

文章编号: 1673 1689(2010)05-0665-05

紫甘薯多糖对辐射的防护作用

江雪, 吕晓玲*, 李津, 王黎明

(天津科技大学 食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 探究在¹³⁷Cs γ 射线单次辐射下, 紫甘薯多糖对小鼠辐射损伤的保护作用及机制。小鼠被分为 5 组: 对照组、辐射模型组、多糖高、中、低剂量组。小鼠在照射前 1 d, 照后 3、14 d 检测外周血白细胞总数 3 次。在照后 14 d, 处死小鼠, 观察多糖对小鼠的胸腺系数和脾脏系数、胸骨骨髓细胞的微核率、脾结节数的影响, 测定小鼠血清中的 SOD、CAT 活性和 MDA 含量, 肝、肾组织中的 SOD、GSH-PX、CAT 活性和 MDA 含量各项抗氧化指标。结果 实验表明, 在 4 Gy ¹³⁷Cs γ 射线辐射情况下, 与辐射模型组进行比较, 紫甘薯多糖对小鼠外周血白细胞总数、胸腺系数、脾脏系数、胸骨骨髓细胞的微核率、脾结节数都有显著提高; 显著提高小鼠血清中 SOD 活性, 提高脾、肾组织中 SOD、GSH-PX 和 CAT 活性, 降低小鼠血清、脾、肾组织中 MDA 含量。结论紫甘薯多糖在体内对¹³⁷Cs γ 射线辐射损伤小鼠具有保护作用。

关键词: 紫甘薯; 多糖; ¹³⁷Cs γ 射线; 抗辐射

中图分类号: Q 539

文献标识码: A

Study on the Radioprotection by Purple Sweet Potato Polysaccharide in Vivo

JIANG Xue, LU Xiaoling*, LI Jin, WANG Xingming

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tian Jin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In this study we investigated the radioprotective activity of polysaccharide from purple sweet potato in mice irradiated by a ¹³⁷Cs gamma (γ) ray (4.0 Gy, at a dose of 2.299×10^2 C/kg \cdot min⁻¹). Mice were randomly divided into the control group and four experimental groups which were given polysaccharide from purple sweet potato (model group, low group, middle group, high group) for 30 days. The four experimental groups of mice were then exposed to ¹³⁷Cs γ rays and were given polysaccharide from purple sweet potato for a further 14 days. The number of white blood cells, the number of micronuclei in polychromatophilic erythrocytes of bone marrow in mice and the number of spleen colony-forming cells (CFU-S) were carefully determined. The activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, malondialdehyde, spleen index and thymus index were also arrayed. The results indicated that the administration of polysaccharide from purple sweet potato is radioprotective in mice irradiated by ¹³⁷Cs γ rays in vivo.

Key words: purple sweet potato, polysaccharide, ¹³⁷Cs γ rays, radioprotection

收稿日期: 2009-09-20

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD27B06)。

* 通信作者: 吕晓玲(1960-), 女, 安徽巢湖人, 教授, 博士生导师, 主要从事食品科学、农产品贮藏与加工研究。

Email: lxling@tust.edu.cn

紫甘薯原产于美洲热带地区,是旋花科甘薯属多年生植物^[1]。生长环境范围广、容易栽培。其根块及茎叶中含有丰富的蛋白质、维生素和矿物质等营养成分,具有抗突变和抗氧化、缓解肝功能障碍及抗肿瘤等保健功能^[2]。研究表明,紫甘薯含有丰富的花青素以及多糖等活性物质,多糖类物质具有良好的抗辐射作用。医学界已将其列为抗癌蔬菜之列^[3]。近年来,世界范围内的放射性污染程度在不断扩大,放射疗法在肿瘤治疗中的广泛应用,辐射在矿产等资源探测中的不断使用等,都给生物界带来了潜在的、慢性的副作用和急性伤害^[4]。寻求无毒副作用的天然药物,防止辐射引起的病变已成为热门课题。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验用紫甘薯多糖由作者所在实验室自行制备,制备方法如下:紫甘薯原料购自辽宁葫芦岛。将紫甘薯切片60℃烘干研成粉末,加体积分数75%乙醇除杂,50℃水浴提取3h,过滤后残渣重复水提,合并两次滤液,离心除去不溶物,上清液经闪蒸浓缩后以其3倍体积的乙醇沉淀多糖,冻干后得紫甘薯多糖粗品。将粉末复溶后,滤去不溶物,滤液加Sevage液脱蛋白,浓缩水层,冻干得紫甘薯多糖,总多糖质量分数为84.2%。

1.2 主要仪器

XDS倒置显微镜, THERMO酶标仪, 电子恒温水浴锅, 台式高速离心机, 真空冷冻干燥机。

1.3 实验动物

ICR小鼠, 雄性, 6~8周龄, 体重18~22g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组设计 将实验用的18~20g的雄性ICR种小鼠随机分为5组(每组10只):对照组(蒸馏水0.1mL/10g)、¹³⁷Cs γ 射线模型组(蒸馏水0.1mL/10g)、低剂量组(多糖200mg/kg)、中剂量组(多糖400mg/kg)、高剂量组(多糖800mg/kg)。

1.4.2 动物处理 实验用小鼠均在标准室温和湿度下饲养7d后, 每日灌胃一次, 各组小鼠给药剂量同前。连续给药30d后, 除对照组外, 其它各组均以¹³⁷Cs γ 射线单次全身均匀照射, 照射强度为4Gy, 照射剂量率为 2.299×10^2 C/(kg·min)。照射后继续给药, 剂量同前。第3d时眼眶内眦取血一次。照后14d实验各组小鼠称重后, 取血计白细胞数。

处死小鼠, 取胸腺、脾组织称重, 脾放入Bouin's染液中24h, 肝和肾组织用匀浆机匀浆, 离心取上清进行实验, 胸骨骨髓涂片进行骨髓细胞微核实验。

1.4.3 实验项目和指标检测

1) 外周血白细胞数计数 分别将各组小鼠眼眶取血, 以1%体积分数盐酸稀释摇匀, 血球计数板计白细胞数($\times 10^9$ /L)。

2) 小鼠胸腺系数、脾脏系数的测定 以小鼠胸腺、脾脏的重量除以小鼠体重, 得到胸腺系数和脾脏系数(mg/g)。

3) 油镜下检测小鼠骨髓细胞微核率(GB15193.5-2003) 取小鼠胸骨骨髓, 涂于有小牛血清的玻片上混匀后推片。涂片于空气中自然干燥后, 用甲醇溶液固定10min, 晾干。Giemsa应用液染色10~15min, pH6.8的磷酸二氢钾磷酸氢二钠缓冲液冲去染色液, 晾干, 中性树脂封片保存。油镜下观察微核的出现率。骨髓嗜多染红细胞呈灰蓝色, 微核大多呈边缘光滑的圆形, 呈紫红色或蓝紫色。每只小鼠计数1000个嗜多染红细胞, 观察其中有微核的细胞数。血清相较于生理盐水而言能提供一定的黏度, 利于推片且细胞分散较好, 再则制片干燥较快^[5]。

4) 脾结节计数^[6] 脾结节计数有内源性及外源性脾结节法。采用内源性脾结节法。Bouin's染液的制备: 过滤后饱和苦味酸75mL, 加入体积分数40%甲醛25mL, 最后再加入冰醋酸5mL混合即为所需染液。将脾放入染液中固定24h, 之后用70%乙醇溶液冲洗至无黄色为止。

5) 超氧化物歧化酶(SOD)的测定 按南京建成生物工程研究所试剂盒说明操作, 采用的方法是黄嘌呤氧化酶法。

6) 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的测定 按南京建成生物工程研究所试剂盒说明操作。

7) 过氧化氢酶(CAT)的测定 按南京建成生物工程研究所试剂盒说明操作。

8) 丙二醛(MDA)的测定 按南京建成生物工程研究所试剂盒说明操作。

2 结果与讨论

2.1 外周血白细胞数计数

辐射对血液和骨髓造血系统的影响是放射生物学研究的一个重要领域。造血系统损伤程度直接关系到辐射剂量的估算及辐射损伤的估算、治疗和预后^[7]。由于造血干细胞对辐射具有很高的敏感性, 受照后造血干细胞急剧减少, 使外周血中成

熟血细胞来源匮乏,故外周血中白细胞数会降低^[8]。照前各组小鼠间外周血白细胞数(WBC)并无显著差异,说明紫甘薯多糖不会影响正常小鼠 WBC 数。辐射后,与对照组相比较,¹³⁷Cs γ 模型组小鼠 WBC 数量明显下降,差异有显著统计学意义($p < 0.01$),说明辐射损伤模型成功。和模型组比较,照后第 3 d,中剂量紫甘薯多糖组的 WBC 显著增加($p < 0.01$),照后第 14 d 时,各剂量组 WBC 呈增加趋势,与对照组相比均有显著性差异($p < 0.05$),说明紫甘薯多糖能够抑制¹³⁷Cs γ 辐射所致的白细胞总数下降,对机体造血系统的损伤有一定的保护作用。结果见表 1。

表 1 紫甘薯多糖对辐射小鼠外周血白细胞的影响

Tab. 1 Protective effect of polysaccharide from purple sweet potato on white blood cells count in mice after irradiation

组别	白细胞数($\times 10^9/L$)		
	照射前	照后第 3 d	照后第 14 d
对照组	5.87 \pm 0.87	5.85 \pm 1.18	5.74 \pm 0.32
¹³⁷ Cs γ 模型组	5.75 \pm 1.14	1.9 \pm 0.28 ^A	0.89 \pm 0.23 ^A
高剂量组	5.62 \pm 0.92	2.64 \pm 0.43 ^b	2.82 \pm 0.79 ^b
中剂量组	5.24 \pm 1.12	3.04 \pm 0.48 ^B	2.42 \pm 0.72 ^b
低剂量组	5.54 \pm 1.07	1.95 \pm 0.36	1.34 \pm 0.80

$n = 10$, Mean \pm S. D. ^A $p < 0.01$ vs 对照组, ^B $p < 0.01$ vs 模型组, ^b $p < 0.05$ vs 模型组

2.2 致突变试验

采用比较有代表性的骨髓细胞微核试验,骨髓细胞对放射线十分敏感,受到损伤后可在分子水平发生损伤,可以引起染色体畸变、细胞微核增加^[9]。检测结果表明,紫甘薯多糖高、中剂量组小鼠骨髓细胞的微核率虽然仍高于对照组,但和¹³⁷Cs γ 模型组相比较,差异有统计学意义($p < 0.01$),并具有剂量依赖性,说明紫甘薯多糖对辐射损伤的突变病变有一定的保护作用。结果见表 2。

表 2 紫甘薯多糖对辐射小鼠骨髓细胞微核率的影响

Tab. 2 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the micronucleus rates in mice bone marrow

组别	微核率/ %
对照组	0.57 \pm 0.79
¹³⁷ Cs γ 模型组	18.71 \pm 4.54 ^a
高剂量组	8.86 \pm 3.63 ^b
中剂量组	10.71 \pm 1.80 ^b
低剂量组	15.14 \pm 2.79

$n = 10$, Mean \pm S. D. ^a $p < 0.01$ vs 对照组, ^b $p < 0.01$ vs 模型组

2.3 免疫功能试验——小鼠胸腺系数、脾脏系数

胸腺和脾脏是机体参与免疫功能调节的重要的免疫器官,是辐射高敏感的细胞群。一般情况下,机体受辐射后其胸腺系数、脾脏系数都会下降,机体免疫功能降低^[10]。实验表明,紫甘薯多糖可使小鼠脾脏系数、胸腺系数显著升高,并有一定剂量依赖性,各剂量组脾脏系数、胸腺系数与¹³⁷Cs γ 模型组相比较,差异有显著统计学意义($p < 0.05$),说明紫甘薯多糖可抗¹³⁷Cs γ 辐射而保护脾脏、胸腺,提高机体的免疫功能。结果见表 3。

表 3 紫甘薯多糖对辐射小鼠胸腺指数和脾指数的影响

Tab. 3 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the spleen and thymus indices of the mice after irradiation

组别	脾脏指数/ (mg/g)	胸腺指数/ (mg/g)
对照组	3.52 \pm 0.37	1.16 \pm 0.13
¹³⁷ Cs γ 模型组	1.28 \pm 0.23 ^a	0.78 \pm 0.07 ^a
高剂量组	2.24 \pm 0.26 ^{cd}	1.03 \pm 0.18 ^{cd}
中剂量组	1.88 \pm 0.27 ^b	0.98 \pm 0.10 ^b
低剂量组	1.67 \pm 0.18 ^b	0.88 \pm 0.04 ^b

$n = 10$, Mean \pm S. D. ^a $p \leq 0.01$ vs 对照组, ^b $p \leq 0.01$ vs 模型组, ^c $p < 0.05$ vs 模型组, ^d $p < 0.01$ vs 低剂量组, ^e $p < 0.05$ vs 中剂量组

2.4 脾结节计数

CFU-S 测试是最早、最经典的造血干细胞的测试手段。脾结节(CFU-S)是动物受到低于致死量射线照射后,体内存活的小量造血干细胞在脾中增殖、分化,最后生成一定数量和大小不等的脾集落。脾结节计数可间接反映残存造血干细胞的增殖分化能力,提示骨髓辐射损伤的重建恢复能力,是观察抗辐射药物的可靠方法^[11]。实验表明,照后第 14 d,脾脏逐渐形成脾结节,随着高、中、低剂量的增加,脾结节数有所增加,并且和模型组相比均有极显著差异($P < 0.01$),存在一定的剂量依赖性。结果见表 4。

表 4 紫甘薯多糖对辐射小鼠脾结节数(CFU-S)的影响

Tab. 4 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the number of spleen colony forming cells (CFU-S)

组别	脾结节数/ 个
对照组	0
¹³⁷ Cs γ 模型组	2.83 \pm 1.93
高剂量组	77.17 \pm 9.20 ^A
中剂量组	66.33 \pm 7.39 ^{Ab}
低剂量组	58.83 \pm 6.18 ^{Ab}

$n = 10$, Mean \pm S. D. ^a $p < 0.01$ vs 模型组, ^b $p < 0.05$ vs 高剂量组

2.5 紫甘薯多糖对辐射小鼠 SOD 活性的影响

如表 5 可见, 辐射模型组小鼠的血清、肾及肝组织中的 SOD 活性与对照组相比都显著减低($p < 0.01$), 可见辐射模型建造成功。各剂量组与模型组相比差异都有统计学意义。说明紫甘薯多糖能够在一定程度上抵抗辐射对小鼠血清及肝肾组织中 SOD 活性的破坏。

表 5 紫甘薯多糖对辐射小鼠血清、肾脏及肝脏 SOD 活性的影响

Tab. 5 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the SOD activity in the blood serum, kidney and liver

组别	血清 SOD/ (U/mg)	肾 SOD/ (U/mg)	肝 SOD/ (U/mg)
对照组	371.31 ± 24.11	118.15 ± 7.66	115.33 ± 11.04
¹³⁷ Cs-γ 模型组	234.74 ± 28.39 ^a	55.90 ± 13.42 ^a	52.57 ± 5.89 ^a
高剂量组	288.85 ± 38.12 ^b	108.17 ± 9.75 ^b	101.43 ± 8.76 ^b
中剂量组	348.52 ± 60.91 ^b	103.17 ± 5.85 ^b	97.85 ± 7.48 ^b
低剂量组	291.41 ± 34.63 ^b	81.03 ± 5.51 ^b	79.06 ± 6.35 ^b

$n=10$, Mean ± S. D. ^a $p < 0.01$ vs 对照组, ^b $p < 0.01$ vs 模型组, ^b $p < 0.05$ vs 模型组

2.6 紫甘薯多糖对辐射小鼠 CAT 活性的影响

如表 6 可见, 紫甘薯各剂量组的 CAT 活性和辐射模型组相比都有显著差异, 并且高剂量组的紫甘薯多糖对血清、肾及肝组织中 CAT 活性的提高最为显著($p < 0.01$)。说明紫甘薯能够提高小鼠 CAT 活性。

表 6 紫甘薯多糖对辐射小鼠血清、肾脏及肝脏 CAT 活性的影响

Tab. 6 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the CAT activity in the blood serum, kidney and liver

组别	血清 SOD/ (U/mg)	肾 SOD/ (U/mg)	肝 SOD/ (U/mg)
对照组	4.23 ± 0.22	65.59 ± 8.18	147.32 ± 18.61
¹³⁷ Cs-γ 模型组	1.44 ± 0.24 ^A	10.39 ± 0.59 ^A	85.24 ± 8.04 ^A
高剂量组	3.19 ± 0.26 ^B	25.98 ± 4.63 ^B	135.21 ± 19.90 ^B
中剂量组	2.74 ± 0.32 ^B	23.78 ± 2.16 ^B	105.21 ± 8.53 ^B
低剂量组	2.18 ± 0.31 ^B	20.16 ± 3.63 ^B	98.43 ± 6.56 ^B

$n=10$, Mean ± S. D. ^A $p < 0.01$ vs 对照组, ^B $p < 0.01$ vs 模型组, ^B $p < 0.05$ vs 模型组

2.7 紫甘薯多糖对辐射小鼠 GSH px 活性的影响

如表 7 可见, 紫甘薯多糖剂量组能够显著提高肝、肾组织中因辐射降低的 GSH-px 活性($p < 0.01$)。

表 7 紫甘薯多糖对辐射小鼠肾脏及肝脏 GSH px 活性的影响

Tab. 7 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the GSH px activity in the kidney and liver

组别	肾 GSH-px/U	肝 GSH-px/U
对照组	1196.44 ± 52.98	1267.28 ± 112.36
¹³⁷ Cs-γ 模型组	242.69 ± 43.01 ^a	289.42 ± 50.91 ^a
高剂量组	1724.06 ± 162.08 ^b	798.60 ± 114.12 ^b
中剂量组	743.39 ± 146.87 ^b	797.57 ± 85.17 ^b
低剂量组	564.61 ± 60.49 ^b	468.38 ± 21.34 ^b

$n=10$, Mean ± S. D. ^a $p < 0.01$ vs 对照组, ^b $p < 0.01$ vs 模型组

2.8 紫甘薯多糖对辐射小鼠 MDA 含量的影响

由表 8 可见, 紫甘薯多糖可以明显减低辐射小鼠的 MDA 含量, 其中中剂量多糖降低血清中 MDA 最为明显($p < 0.01$), 高剂量组多糖能够最为显著地减低肾、肝组织中的 MDA 含量。

表 8 紫甘薯多糖对辐射小鼠血清、肾脏及肝脏 MDA 含量的影响

Tab. 8 Effect of polysaccharide from purple sweet potato on the MDA in the blood serum, kidney and liver

组别	MDA/(nmol/mg)		
	血清	肾	肝
对照组	7.79 ± 0.39	2.44 ± 0.41	1.91 ± 0.25
¹³⁷ Cs-γ 模型组	9.99 ± 0.14 ^a	4.86 ± 0.87 ^a	3.92 ± 0.69 ^a
高剂量组	7.94 ± 0.94 ^b	2.49 ± 0.60 ^b	2.45 ± 0.32 ^b
中剂量组	7.76 ± 0.39 ^b	3.03 ± 0.75 ^b	2.72 ± 0.84 ^b
低剂量组	7.99 ± 0.70 ^b	3.11 ± 0.77 ^b	2.94 ± 1.26 ^b

$n=10$, Mean ± S. D. ^a $p < 0.01$ vs 对照组, ^b $p < 0.01$ vs 模型组, ^b $p < 0.05$ vs 模型组

3 结 语

由实验结果可以看出, 口服紫甘薯多糖能够在一定程度上抑制因辐射引起的白细胞下降, 能够增加受照小鼠 CFU-S 的数量, 提示紫甘薯多糖辐射小鼠的保护作用在一方面可能是通过促进骨髓造血干细胞的分化、增殖而实现的, 也就是说对造血系

统能够起到保护以及一定恢复作用;紫甘薯多糖能够降低骨髓微核率,说明在一定程度它能够抑制辐射所致的突变病变;紫甘薯多糖抗辐射损伤的机理还可能与它提高小鼠体内抗氧化物酶的活性,减少氧自由基的产生,抑制脂质过氧化反应有关;同时与保护细胞膜结构,刺激胸腺和脾脏的增殖有关。

经文献查新,目前尚未见紫甘薯多糖具有抗辐射损伤作用的研究报道。紫甘薯多糖的成本不高,紫甘薯本身就是可食资源,因而具有开发成抗辐射等保健食品的价值和前景。但目前还需要大量的研究工作要做。

参考文献(References):

- [1] 叶小利,李学刚,李坤培.紫色甘薯多糖对荷瘤小鼠抗肿瘤活性的影响[J].西南师范大学学报:自然科学版,2005,30(2):333-336.
YE Xiaoli, LI Xuegang, LI Kunpei. Effect of polysaccharide in purple sweet potato on the antitumor activity of cancer bearing mice[J]. *Journal of Southwest China Normal University: Natural Science*, 2005, 30(2): 333-336. (in Chinese)
- [2] 汪维云.灰树花多糖的抗辐射作用研究[J].安徽农业大学学报,2003,30(2):210-212.
WANG Weiyun. Anti radiation effect of grifola frondosa polysaccharide[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2003, 30(2): 210-212. (in Chinese)
- [3] 方忠祥,张愨,蔡本利,等.辅色素对杨梅汁色泽短期稳定性的影响[J].食品与生物技术学报,2005,24(3):61-65.
FANG Zhongxiang, ZHANG Min, CAI Benli, et al. Effects of copigments on the color stability of bayberry (*myrica rubra*) juice during short time storage[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 24(3): 61-65. (in Chinese)
- [4] 樊黎生,龚晨睿,张声华.黑木耳多糖抗辐射效应的动物实验[J].营养学报,2005,27(6):525-526.
FAN Lisheng, GONG Chenrui, ZHANG Shenghua. Study on radioprotective effects of the polysaccharide from *Auricularia auricula* in Mice[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2005, 27(6): 525-526. (in Chinese)
- [5] GB15193.5-2003
- [6] Goel HC, Prasad J, Singh S, et al. Radioprotection by a herbal preparation of *Hippophae rhamnoides* RH 3, against whole body lethal irradiation in mice [J]. *Phytomedicine*, 2002, 9(1): 15-25.
- [7] Gray JL. Measurement of lipid oxidation[J]. *Oil Chem Soc*, 1978(55):539-545.
- [8] 龚晨睿,刘睿,王玉娥,等.原花青素复合制剂对辐射损伤的保护作用研究[J].食品科学,2008,29(6):412-414.
GONG Chenrui, LIU Rui, WANG Yirui, et al. Study on protective action of proanthocyanidins on radiation damage[J]. *Food Science*, 2008, 29(6): 412-414. (in Chinese)
- [9] 让蔚清,李东阳.烹调油烟对小鼠骨髓细胞染色体畸变率和微核率影响的研究[J].衡阳医学院学报,1997,25(4):331-333.
- [10] Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells[J]. *Radiat Res*, 1961, 14: 213-222.
- [11] 陈家佩.辐射血液学基础与临床[M].北京:军事医学科学出版社,2002.

(责任编辑:朱明)