安慰剂量分两次灌胃 10% 白糖水溶液, 连续 30 天。

上述三组受试动物, 除采用不同受试制剂外, 其余一切条件, 包括正常饲料和水的供给量, 饲养温度、湿度及其它环境因素等均完全相同, 以减少和避免各种非实验性因素干扰试验。

(五) 试验及观察方法^[1]

1. 试验方法

分别将试验组、对照组、安慰组小白鼠以最后一次给药后 24h(即试验第 31 天)开始进行试验, 具体试验方法如下: (1) 取 15 只 250ml 无色透明磨口瓶, 分别加入 5g 医用钠石灰, 其中 5 只为试验组用, 5 只为对照组用, 5 只为安慰组用, 并分别按顺序贴上瓶签以示区别; (2) 将三个受试组小白鼠分别按序号置于盛有 5g 钠石灰的磨口瓶中; (3) 迅速加盖密闭, 并同时按放置先后顺序逐一记录试验开始时间; (4) 仔细观察磨口瓶缺氧状态下受试小白鼠的情况。

2. 观察方法

观察小白鼠在缺氧状态下所表现出的各种现象,记录封口至小鼠窒息死亡的时间,即为小白鼠缺氧存活时间。根据小白鼠缺氧存活时间,分别计算出三个受试组小白鼠的缺氧总体存活时间、平均存活时间、平均存活延长时间和存活时间延长率。

3. 计算方法

(1)缺氧总体存活时间(min)=各受试组小白鼠缺氧存活时间之和

(2)缺氧平均存活时间(min/只)= $\frac{\text{各受试组缺氧总体存活时间}(\text{min})}{\text{各受试组动物数量}(\text{只})}$

(3)平均存活延长时间(min)=试验组(或对照组)平均存活时间-安慰组平均存活时间

(4)存活时间延长率(%)= $\frac{\text{试验组(或对照组)平均存活延长时间}}{\text{安慰组平均存活时间}} \times 100\%$

(六)数据处理与统计方法:^[2]

采用统计学中配对资料的显著性 t 检验方法,用 CASIO(10-DIGIT) SCIENTIFIC CALCULATOR,fx-570 计算器进行计算。

结果与分析

一、灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组小白鼠与灌胃 SZ-果茶的对照组小白鼠耐缺氧试验的配对资料统计及其比较(见表 1、表 2)

由表 1、表 2 结果可知,灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组和灌胃 SZ-果茶的对照组小白鼠在缺氧存活时间上有明显差异。试验组 10 只小白鼠缺氧存活时间之和为 404.0 min,较对照组 10 只小白鼠缺氧存活时间之和 358.6 min 延长 45.4 min,统计处理,差别有非常显著性意义($P < 0.01$);试验组雌性小白鼠和对照组雌性小白鼠以及试验组雄性小白鼠和对照组雄性小白鼠分别采用配对 t 检验,差别也均有非常显著性意义($P < 0.01$)。其中,试验组 5 只雌性和雄性小白鼠缺氧存活时间之和分别为 203.6 min 和 200.4 min,较对照组 5 只雌性和雄性小白鼠缺氧存活时间之和 181.1 min 和 177.5 min 分别延长 22.5 min 和 22.9 min。这些结果表明,昆明种小白鼠灌胃丁氏抗衰老果茶后,其小白鼠缺氧状态下的存活时间较灌胃同样剂量的 SZ-果茶的小白鼠明显延长,且雌性和雄性小白鼠亦表现出完全一致的规律。

表 1 试验组与对照组小白鼠耐缺氧试验数据统计

小白鼠 对别	性别	缺氧存活时间(min)		差数 $\bar{d}$	$\bar{d}^2$
		试验组	对照组		
1	雌	45.0	39.1	5.9	34.81
2	雌	42.1	38.1	4.0	16.0
3	雌	40.3	36.2	4.1	16.81
4	雌	39.9	34.3	5.6	31.36
5	雌	36.3	33.4	2.9	8.41
6	雄	45.3	40.8	4.5	20.25
7	雄	43.3	38.4	4.9	24.01
8	雄	39.5	35.0	4.5	20.25
9	雄	37.0	32.7	4.3	18.49
10	雄	35.3	30.6	4.7	22.09
Σ		404.0	358.6	45.4	212.48

表 2 试验组与对照组及其雌雄小白鼠缺氧存活时间的配对资料比较结果

分组	对子数 n	缺氧存活时间(min) $\bar{d} \pm Sd^*$	t	P
雌性组	5	4.50 $\pm$ 1.239	8.121	<0.01
雄性组	5	4.58 $\pm$ 0.228	44.918	<0.01
合并组	10	4.54 $\pm$ 0.841	17.071	<0.01

* $\bar{d} \pm Sd$ 分别代表两数差数均值 $\pm$ 标准差,余表类同。

二、灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组小白鼠与灌胃 10% 白糖水溶液的安慰剂组小白鼠耐缺氧试验的配对资料统计及其比较(见表 3、表 4)

表 3 试验组与安慰组小白鼠耐缺氧试验数据统计

小白鼠 对别	性别	缺氧存活时间(min)		差数 $\bar{d}$	$\bar{d}^2$
		试验组	安慰组		
1	雌	45.0	40.5	4.5	20.25
2	雌	42.1	38.5	3.6	12.96
3	雌	40.3	34.5	5.8	33.64
4	雌	39.9	34.2	5.7	32.49
5	雌	36.3	33.5	2.8	7.84
6	雄	45.3	34.5	10.8	116.64
7	雄	43.3	34.0	9.3	86.49
8	雄	39.5	33.3	6.2	38.44
9	雄	37.0	33.3	3.7	13.69
10	雄	35.3	27.5	7.8	60.64
Σ		404.0	343.8	60.2	423.28

表 4 试验组与安慰组小白鼠及其雌雄小白鼠缺氧存活时间的配对资料比较结果

分组	对子数 n	缺氧存活时间(min) $\bar{d} \pm Sd$	t	P
雌性组	5	4.48 $\pm$ 1.307	7.665	<0.01
雄性组	5	7.56 $\pm$ 2.754	6.138	<0.01
合并组	10	6.02 $\pm$ 2.601	7.319	<0.001

由表 3、4 结果可知,灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组和灌胃 10% 白糖水溶液的安慰组小白鼠缺氧存活时间差异更加明显。试验组 10 只小白鼠缺氧存活时间之和为 404.0 min,分别较安慰组 10 只小白鼠缺氧存活时间之和 343.8 min 延长 60.2 min,统计学处理,差别有非常显著性意义($P < 0.01$);试验组雌性小白鼠和安慰组雌性小白鼠以及试验组雄性小白鼠和安慰组雄性小白鼠分别采用配对 t 检验,差别也均有非常显著性意义($P < 0.01$)。其中,试验组 5 只雌性和雄性小白鼠缺氧存活时间之和分别为 203.6 min 和 200.4 min,较安慰组 5 只雌性和雄

性小白鼠缺氧存活时间之和 181.2 min 和 162.6 min 分别延长 22.4 min 和 37.8 min。这些结果表明,昆明种小白鼠灌胃丁氏抗衰老果茶后,其在缺氧状态下的存活时间较灌胃同样剂量时 10% 白糖水溶液的小白鼠明显延长,而且,雄性组较雌性组表现得更加明显。

三、灌胃 SZ-果茶的对照小白鼠与灌胃 10% 白糖水溶液的安慰组小白鼠耐缺氧试验的配对资料统计及其比较(见表 5、6)

表 5 对照组与安慰组小白鼠缺氧试验数统计

小白鼠 对别	性别	缺氧存活时间(min)		差数	$\bar{d}^2$
		对照组	安慰组	$\bar{d}$	
1	雌	39.1	40.5	-1.4	1.96
2	雌	38.1	38.5	-0.4	0.16
3	雌	36.2	34.5	1.7	2.89
4	雌	34.3	34.2	0.1	0.01
5	雌	33.4	33.5	-0.1	0.01
6	雄	40.8	34.5	6.3	39.69
7	雄	38.4	34.0	4.4	19.36
8	雄	35.0	33.3	-0.6	0.36
9	雄	32.7	33.3	-0.6	0.36
10	雄	30.6	27.5	3.1	9.61
Σ		358.6	343.8	14.8	76.94

表 6 对照组与安慰组及其雌性雄性小白鼠缺氧存活时间的配对资料比较结果

分组	对子数	缺氧存活时间(min)	t	P
	n	$\bar{d} \pm Sd$		
雌性组	5	-0.02 $\pm$ 1.121	0.040	>0.05
雄性组	5	2.98 $\pm$ 2.622	2.541	>0.05
合并组	10	1.48 $\pm$ 2.473	1.893	>0.05

由表 5、表 6 结果可知,灌胃 SZ-果茶的对照组和灌胃 10% 白糖水溶液的安慰组小白鼠缺氧存活时间比较,其数值上变化不大。对照组 10 只小白鼠缺氧存活时间之和为 358.6 min,虽较安慰组 10 只小白鼠缺氧存活时间之和 343.8 min 延长 14.8 min,但统计学处理,差别无显著性意义($P > 0.05$);对照组 5 只雌性小白鼠缺氧存活时间之和为 181.1 min,较安慰组 5 只雌性小白鼠缺氧存活时间之和 181.2 少 0.1 min,其缺氧存活时间表现出基本一致的规律;而对照组 5 只雄性小白鼠缺氧存活时间之和为 177.5 min,却较安慰组 5 只雄性小白鼠存活时间之和 162.6 min 延长 14.9 min,但分别进行统计学处理,差别均无显著性意义($P > 0.05$)。表明单纯授予 SZ-果茶对提高小白鼠缺氧存活时间无明显作用。

四、试验组、对照组和安慰组三个受试组的同一组受试动物不同性别小白鼠缺氧存活时间的配对资料比较结果(见表 7)

由表 7 结果可知,试验组、对照组和安慰组三个受试组的同一受试动物不同性别小白鼠缺氧存活时间的配对 t 检验,除安慰组外,差别均无显著性意义($P > 0.05$)。表明同一受试组雌

性和雄性小白鼠对缺氧的耐受性和敏感性基本一致,且无性别差异。安慰组小白鼠,其对缺氧的敏感性雄性高于雌性,其原因有待于进一步探讨。

表 7 试验组、对照组和安慰组同一受试组动物不同性别
小白鼠缺氧存活时间的配对资料比较结果

分组	对子数 <i>n</i>	缺氧存活时间(min) $\bar{d} \pm Sd$	<i>t</i>	<i>P</i>
试验组	5	0.64±1.544	0.927	>0.05
对照组	5	0.72±1.748	1.303	>0.05
安慰组	5	3.72±2.515	3.307	<0.05

五、灌胃丁氏抗衰老果茶、SZ-果茶和 10%白糖水溶液后分别对小白鼠缺氧存活时间及缺氧存活延长时间的影响(见表 8)

表 8 三种受试制剂对小白鼠缺氧存活时间及缺氧存活延长时间的统计结果

分组		总体存活 时间(min)	平均存活 时间(min)	平均存活延长 时间(min)	存活时间 延长率(%)
试 验 组	雌性	203.6	40.7	4.5	12.4
	雄性	200.4	40.1	7.6	23.4
	合计	404.0	40.4	6.0	17.4
对 照 组	雌性	181.1	36.2	0	0
	雄性	177.5	35.5	3.0	9.2
	合计	358.6	35.9	1.5	4.4
安 慰 组	雌性	181.2	36.2	-	-
	雄性	162.6	32.5	-	-
	合计	343.8	34.4	-	-

由表 8 结果可知,灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组小白鼠,无论是雌性,还是雄性,或者雌雄兼有的总体结果,其缺氧功能均有明显改善和提高,表现为平均存活时间、平均存活延长时间和存活延长率均有显著增强。经表 8 结果计算,试验组,包括整体、雌性、雄性小白鼠耐缺氧平均存活时间较安慰组相对应的各组分别延长 6.0 min、4.5 min、7.6 min,存活时间延长率分别为 17.4%、12.4%、23.4%。而对照组,包括整体、雌性、雄性小白鼠耐缺氧平均存活时间较安慰组相对应的各组分别延长 1.5 min、0 min、3.0 min,存活时间延长率分别为 4.4%、0、9.2%。

表 1~8 的结果说明:(1)丁氏抗衰老果茶对提高缺氧动物的存活率有积极作用,并在三个受试组中表现出最佳效果;(2)丁氏抗衰老果茶无论是对雌性,还是雄性小白鼠的耐缺氧存活时间均有明显效果;(3)SZ-果茶在提高受试动物的存活率也有一定效果,特别是该组雄性动物更为明显,但作用效果仍然低于试验组,且与安慰组比较无统计学意义。

讨 论

老化的特征与变化是探索衰老发生机制、研究老年性疾病防治方法的重要途径之一。机体

在衰老过程中可发生一系列变化,呼吸与循环系统的变化,是机体老化的重要特征。有报道认为^[3],老年人不仅肺活量和肺容量以及肺动脉血氧分压均随增龄而下降,而且肺和血管壁的结构也发生明显改变,这些生理性变化,可导致呼吸粘膜扩散量减少,氧利用系数降低。还有报道认为,成年以后心搏出量随增龄呈直线下降,65岁的老年人与25岁的青年人相比,其心搏出量约减少40%;心脏的潜在力量70岁时只相当于40岁时的50%;而且血管弹性储备功能下降,机体大、小循环的适应性也随之下下降;同时,机体增龄过程中,毛细血管也有明显的变化,主要表现为单位面积内有功能的毛细血管数量减少,血流减慢,管壁弹性降低,脆性增加。新近的研究也表明,增龄引起毛细血管基底膜增厚,外膜原纤维胶原化,孔径缩小,所有这些变化,使毛细血管代谢率下降,加快了衰老的进程,因此,呼吸和循环系统的变化,是衰老的原因之一。

本研究结果表明,灌胃丁氏抗衰老果茶能够明显提高昆明种小白鼠在缺氧状态下的存活时间和存活率,与对照组和安慰组分别比较,差别均有非常显著性意义($P < 0.01$),与作者不久前报道的丁氏抗衰老酒对小白鼠耐缺氧试验的影响有许多相同之处^[4]。丁氏抗衰老果茶主要由山楂、胡萝卜、蜂王浆、维生素E和D'S抗衰老母液等成分组成,它们对小白鼠耐缺氧功能的改善,可能与其改善心肺功能的作用有关,因为,山楂、胡萝卜、蜂王浆和D'S抗衰老母液均有一定的强心作用^[5],D'S抗衰老母液中的多种生物活性成分,还有保护和维持血管和呼吸系统的正常代谢的功能,同时在降低机体的耗氧量,增强机体储备力,改善机体的自身调节和提高机体在缺氧环境中对缺氧刺激的应激及代偿力等方面均具有积极作用,因而,对机体表现出良好的抗衰老保健效果。

参 考 文 献

- [1] 陈延绪等,保健食品核杞益寿饼的研究,老年学杂志,1989;9(5):280
- [2] 周海钧、申蕴如,生物检定统计方法,第一版,人民卫生出版社,北京,1988,p. 46~52
- [3] 吕维善,皮敦厚,现代老年医学,第一版,湖南科学技术出版社,长沙,1984,p. 27~28
- [4] 丁克祥等,丁氏抗衰老酒对小鼠耐缺氧试验的研究,老年学杂志,1992,12(增刊):32
- [5] 许青缓等,常用老年保健中药,第一版,人民卫生出版社,北京,1986,p. 11~19

D'S-AAFP 对小白鼠抗高温及耐寒冷应激性影响的研究

摘要:本研究根据老化动物应激和代偿能力低下的特点,观察了丁氏抗衰老果茶对昆明种小白鼠在 65℃ 高温和 -10℃ 低温环境中应激能力的调节作用及其对存活时间的影响。研究表明,3~4 月龄,体重 20~24g 的昆明种小白鼠 10 只,经连续 30 天,每天每只小鼠灌胃 0.5g,丁氏抗衰老果茶,其抗高温和耐寒冷的应激能力均有显著改善和提高。抗高温应激试验的结果为:灌胃丁氏抗衰老果茶(试验组)的 10 只小鼠在高温环境中的存活时间之和为 55.44 天,分别较灌胃同样剂量和时间的 SZ-果茶(对照组)和 10% 白糖水溶液(安慰组)10 只小白鼠存活时间之和的 32.66 天和 31.05 天延长 22.78 天和 24.39 天。其中,试验组较对照组,平均每只小鼠延长存活时间 2.28 天,试验组较安慰组,平均每只小鼠延长存活时间 2.44 天,统计学处理,差别均有非常显著性意义($P < 0.01$);耐寒冷应激试验的结果为:试验组 8 只小白鼠在寒冷环境中的存活时间之和为 41.42 天,分别较对照组和安慰组 8 只小白鼠存活时间之和为 19.41 天和 61.91 天延长 22.01 天和 24.51 天,其中,试验组较对照组,平均每只小鼠延长存活时间 2.75 天和 3.06 天,统计学处理,差别均有非常显著性意义($P < 0.01$);三个受试组的同一组受试动物不同性别的小白鼠进行配对比较,抗高温应激试验和耐寒冷应激试验的结果表现出十分类似的规律,即除安慰组雌雄小白鼠存在性别差异($P < 0.05$)外,试验组雌雄性小白鼠和对照组雌性小白鼠比较,差别均无显著性意义($P > 0.05$)。所有这些结果表明,丁氏抗衰老果茶对改善和提高机体对高温和寒冷刺激的反应力、代偿力和应激力均有积极作用。这种应激能力的提高与丁氏抗衰老果茶对机体整体功能的改善有关,通过这种增高的应激力对机体起到良好的抗衰老保健作用,且对雌性动物的敏感性和调节作用表现出基本一致的生物学效应。

关键词:抗高温 耐寒冷 应激试验

丁氏抗衰老果茶(Ding's Antiaging Fruit Pulps)主要由 D'S 抗衰老母液、新鲜山楂、胡萝卜、蜂王浆、维生素 E 等成分组成,是中国传统医学和分子生物学中具有一定代表性的营养滋补和抗衰老保健品。通过抗疲劳、抗常压低氧、抗恶劣环境(噪音、光照、化学气体刺激、潮湿等)应激试验,证实了该产品对提高受试动物在恶劣环境条件下的应激能力,有明显效果。为了进一步证明和观察丁氏抗衰老果茶对机体应激能力的影响,证明丁氏抗衰老果茶对机体各个脏器的保健和抗衰老作用,在上述应激试验的基础上,我们又同时进行了丁氏抗衰老果茶对小白鼠抗高温和耐寒冷的应激性试验,取得了新的进展。现将研究结果报告如下:

材料和方法

一、材料

(一)试验动物

昆明种小白鼠 54 只,雌性 27 只,雄性 27 只,各占全部受试动物的 50%;体重 20~24g,3~4 月龄,由同济医科大学动物实验中心提供。

(二)受试样品

1. 丁氏抗衰老果茶:将 SZ-果茶中加入一定比例的 D'S 抗衰老母液,按照改良后的果茶生产新工艺配制而成。D'S 抗衰老母液与 SZ-果茶之比为 1:110。产品规格为 220ml/瓶,由河北抗衰老珍品开发公司提供。

2. SZ-果茶:选作 SZ-果茶的新鲜原料先经过筛选、清洗,并全部去掉不可食部分,然后,按照改进后的果茶生产新工艺制备而成。该产品除不含 D'S 抗衰老母液外,其余成分均与丁氏抗衰老果茶相同。产品规格为 220ml/瓶,由河北抗衰老珍品开发公司提供。

3. 10%白糖水溶液:实验室新鲜配制。

(三)试验用器材

1. KWY101 型电热干燥箱:内空 $600 \times 500 \times 600 \text{mm}^3$;武汉市武昌实验仪器厂制。

2. SANJIU 冷柜: 2m^3 ;江苏镇江商业制冷设备总厂制。

二、方法

(一)分组及服用方法

将购进的昆明种小白鼠饲养一周,经检疫观察后,挑选符合老化动物实验要求的小白鼠,并按照统计学中完全随机化分配法将 60 只昆明种小白鼠分为三大组。

1. 试验组:小白鼠 18 只,昆明种,雌雄各半,其中 10 只(雌雄各 5 只)用于抗高温应激试验;8 只(雌雄各 4 只)用于耐寒应激试验。该组小白鼠每天除按正常标准饲料加水喂养外,再将该组小白鼠按每天每只小鼠 0.5g 试验剂量分两次灌胃丁氏抗衰老果茶,连续 30 天后投入试验。

2. 对照组:小白鼠 20 只,昆明种,雌雄各半。其中雌性 10 只(雌雄各 5 只)用于抗高温应激试验;8 只(雌雄各 4 只)用于耐寒应激试验。该组小白鼠每天除按正常标准饲料加水喂养外,再将该组小白鼠按每天每只小鼠 0.5g 对照剂量分两次灌胃 SZ-果茶,连续 30 天后投入试验。

3. 安慰组:小白鼠 20 只,昆明种,雌雄各半。其中 10 只(雌雄各 5 只)用于抗高温应激试验;8 只(雌雄各 4 只)用于耐寒应激试验,该组小白鼠除每天按正常标准饲料加水喂养外,再将该组小白鼠按每天每只小鼠 0.5g 的安慰剂量分两次灌胃 10%白糖水溶液,连续 30 天后投入试验。

试验组、对照组、安慰组的小白鼠除分别采用不同受试制剂外,其余一切条件均完全相同。

(二)试验方法

1. 抗高温应激试验方法

分别将灌胃丁氏抗衰老果茶、SZ-果茶和 10%白糖水溶液 30 天后的试验组、对照组和安慰组小白鼠于最末一次灌胃后 24h(即第 31 天时)开始投入试验。试验时,分别将另外用于进行抗高温应激试验的试验组 10 只、对照组 10 只、安慰组 10 只小白鼠放置于 KWY-101 型电热干燥箱中,调节箱内温度至 65°C ,并将此温度恒定直至全部试验结束。试验进行期间,研究人员每天仍然按照正常情况下给予小白鼠足够量的标准饲料和饮水,同时,停止授予小白鼠相应的受试物。

2. 耐寒应激试验方法

分别将灌胃丁氏抗衰老果茶、SZ-果茶和 10%白糖水溶液 30 天后的试验组、对照组和安慰组小白鼠于最末一次灌胃后 24h(即第 31 天时)开始投入试验。试验时,分别将另外用于耐寒应激试验的试验组 8 只、对照组 8 只、安慰组 8 只小白鼠放置于 SANJIU 冷柜中,调节柜内温度至 -10°C ,并将此温度维持恒定,直至该试验全部结束为止。试验进行期间,研究人员每天仍然按照正常情况下给予小白鼠足够的标准饲料和饮水;同时,亦停止授予小白鼠相应的受试物。

(三)观察方法

自受试小白鼠(包括试验组、对照组、安慰组)置于高温(或低温)环境中开始,每天观察 3 次,直至受试动物全部死亡为止。详细记录受试小白鼠在高温(或低温)环境中每天存活和死亡数量。

(四)数据处理方法

按照受试小白鼠的存活天数进行数据处理,并采用统计学中配对资料的显著性 t 检验方法进行比较, $P > 0.05$, 表示差别无显著性意义; $P < 0.05$, 表示差别有显著性意义; $P < 0.01$, 则表示差别有非常显著性意义。

结果与分析

一、耐高温应激试验

(一)灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组小白鼠与灌胃 SZ-果茶的对照组小白鼠在高温环境中存活时间的配对资料统计及其比较结果(见表 1、表 2)

表 1 试验组与对照组小白鼠在高温环境中存活天数的试验数据统计

小白鼠 对别	性 别	动物存活时间(d)		差数 $\bar{d}$	d^2
		试验组	对照组		
1	雌	6.67	4.17	2.5	6.25
2	雌	6.25	3.33	2.92	8.5264
3	雌	5.42	2.58	2.84	8.0656
4	雌	4.46	2.50	1.96	3.8416
5	雌	4.25	2.33	1.92	3.6864
6	雄	6.17	5.75	0.42	0.1764
7	雄	5.83	4.58	1.25	1.5625
8	雄	5.63	2.71	2.92	8.5264
9	雄	5.63	2.63	3.0	9.00
10	雄	5.13	2.08	3.05	9.3025
Σ		55.44	32.66	22.78	58.9378

表 2 试验组与对照组及其雌雄小白鼠存活时间的配对资料比较结果

分 组	对子数 <i>n</i>	动物存活时间(d) $\bar{d} \pm Sd^*$	<i>t</i>	<i>P</i>
雌性组	5	2.43±0.473	11.478	<0.01
雄性组	5	2.13±1.217	3.910	<0.05
合并组	10	2.28±0.885	8.140	<0.01

* $\bar{d} \pm Sd$ 分别代表两数差数的均值±标准差,余表类同。

由表 1、表 2 结果可知,灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组和灌胃 SZ-果茶的对照组小白鼠在高温环境中的存活时间存在明显差异,试验组 10 只小白鼠存活时间之和为 55.44 天,较对照组 10 只小白鼠存活时间之和的 32.66 天延长 22.78 天,平均每只动物存活时间 2.28 天,统计学处理,差别有非常显著性意义($P < 0.01$);试验组 5 只雌性和雄性小白鼠在高温环境中存活时间之和分别为 27.05 天和 28.39 天,较对照组 5 只雌性和雄性小白鼠存活时间之和的

14.91 天和 17.75 天,分别延长 12.14 天和 10.64 天;其中,试验组每只雌性小白鼠平均延长存活时间为 2.43 天,每只雄性小白鼠平均延长存活时间 2.13 天,统计学处理,差别均有显著和非常显著性意义($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。这些结果说明,昆明种小白鼠经灌胃丁氏抗衰老果茶后,无论雌性还是雄性在高温环境中的应激力都有明显提高,比较而言,雌性组变化更加明显。

(二)灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组小白鼠与灌胃 10%白糖水溶液的安慰组小白鼠在高温环境中存活天数的配对资料统计及其比较(见表 3、表 4)

由表 3、表 4 结果可知,灌胃丁氏抗衰老果茶的试验组和灌胃 10%白糖水溶液的安慰组小白鼠在高温环境中的存活时间有着更加明显的差异。试验组 10 只小白鼠存活时间之和 55.44 天,较安慰组 10 只小白鼠的存活时间之和的 31.05 天延长 24.39 天,试验组平均每只小鼠延长存活时间 2.44 天,统计学处理,差别有非常显著性意义($P < 0.01$);试验组 5 只雌性和雄性小白鼠在高温环境中存活时间之和分别为 27.05 天和 28.39 天,较安慰组 5 只雌性和雄性小白鼠存活时间之和的 19.58 天和 11.47 天分别延长 7.47 天和 16.92 天;其中,试验组每只雌性小白鼠平均延长存活时间 1.49 天,每只雄性小白鼠平均延长存活时间 3.38 天,统计学处理,差别均有非常显著性意义($P < 0.01$)。这些结果进一步表明,小鼠经灌胃丁氏抗衰老果茶后,其高温环境中的应激能力确有显著提高。

表 3 试验组与安慰组小白鼠在高温环境中时间天数的试验数据统计

小白鼠 对 别	性 别	动物存活时间(d)		差数 $\bar{d}$	$\bar{d}^2$
		试验组	安慰组		
1	雌	6.67	4.58	2.09	4.3681
2	雌	6.25	4.17	2.08	4.3264
3	雌	5.42	3.75	1.67	2.7889
4	雌	4.46	3.75	0.71	0.5041
5	雌	4.25	3.33	0.92	0.8464
6	雄	6.17	3.75	2.42	5.8564
7	雄	5.83	3.71	2.12	4.4944
8	雄	5.63	2.23	3.40	11.56
9	雄	5.63	1.05	4.58	20.9764
10	雄	5.13	0.73	4.40	19.36
Σ		55.44	31.05	24.39	75.0811

表 4 试验组与安慰组及其雌雄性小白鼠在高温环境中存活时间的配对资料比较结果

分 组	对子数 n	动物存活时间(d) $\bar{d} \pm Sd$	t	P
雌性组	5	1.49±0.647	5.163	<0.01
雄性组	5	3.38±1.117	6.774	<0.01
合并组	10	2.44±1.316	5.861	<0.01