

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.15.006

大蒜提取物 *S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸对辐射损伤小鼠造血系统和抗氧化功能的防护作用*

张丰春¹, 赵斌², 杜忠海^{2△}, 尚志梅²

(1. 山东省寿光市中医医院, 山东 潍坊 262700; 2. 山东省潍坊市中医医院, 山东 潍坊 261041)

摘要:目的 探讨大蒜提取物 *S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸对辐射损伤小鼠造血系统和抗氧化功能的防护作用。方法 利用造血系统和抗氧化功能实验,小鼠全身照射至吸收剂量为 7.5 Gy 后测外周血白细胞计数(WBC)、股骨有核细胞数(BMNC)、骨髓 DNA 含量,观察小鼠肝脏中含量的变化。结果 与单纯照射组相比,照射给药中剂量组的 WBC、BMNC、骨髓 DNA 含量均显著升高,分别从 $(0.17 \pm 0.05) \times 10^9/L$, $(0.56 \pm 0.07) \times 10^6/\text{根}$, 0.21 ± 0.14 升高至 $(0.67 \pm 0.08) \times 10^9/L$, $(4.45 \pm 1.76) \times 10^6/\text{根}$, 0.58 ± 0.12 ($P < 0.05$);通过对肝脏中 MDA, GSH, CAT, T-SOD 的含量测定,发现照射前给予 SAC 能一定程度上抑制辐射引起的 MDA 升高及 GSH, CAT, T-SOD 降低的幅度 ($P < 0.05$)。结论 大蒜提取物 *S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸对辐射损伤小鼠的抗氧化功能和造血系统具有较强的防护作用。

关键词:大蒜提取物; *S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸;抗氧化;造血系统;辐射防护;小鼠

中图分类号:R932;R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)15-0018-03

Protective Effect of the Garlic Extract such as *S*-Allyl-*L*-Cysteine on Hematopoietic System and Anti-Oxidant Function in Radiation-Injured Mice

ZHANG Fengchun¹, ZHAO Bin², DU Zhonghai², SHANG Zhimei²

(1. Shouguang Hospital of TCM, Weifang, Shandong, China 262700; 2. Weifang Traditional Chinese Hospital, Weifang, Shandong, China 261041)

Abstract: Objective To investigate the protective effect of the garlic extract such as *S*-allyl-*L*-cysteine on the hematopoietic system and anti-oxidative function in radiation-injured mice. **Methods** Hematopoietic system and anti-oxidative function experiments of mice were carried out to measure the peripheral white blood cell(WBC), bone marrow nucleated cells(BMNC) and bone marrow DNA content of mice after the whole body was irradiated to the absorbed dose of 7.5 Gy γ -rays. The changes in the above indexes in the liver of mice were observed. **Results** Compared with the irradiation group, the WBC, BMNC and bone marrow DNA content of mice administered with middle dose group increased from $(0.17 \pm 0.05) \times 10^9/L$, $(0.56 \pm 0.07) \times 10^6$ per femur, 0.21 ± 0.14 to $(0.67 \pm 0.08) \times 10^9/L$, $(4.45 \pm 1.76) \times 10^6$ per femur and 0.58 ± 0.12 ($P < 0.05$). By measuring the contents of malondialdehyde(MDA), reduced glutathione(GSH), catalase(CAT) and total superoxide dismutase(T-SOD) in the liver, it was found that the administration of SAC before irradiation can inhibit the increase of MDA and the decrease of GSH, CAT and T-SOD caused by radiation to some extent ($P < 0.05$). **Conclusion** *S*-Allyl-*L*-cysteine has protective effect on the hematopoietic system and anti-oxidative function in radiation-injured mice.

Key words: garlic extract; *S*-allyl-*L*-cysteine; antioxidant; hematopoietic system; radiation protection; mice

近年来,随着我国核科学技术、核工业技术的飞速发展并在众多领域中广泛应用,导致放射源数量急剧增加。大部分肿瘤患者会接受放射治疗,会受到一定的电离辐射,引起不同程度的毒副作用,影响患者的治疗效果和生活质量^[1-3]。大蒜为百合科葱属植物大蒜 *Allium Sativum* L. 的鳞茎,所含主要具有药理活性的成分是有有机硫化合物(OSCs)^[4-8],其中天然水溶性大蒜素 SAC 有良好的抗氧化活性。*S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸(SAC)是从老化大蒜中提取的有机硫化合物,为具有药理活性的主要化合物,具有很强的抗氧化活性^[9]。童曾寿等^[10-11]对香豆素类辐射防护剂及其构效关系的研究表明,烯丙基是具有增强抗放活性的药效团。有研究^[14]通过对雌激

素化学结构修饰及药理实验发现, SAC 是具有烯丙基官能团的有机硫化合物,预测其具有良好的辐射防护作用。本研究中拟通过分析 SAC 对造血系统指标和抗氧化性指标的影响,探讨 SAC 对小鼠辐射损伤的防护作用。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:Gamma II 40 型 ¹³⁷Cs 射线照射源(加拿大原子能公司,照射剂量率 0.75 Gy/min); BX53 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司); BC-2800vet 型全自动动物血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); ZW-300 型紫外分光光度计(北京中仪远大自动

*基金项目:山东省潍坊市科学技术发展计划(卫生部分)[2014WS062]。

第一作者:张丰春,男,副主任医师,研究方向为临床急诊,(电子信箱)wfszyyie@126.com。

△通信作者:杜忠海,男,副主任医师,研究方向为肿瘤临床内科学,(电子信箱)417124446@qq.com。

化技术有限公司)。

试药: S-烯丙基-L-半胱氨酸(本实验室自行提取,纯度大于96%);注射用氨磷汀(大连美罗大药厂,国药准字H20010403,规格为每支0.4 g)。

动物: ICR 雄性小鼠,初始体质量为18~20 g,购自山东大学实验动物中心,动物实验合格证号SCXK<鲁>2003-0004,饲养环境为无特殊病原体(SPF)级实验动物房。

1.2 分组及给药方式

将50只ICR雄性小鼠分为5组,即单纯照射组,阳性对照组(注射用氨磷汀),照射给药高、中、低剂量组(1 000, 500, 250 mg/kg),每组10只。阳性对照组辐射前30 min腹腔注射氨磷汀0.2 mL(250 mg/kg)。照射组照射前3 d每天灌胃给药0.5 mL,第3次给药后1 h照射。单纯照射组、阳性对照组和照射给药组小鼠接受全身7.5 Gy照射。

1.3 观察指标及检测方法

白细胞计数(WBC):照射后第7天,摘小鼠眼球取血20 μ L,加入100 μ L EDTA-2Ka抗凝剂中,用全自动动物血液细胞分析仪检测WBC。

股骨有核细胞数(BMNC):称定小鼠质量后,颈部脱臼处死,取小鼠一侧股骨,用股骨有核细胞醋酸液(3%)反复冲洗骨髓腔,混匀,取少许滴入计数板,在电子显微镜下计算BMNC。

DNA含量测定:取小鼠另一侧股骨,用氯化钙溶液按上述方法冲洗骨髓,放置、离心、弃上清液后,加高氯酸反应液,混匀,加热,冷却,过滤,取滤液,于268 nm波长处测定吸光度(A)值。

抗氧化性指标:预防活性氧(ROS)大量产生的指标,如过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)等。通过测定受¹³⁷Cs射线全身照射小鼠肝脏中的丙二酸(MDA),T-SOD,GSH,CAT指标的变化来观察SAC对辐射所致小鼠氧化损伤的影响。采用752型spectrum紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)检测肝脏中MDA,GSH,T-SOD,CAT指标的变化,均按相关试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理

采用SPSS 11.5统计学软件分析。各组数据均以 $\bar{X} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造血系统试验结果

结果见表1。可见,与单纯照射组相比,SAC低、中、高剂量组照射小鼠各造血系统指标明显改善,尤其是中剂量组WBC、股骨有核细胞数(BMNC)和DNA含量明显提高($P < 0.05$)。提示SAC对辐射小鼠的造血系统具

有一定保护作用。

表1 SAC对辐射损伤小鼠造血系统保护的作用

组别	WBC($10^9/L$)	BMNC($10^6/根股骨$)	DNA(A)
单纯照射组	0.17 ± 0.05	0.56 ± 0.07	0.21 ± 0.14
阳性对照组	$0.72 \pm 0.21^{\#}$	$5.11 \pm 2.21^{\#}$	$0.63 \pm 0.08^{\#}$
低剂量组	0.45 ± 0.05	3.14 ± 3.01	0.36 ± 0.07
中剂量组	$0.67 \pm 0.08^*$	$4.45 \pm 1.76^{\#}$	$0.58 \pm 0.12^*$
高剂量组	0.51 ± 0.11	$4.13 \pm 2.67^*$	0.42 ± 0.06

注:与单纯照射组相比,* $P < 0.05$, $^{\#}P < 0.01$ 。表2同。

2.2 抗氧化损伤试验结果

结果见表2。与阳性对照组相比,照射后小鼠肝脏组织中MDA含量升高,照射前给予SAC能逆转其升高,尤其是中剂量组MDA含量明显降低($P < 0.05$)。与阳性对照组相比,单纯照射组小鼠肝脏组织中T-SOD,GSH,CAT的含量均降低,若照射前给予SAC处理则能不同程度地减轻其下降,尤其是中剂量组明显升高($P < 0.05$)。提示SAC能使辐射损伤小鼠机体内的各指标含量有不同程度的改善,保护机体免受过氧化损伤。

表2 SAC对辐射损伤小鼠肝脏中MDA,T-SOD,GSH,CAT的影响

组别	MDA(nmol/mL)	T-SOD(U/mg)	GSH(mg/L)	CAT(U/mg)
单纯照射组	9.11 ± 0.33	28.50 ± 4.21	33.77 ± 4.97	21.93 ± 2.56
阳性对照组	$5.16 \pm 0.10^*$	$43.85 \pm 8.34^*$	$59.01 \pm 5.43^*$	$37.42 \pm 4.86^*$
低剂量组	8.67 ± 0.38	32.37 ± 5.11	39.71 ± 3.27	23.43 ± 2.22
中剂量组	$5.24 \pm 0.27^*$	$40.54 \pm 4.47^*$	$51.42 \pm 4.98^*$	$35.86 \pm 5.14^*$
高剂量组	7.25 ± 0.43	$41.91 \pm 5.62^*$	42.38 ± 4.23	28.16 ± 3.14

3 讨论

机体的造血系统对辐射具有很高的敏感性,辐射后红细胞、白细胞、血小板等由于凋亡坏死数量迅速下降,其增殖能力也受到抑制。与骨髓造血干细胞增殖分化形成多种成熟细胞过程有关的是骨髓DNA,辐射后导致DNA双链断裂,这与辐射产生的自由基直接或间接作用DNA有关^[12]。本研究结果显示,与单纯照射组相比,SAC给药组照射小鼠的外周血WBC,BMNC,DNA含量等造血系统指标均明显提高。

辐射会导致机体产生大量的ROS等自由基,造成机体组织中细胞的过氧化损伤。正常机体内自由基的产生与清除处于平衡状态,而电离辐射破坏这种平衡,大量自由基攻击膜上的不饱和脂肪酸^[13]。本研究结果显示,辐射引起肝组织中T-SOD,GSH,CAT酶活力下降,照射前给予SAC能逆转MDA的升高,明显升高T-SOD,GSH,CAT含量,表明SAC对电离辐射引起的细胞脂质过氧化有一定缓解作用。这可能与SAC清除、抑制自由基的产生,激活肝脏防御体系中的酶促体系及非酶促体系或提高相关DNA的表达有关。

综上所述,辐射引起小鼠造血功能和抗氧化功能下降,而SAC能显著提高辐射损伤小鼠外周血WBC和