

【论著】

大豆异黄酮与大豆皂甙抗辐射作用的实验研究

孙维琦^{1,2}, 郭英², 张义全², 袁小洁², 靖雪妍², 陈秋丽²

中图分类号: R963 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)03-0273-02

【摘要】 目的 探讨大豆异黄酮和大豆皂甙对 γ 射线辐射损伤的防护作用。方法 实验分三批, 清洁级雄性昆明小鼠, 每批按体重随机分为假照射组、照射模型组、大豆异黄酮组和大豆皂甙组。各受试物组小鼠经口灌胃各组受试物, 连续 30 d 后三批小鼠除假照射组外其余剂量组用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射剂量分别为 3.0 Gy、5.0 Gy、7.0 Gy 进行一次全身照射, 照射后仍然给予受试物。分别检测外周血白细胞数、骨髓有核细胞数和骨髓细胞微核率以及红细胞与肝脏超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量。结果 给予大豆异黄酮和大豆皂甙的小鼠在照射后第 3 天和第 14 天外周血白细胞数、骨髓有核细胞数、红细胞和肝脏 SOD 活力均高于照射模型组 ($P < 0.05$), 骨髓微核率和血浆 MDA 水平低于照射模型组 ($P < 0.05$)。结论 大豆异黄酮和大豆皂甙均能提高受照射小鼠的抗氧化能力, 在一定程度上减缓由辐射引起的外周血白细胞和骨髓有核细胞数下降, 减少微核的产生, 对 γ 射线损伤具有良好的防护作用。

【关键词】 大豆异黄酮; 大豆皂甙; 辐射损伤; 超氧化物歧化酶

Study on the Anti-Radiation Effect of Soyisoflavone and Soyasaponins SUN Wei-qi GUO Ying ZHANG Yi-quan et al. Department of Nutrition and Food Hygiene College of Public Health, Jilin University Changchun 130021 China

【Abstract】 Objective To investigate the anti- γ radiation effect of soyisoflavone and soyasaponins. Methods Three batches in the experiment. In every batch, clean rank of Kunming male mice were randomly divided into four groups: normal control group, radiated group, soyisoflavone group and soyasaponins group according to their weight. The mice in soyisoflavone group and soyasaponins group were fed with soyisoflavone and soyasaponins for 30 days successively, then the mice were irradiated by $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays in the whole body except those in the normal control group. After radiation, these two groups were fed equally as before. WBC contents, the Granulocytes and the Micronucleated polychromatic erythrocytes in bone marrow, SOD activities and MDA contents in the blood and liver were measured. Results On the third and the fourteenth day after radiation, the number of WBC in the blood and the number of the Granulocytes in bone marrow, the activities of SOD in the blood and liver in soyisoflavone group and soyasaponins group were significantly higher than that of radiated group ($P < 0.05$). The number of the Micronucleated polychromatic erythrocytes in bone marrow and MDA contents in the blood were significantly lower than that of radiated group ($P < 0.05$). Conclusion Soyisoflavone and soyasaponins could prevent the WBC in distal blood and the Granulocytes in bone marrow decreasing in number after radiation, restrain the production of the Micronucleated polychromatic erythrocytes, improve the antioxidant ability of radiated mice and release the irradiation injury from γ -rays.

【Key words】 Soyisoflavone; Soyasaponins; Irradiation Injury; Superoxide Dismutase

电离辐射会对人体健康造成严重危害, 探讨有效的辐射防护剂对从事放射性核素开采、加工和利用的工作人员, 接受放疗的肿瘤患者, 太空宇航员等的健康有重要意义。大豆异黄酮和大豆皂甙是大豆的主要生物活性成分^[1]。已有研究表明, 大豆异黄酮对某些肿瘤、骨质疏松症以及妇女绝经期症状等, 具有一定干预作用, 并具有调节细胞的基因表达以及抑制细胞凋亡等作用^[2]。大豆皂甙具有抗脂质过氧化、免疫调节等作用^[3]。目前大豆异黄酮对辐射的干预作用仅见个别报道, 大豆皂甙对辐射损伤的影响报道甚少^[4]。本实验观察大豆异黄酮和大豆皂甙的抗辐射损伤作用, 并初步探讨二者的抗辐射损伤能力, 为其开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 大豆异黄酮 (纯度 40%) 与大豆皂甙 (纯度 40%) 国家大豆研究所提供, 用 1% 羧甲基纤维素配制不同浓度的灌胃液。超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒、考马斯亮蛋白试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.2 动物与分组 清洁级昆明雄性小白鼠, 体重 18~22 g 由长春生物制品研究所实验动物中心提供。实验分三批, 每批按

体重随机分为假照射组、照射模型组、大豆异黄酮组 (80 mg/kg bw) 和大豆皂甙组 (80 mg/kg bw), 每组 12 只。实验期间, 大豆异黄酮组、大豆皂甙组小鼠每日分别经口灌胃分别给予各组受试物, 假照射组和照射模型组给予等容量溶剂。每 5 d 称量一次体重, 调整灌胃量。每日 1 次, 连续灌胃 30 d 30 d 后给予小鼠以全身照射, 照射后仍然给予受试物。照射后按规定天数取样本, 进行有关测定。

1.3 观察指标与检测方法

1.3.1 外周血白细胞数 第一批实验的两个受试物组小鼠与照射模型组小鼠均用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线进行一次全身照射, 照射总吸收剂量为 3.0 Gy。各组动物分别于照射前、照射后第 3 天、照射后第 14 天三次采末梢血, 计数白细胞总数。

1.3.2 骨髓有核细胞数和骨髓细胞微核率 第二批实验的两个受试物组小鼠与照射模型组小鼠均用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线进行一次全身照射, 照射总吸收剂量为 5.0 Gy。于照射后第 3 天, 各组动物颈椎脱臼处死后, 取左股骨, 用 1 mL 注射器吸取一定体积的 Hank's 液, 冲出股骨中的全部骨髓细胞, 细胞悬液通过 4 号针头的注射器, 使细胞在悬液中充分分散后, 取样, 镜下计数, 计算每 mL 骨髓细胞悬液中的有核细胞数。取右股骨, 用小牛血清冲洗股骨骨髓腔制成细胞悬液涂片, 涂片自然干燥后, 放入甲醇中固定 5~10 min 放入 Giemsa 应用液中染色 10~15 min 立即用磷酸盐缓冲液或蒸馏水冲洗, 晾干。镜检, 每只小鼠计数 1 000 个嗜多染红细胞中微核细胞数, 微核率以千分率表示。

1.3.3 红细胞与肝脏中 SOD 活性、血浆与肝脏中 MDA 含量 第三批实验的两个受试物组小鼠与照射模型组小鼠均用 $^{60}\text{Co}-$

基金项目: 吉林省科技厅研究资助项目 (No. 20040205-1)

作者单位: 1 北京大学医学院预防系, 吉林 132013 2 吉林大学白求恩医学部公共卫生学院营养与食品卫生教研室。

作者简介: 孙维琦 (1972~), 女, 吉林省吉林市人, 硕士在读, 研究方向: 生物活性物质与健康。

通讯作者: 郭英

γ 射线进行一次全身照射,照射总吸收剂量为 7 0Gy。于照射后第 7 天,各组动物取血,抗凝,经离心、加双蒸水溶血、无水酒精抽提、三氯甲烷沉淀等步骤得到红细胞抽提液;取肝脏制备 1:9 肝组织匀浆,应用羟胺法测试盒中提供的方法测定红细胞抽提液和肝组织中超氧化物歧化酶活性。采用 TBA 比色法^[5]分别测定血浆和肝组织中丙二醛含量。

1.4 统计学分析 数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,应用单因素方差分析法比较组间差异,应用 LSD 法进行两两比较。

2 结果

2.1 大豆异黄酮和大豆皂甙对小鼠外周血白细胞数的影响 (表 1) 3 0Gy 射线全身照射后第 3 天和第 14 天,小鼠外周血白细胞数明显低于假照射组 ($P < 0.05$);照射后第 3 天,受试物组小鼠的白细胞数均高于照射模型组 ($P < 0.05$);照射后第 14 天,大豆皂甙组小鼠的白细胞数高于照射模型组 ($P < 0.05$)。

表 1 大豆异黄酮和大豆皂甙对小鼠外周血白细胞数的影响 ($\times 10^9/L$)

组别	照射前	照射后第 3 天	照射后第 14 天
假照射	0.94±0.26	1.78±0.60	2.43±0.62
照射模型	1.13±0.30	0.36±0.09 ¹⁾	0.65±0.10 ¹⁾
大豆异黄酮	1.00±0.27	0.51±0.10 ¹⁾²⁾	0.77±0.21 ¹⁾
大豆皂甙	1.36±0.37	0.58±0.18 ¹⁾²⁾	0.92±0.19 ¹⁾²⁾

注: 1)与假照射组比较, $P < 0.05$; 2)与照射模型组比较, $P < 0.05$ 。

表 3 大豆异黄酮和大豆皂甙对小鼠 SOD 活性和 MDA 含量的影响

组别	SOD 活性		MDA 含量	
	红细胞 ($U/mgHb$)	肝 ($U/mgPro$)	血浆 ($nmol/ml$)	肝 ($nmol/g$)
假照射	15.875.3±454.3	21.9±11.4	3.9±0.6	4.9±1.6
照射模型	14.190.6±1.020.9 ¹⁾	7.4±4.5 ¹⁾	6.6±0.7 ¹⁾	6.6±3.1
大豆异黄酮	15.654.6±683.8 ²⁾	40.8±17.5 ²⁾	3.4±0.9 ²⁾	4.5±1.0
大豆皂甙	15.995.0±458.1 ²⁾	40.4±15.6 ²⁾	3.5±1.0 ²⁾	4.6±1.7

注: 1)与假照射组比较, $P < 0.05$; 2)与照射模型组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

一次性大剂量全身 $^{60}Co-\gamma$ 射线照射引起的急性损伤可表现为外周血白细胞数和骨髓有核细胞数减少,骨髓细胞微核数增加,血或组织中 SOD 活力降低,MDA 含量增高等。辐射可激发体内产生大量自由基^[6],引发脂质发生过氧化反应。体内 SOD 在机体的氧化与抗氧化平衡中发挥重要的作用,能清除自由基,保护细胞免受损伤。血和(或)组织中 SOD 活性降低是 一次 性 全 身 γ 射 线 照 射 引 起 辐 射 损 伤 的 表 现 之 一。MDA 是 自 由 基 攻 击 生 物 膜 引 发 脂 质 过 氧 化 的 产 物,MDA 可 与 蛋 白、核 酸 (DNA、RNA)和 磷 脂 等 含 有 氨 基 的 物 质 交 联,引 起 这 些 大 分 子 化 合 物 的 分 子 交 联^[7]。因此,MDA 水平可反映机体内脂质过氧化 的 程 度,其 在 血 液 和 组 织 中 的 水 平 可 反 映 机 体 细 胞 和 组 织 受 自 由 基 攻 击 的 程 度,间 接 反 映 细 胞 损 伤 的 程 度。本 实 验 结 果 显 示,大 豆 异 黄 酮 和 大 豆 皂 甙 对 辐 射 引 发 的 白 细 胞 数 量 减 少 有 防 护 作 用,能 有 效 地 减 轻 辐 射 诱 发 的 造 血 系 统 及 染 色 体 损 伤,另 外 还 能 提 高 辐 射 小 鼠 的 抗 氧 化 能 力,降 低 辐 射 所 致 的 氧 化 损 伤 程 度,推 测 其 原 因,一 方 面 可 能 是 由 于 大 豆 异 黄 酮 和 大 豆 皂 甙 可 抑 制 辐 射 诱 发 的 自 由 基 的 产 生,清 除 和 淬 灭 自 由 基,从 而 使 抗 氧 化 酶 的 消 耗 减 少;另 一 方 面 SOD 为 一 种 可 诱 导 酶,清 除 由 于 电 离 辐 射 产 生 的 大 量 自 由 基,从 而 阻 断 了 脂 质 过 氧 化 链 式 反 应。

应用大豆异黄酮和大豆皂甙,实验动物的辐射损伤程度明显减轻,可以认为,在本实验条件下,大豆异黄酮和大豆皂甙对辐射损伤有良好防护作用,预示其在保健食品领域应用的良好

2.2 大豆异黄酮和大豆皂甙对小鼠骨髓有核细胞数和骨髓细胞微核率的影响 5 0Gy 射线全身照射后第 3 天,小鼠的骨髓有核细胞数明显低于假照射组 ($P < 0.05$),骨髓细胞微核率明显高于假照射组 ($P < 0.05$);大豆异黄酮组和大豆皂甙组小鼠的骨髓有核细胞数均高于照射模型组 ($P < 0.05$),骨髓细胞微核率均低于照射模型组 ($P < 0.05$);大豆异黄酮组和大豆皂甙组小鼠的骨髓有核细胞数和骨髓细胞微核率的差异不明显。

表 2 大豆异黄酮和大豆皂甙对小鼠骨髓有核细胞数和骨髓细胞微核率的影响

组别	骨髓有核细胞数 ($\times 10^6/股骨$)	骨髓细胞微核率 (%)
假照射	127.6±43.6	0.4±0.3
照射模型	24.3±4.5 ¹⁾	3.5±1.2 ¹⁾
大豆异黄酮	46.3±15.0 ¹⁾²⁾	1.8±0.9 ¹⁾²⁾
大豆皂甙	49.7±11.5 ¹⁾²⁾	1.3±0.7 ¹⁾²⁾

注: 1)与假照射组比较, $P < 0.05$; 2)与照射模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 大豆异黄酮和大豆皂甙对小鼠 SOD 活性和 MDA 含量的影响 (表 3) 7 0Gy 射线全身照射后第 7 天,照射模型组小鼠红细胞和肝组织中 SOD 活力均明显降低 ($P < 0.05$),血浆 MDA 含量明显升高 ($P < 0.05$);大豆异黄酮组和大豆皂甙组小鼠红细胞和肝组织中 SOD 活性水平均明显高于照射模型组 ($P < 0.05$),血浆 MDA 含量均明显低于照射模型组 ($P < 0.05$),并与假照射组接近;各组小鼠肝脏 MDA 含量差异不明显。大豆异黄酮组和大豆皂甙组小鼠的红细胞和肝组织中 SOD 活力、血浆 MDA 含量的差异不显著。

前景。大豆异黄酮和大豆皂甙对辐射损伤的防护机理,可能与其抑制辐射引发细胞脂质过氧化、自由基损伤、提高机体抵抗力、促进组织细胞增殖等有关。大豆异黄酮和大豆皂甙的抗辐射损伤能力比较,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 权静,卢定强,张筱,等.大豆功能性成分的研究现状[J].大豆通报,2004 3: 27—29
[2] 金宏,刘丽,王先远,等.大豆异黄酮抗辐射作用的实验研究[J].氨基酸和生物资源,2004 26(3): 23—26
[3] ZIELONKA J, GEBICKI J, GRYNKIEW ICZ G. Radical scavenging properties of genistein[J]. Free Radic Biol Med 2003 35 (8): 958
[4] 戴世昌,王秉伋.抗辐射药物研究[M].北京:军事科学出版社,2003 7—17
[5] 万伯健主编.卫生毒理学[M].北京:科学技术出版社,1991 216—217
[6] SHU C T, LEE T M. Ultraviolet—B—induced oxidative stress and responses of the ascorbate-gluthathione cycle in a marine macroalga Ulva fasciata[J]. J Exp Botany 2005 56 2 851—2 865
[7] 张成武,曾昭琪,张媛贞,等.钝顶螺旋藻多糖及藻蓝蛋白对小鼠急性放射病的防护作用[J].营养学报,1996 8(3): 327—331.

(收稿日期: 2007—01—15)