

文章编号: 1005-8982(2015)36-0031-04

·论著·

海带多糖对超重环境下微波辐射损伤的防治*

姜艳霞, 吕士杰, 徐俊杰, 罗军, 张巍
(吉林医药学院 生化教研室, 吉林 吉林 132013)

摘要:目的 探讨海带多糖对超重环境下微波辐射损伤的防治作用。方法 制作大鼠超重环境下微波损伤模型,通过灌胃给予 20 mg/ml 海带多糖(低剂量组)和 40 mg/ml 海带多糖(高剂量组),观察防护效果。结果 血浆中超氧阴离子在模型组显著低于对照组($P < 0.05$),低剂量海带多糖组和高剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)在模型组与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$),高剂量组及低剂量组显著高于对照组($P < 0.05$)。过氧化氢酶(CAT)在模型组显著低于对照组($P < 0.05$),而低剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-POX)在模型组与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$);高剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。一氧化碳(NO)、一氧化碳合酶(NOS)和还原型谷胱甘肽(GSH)在模型组、低剂量海带多糖组和高剂量组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。在肝组织匀浆中,过氧化氢酶(CAT)在模型组降低,但与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);在低剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。NOS 在模型组显著高于对照组($P < 0.05$),但低剂量组和高剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。GSH-POX 在模型组显著低于对照组($P < 0.05$)。GSH 在模型组显著高于对照组($P < 0.05$),低剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 海带对超重微波的过氧化损伤的防护的调节可能通过 CAT 及 GSH-POX 的清除和增强还原型 GSH 的抗氧化来实现,具体机制有待进一步研究。

关键词: 海带多糖;微波辐射;超重环境;过氧化;过氧化氢酶

中图分类号: R151;R14

文献标志码: A

Prevention and treatment effects of laminarin on overoxidation damage of rats induced by microwave radiation under supergravity*

Yan-xia JIANG, Shi-jie LYU, Jun-jie XU, Jun LUO, Wei ZHANG

(Department of Biochemistry, Jilin Medical College, Jilin, Jilin 132013, P.R. China)

Abstract: [Objective] To research prevention and treatment effects of laminarin on overoxidation damage of microwave radiation in rats under supergravity. [Methods] The rat model of microwave damage under supergravity was made. The rats were given 20 mg/ml (lower-dose group) or 40 mg/ml laminarin (high-dose group) by intragastric administration and the protective effects were observed. [Results] The plasma superoxide anion was significantly lower in the model group than in the control group ($P < 0.05$), but not significantly different between either the lower-dose or high-dose group and the control group ($P > 0.05$). MDA and SOD were not obviously different between the model group and control group ($P > 0.05$). MDA and SOD in the lower-dose and high-dose groups were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Catalase (CAT) decreased significantly in the model group compared with the control group ($P < 0.05$). GSH-POX had a significant difference between the model group and control group ($P < 0.05$), but no significant difference between the high-dose group and the control group ($P > 0.05$). NO, NOS and GSH in the model group, lower-dose group and high-dose group were significantly different from those in the control group ($P < 0.05$). In liver homogenate CAT decreased in the model group, but had no obvious difference from that in the control group

收稿日期:2015-03-29

* 基金项目:吉林省科技厅项目(No:201015238)

($P > 0.05$). GSH-POX was significantly lower in the model group than that in the control group ($P < 0.05$). GSH was significantly higher in the model group than in the control group ($P < 0.05$), but was not significantly different between the lower-dose group and the control group ($P > 0.05$). 【Conclusions】 Laminarin regulation to overoxidation damage of microwave radiation under supergravity could clear reactive oxygen species by CAT and GSH-POX and increase GSH antioxidation power. The concrete mechanism needs further study.

Key words: laminarin; microwave radiation; supergravity; overoxidation; CAT; GSH-POX

海带,是海藻类植物之一,因其生长在海水中,柔韧似带而得名。海带是一种在低温海水中生长的大型海生褐藻植物,一般长 2~4 m,最长达 7 m,是一种药食两用海洋植物。海带有“长寿菜”、“海上之蔬”、“含碘冠军”的美誉。海带主要是自然生长,也有人工养殖,多以干制品行销于市,质量以色褐、体短、质细而肥厚者为佳。中医认为,海带性味咸寒,具有软坚、散结、消炎、平喘、通行利水、祛脂降压等功效,并对防治矽肺病有较好的作用。另外海带还具有防治甲状腺肿、降压、降脂、抑制肿瘤^[1]、提高免疫力^[2]、降糖、利尿、消肿、预防心脑血管病、消除乳腺增生、护发、补钙、美容、防癌、延缓衰老、减肥及减轻肾纤维结节等作用^[3]。海带含有 40 多种活性成分,主要成分多为海带多糖、褐藻酸、甘露醇、维生素、氨基酸和多种常量及微量元素等。海带能促使体内的放射性物质随大便排出体外,从而减少放射性物质在人体内的积聚,减少了放射性疾病的发生几率,有研究显示^[4-6]海带多糖对 γ -射线的辐射损伤具有防治作用,本文对海带多糖对超重条件下微波辐射的损伤防护进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

还原型谷胱甘肽(GSH)、一氧化氮(NO)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-POX)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、一氧化氮合酶(NOS)和超氧阴离子均为南京建成试剂公司产品。721 型分光光度计(上海第三仪器厂),HH-B11-500-S 电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂),用 TD25-WS 多管架自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),乙醇及冰醋酸均为分析纯。

1.2 海带多糖

由课题组成员应用海带自行提取,提取方法见文献^[9-10]。

1.3 动物分组

健康清洁型(Wistar)大鼠 48 只,购自吉林大学白求恩实验动物中心;随机分成 4 组,12 只/组,雌

雄各半。各组分别为对照组;超重环境下微波辐射组(模型组);治疗组,治疗组分 20 mg/ml 海带多糖组(低剂量组)和 40 mg/ml 海带多糖组(高剂量组)。模型组、低剂量组和高剂量组首先进行超重微波辐射,然后模型组和对照组用蒸馏水灌胃,低剂量组和高剂量组给予海带多糖灌胃,1 次/d,灌胃 14 d。

1.4 实验方法

自制微波照射装置,照射时将大鼠置于自制有机玻璃盒内,不含金属物质矩形喇叭天线置于被照大鼠的正上方,照射参考点为大鼠背部体表,电磁波电场方向与大鼠的长轴平行。两组动物用同一饲料平行饲养 5 d 后,实验先在 8G 超重环境下 5 min 后,接着在 8G 超重环境下实施 200 mW/cm² 的微波辐射 5 min,然后把动物撤离超重和微波辐射条件。实验结束后,10%水合氯醛腹腔麻醉,开腹,腹主动脉采血并置于 37℃ 恒温水浴箱静置 15 min,用 TD25-WS 多管架自动平衡离心机以 3 000 r/min 离心 15 min,取其上层血清,按试剂盒说明书操作测定各项指标。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件进行数据分析,通过方差分析和 q 检验进行比较分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 海带多糖对超重条件下微波辐射大鼠血浆中 NO、MDA、超氧阴离子和 SOD 的影响

一氧化氮(NO)在模型组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);在低剂量组、高剂量组与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。丙二醛(MDA)在低剂量组和高剂量组与对照组及模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),高剂量组与低剂量组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而模型组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。超氧阴离子在模型组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),在低剂量组和高剂量组与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

超氧化物歧化酶(SOD)在模型组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),高剂量组及低剂量组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 海带多糖对超重条件下微波辐射大鼠血浆中 CAT、NOS、GSH-POX 和还原型 GSH 的影响

CAT 在模型组和高剂量组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),在低剂量组与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。NOS 在模型组、低剂量组和高剂量组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),低剂量组和高剂量组与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。GSH-POX 在模型组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),低剂量组与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。GSH 在模型组、低剂量组及高剂量组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),但模型组、低剂量组及高剂量组之间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 海带多糖对超重条件下微波辐射大鼠肝匀浆 CAT、NOS、GSH-POX 和还原型 GSH 的影响

在肝组织匀浆中,CAT 在模型组比对照组降低,但差异无统计学意义($P>0.05$),在低剂量组和高剂量组与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。NOS 在模型组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。GSH-POX 在模型组与对照组比较差异有统计

表 1 海带多糖对超重条件下微波辐射大鼠血浆中 NO、MDA、超氧阴离子和 SOD 的影响检测 ($\bar{x} \pm s$)

组别	NO/ (μ mol/L)	MDA/ (nmol/ml)	超氧阴离子/ (u/L)	SOD/ (u/ml)
对照组	3.54 ± 0.46	5.54 ± 1.59	102.17 ± 7.38	153.38 ± 4.34
模型组	2.58 ± 0.44 ¹⁾	5.61 ± 1.48	89.9 ± 7.09 ¹⁾	157.43 ± 4.17
低剂量组	3.94 ± 0.48 ²⁾	8.99 ± 1.66 ¹⁾²⁾	104.64 ± 7.70 ²⁾	162.82 ± 4.76 ¹⁾
高剂量组	4.22 ± 0.47 ²⁾	7.70 ± 1.53 ¹⁾²⁾³⁾	102.45 ± 7.48 ²⁾	168.27 ± 4.17 ¹⁾²⁾

注:1)与对照组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$;3)与低剂量组比较, $P<0.05$

表 2 海带多糖对超重条件下微波辐射大鼠血浆中 CAT、NOS、GSH-POX 和还原型 GSH 的影响检测 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CAT/ (u/ml)	NOS/ (u/ml)	GSH-POX/ (μ mol/L)	还原型 GSH/ (mg/L)
对照组	85.44 ± 17.55	17.23 ± 1.74	1 040.82 ± 79.67	2.04 ± 0.28
模型组	54.86 ± 18.33 ¹⁾	13.88 ± 1.59 ¹⁾	1 155.99 ± 74.63 ¹⁾	1.23 ± 0.27 ¹⁾
低剂量组	78.09 ± 19.22 ²⁾	9.42 ± 1.84 ¹⁾²⁾	1 240.00 ± 81.13	1.40 ± 0.30 ¹⁾
高剂量组	61.60 ± 16.86 ¹⁾	10.08 ± 1.53 ¹⁾²⁾	1 104.05 ± 77.67	1.36 ± 0.29 ¹⁾

注:1)与对照组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$;3)与低剂量组比较, $P<0.05$

学意义($P<0.05$),低剂量组和高剂量组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。GSH 在模型组与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),高剂量组与模型组和低剂量组比较差异有统计学意义($P<0.05$),与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 海带多糖对超重条件下微波辐射大鼠肝匀浆 CAT、NOS、GSH-pox、还原型 GSH 的影响检测 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CAT/ (u/mg·prot)	NOS/ (u/mg)	GSH-POX/ (u/g·prot)	还原型 GSH/ (mg/g·prot)
对照组	703.11 ± 79.07	68.80 ± 7.58	3 398.45 ± 682.33	1.41 ± 0.56
模型组	663.28 ± 69.73	82.39 ± 5.99 ¹⁾	2 687.47 ± 638.26 ¹⁾	2.14 ± 0.49 ¹⁾
低剂量组	760.40 ± 73.96 ²⁾	72.29 ± 8.48	4 350.21 ± 672.35	1.85 ± 0.52
高剂量组	838.63 ± 60.39 ²⁾	76.16 ± 6.92	3 214.69 ± 544.31	1.24 ± 0.42 ¹⁾²⁾³⁾

注:1)与对照组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$;3)与低剂量组比较, $P<0.05$

3 讨论

生物体在代谢过程中可生成具有强氧化成分的超氧阴离子、过氧化氢和羟自由基等反应活性氧(reactive oxygen species,ROS),可引起蛋白质、DNA 等各种生物大分子的氧化损伤,甚至破坏细胞的正常结构和功能,X 射线及 γ -射线的致癌作用可能与这些射线促进自由基的生成有关。本实验中超氧阴离子在模型组与对照组比较差异有统计学意义,在低剂量组和高剂量组与对照组比较差异无统计学意义,可能是超重条件下微波辐射损伤启动了机体的应激抗损伤机制,导致超氧阴离子降低。

正常情况下生物体含有抗氧化防御系统,可以清除或协助清除超氧阴离子、过氧化氢和羟自由基,以保持超氧阴离子、过氧化氢和羟自由基的生成和清除的动态平衡。SOD 是生物体内主要的抗氧化酶,是超氧阴离子清除剂,对机体的氧化和抗氧化平衡起到至关重要的作用;CAT 和 GSH-POX 可以清除生物体内代谢产生的过氧化氢或者由 SOD 降解超氧阴离子过程中产生过氧化氢。SOD 在模型组与对照组改变不明显,与丛建波等^[10]的研究结果接近,在低、高剂量组与对照组比较有显著升高,海带多糖有增强机体的抗氧化作用^[12-13]。GSH-POX 在模型组与对照组比较差异有统计学意义;低剂量组与模型组差异有统计学意义。CAT 在超重条件下模型组与对照组有显著差异,而低、高剂量组比模型组升高,低剂量组与对照组差异不明显,可见在超重微波组

体内各种来源的过氧化氢增高,消耗CAT,而海带多糖有升高CAT的作用,促进过氧化氢的清除。GSH-POX在清除过氧化氢时需要GSH提供氢,进行还原反应,所以GSH在保护细胞膜结构和功能完整方面具有重要作用,它是一种低分子清除剂,缺乏或耗竭GSH会使许多化学物质或环境因素毒性作用加重。本实验血清中GSH在模型组显著低于对照组,与丛建波^[1]等的研究结果接近,低、高剂量组对GSH含量改变不明显,说明在超重微波条件下,为了清除产生的过氧化物质,消耗了GSH,可能与氧化损伤有关,因而GSH的含量减少说明模型组的抗氧化能力下降,而海带多糖短时间内没有修复GSH的再生能力。

NO是生物体内重要的信使分子和效应分子,由L-精氨酸在NOS的催化下降解为瓜氨酸过程中产生,生理状态下,NO发挥神经递质及血管调节等功能。NOS广泛分布于体内多种组织和细胞,病理状态下可导致机体的脂质过氧化损伤。NO在模型组显著低于对照组,影响了NO作为神经递质的调控和对血管的舒张作用,在低剂量组、高剂量组恢复到正常水平。NOS在模型组与对照组有显著差异,低、高剂量组与模型组差异显著,可能是因为NOS的损伤和减少,导致超重微波条件下NO的合成减少,而海带多糖没有修复NOS的能力。丙二醛MDA为氧自由基和生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物。MDA在超重微波组与正常对照组差别不明显,可能是由于组织中的过氧化损伤较轻,血中数值改变不明显。

肝脏是机体清除活性氧的门户,活性氧过量生成和机体抗氧化能力下降,可引起肝细胞损害。在肝组织匀浆中,CAT在模型组降低,与陈耀明^[14]等的研究结果接近,在低、高剂量海带多糖组与正常组接近。谷胱甘肽氧化酶在模型组显著低于对照组,可能在清除过氧化损伤过程被消耗所致。NOS在模型组显著高于与对照组,可能导致NO在肝脏的合成增多,进而导致肝的脂质过氧化损伤。GSH在模型组显著高于与对照组,与杨瑛杰等^[15]的实验结果一致,高剂量组与对照组比较差异无统计学意义,可能是超重条件下微波辐射导致肝脏的过氧化损伤,应激反应造成GSH的升高,血清中GSH的减少,可能是其他器

官发生了严重氧化损伤。综上所述,海带对超重微波的过氧化损伤的防护可能是体内的过氧化氢的产生过多,通过CAT的清除和还原型GSH的抗氧化的调节来实现,具体机制有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] AKRAMIENE D, ALEKSANDRAVICINE C, GRAZELIENE G, et al. Potentiating effect of beta-glucans on photodynamic therapy of implanted cancer cells in mice. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*[J]. 2010, 220(4): 299-306.
- [2] PANKRATOV TA. Acidobacteria in microbial communities of the bog and tundra lichens[J]. *Microbiology*, 2012, 81(1): 51-58.
- [3] ZHANG C, GAO J, ZHANG L. Effect of laminarin on the expression of GRP78 and GRP94 in rat after unilateral ureteral obstruction [J]. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 2012, 46(4): 267-272.
- [4] 罗琼,任世成,杨明亮,等.海带多糖对睾丸受辐射雄性大鼠性功能的影响[J].*营养学报*,2009,31(3):259-262.
- [5] 刘军,罗琼,杨明亮,等.海带多糖干预对慢性电离辐射损伤后雄性大鼠生殖功能的影响[J].*食品科学*,2010,31(7):293-296.
- [6] 罗琼,吴晓旻,杨明亮,等.海带多糖的抗辐射作用与淋巴细胞凋亡关系研究[J].*营养学报*,2004,2(6):471-473.
- [7] 刘军,罗琼,阎俊,等.海带多糖对慢性局部电离辐射致大鼠睾丸细胞损伤的干预效应研究[J].*营养学报*,2011,33(1):61-65.
- [8] 李菁菁,罗琼,周银柱,等.多糖联合作用对辐射大鼠睾丸组织损伤恢复影响[J].*中国公共卫生*,2011,27(11):1450-1453.
- [9] 王承志,吕士杰,芦晓静,等.正交试验法优选海带多糖的最佳提取工艺[J].*安徽农业科学*,2011,39(35):21778.
- [10] JIANG YX, LV SJ, LU XJ, et al. Orthogonal test design for optimization of the technology of laminarin from laminaria japonica aresch[J]. *World Automation Congress*, 2012: 1-4.
- [11] 丛建波,张清俊,王长振,等.高功率脉冲微波辐射对小鼠机体氧化应激及巨噬细胞氧耗的影响 [J]. *军事医学科学院院刊*, 2009, 33(3): 213-215.
- [12] CHENG D, LIANG B, LI M. Influence of laminarin polysaccharides on oxidative damage[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 48(1): 63-66.
- [13] NOH MY, JO YH, PARK CH, et al. Cloning and induction patterns of Cu/Zn superoxide dismutase in responses to immune elicitors and nucleopolyhedrovirus in the beet armyworm *Spodoptera exigua*[J]. *Entomological Research*, 2010, 40(6): 336-342.
- [14] 陈耀明,陈景元,刘秀红,等.补锌对微波辐射大鼠脑组织氧化损伤的影响[J].*第四军医大学学报*,2005,26(5):444-446.
- [15] 杨瑛杰,于蕾,季宇彬.2450MHz微波对受孕母鼠血清自由基的影响[J].*中国伤残医学*,2010,18(1):31-33.

(张西倩 编辑)