

复方海鳗鱼皮明胶改善缺铁性贫血活性的研究

牛慧娜, 侯虎, 郑海旭, 李八方

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 本文研究了复方海鳗鱼皮明胶(Fufang Pike Eel Skin Gelatin, FEG)对大鼠缺铁性贫血的改善作用,旨在找到一种新型的复方补血品。本文采用热提法制备海鳗鱼皮明胶,配合当归、白芍、川芎、黄芪、炒山楂、制首乌和熟地黄七种中药材熬制得到FEG。采用传统的低铁饮食辅助尾静脉放血的方法建立缺铁性贫血(Iron Deficiency Anemia, IDA)模型,将IDA大鼠随机分成模型组、FEG和复方阿胶高低剂量组。灌胃30d,通过测定大鼠的血红蛋白(Hb)、红细胞数(RBC)、血清中的铁(SI)、铁蛋白(SF)和可溶性转铁蛋白受体(Soluble Transferrin Receptor, sTfR)浓度等指标以及肝脏HE染色和骨髓涂片评价其补血效果。结果表明,FEG高剂量组能够显著提高IDA大鼠的RBC($p<0.01$),降低网织红细胞数($p<0.05$)、肝脏($p<0.01$)、脾脏($p<0.05$)和肾脏系数($p<0.01$),缓解骨髓异常增生和肝组织紊乱;使Hb浓度由77.21 g/L提高到175.86 g/L;使SI和SF浓度分别升高了2.9和0.6倍,sTfR浓度降低了19.42%。复方海鳗鱼皮明胶能够有效地改善缺铁性贫血。

关键词: 复方海鳗鱼皮明胶; 缺铁性贫血; 血红蛋白; 血清铁; 转铁蛋白受体

文章编号: 1673-9078(2016)9-13-19

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.003

Hematopoietic Effect of Fufang Pike Eel Skin Gelatin on Iron Deficiency Anemia

NIU Hui-na, HOU Hu, ZHENG Hai-xue, LI Ba-fang

(College of Food Science and Engineering Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: With the aim of developing a new kind of compound hematopoietic health product, the hematopoietic effect of Fufang pike eel skin gelatin (FEG) on iron deficiency anemia in rats was investigated. The pike eel skin gelatin was prepared using a hot water extraction method, and was combined with *Angelica sinensis*, *Radix Paeoniae Alba*, *Rhizoma Chuanxiong*, *Astragalus membranaceus*, *Radix Polygoni Multiflori* Preparata, *Fructus Crataegi*, and *Radix Rehmanniae* Preparata. A rat model of iron deficiency anemia (IDA) was established by feeding rats with a traditional low-iron diet and bleeding from the caudal vein. Then, the IDA rats were randomly divided into the following five groups (ten rats per group): model control group, FEG high and low dose groups (FEG-H and FEG-L), and Fufang donkey-hide gelatin high and low dose groups (PC-H and PC-L). After 30 d of administration by gavage, the hematopoietic effect was evaluated by measuring the concentrations of hemoglobin (Hb), serum iron (SI), ferritin (SF), and soluble transferrin receptor (sTfR), and performing red blood cell counts (RBC), hematoxylin and eosin (H & E) staining of liver tissues, and bone marrow smears. The results showed that high dose FEG could significantly improve the value of RBC ($p<0.01$), reduce the reticulocyte count ($p<0.05$) and the indices of liver ($p<0.01$), spleen ($p<0.05$), and kidney ($p<0.01$), and alleviate symptoms of bone marrow hyperplasia and liver tissue disorder. Additionally, high dose FEG enhanced Hb content from 77.21 g/L to 175.86 g/L, increased SI and SF concentrations by 2.9 and 0.6 times, respectively, and reduced sTfR concentration by 19.42%. Fufang pike eel skin gelatin could effectively improve the symptoms of IDA.

Key words: Fufang pike eel skin gelatin; iron deficiency anemia; hemoglobin; serum iron; transferrin receptor

贫血是最常见的微量营养素缺乏病之一,在营养性贫血中,缺铁性贫血约占70%~80%,是最常见的一

收稿日期: 2015-11-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31401476, 31471606); 山东省海洋经济创新发展区域示范项目; 海洋公益性项目(201105029, 201205027)

作者简介: 牛慧娜(1990-),女,硕士,研究方向: 海洋生物活性物质

通讯作者: 李八方(1953-),男,博士,教授,研究方向: 海洋生物活性物质

种贫血,也是世界上四大营养缺乏病之一^[1]。缺铁性贫血(Iron Deficiency Anemia, IDA)是指体内储存铁缺乏而影响血红素的合成进而导致贫血,其主要表现为骨髓、肝、脾等器官组织缺乏可染铁,使血清铁浓度、运铁蛋白饱和度和血清铁蛋白含量降低^[2]。

中医学根据缺铁性贫血的临床表现,将它归属为“虚劳”、“虚损”等范畴,认为IDA多是由患者脾胃虚弱,气少血衰所导致。研究发现,一些补血、健脾的

中药能够明显提高机体对铁的利用率,且具有补血而不滞血、和血而不伤血的温和补血的功效,同时还避免了对消化道的刺激,对 IDA 的修复和人体保健具有显著功效^[3]。复方阿胶浆作为一种知名的补气养血的传统中药,对于“血虚”病症确切的治疗效果已得到医学界的广泛认可,然而由于原料匮乏等各方面原因,使得阿胶价格持续上涨^[4]。因此,找到一种安全性高、摆脱宗教限制的水产明胶作为阿胶的替代品并配合传统保健中药制备能够改善缺铁性贫血的复方鱼皮明胶具有重要的现实意义。

我国的水产品资源十分丰富,水产加工废弃物鱼皮、鱼鳞等都是良好的明胶来源^[5]。海鳗(*Muraenesox cinereus*)是传统名贵鱼类,属硬骨鱼纲、鳗形目、海鳗科和海鳗属,被称为“水中的软黄金”。我们现已研究证明了海鳗鱼皮明胶具有较好的改善缺铁性贫血的功效。因此,采用海鳗鱼皮作为原料提取明胶,配合当归、白芍、川芎、黄芪、炒山楂、制首乌和熟地黄七种中药材熬制得到复方海鳗鱼皮明胶,研究其改善 IDA 的活性,为寻找新型的改善 IDA 的保健制品提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料与试剂

海鳗,购于青岛市南水产品市场。SPF 级雄性 Wista 大鼠,60 只(4 周龄),购于青岛鲁抗实验动物技术有限公司,许可证号:scxk 鲁 20130001。高锰酸钾、硫氰酸钾、过硫酸钾、浓硫酸及硫酸亚铁等均为国产分析纯。血清铁试剂盒和瑞氏染液,购于南京建成科技有限公司。可溶性转铁蛋白受体和铁蛋白 ELISA 试剂盒购于美国 R & D systems 公司。复方阿胶浆购于山东东阿阿胶股份有限公司,产品编号 201502008。低铁饲料配方参照 AOAC。

1.2 实验设备

OLYMPUS BX41 生物荧光显微镜;OLYMPUS DP70 型显微成像系统;Christ RLPHR 1-4 LD Plus 真空冷冻干燥机;722 s 可见分光光度计;Bio RAD 680 型酶标仪;BR4i 型冷冻离心机。

1.3 试验方法

1.3.1 海鳗鱼皮明胶的提取

将一定量鱼皮流水清洗,分割成 5 cm×5 cm 大小的小块,在 0.01 mol/L 的柠檬酸溶液中浸泡 30 min,水洗至中性。按照 1:10 (m/V)的料液比,60 °C 搅拌浸

提 4 h,浸提液用 200 目的绢纱过滤,离心,然后抽滤,得到海鳗鱼皮明胶(Pike Eel Skin Gelatin, PEG)。经测定 PEG 中甘氨酸、谷氨酸等药效氨基酸含量丰富为 53.1%,必需氨基酸含量为 22.6%,分别比阿胶中的含量高 5.3%和低 9.4%;酸性和中性氨基酸含量非常高,占总量的 87.4%,这点与阿胶相似,大量的酸性和中性氨基酸可以形成聚负离子基使其不必进入细胞内部仅通过细胞外间质的代谢就能调节细胞功能,改善细胞微环境。另外,PEG 中与造血功能相关的矿物质元素(Fe、Cu、Zn 和 Mn)含量丰富,其中 Cu 和 Zn 的含量比阿胶中的分别高 0.58×10^{-6} 和 17.16×10^{-6} 。胶类滋补剂的 Zn/Cu 数值与滋补作用有直接关系,PEG 的 Zn/Cu 值为 21.8 高于阿胶的 17.4,具有良好的滋补功效。

1.3.2 复方海鳗鱼皮明胶的制备

以海鳗鱼皮明胶为主料,当归、白芍、川芎等七味中药味辅料,按照以下方法制备复方海鳗鱼皮明胶:取当归 12 g、白芍 12 g、川芎 10 g、黄芪 10 g、山楂 15 g、制首乌 10 g 和熟地黄 15 g,用水浸泡备用;加水浸没,先用大火煮沸,再转为小火煎制,冷却后过滤收集清液;按上述步骤反复熬制三次,合并清液进行浓缩至相对密度在 70 °C 下为 1.3;将浓缩液加热至 65 °C 时加入 500 g 海鳗鱼皮明胶进行熬制,直至挂旗,冷却至室温调制成明胶含量为 100 mg/mL 的复方海鳗鱼皮明胶(Fufang Pike Eel Skin Gelatin, FEG)。

1.3.3 缺铁性贫血模型的建立

60 只大鼠分笼饲养,每笼 5 只,完全避免与铁接触。控制室温 20~24 °C,相对湿度 50~60%。10 只正常组大鼠饲喂常规鼠粮,饮去离子水,不放血;50 只 IDA 组大鼠饲喂低铁饲料,饮去离子水,每周尾静脉放血 2 次,每次每只 0.5 mL,造模 60 d。

1.3.4 动物分组与实验

50 只 IDA 大鼠随机分成五组:模型组(MC)、复方海鳗鱼皮明胶高剂量组(FEG-H)、复方海鳗鱼皮明胶低剂量组(FEG-L)、阳性对照高剂量组(PC-H)和阳性对照低剂量组(PC-L)。FEG-L 和 FEG-H 组分别灌胃 1 mL/(kg·d)和 10 mL/(kg·d)的 FEG;PC-L 和 PC-H 分别灌胃 4 mL/(kg·d)和 12 mL/(kg·d)的复方阿胶浆(按照说明书推荐用量执行);正常组(NC)和 MC 组灌胃相应体积的去离子水。各组均饲喂常规鼠粮,饮去离子水,连续灌胃 30 d。

1.3.5 血红蛋白含量、红细胞数和网织红细胞数测定

血红蛋白浓度测定采用氰化高铁法。红细胞数测定采用红细胞计数板低倍显微镜计数。网织红细胞计

数参照王京臣^[6]的方法测定:在 50 μ L 10 g/L 煌焦油蓝乙醇溶液中加入 50 μ L 抗凝血,混匀,37 $^{\circ}$ C 放置 15~20 min,推出血膜制片后,计数至少 1000 个红细胞中的网织红细胞数。

1.3.6 脏器指数变化

灌胃 30 d 后,活体解剖,取其肝脏、肾脏、脾脏,称重并计算脏器指数变化。

1.3.7 骨髓象观察

无菌取股骨后,吸取骨髓细胞制成涂片,瑞氏染液染色,镜检。低倍镜观察骨髓成熟红细胞与有核细胞的大致比例来判断骨髓的增生程度,并观察各系细胞的形态。

1.3.8 肝脏病理组织切片

取 1 \times 1 \times 0.3 cm 大小的大鼠肝脏组织置于 4% 的中性甲醛中固定,梯度脱水,石蜡包埋,连续切片,HE 染色,在光镜下观察各组变化情况。

1.3.9 血清中铁、铁蛋白和可溶性转铁蛋白受体含量测定

血清中的铁、铁蛋白和可溶性转铁蛋白受体 (Soluble Transferrin Receptor, sTfR) 含量测定均按照试

剂盒提供的测试步骤进行。

1.3.10 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析,数据以平均值 \pm 标准偏差表示。 $p<0.05$ 为各组之间差异显著; $p<0.01$ 为各组之间差异极显著。

2 结果与分析

2.1 缺铁性贫血模型建立

缺铁性贫血最常表现为血红蛋白(Hb)生成减少。造模过程中,定时测定大鼠的 Hb 浓度,如表 1 所示。与正常组相比,IDA 大鼠的 Hb 浓度随着造模时间的延长开始逐渐下降。造模 10 d 时,IDA 大鼠的 Hb 浓度急剧下降 ($p<0.05$),耳朵、脚爪不再红润。造模 25 d 时,IDA 大鼠的 Hb 浓度与正常组呈极显著性差异 ($p<0.01$),并开始相互撕咬、躁动不安,皮毛颜色变暗,耳朵及脚爪苍白。Hb 浓度降至 80 g/L 时,IDA 组大鼠反应迟钝、倦怠,相互拥挤、蜷缩成团,皮毛散乱并呈斑块状脱落,耳朵及脚爪明显苍白,眼球呈灰色。

表 1 缺铁性贫血动物模型建立过程中 Hb 浓度变化 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Hb 含量/(g/L)	造模前	10 d	25 d	45 d	60 d
正常组	156.30 \pm 5.72	155.70 \pm 6.12	158.00 \pm 12.26	154.12 \pm 9.17	156.46 \pm 1.30
IDA 组	154.24 \pm 4.76	106.54 \pm 5.98*	93.48 \pm 1.78**	90.28 \pm 8.83**	80.39 \pm 5.98**

注:与正常组相比,** $p<0.01$,* $p<0.05$ 。

血清铁是指存在于血清中与血清运铁蛋白结合的铁,缺铁性贫血由于铁缺乏常常导致血清铁含量急剧下降,是诊断缺铁性贫血的依据。为进一步确定造模结果,对大鼠的血清铁和红细胞数(Red blood cell

count, RBC) 进行测定,如表 2 所示。造模完成后 IDA 大鼠的血清铁浓度和红细胞数大幅下降,远低于正常水平 ($p<0.01$)。综合以上数据,表明 IDA 模型成功建立,为研究 FEG 对 IDA 的治疗作用奠定了基础。

表 2 缺铁性贫血动物模型建立过程中血清铁浓度和红细胞数变化情况 (μ mol/L)

Table 2 Changes in serum iron concentration and RBC count during the establishment of a rat model with IDA (μ mol/L)

	造模前		造模后	
	正常组	IDA 组	正常组	IDA 组
红细胞数($\times 10^{12}$ /L)	8.06 \pm 0.83	7.82 \pm 0.74	7.59 \pm 1.01	4.34 \pm 0.88**
血清铁(μ mol/L)	34.99 \pm 1.74	33.76 \pm 2.88	37.43 \pm 2.02	8.83 \pm 2.02**

注:与正常组相比,** $p<0.01$ 。

2.2 复方海鳗鱼皮明胶对 IDA 大鼠的血红蛋

白含量、红细胞数和网织红细胞数的影响

造血必需的铁元素的缺乏会使血红蛋白、红细胞合成减少,导致缺铁性贫血。在本研究中,经过 30 d 治疗后,各给药组均能够不同程度改善 IDA。修复实验过程中各组大鼠的 Hb 浓度和 RBC 变化情况,及网

织红细胞数测定结果,如图 1 所示。

造模完成时,各实验干预组 IDA 大鼠的 Hb 浓度均低于 80 g/L 与 NC 组 (160.91 g/L) 相比呈极显著性差异 ($p<0.01$); 给药 10 d, FEG-H 组 Hb 浓度增加最多达到了 106 g/L,但仍显著低于 NC 组 ($p<0.01$); 给药 15 d, FEG-H、FEG-L 和 PC-H 组大鼠的 Hb 浓度分别升高了 69.42%、54.90% 和 41.99%, Hb 浓度明显高于 MC 组 ($p<0.05$),但仍与 NC 组有显著性差异 ($p<0.05$);

给药 20 d 时, 实验组大鼠的 Hb 浓度较 MC 组均显著升高($p < 0.05$); 给药 25 d 时, FEG-H、FEG-L 和 PC-H 组的 Hb 浓度与 MC 组相比呈极显著差异($p < 0.01$), 且 FEG-H 组的 Hb 浓度达到了 160.86 g/L, 恢复至正常水平, 但 PC-L 组仍与正常组有显著性差异($p < 0.05$); 连续给药 30 d, FEG-H、FEG-L、PC-H 和 PC-L 组大鼠的 Hb 浓度较造模完成时分别提高了 1.28、1.16、0.93 和 0.94 倍, 均极显著高于模型组($p < 0.01$), 除 PC-L 组略低于正常水平外, 其他三组均完全恢复。FEG 和复方阿胶浆均可提高 Hb 含量, 但 FEG 的治疗恢复时间更短, 这可能是由于 FEG 中的胶原成分含量要高于复方阿胶浆, 且海鳗鱼皮明胶中含有非常多的甘氨酸, 能够通过调节血清铁离子, 来促进 Hb 的合成, 另外, 明胶中的精氨酸也可以促进生长激素的分泌使 Hb 合成增加^[7]。

造模完成时, 各干预组大鼠的 RBC 均低于 $5 \times 10^{12}/L$, 与 NC 组 ($7.51 \times 10^{12}/L$) 相比呈极显著性差异($p < 0.01$); 给药 10 d 时, 干预组大鼠的 RBC 增加, 但仍明显低于 NC 组($p < 0.05$); 给药 20 d 时, 干预组大鼠的 RBC 开始显著增加, 达到了 $6 \times 10^{12}/L$ 以上, 明显高于 MC 组的 $5.12 \times 10^{12}/L$ ($p < 0.05$); 给药 30 d 时, 干预组大鼠的 RBC 与 MC 组呈现极显著差异($p < 0.01$), 其中 FEG-H 和 PC-H 组的 RBC 达到了 $7.45 \times 10^{12}/L$ 和 $7.01 \times 10^{12}/L$, 恢复到正常水平。刘茂玄^[8]在研究复方阿胶浆对缺铁性贫血的治疗作用中指出, 给 IDA 大鼠灌胃 21 d 复方阿胶浆后, 该组大鼠的血红蛋白含量和红细胞数均显著升高, 与本文结果一致, 也说明本实验结果具有合理性。

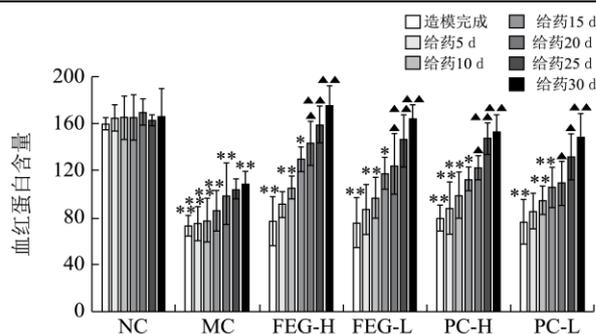


图 1 FEG 对大鼠血液中的 Hb 含量、RBC 数及网织红细胞数的影响

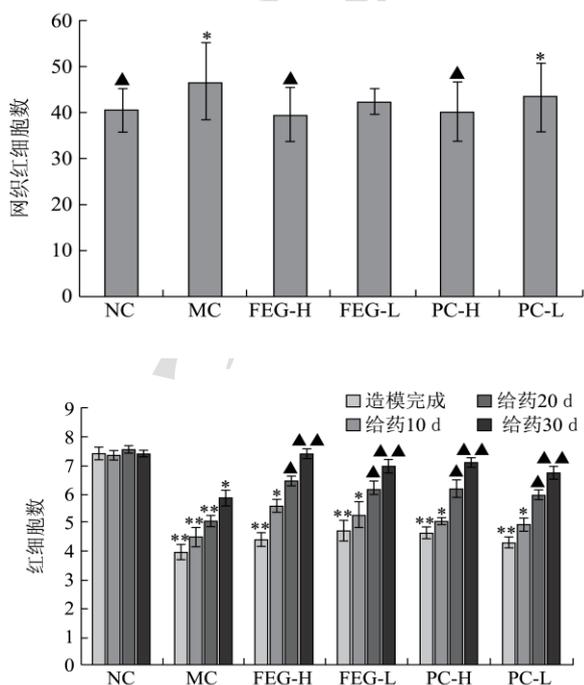
Fig.1 Effect of FEG on Hb content, RBC, and reticulocyte count in the blood of rats

注: 与 NC 组相比, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$; 与 MC 组相比, ▲ $p < 0.01$, ▲ $p < 0.05$ 。

网织红细胞是晚幼红细胞脱核后的尚未成熟的红细胞。缺铁性贫血可导致机体代偿性造血活跃, 使晚幼红细胞数增多, 网织红细胞数也随之增多^[9]。由图 1 可知, MC 组大鼠的网织红细胞数要明显高于 NC 组($p < 0.05$), 这也与现有的研究结果相一致^[4]。连续给药 30 d, FEG-H 和 PC-H 组的网织红细胞数与 MC 组相比明显降低($p < 0.05$), 而 FEG-L 和 PC-L 组无显著性降低。FEG 能够调节由 IDA 导致的血象指标异常症状的恢复, 改善贫血, 并呈剂量依赖关系。

2.3 复方海鳗鱼皮明胶对 IDA 大鼠的脏器指数的影响

研究表明, 缺铁性贫血会使红细胞脆性增加, 机体产生应激性反应, 导致脏器肿大^[10]。大鼠连续灌胃 30 d 后, 大鼠的肝脏、脾脏和肾脏指数变化, 如表 3 所示。在低铁饲料喂饲及剪尾放血的影响下, MC 组大鼠肝脏、肾脏和脾脏指数均显著性升高, 与 NC 组相比差异均有显著性意义($p < 0.01$)。但也有人提出机体缺铁可能会导致肝脏细胞和其中细胞器体积的缩小从而使肝脏指数降低^[11], 本研究经多次预实验并未得到相类似结果, 其中原因有待进步探讨。与 MC 组相比, FEG-H 和 PC-H 组肝脏指数均显著降低($p < 0.01$), FEG-L 和 PC-L 组有所降低但未见显著性差异。FEG-H 和 FEG-L 组肾脏指数均明显低于模型组, 且 FEG-H 组有极显著性差异($p < 0.01$); PC-H 和 PC-L 组肾脏指数下降较少, 且 PC-L 组的肾脏指数明显高于 NC 组($p < 0.01$)。FEG-H 和 FEG-L 组的脾脏指数均明显降低, 与 MC 组相比差异具有显著性意义。FEG-H 和 PC-H 组大鼠的脏器指数趋于正常范围, 说明脏器肿大现象



消失,这可能是由于在 FEG 和复方阿胶浆的干预下 IDA 得到纠正,缺铁和贫血的症状得到改善,机体更趋于正常的原因。

表 3 FEG 对脏器指数的影响 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of FEG on organ index (n=10, $\bar{x} \pm s$)

脏器指数/(mg/g)	肝脏	肾脏	脾脏
NC 组	28.36±4.60	6.11±0.43	2.01±0.26
MC 组	33.05±3.41**	7.53±0.75**	3.17±0.62**
FEG-H 组	29.58±2.56 ^{▲▲}	6.16±0.40 ^{▲▲}	2.35±0.71 [▲]
FEG-L 组	30.94±4.22	6.55±0.66 [▲]	2.00±0.31 ^{▲▲}
PC-H 组	29.28±4.02 ^{▲▲}	7.16±0.81	3.03±0.54**
PC-L 组	31.33±1.57	7.28±0.68**	2.84±0.78*

注:与 NC 组相比, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$; 与 MC 组相比, ^{▲▲} $p < 0.01$, [▲] $p < 0.05$ 。

2.4 骨髓象分析

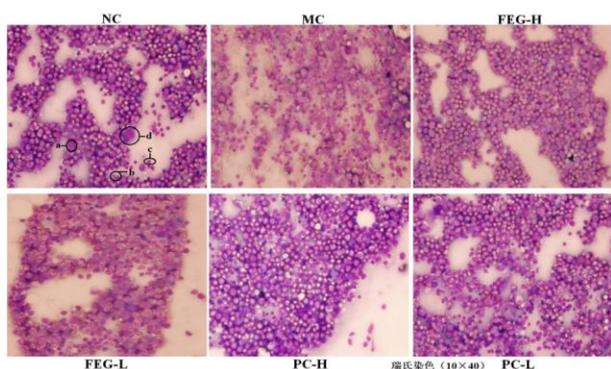


图 2 FEG 对 IDA 大鼠骨髓象的影响 (10×40)

Fig.2 Effect of FEG on the myelogram of IDA model rats (10×40)

注: a 是早幼红细胞; b 为中幼红细胞; c 为晚幼红细胞; d 为原红细胞。

骨髓涂片能看到成熟的红细胞和有核的血细胞。正常骨髓的增生程度描述为“骨髓增生活跃”,缺铁性贫血时骨髓代偿增生能力良好,表现为“增生明显活跃”,根据有核细胞所占的比例把骨髓增生程度分成等级来反映骨髓造血的活跃程度。粒细胞系统各阶段细胞的总和与红细胞系统各阶段的总和之比(粒红比值)为 2~4:1 时为正常骨髓象,当粒红比小于 2:1 时是贫血骨髓象。另外,当其中红细胞颜色变浅、体积变小时,往往提示缺铁性贫血。

由图 2 可知, MC 组大鼠的骨髓象可见增生明显活跃,以体积小,颜色浅,边缘不规整,胞核小而致密的中、晚幼红细胞为主,粒红比接近 1.5:1,属骨髓增生明显活跃,再次印证了 MC 组血液代偿活跃导致网织红细胞数偏高,这与杨霞^[4]研究的 IDA 大鼠的骨髓象特征一致。FEG-H、PC-H 和 PC-L 组的红细胞增

生现象较 MC 组明显减弱,红细胞体积正常,颜色较深,粒红比值增大,均介于 2~4:1 之间,已达到正常骨髓增生等级,与 NC 组骨髓涂片基本一致。FEG-L 组红细胞颜色较浅,体积比 MC 组大,增生现象有所减弱但效果并不显著,这说明 FEG 能够有效地缓解骨髓增生现象,增大粒红比值,并呈剂量依赖关系。

2.5 肝脏组织形态学变化 (HE 染色)

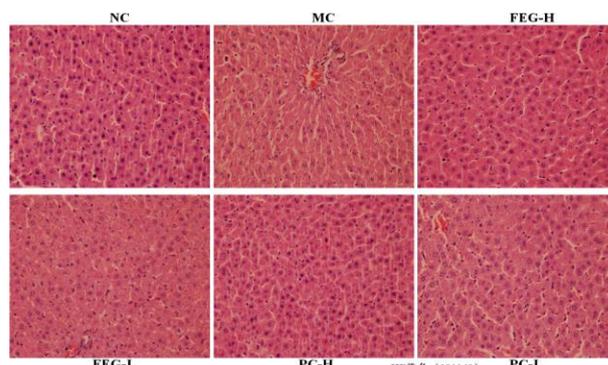


图 3 FEG 对肝脏组织形态的影响 (10×40)

Fig.3 Effect of FEG on the liver histological morphology (HE staining) (10×40)

在光镜下观察各组肝脏组织变化情况如图 3 所示, MC 组的肝脏组织与 NC 组相比,出现肝血窦杂乱,肝细胞索分界不清、排列紊乱病状,说明 IDA 对肝脏有严重影响,提示在治疗 IDA 时,应注意对肝脏的修复治疗,以纠正机体的紊乱。FEG-H 和 PC-H 组的肝脏组织排列致密,肝细胞索清晰可见,与 NC 组基本无异。FEG-L 和 PC-L 组的肝细胞索分界模糊,与 MC 组相比,病状有所改善,但仍未完全恢复。制首乌素有收敛精气,滋补肝肾的作用。肝组织紊乱得到纠正,一方面可能由于 IDA 病症得到改善,另一方面可能因为 FEG 中添加了具有滋补保肝功效的制首乌使得肝脏功能得到强化。

2.6 复方海鳗鱼皮明胶对 IDA 大鼠的血清中的铁、铁蛋白及可溶性转铁蛋白受体含量影响

修复实验过程中对各组大鼠的血清铁(SI)含量进行测定,结果如表 4 所示。由于饲喂常规鼠粮对 MC 组有一定的铁补给,MC 组和实验组大鼠的 SI 含量均逐渐增加,但实验组的增长幅度明显大于 MC 组。给药 10 d 时,MC 组和干预组的 SI 浓度远小于 NC 组,差别具有统计学意义($p < 0.01$);给药 20 d 时,FEG-H 和 PC-H 组的 SI 含量比造模完成时分别提高了 1.57 和 1.63 倍,但仍与 NC 组有较显著的差别($p < 0.05$);给药 30 d 时,干预组与 MC 组的差距进一步扩大,其

中 FEG-H 和 PC-H 组的效果最佳, SI 含量达到了 33.24 和 33.88 $\mu\text{mol/L}$, 恢复到正常水平。SI 是由 Fe^{3+} 与血浆中的转铁蛋白(TRF)结合而成, 之后便以 TRF-Fe^{3+} 复合物的形式进入骨髓组织, 与红系细胞膜表面的转铁蛋白受体结合进入胞内, 用于 Hb 和成熟红细胞的

生成^[12]。可能由于海鳗鱼皮明胶中含有的丰富 Cu 元素是数十种酶和红细胞的重要组成元素, 能够促进铁的吸收^[7], 使得 FEG 能够提高 SI 含量, 进而能够促进 Hb 和红细胞的升高, 达到改善贫血的作用。

表 4 FEG 对血清铁含量的影响(n=10, $\bar{x} \pm S$)

Table 4 Effect of FEG on serum iron content (n=10, $\bar{x} \pm S$)

SI 含量/ $(\mu\text{mol/L})$	造模完成	给药 10 d	给药 20 d	给药 30 d
NC 组	34.18 \pm 4.88	34.55 \pm 3.55	35.81 \pm 2.78	33.82 \pm 4.35 [▲]
MC 组	8.37 \pm 0.41**	10.89 \pm 0.71**	14.21 \pm 1.12**	21.94 \pm 0.84
FEG-H 组	8.53 \pm 0.73**	12.21 \pm 0.59**	21.89 \pm 1.91*	33.24 \pm 2.74 [▲]
FEG-L 组	8.38 \pm 0.76**	10.58 \pm 0.95**	17.42 \pm 1.52*	29.32 \pm 3.01
PC-H 组	8.46 \pm 0.45**	13.02 \pm 1.38**	22.26 \pm 0.99*	33.88 \pm 2.45 [▲]
PC-L 组	8.52 \pm 1.01**	10.89 \pm 1.23**	17.81 \pm 1.49*	30.66 \pm 2.97 [▲]

注: 与 NC 组相比, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$; 与 MC 组相比, ^{▲▲} $p < 0.01$, [▲] $p < 0.05$ 。

表 5 FEG 对血清中的铁蛋白含量的影响(n=10, $\bar{x} \pm S$)

Table 5 Effect of FEG on serum FE content (n=10, $\bar{x} \pm S$)

FE 含量/(ng/mL)	造模完成	修复 30 d
NC 组	18.91 \pm 0.28	19.25 \pm 2.10 ^{▲▲}
MC 组	11.67 \pm 1.57**	13.66 \pm 0.98**
FEG-H 组	12.01 \pm 1.21**	19.56 \pm 2.75 ^{▲▲}
FEG-L 组	11.89 \pm 0.38**	16.23 \pm 1.13
PC-H 组	11.96 \pm 0.66**	18.37 \pm 1.63 ^{▲▲}
PC-L 组	12.19 \pm 0.51**	16.01 \pm 0.51

注: 与 NC 组相比, ** $p < 0.01$; 与 MC 组相比, ^{▲▲} $p < 0.01$ 。

血清中的铁蛋白(Ferritin)是铁的储存形式, 它是由铁核心 Fe^{3+} 和去铁蛋白所形成的复合物, 是机体中含铁量最丰富的一类蛋白质。SF 的含量可作为判断机体铁储量的重要标志, 其含量的变化能够反映机体缺铁与否或铁负荷过量情况, 对 IDA 的诊断及治疗效果的判断具有重要意义^[13]。对比 SF 含量在修复实验前后的变化, 表 5 所示。造模完成时, MC 组和干预组的 SF 浓度远小于 NC 组($p < 0.01$)。灌胃 30 d 后, MC 组的 SF 浓度仍明显低于 NC 组, 差别具有统计学意义; 与 MC 组相比, FEG-H 和 PC-H 组的 SF 含量显著升高($p < 0.01$), 与 NC 组无明显差异, 表明体内缺失的铁得到补偿, 而 FEG-L 和 PC-L 组的 SF 含量较 MC 组有所升高, 但差别不具有统计学意义。刘茂玄^[8]提出, 复方阿胶浆中的阿胶成分比其他中药成分更能调节体内铁分配, 增加体内用于造血的铁的比例来纠正 IDA。毛跟年^[7]也指出, 丰富的动物蛋白, 能够吸收铁离子, 协助铁元素的摄入。这也印证了上文的推断, FEG 显著的改善作用与其本身所含有的丰富的明胶成分有密切关系。再者, 熟地黄和白芍为阴柔之品, 当归和川芎为辛温之物, 四者配合使该复方制剂具有

补血而不滞血, 和血而不伤血的特点。同时, 制首乌收敛精气, 可滋补肝肾; 黄芪性甘温, 可补中益气; 山楂味酸而甘, 可健脾开胃, 使其改善效果更为显著。

表 6 FEG 对血清中的可溶性转铁蛋白受体含量的影响(n=10, $\bar{x} \pm S$)

Table 6 Effect of FEG on serum sTfR content (n=10, $\bar{x} \pm S$)

sTfR 含量/(ng/mL)	造模完成	修复 30 d
NC 组	8.77 \pm 0.88	8.87 \pm 1.03
MC 组	12.42 \pm 1.01**	12.52 \pm 1.09**
FEG-H 组	11.69 \pm 1.13**	9.42 \pm 1.51 ^{▲▲}
FEG-L 组	11.53 \pm 0.77**	9.37 \pm 0.53 ^{▲▲}
PC-H 组	12.36 \pm 0.58**	9.21 \pm 0.66 ^{▲▲}
PC-L 组	12.15 \pm 1.06**	8.93 \pm 1.46 ^{▲▲}

注: 与 NC 组相比, ** $p < 0.01$; 与 MC 组相比, ^{▲▲} $p < 0.01$ 。

血清中的可溶性转铁蛋白受体 (Soluble Transferrin Receptor, sTfR) 是参与机体铁代谢的一种跨膜糖蛋白水解脱落到血清中的受体分子, 与缺铁的程度呈正相关^[14]。对比血清中的 sTfR 含量在修复实验前后的变化, 表 6 所示。造模完成时, MC 组和干预组的 sTfR 浓度远大于 NC 组($p < 0.01$), 说明血清中游离的受体分子浓度较高, 铁缺乏状况严重。灌胃 30 d 后, MC 组的 sTfR 浓度为 12.52 ng/mL, 明显高于 NC 组($p < 0.01$), 仍然处于铁缺乏状态; FEG-H、FEG-L、PC-H 和 PC-L 组的 sTfR 浓度均在 9.50 ng/mL 以下, 远低于 MC 组, 差别具有统计学意义($p < 0.01$), 与 NC 组无明显差异, 表明缺铁症状得到修复。FEG 可以降低血清中 sTfR 含量, 缓解铁缺乏状态, 这也进一步说明 FEG 治疗 IDA 的作用很大程度上可能是通过促进铁的吸收和利用来实现的。FEG 的主料 PEG 中含有丰富的 Fe、Cu、Zn 和 Mn 等与造血相关的矿物质元

素,所以FEG自身能够提供一定量的铁元素,同时依靠其分配调节作用能够提高SI和SF的含量并且降低sTfR含量,进而增加进入骨髓中原始红系细胞的铁的量,最终促进血红蛋白的合成及红细胞的生成。海鳗鱼皮明胶和七种中药成分合理配合、相互补充,从而使FEG能够实现改善缺铁性贫血的作用。

3 结论

复方海鳗鱼皮明胶是多种保健中药材与深海鱼皮明胶的合理结合,集合了深海鱼胶原安全性高更利于人体吸收的优势及当归、黄芪等保健中药的各项功效,使其补血效果更为凸显。它能够有效地改善缺铁性贫血,提高RBC数、Hb、血清铁和血清铁蛋白浓度,降低sTfR含量和网织红细胞数,缓解红细胞系增生和脏器肿大现象,改善肝组织紊乱,并呈剂量依赖关系。

参考文献

- [1] Toblli J E, Cao G, Oliveri L, et al. Effects of iron deficiency anemia and its treatment with iron polymaltose complex in pregnant rats, their fetuses and placentas: oxidative stress markers and pregnancy outcome [J]. *Placenta*, 2012, 33(2): 81-87
- [2] Benoist B D, Mclean E, Egl I, et al. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia [J]. *World Health Organization*, 2008, 2(3): 97-100
- [3] Liu M, Tan H, Zhang X, et al. Hematopoietic effects and mechanisms of Fufang E' jiao Jiang on radiotherapy and chemotherapy-induced myelosuppressed mice [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 152(3): 575-584
- [4] 杨霞. 狭鳕鱼皮明胶和罗非鱼皮明胶抗贫血活性的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013
YANG Xia. Study on the antianemia activity of gelatin from walleye pollock skin and tilapia skin [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013
- [5] Wang S, Hou H, Hou J, et al. Characterization of acid-soluble collagen from bone of pacific cod (*Gadus macrocephalus*) [J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2013, 22(4): 407-420
- [6] 王京臣, 武承慧. 三种网织红细胞计数方法的比较 [J]. *吉林医学*, 2012, 33(2): 260-261
- [7] WANG Jing-chen, WU Cheng-hui. The comparison of three methods of reticulocyte count [J]. *Jilin Medical Journal*, 2012, 33(2): 260-261
- [7] 毛跟年, 郭倩, 瞿建波, 等. 阿胶化学成分及药理作用研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2010, 31(11): 83-85
MAO Gen-nian, GUO Qian, ZHAI Jian-bo, et al. The chemical components and pharmacological activity research progress of donkey-hide gelatin [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2010, 31(11): 83-85
- [8] 刘茂玄. 复方阿胶浆对贫血的治疗作用及作用机制的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2014
LIU Mao-xuan. Studies on the therapeutic effects of Fufang E' Jiao Jiang on anemia and its action mechanisms [D]. Jinan: Shandong University, 2014
- [9] Torino A B B, Gilberti M F P, da Costa E, et al. Evaluation of red cell and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease [J]. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 2014, 36(6): 424-429
- [10] Yanagisawa H, Miyakoshi Y, Kobayashi K, et al. Long-term intake of a high zinc diet causes iron deficiency anemia accompanied by reticulocytosis and extra-medullary erythropoiesis [J]. *Toxicology Letters*, 2009, 191(1): 15-19
- [11] Akase T, Onodera S, Matsushita R, et al. A comparative study of laboratory parameters and symptoms effected by Toki-shakuyaku-san and an iron preparation in rats with iron-deficiency anemia [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2004, 27(6): 871-878.
- [12] Hentze M W, Muckenthaler M U, Andrews N C. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism [J]. *Cell*, 2004, 117(3): 285-297
- [13] Suominen P, Punnonen K, Rajamäki A, et al. Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits [J]. *Blood*, 1998, 92(8): 2934-2939
- [14] Leonard A J, Patterson A J, Collins C E, et al. Is soluble transferrin receptor a useful marker in early stage iron deficiency [J]. *E-SPEN Journal*, 2013, 8(5): e210-e212