

[文章编号] 1000-2200(2004)02-0113-03

·基础医学·

大豆异黄酮对大鼠血脂和抗脂质过氧化作用的探讨

庄颖, 赵红, 张玉媛, 马孺林, 韩慧

[摘要] 目的: 以喂养高胆固醇饲料造成高脂血症(HC)的大鼠为研究对象, 观察大豆异黄酮(SI)对大鼠血脂水平及体内过氧化状态的影响。方法: 50只Wistar大鼠随机分为5组, 分别接受基础饲料、高脂饲料及高脂饲料分别添加大豆异黄酮30 mg/kg、90 mg/kg和270 mg/kg处理。实验6周。结果: 高剂量SI显著抑制高脂饲料所致的血浆低密度脂蛋白升高($P < 0.01$)。SI对进食高脂饲料引起的体内脂质过氧化物升高具有拮抗作用, 并可提高谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的抗氧化活性($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。结论: SI对高甘油三酯有降低作用, 并能改善高脂所致体内异常的过氧化状态, 减轻对机体的过氧化损伤。

[关键词] 大豆异黄酮; 过氧化脂质类; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] S565.1; Q591.5 [文献标识码] A

Influence of soybean isoflavone on the fat level and anti-lipid peroxides in rats

ZHUANG Ying, ZHAO Hong, ZHANG Yu-yuan, MA Ru-lin, HAN Hui

(Department of Hygiene, Bengbu Medical College, Anhui 233003, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of soybean isoflavone(SI) on the fat level and lipid peroxides in rats. **Methods:** Fifty wistar rats were randomly divided into five groups and fed on foundation feed high fat feed, and high fat feed mixed with 30 mg/kg, 90 mg/kg and 270 mg/kg soybean isoflavone respectively. The experiment lasted for 6 weeks. **Results:** SI could obviously inhibit the rise of low density lipoprotein (LDL) induced by high fat feed in the plasma ($P < 0.01$). SI had preventive effect on the rise of lipid peroxide induced by feed and it improved the activity of GSH-px, SOD and CAT ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). **Conclusions:** SI can decrease the hypertriglyceride, improve the abnormal oxidization caused by high fat feed, and alleviate the lesion due to peroxidation.

[Key words] soybean isoflavone; lipid peroxides; rats

研究发现, 大豆中的异黄酮具有降血脂和抗氧化作用, 可预防动脉粥样硬化的发生。常食大豆对预防癌症和心血管疾病的发生、增进人体健康有益。而植物雌激素是一类广泛存在于自然界中具有雌激素活性的物质, 而以大豆中含量最高。大豆异黄酮(SI)就是其中一种, 具有多种生物活性, 能阻止胆固醇氧化和抑制血小板凝聚, 阻止平滑肌细胞增殖和抑制血管平滑肌收缩等作用而受到人们的关注^[1]。近年来, 开始探索SI的生理抗氧化作用, 发现SI具有清除超氧阴离子自由基和过氧化氢能力。新近资料显示, SI及其代谢产物尚能阻抑低密度脂蛋白的氧化修饰作用^[2], 该作用对动脉粥样硬化的防治具有重要意义。本研究采用高胆固醇膳食诱导大鼠高血脂, 观察SI在体内的作用为认识SI对血脂代谢

及体内过氧化状态的影响提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与设备 大豆异黄酮制品购自广东省惠州市绿源保健品有限公司, 紫外分光光度法测得总异黄酮含量为40%; 生物化学试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 试剂批号为: 20031205。其余为生物分子学常用设备。

1.2 动物分组及饲养 选择体重(200±20)g的Wistar大鼠50只(购自河南医科大学医学实验动物中心, 合格证为医动字第410116号), 雌雄各半, 以基础饲料喂饲适应两周后, 采尾血测定血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)值, 按大鼠血清胆固醇水平和性别随机分成5组, 每组10只, 雌雄各半。对照组(A)喂以普通标准饲料, 试验组(E)给予含1%胆固醇、20%猪油及10%蛋黄粉的饲料。低剂量大豆异黄酮组(B)、中剂量大豆异黄酮组(C)、高剂量

[收稿日期] 2003-12-22

[基金项目] 蚌埠医学院科研项目(by306)

[作者单位] 蚌埠医学院 卫生学教研室, 安徽 蚌埠 233003

[作者简介] 庄颖(1954-), 女, 山东郓城人, 副教授。

大豆异黄酮组(D),在喂饲高脂饲料的同时,分别按体重计算以 30 mg/kg、90 mg/kg 和 270 mg/kg 大豆异黄酮每天下午 3 时连续灌胃 21 天。所有动物按雌雄分笼喂养,自由采食与饮水。

1.3 动物饲养及处置 实验期间观察记录生长与进食情况,每周称重一次,试验期 6 周,于实验第 6 周末摘除眼球采血后脱臼处死,分离血清以备用。

1.4 观测指标及方法 采用全自动生化分析仪(Olympus, Au2700)测定血清中 TG、TC 和低密度脂蛋白(LDL)和脂蛋白(LPa)含量,血清中丙二醛(MDA)含量测定按硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)法进行。超氧化物歧化酶(SOD)采用黄嘌呤氧化酶法测定,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-px)采用二硫代二硝基苯甲酸法测定,而过氧化氢酶(catalase, CAT)则用钼酸铵可见光法测定。

1.5 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

高脂饲料组动物血清中 TC 比对照组明显升高($P < 0.01$),而高脂饲料并添加 SI 的实验组间 TC 变化不明显($P > 0.05$),但均高于对照组($P < 0.05 \sim P < 0.01$),说明 SI 拮抗血清中的胆固醇作用不明显;高脂饲料引起大鼠血浆中 TG 水平显著升高($P < 0.01$),而在高脂饲料的同时添加 SI 对血中 TG 没有明显改变($P > 0.05$);高脂动物血清中 LDL 比添加高剂量 SI 的实验组明显升高($P < 0.01$),说明高剂量 SI 抑制大鼠血浆中 LDL 水平的作用明显,而低、中剂量 SI 组作用不明显;添加 SI 的实验组 LP(a)变化不明显($P > 0.05$),但低剂量 SI 组低于高脂饲料组($P < 0.05$)。大豆异黄酮对大鼠血清中血脂水平的变化见表 1。血清中 MDA 及抗氧化酶类的变化见表 2。

表 1 大豆异黄酮对大鼠血清中血脂水平的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	Tc(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL(mmol/L)	LP(a)(mg/L)
A	10	1.69±0.24	0.93±0.43	0.50±0.14	20.90±4.68
B	10	2.19±0.46*	1.32±0.60	1.31±0.35**	13.70±3.27 Δ
C	9	2.70±0.60**	1.38±0.64	1.55±0.66**	13.67±6.36
D	10	2.70±0.30**	1.88±0.98*	0.66±0.15 $\Delta\Delta$	16.50±8.29
E	8	2.97±0.64**	1.97±0.60*	1.83±0.35**	23.76±10.59
F	—	11.42	3.74	21.65	3.72
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05
MS _{组内}	—	0.214	0.461	0.139	48.101

q 检验:与对照组(A)比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与高脂饲料组(E)比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

表 2 大豆异黄酮对大鼠血清中 MDA 及抗氧化酶类的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	MDA(nmol/ml)	GSH-px(u/ml)	SOD(u/ml)	CAT(u/ml)
A	9	2.19±4.28	314.78±98.26	97.22±9.57	12.19±4.28
B	10	5.65±2.22 $\Delta\Delta$	595.75±12.85 $\Delta\Delta$	108.86±3.19 $\Delta\Delta$	5.65±2.22**
C	9	9.86±3.08 Δ *	586.44±12.36 $\Delta\Delta$	104.98±2.93 $\Delta\Delta$	9.86±3.08 $\Delta\Delta$
D	10	2.54±2.02 $\Delta\Delta$	380.60±15.08**	105.51±7.76 $\Delta\Delta$	9.54±2.02 $\Delta\Delta$
E	8	13.92±2.72**	377.02±10.55*	89.78±8.89*	3.92±2.72**
F	—	25.19	78.57	10.68	11.48
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	8.666	2 018.884	48.491	8.666

q 检验:与对照组(A)比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与高脂饲料组(E)比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3.1 SI 的降血脂作用 大豆异黄酮具有降低 LDL 颗粒体积和防止 LDL 过度氧化的作用。异黄酮通过这种作用减少脂肪在冠状动脉壁沉积,从而减少粥样硬化发生率。本实验发现,高脂动物血清中 LDL 比添加高剂量 SI 的实验组明显升高($P < 0.01$),说明高剂量 SI 抑制大鼠血浆中 LDL 水平的作用明显。另有研究发现,酯化的大豆异黄酮更容易并入 LDL,以发挥其抗氧化作用^[3]。

3.2 SI 的抗氧化作用 本研究发现,大豆异黄酮可以抑制 MDA 的生成,给予 SI 的各剂量组的 MDA 均低于高脂动物组($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。LPO 是氧与多不饱和脂肪酸(PUEAs)作用所形成的一类活性物质,广泛参与体内的脂类代谢与免疫活化反应,若体内 LPO 含量过多,其代谢产物 MDA 和共轭二烯等活性毒副物质就会产生过多,造成对细胞膜的脂质过氧化损伤。而大豆异黄酮可直接捕捉和清除超氧阴离子自由基等自由基和过氧化氢,通过对其起一种氢原子供体的作用而阻断和终止自由基连锁反应链,而阻止和抑制氧自由基反应和脂质过氧化反应病理性加剧,抑制 LPO 及其代谢产物 MDA 和共轭二烯等毒副物质的生成^[4]。实验还发现给予 SI 的实验组抗氧化指标均高于单纯高脂组($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。说明 SI 对大白鼠所致高脂血症是有拮抗作用且能改善体内的脂质过氧化状态。目前已发现许多种氧自由基清除剂或抑制剂,其作用机制有的是直接提供电子使氧自由基还原,有的是增强抗氧化酶活性迅速消灭自由基。如超氧化物歧化酶和过氧化氢酶,就是存在于人体的正常组织中的清除氧自由基的重要酶系统。过氧化氢酶(CAT)又称触酶,是一广谱酶,主要与细胞内线粒体与过氧化氢酶结合,能迅速分解细胞代谢中产生的毒性物质 H_2O_2 ,减少自由基的生成。过氧化氢酶活

10-羟基喜树碱联合热疗对肝癌协同杀伤作用的研究

祝子华¹, 祝金泉²

[摘要] 目的: 研究 10-羟基喜树碱(HCPT)联合热疗对肝癌细胞有无协同杀伤作用, 为临床应用提供实验依据。方法: 人肝癌细胞株 SMMC-7721 进行细胞培养、传代, 实验分成四组: (1)单纯热疗组; (2)单纯 HCPT 组; (3)热疗与 HCPT 联合组; (4)对照组, 各组分别进行实验, 用 MTT 法测定各组对细胞的杀伤作用。结果: 单纯热疗显示温度 43℃、44.5℃(各 30 min)对 SMMC-7721 细胞有明显的杀伤作用($P < 0.01$), 而 40℃、41.5℃(各 30 min)对细胞杀伤作用不明显($P > 0.05$)。HCPT 对肝癌 SMMC-7721 细胞有明显杀伤作用($P < 0.01$), 呈时间依赖性和浓度依赖性($P < 0.01$)。HCPT 联合热疗对细胞的杀伤作用明显强于单纯的 HCPT 或热疗的作用($P < 0.01$)。结论: HCPT 联合热疗对肝癌细胞的杀伤有明显的协同作用。

[关键词] 肝肿瘤; 10-羟基喜树碱; 温热疗法; 协同作用

[中国图书资料分类法分类号] R 735.7 [文献标识码] A

Synergic effect of the combination of thermotherapy and 10-hydroxycamptothecine (HCPT) on hepatoma cells in vitro

ZHU Zi-hua, ZHU Jin-quan

(Department of Gastroenterology, Shanghai Pudong New Area Gongli Hospital, Shanghai 200135, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate whether the combination of thermotherapy and HCPT has a synergic effect on the hepatoma cells (SMMC-7721 cell line) in vitro. **Methods:** The experiment consists of four groups: thermotherapy, chemotherapy (HCPT), thermo-chemotherapy (chemotherapy combined with HCPT) and control group. **Results:** Thermotherapy within 30 minutes with a temperature of 43℃, 44.5℃ had an obviously inhibited SMMC-7721 cells ($P < 0.01$), while 40℃, 41.5℃ hardly had any effect on the cells ($P > 0.05$). HCPT had a great cytotoxicity effect on SMMC-7721 cells in dose and time-dependant manner ($P < 0.01$). The cytotoxicity could be enhanced when HCPT was combined with the thermotherapy ($P < 0.01$). **Conclusions:** The combination of HCPT and thermotherapy has a remarkable synergic effect on hepatoma cells.

[收稿日期] 2003-06-28

[作者单位] 1. 上海市浦东新区公利医院 消化科, 上海 浦东 200135
(本文在江西医学院完成); 2. 江西医学院第一附属医院
消化病研究所, 江西 南昌 330006

[作者简介] 祝子华(1969-), 男, 江西上饶人, 硕士, 主治医师。

[Key words] liver neoplasms; 10-Hydroxy camptothecine; thermotherapy; synergic effect

性愈低, 脂质过氧化产物愈多, 即脂质过氧化过程愈强。另外, 过氧化氢酶可防止脂质过氧化增强对细胞膜结构的破坏作用。而过氧化氢是一种毒性物质, 由于过氧化氢酶的作用使其生成水及游离的分子氧, 如果这种酶缺乏可导致细胞氧化应激升高, 从而最终导致细胞功能衰退。CAT 与 SOD、GSH-Px 构成人体重要抗氧化酶系统, 三者协同作用以减少活性氧基的产生, 防止脂质过氧化及其中间代谢产物对机体的损害, 具有十分重要的生理功能。而且它们能有效地捕捉和清除机体内过量的超氧阴离子自由基等自由基和过氧化氢等, 阻断和防止由超氧阴离子自由基所引发的一系列自由基反应的病理性加剧, 维持体内氧化和抗氧化动态平衡, 保护细胞膜免受氧化和脂质过氧化损伤, 若人体内上述抗氧化剂含量和抗氧化酶活性显著降低, 就会诱发疾病。

而大豆异黄酮可参与调节和提高体内抗氧化酶的活性, 如 SOD 是体内特异清除超氧阴离子自由基的一种抗氧化酶, 它把超氧阴离子自由基歧化生成过氧化氢, 而过氧化氢仍然具有细胞毒性, 还可以经过 Fenton 反应生成羟基自由基, 体内的 CAT 和 GSH-Px 则可以将过氧化氢转化为无任何毒性的水。

[参考文献]

- [1] 刘锦, 鲁映青, 金雀异黄素对低密度脂蛋白氧化修饰及氧化型低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞 c-myc mRNA 表达的抑制作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10(6): 509~512.
- [2] 彩拉, 陈必珍, 刘永华. 冠心病病人血清过氧化氢酶及血脂观察[J]. 内蒙古医学院学报, 2003, 25(3): 164~165.
- [3] 李燕. 大豆异黄酮的抗氧化作用及其防治疾病作用[J]. 国外医学·卫生学分册, 2001, 28(2): 100~113.
- [4] 闫祥华, 顾景范, 孙存普. 大豆异黄酮抗脂质过氧化作用及其机制初探[J]. 解放军预防医学杂志, 2000, 18(1): 14~17.