

浮萍水煎液延缓皮肤衰老的实验研究^①

李静¹, 王媚¹, 张晓幸¹, 费世杰^{2②}

(1. 右江民族医学院医学检验学院 2013 级本科生, 广西 百色 533000

E-mail: 1134503627@qq.com;

2. 右江民族医学院临床微生物学与免疫学检验教研室, 广西 百色 533000)

摘 要: **目的** 观察浮萍水煎液对延缓皮肤衰老的作用。**方法** 将 40 只老龄雌性昆明种小鼠随机分成五组: 阳性对照组、空白对照组、浮萍水煎液高中低剂量组(1 g/ml、0.5 g/ml、0.25 g/ml), 各组背部脱毛后外涂给药, 30 d 后, 切取各组小鼠背部皮肤并测其含水率、超氧化物歧化酶(SOD)活力、丙二醛(MDA)含量。**结果** 浮萍水煎液中、低剂量组能显著提高皮肤含水率, 与空白对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 浮萍水煎液中、低剂量组能显著增强小鼠皮肤 SOD 活力、降低 MDA 含量, 与空白对照组相比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 浮萍水煎液具有延缓皮肤衰老的作用。

关键词: 浮萍水煎液; 皮肤衰老; SOD; MDA

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)05-0521-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.05.023

浮萍(Herba spirodelae), 又称水萍、紫萍, 是一种水生植物, 具有一定的药用价值。近年的研究发现, 紫萍提取物具有保护内皮细胞免受氧化损伤和排钠排钾作用^[1-3], 目前尚无关于浮萍延缓衰老方面的研究。《本草纲目》中记载:“浮萍其性轻浮, 入肺经, 达皮肤, 所以能发扬邪汗也”; 《普济方》中称, 浮萍具有去斑的作用。这些记载表明, 浮萍可能具有延缓皮肤衰老的作用。因此, 我们开展浮萍水煎液延缓皮肤衰老的实验研究, 该研究不仅为延缓皮肤衰老的天然药物研究提供了新思路, 还发掘了浮萍的另一药用价值, 具有重要的理论意义, 并为浮萍的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 药品 相宜本草脱毛膏、浮萍水煎液。制备浮萍水煎液: 将适量浮萍浸泡于蒸馏水中 12 h, 武火煮至沸腾, 后用文火煮 25 min, 倒出药液并过滤; 向药渣中加蒸馏水进行第二煎, 武火煮至沸腾, 后用文火煮 25 min, 倒出药液并过滤; 向第二煎的药渣中再加蒸馏水进行第三煎, 武火煮至沸腾, 后用文火煮 25 min, 将药液倒出并过滤、合并三次所得的滤液并浓缩至 1 g/ml, 经生理盐水部分稀释, 设高、中、低三个浓度: 1 g/ml、0.5 g/ml、0.25 g/ml。

1.1.2 动物 昆明种老龄雌性小鼠 40 只, 体重 20~25 g, 由右江民族医学院实验动物中心提供。

1.1.3 试剂和仪器 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供, 酶标仪(RT-6000), 电子分析天平(AR1140/C)由奥豪斯(上海)公司生产。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及给药 取上述小鼠 40 只, 随机分为 5 组, 每组 8 只: 空白对照组、阳性对照组(维生素 E)、高剂量实验组、中剂量实验组、低剂量实验组。实验前用脱毛霜给小鼠背部脱毛, 脱毛皮肤面积 3 cm × 3 cm, 阳性对照组外用维生素 E, 高、中、低剂量实验组分别外用 1 g/ml、0.5 g/ml、0.25 g/ml 的浮萍水煎液, 空白对照组用生理盐水代替, 连续涂敷 30 d。末次给药 2 h 后处死小鼠, 取标本进行各项指标的测定。

1.2.2 小鼠皮肤含水率测定 于实验开始第 31 d 将小鼠颈椎脱臼法处死, 受试皮肤去毛清洁后, 切取 1 cm² 皮肤, 精密称其湿重, 随即将其放入烘箱中, 于 80 °C 烘干 12 h, 称其干重, 计算皮肤含水率。计算公式: 皮肤含水率 = (皮肤湿重 - 皮肤干重) / 皮肤湿重 × 100%。

1.2.3 皮肤匀浆的制备 皮肤组织经脱毛后取 0.6 g, 用预冷生理盐水漂洗, 除去皮下脂肪和其他结缔组织, 用滤纸擦干后称重, 量取该组织块 9 倍重量生理盐水制成 10% 组织匀浆。

1.2.3.1 皮肤 SOD 活性测定 按试剂盒说明书步骤进行操作, 用比色法测定 SOD。

① 基金项目: 2014 年度广西壮族自治区级大学生创新创业训练计划项目(201410599024)

② 通讯作者, E-mail: 10787814@qq.com

1.2.3.2 皮肤 MDA 含量测定 按试剂盒说明书要求测定,用 TBA 法测定 MDA。

1.2.4 统计学方法 实验数据均采用 SPSS 13.0 统计软件处理,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,样本均数两两比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 皮肤含水率测定结果 五个实验组含水百分率单因素方差分析结果为($F = 4.30, P = 0.006$)。浮萍水煎液中、低剂量组能提高皮肤含水率,与空白对照组相比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但浮萍水煎液高剂量组与空白对照组相比差异无统计学意义,提示只有合适浓度的浮萍水煎液才能提高小鼠皮肤含水率,见表 1。

表 1 浮萍水煎液对小鼠皮肤含水率的影响 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	皮肤湿重 (g/cm ²)	皮肤干重 (g/cm ²)	含水百分率 (%)
空白对照组	8	0.0286±0.0045	0.0099±0.0018	65.24±5.07
维生素 E 组	8	0.0316±0.0061	0.0089±0.0033	71.84±5.57 ^a
浮萍高剂量组	8	0.0322±0.0057	0.0096±0.0027	70.21±6.10
浮萍中剂量组	8	0.0427±0.0052	0.0104±0.0021	75.68±4.26 ^b
浮萍低剂量组	8	0.0347±0.0066	0.0097±0.0030	72.03±4.64 ^a

注:与空白对照组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$

2.2 浮萍水煎液对小鼠 SOD 活力和 MDA 含量的影响 五个实验组小鼠皮肤 SOD 活力单因素方差分析($F = 5.36, P < 0.01$),皮肤 MDA 含量($F = 4.39, P < 0.01$)。浮萍水煎液中、低剂量组能增强小鼠皮肤 SOD 活力、降低 MDA 含量,与空白对照组相比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但浮萍水煎液高剂量组与空白对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),提示只有合适浓度的浮萍水煎液才能提高小鼠 SOD 活力,降低 MDA 含量,见表 2。

表 2 浮萍水煎液对小鼠 SOD 活力和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	SOD (U/mgprot)	MDA (nmol/mgprot)
空白对照组	8	140.66±23.58	12.63±8.02
维生素 E 组	8	167.25±33.48 ^a	6.73±5.19 ^a
浮萍高剂量组	8	160.63±15.21	8.71±2.06
浮萍中剂量组	8	197.13±14.26 ^b	5.15±1.25 ^b
浮萍低剂量组	8	171.25±28.59 ^a	6.63±1.60 ^a

注:与空白对照组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$

3 讨论

皮肤衰老是一个很复杂的生物演变过程,影响皮

肤衰老的因素包括内源性因素和外源性因素,内源性因素主要有遗传基因、代谢产物损害、神经—免疫—内分泌失调等,外源性因素主要包括阳光、污染的环境等,代谢产物损害因素又包括自由基学说、非酶糖基化(NEG)衰老学说、羰基应激衰老学说等。自由基学说认为,许多物质在机体代谢过程中都会产生过氧化的自由基,自由基具有极强的氧化能力,可攻击生物膜上的不饱和脂肪酸,引起跨膜物质的交换发生障碍。如果机体产生的自由基不能及时被清除,大量自由基引起的损伤就会超过机体的修复能力,从而引起皮肤衰老^[4]。

SOD 是体内重要的以自由基为底物的酶,在清除自由基中起着非常重要的作用,其活性高低与衰老有着密切的联系^[5],清除过多的自由基是抗皮肤衰老的重要方法之一;MDA 是自由基诱发脂质过氧化反应形成的代谢产物,它能使真皮结构发生大分子交联,从而使皮肤变硬、皱缩并生成老年斑^[6]。SOD 活性越低,自由基累积就越多,MDA 生成也会越多,因此,SOD 的测定通常与 MDA 的测定互相配合。SOD 活力的高低可以反映机体清除过氧化自由基的能力,而 MDA 的高低又可以反映机体细胞受自由基攻击的严重程度,所以可以通过测定组织中 SOD 活性和 MDA 的含量来了解机体的生理状态^[7]。

近年来,人们越来越重视中药延缓皮肤衰老的研究,许多中药含有多种氨基酸、多糖、有机酸、维生素、生物碱、皂苷、微量元素等多种成分,它们具有清除自由基、增强抗氧化的能力,能提高皮肤胶原纤维及胶原蛋白含量,调节机体免疫功能,改善皮肤微循环等^[8]。在中药延缓皮肤衰老的研究中,既有中药复方,也有单味中药及其提取物,如:小柴胡汤水煎液能清除自由基,具有较强的抗氧化性^[9];黄芪能显著提高 D—半乳糖致衰老小鼠皮肤组织中 SOD 的活性和羟脯氨酸(HYP)的含量^[10];壮精合剂能够显著提高自然衰老大鼠体内组织、器官的 T—SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH—Px)活性及降低 MDA 含量^[11];枸杞多糖能显著提高衰老模型小鼠皮肤组织 SOD、GSH—Px 活性和 HYP 含量,能明显降低皮肤组织 MDA 含量^[12];海带多糖可以显著增加真皮层厚度,皮肤 HYP 含量及皮肤组织 SOD、GSH—Px 活性,显著降低皮肤 MDA、过氧化氢(H₂O₂)含量^[13]。

本实验研究表明,浮萍水煎液能显著提高皮肤含水率,合适浓度的浮萍水煎液能显著提高皮肤 SOD 活性,降低皮肤 MDA 含量。说明浮萍水煎液具有一定延缓衰老的作用。这为延缓皮肤衰老的天然药物研究提供了新思路,并为浮萍的进一步开发利用提供理论依据。

参考文献：

[1] 彭亮,李知敏.紫萍提取物对过氧化氢诱导内皮细胞氧化损伤的保护作用研究[J].时珍国医国药,2009,20(4):996—998.

[2] 罗铁成,侯恩太,路锋,等.浮萍药用研究概况[J].安徽农业科学,2010,38(16):8423—8424.

[3] 凌云,鲍燕燕,吴奇,等.三种浮萍利尿作用比较[J].中药材,1998,21(10):526—538.

[4] 宣敏,程飏.皮肤衰老的分子机制[J].中国老年学杂志,2015,(15):4375—4380.

[5] 高瑞英,张秀宇,慕丹,等.中草药提取物复配化妆品乳液延缓皮肤衰老实验研究[J].医药导报,2010,29(7):857—860.

[6] 侯雪峰,宋小飞,王朝霞,等.GX-50 抗皮肤衰老的研究[J].上海交通大学学报:医学版,2013,33(2):145—148.

[7] 王彩霞,吴景东.灌胃绞股蓝提取液对自然衰老小鼠皮肤组织中 SOD 活性、MDA 含量影响的实验研究[J].实用中医内科杂志,2008,22(12):44—45.

[8] 王倩,蔡念宁,金力,等.中药延缓皮肤衰老的研究现状[J].中国美容医学,2006,15(2):219—221.

[9] 陈军,周蜜思,黄海,等.小柴胡汤抗氧化延缓皮肤衰老功效的体外实验研究[J].时珍国医国药,2013,24(12):2889—2990.

[10] 郭丽红,吴景东,魏锦富.黄芪对 D-半乳糖致小鼠衰老模型作用的实验研究[J].中国美容医学,2012,12(21):2313.

[11] 刘军杰,黄忠仕,曾庆春,等.壮精合剂对初大鼠血清、肝、脑、卵巢中 T-SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响[J].右江民族医学院学报,2014,36(1):4—6.

[12] 王彩霞.枸杞多糖对 D-半乳糖诱导衰老小鼠皮肤的影响[J].中国老年学杂志,2015,35(22):6360—6362.

[13] 徐晓珍,谭机永,覃武,等.海带多糖延缓自然衰老小鼠皮肤衰老的作用研究[J].时珍国医国药,2015,26(10):2328—2330.

收稿日期:2015—12—28;修回日期:2016—05—03

(上接第 508 页)

与纤维支气管镜的吸痰孔口较小有关。纤维支气管镜操作技术要求较高,价格昂贵,临床普及推广受限。

综上所述,气道负压吸痰法联合氨溴索肺灌洗能充分、有效地清除气道内分泌物,解除气道阻塞,迅速提高血氧浓度,避免气道黏膜损伤和降低呼吸道感染等相关并发症,临床效果显著,安全可靠,尤其适用于咳痰无力、昏迷等患者,且操作简便、经济实用,值得临床特别是基层医院推广。

参考文献：

[1] 李多,王文军,熊彬,等.便携式纤支镜肺泡灌洗对老年肺部感染呼吸衰竭有创机械通气患者降钙素原和超敏 C 反应蛋白的影响及治疗价值[J].中国内镜杂志,2016,22(1):86—89.

[2] 陈硕,邹圣强,费连心,等.纤维支气管镜肺灌洗对 ICU 机械通气合并肺部感染患者降钙素原和 C 反应蛋白的影响

研究[J].中国全科医学,2015,18(3):326—328.

[3] 张莉,何薇薇,解宁.纤维支气管镜肺灌洗联合无创正压通气对重症肺部感染 C 反应蛋白和细胞因子的影响[J].中国医药导报,2013,10(25):56—61.

[4] 罗振吉,胡炳全,秦臻,等.密闭气道负压吸痰法联合 PEEP 有创通气救治急性肺水肿五例体会[J].海南医学,2014,25(7):1015—1017.

[5] 苏陈冬.三种药物联合治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床效果分析[J].右江民族医学院学报,2016,38(2):165—167.

[6] 李洪.氨溴索辅助治疗哮喘的临床观察[J].右江民族医学院学报,2012,34(3):299—300.

[7] 邵毅青.沐舒坦经超声电导透皮给药和雾化吸入给药对小儿支气管肺炎的治疗效果观察[J].中国民族民间医药,2012,21(11):70.

[8] 林福筹.纤支镜治疗重症肺炎的临床疗效观察[J].右江民族医学院学报,2015,37(3):394—396.

收稿日期:2016—07—26;修回日期:2016—10—17