

芜菁块根汁对⁶⁰Co-γ致小鼠损伤的防护效应

钱晓薇

(温州师范学院生物环境系 浙江温州 325003)

电离辐射对生物大分子的损伤既有能量传递的直接作用,也有通过水的辐解反应大量产生自由基的间接作用。两者除时相上有别外,在损伤类型与机理等方面也有差异。自由基对DNA的损伤,主要是DNA分子中的碱基、核糖和磷酸二酯键受到自由基的攻击,造成碱基与核糖氧化、链断裂、与蛋白质交联等多种类型的损伤^[1]。芜菁(*Brassica rapa*)俗名盘菜,为十字花科芸苔属蔬菜,是浙江温州的特产。许多研究表明,蔬菜具有抗突变、抑癌变作用^[2,3];营养流行病学研究发现,经常食用新鲜的蔬菜与水果可降低肿瘤特别是消化道肿瘤的发病率^[4]。但关于蔬菜对辐射损伤的影响至今未见报道。为此本文就芜菁块根汁对⁶⁰Co-γ射线照射小鼠所致损伤的影响进行了实验,以探讨芜菁块根的防辐射作用。

材料和方法

1. 材料

芜菁由温州市蔬菜研究所提供,将芜菁块根洗净晾干后用榨汁机充分粉碎,滤得汁液(简称芜菁汁),置-20℃冷冻保存。实验动物为清洁级ICR小白鼠,体重18-22g,鼠龄6-7周,雌雄兼用,由温州医学院实验动物中心提供,合格证号为医动字第2203001。镇江利血生片由中外合资镇江吉贝尔药业有限公司生产,批号为990301。生理盐水由浙江康乐集团公司生产,批号为000324。

2. 实验分组

设正常对照组、⁶⁰Co-γ辐照组、辐照前给芜菁汁组、辐照后给芜菁汁组、辐照前后连续给芜菁汁组和辐照后给利血生片组,共6组,分别编序为I、II、III、IV、V和VI组,每组10只小白鼠,雌雄各半。

3. 辐照处理

用⁶⁰Co-γ射线一次性全身照射正常小白鼠,总剂量5.0Gy,距离75cm,照射率0.656Gy/min。由温州市肿瘤医院提供。

4. 给药途径和剂量

每日灌胃(ig)一次,每次1.0ml。I组不辐照ig生理盐水;II组辐照后ig生理盐水;III、V组辐照前ig芜菁汁5天,III组辐照后ig生理盐水,V组辐照后继续ig芜菁汁;IV组辐照后ig芜菁汁;VI组辐照后ig10%利血生片水溶液。具体见表1。

5. 测定指标

实验过程中隔天称体重,结果见表2。辐照后继续饲养至第10天测定血象、白细胞分类、胸腺及脾指数和骨髓嗜多染红细胞(PCE)的微核细胞数。小白鼠血象、免疫器官指数按文献^[5],PCE微核率测定按^[6]测定。

6. 统计方法

均采用SPSS数据处理系统进行两组均数非配对t检验。

结 果

本实验重复一次,均得到与本文相似的结果。

1. 芜菁汁对⁶⁰Co-γ照射小鼠体重的影响

由表3可以看出,组I(阴性组)小鼠体重呈增加趋势,而组II(阳性组)小鼠体重则呈减轻趋势。组III、IV、V小鼠体重均呈增加趋势,其中组V最为明显($P < 0.01$),接近于组I。组VI基本无变化。

2. 芜菁汁对⁶⁰Co-γ照射小鼠免疫器官的影响

表4显示组II小鼠胸腺重及其指数、脾脏重及其指数均明显低于组I($P < 0.001$)。组III、IV、V、VI小鼠的胸腺重及其指数、脾脏重及其指数均明显高于组II($P < 0.001$),但均低于组I。

本文2000年8月1日收到,11月6日接受。

本课题受温州市科委科研基金资助(编号:N990313)。

温州师范学院科研基金资助(编号:2000Z012)。

表1 不同组别的处理

组别	辐照前 ig	辐照	辐照后 ig
I (对照)	无	无	生理盐水
II	无	辐照	生理盐水
III	芫菁汁	辐照	生理盐水
IV	无	辐照	芫菁汁
V	芫菁汁	辐照	芫菁汁
VI	无	辐照	10%利血生片

表2 实验过程中小白鼠体重的变化(g)

组别	第一天	第三天	第五天 (辐照)	第七天	第九天	第十一天	第十三天	第十五天
I 对照			19	19	20	22	22	22
			21	21	23	24	24	23
			21	21	23	23	23	22
			21	21	24	24	24	24
			22	21	21	19	19	22
			20	20	21	23	23	23
			18	18	20	21	21	21
			20	20	21	22	22	21
			22	22	24	23	23	24
			22	22	24	25	25	24
II			21	20	21	20	21	21
			20	20	19	18	19	19
			21	20	22	21	22	21
			19	19	20	19	19	17
			21	21	23	22	23	23
			20	19	19	18	19	18
			21	20	21	21	19	17
			20	20	21	19	19	17
			19	19	19	18	19	18
			21	21	22	21	20	19
III	18	19	20	20	21	22	22	22
	20	21	22	21	22	23	23	22
	21	22	23	22	22	22	21	20
	19	20	21	21	21	22	23	22
	21	21	21	20	20	18	18	18
	21	21	21	21	22	22	23	22
	18	18	19	18	18	18	19	18
	18	19	20	20	20	22	23	22
	18	18	19	19	20	19	20	19
	19	19	19	18	19	19	19	19
IV			18	20	21	22	22	22
			21	21	21	22	23	22
			20	20	20	22	23	22
			22	22	22	23	23	23
			22	22	22	22	23	23
			18	19	19	20	19	20
			19	19	19	19	19	20
			18	19	19	20	20	20
			21	21	21	22	22	23
			20	20	19	21	21	22

组别	第一天	第三天	第五天 (辐照)	第七天	第九天	第十一天	第十三天	第十五天
V	19	21	23	22	23	22	23	23
	19	22	23	22	22	21	20	20
	19	22	23	22	23	22	22	22
	19	20	20	19	20	21	21	21
	20	21	20	20	21	21	22	21
	18	19	19	18	19	18	19	18
	19	21	20	20	20	19	19	19
	19	20	20	20	20	19	20	20
	19	20	20	20	21	21	22	22
	18	20	21	20	20	21	21	20
VI			20	20	20	20	20	20
			20	20	19	20	19	19
			20	20	19	20	20	19
			19	20	20	19	19	19
			19	19	20	20	19	20
			18	18	18	19	18	18
			20	20	20	19	20	20
			19	19	18	18	19	19
			18	18	18	19	18	18
			20	20	19	20	21	21

表 3 芫菁汁对⁶⁰Co-γ 辐照小鼠体重的影响

组别	小鼠数	开始体重	结束体重
I (对照)	10	20.5 ± 1.51	22.6 ± 1.17**
II	10	20.3 ± 0.82	19.0 ± 2.05
III	10	19.3 ± 1.34	20.4 ± 1.78
IV	10	19.9 ± 1.60	21.7 ± 1.25*
V	10	18.8 ± 0.63	20.6 ± 1.51**
VI	10	19.3 ± 0.82	19.3 ± 0.95

注:开始体重与结束体重相比, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

表 4 芫菁汁对⁶⁰Co-γ 辐照小鼠免疫器官的影响

组别	胸腺		脾脏	
	重量 (mg)	指数 (mg/10gBW)	重量 (mg)	指数 (mg/10gBW)
I (对照)	58.17 ± 5.82***	25.70 ± 1.53***	116.21 ± 7.03***	51.42 ± 1.53***
II	13.98 ± 1.05	7.38 ± 0.34	37.94 ± 2.81	20.03 ± 0.76
III	41.18 ± 2.33***	20.25 ± 0.89***	76.12 ± 5.66***	37.38 ± 1.50***
IV	45.09 ± 4.39***	20.77 ± 1.39***	73.08 ± 4.55***	33.70 ± 1.40***
V	36.244 ± 3.54***	17.57 ± 0.72***	73.95 ± 3.58***	36.00 ± 1.75***
VI	23.54 ± 3.08***	12.16 ± 1.11***	49.16 ± 5.24***	25.42 ± 1.58***

注:与阳性对照组相比, *** $P < 0.001$ 。

3. 芫菁汁对⁶⁰Co-γ照射小鼠血象的影响

表5显示组II小鼠的红细胞数、白细胞数及血小板均低于组I ($P < 0.001$), 白细胞分类中组II小鼠的淋巴也低于组I。说明本实验系统是可靠的。组III、IV、V、VI的小鼠的红细胞

数、白细胞数及血小板均高于组II, 差异都极显著 ($P < 0.001$), 但均低于组I。组III、IV、V的小鼠的淋巴细胞百分数均明显高于组II, 但均低于组I。组III、IV、V的小鼠的嗜中性粒细胞百分数均明显低于组II, 但均高于组I。

表5 芫菁汁对⁶⁰Co-γ辐照小鼠血象的影响

组别	红细胞数 RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	白细胞数 WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	血小板数 PT ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	白细胞分类计数 WBC(%)				
				N	E	B	L	M
I(对照)	11.00±1.00***	6.09±0.50***	20.05±1.64***	19.1±0.99	1.1±0.74	0.4±0.52	76.8±0.79	2.7±0.67
II	4.78±0.45	1.34±0.11	11.50±0.94	24.5±0.97	1.0±0.82	0.2±0.42	71.0±1.54	0.67±0.33
III	8.12±0.36***	2.25±0.38***	15.50±1.27***	21.3±0.82	1.6±0.70	0.3±0.48	74.0±1.54	3.0±0.47
IV	8.38±0.29***	2.36±0.21***	17.90±1.33***	21.1±1.20	1.5±0.85	0.6±0.52	73.5±2.64	3.3±1.16
V	9.98±0.38***	2.30±0.17***	17.95±1.64***	19.7±0.95	2.0±0.82	0.2±0.42	74.1±1.91	3.7±0.95
VI	9.38±0.31***	2.38±0.13***	18.46±1.29***	29.2±1.69	1.8±0.79	0.3±0.48	66.5±1.51	2.5±0.85

注: RBC, red blood cell WBC, white blood cell N, Neutrophili(嗜中性粒细胞) E, Eosirophilic(嗜酸性粒细胞) B, Baseophilic(嗜碱性粒细胞) L, Lymphocyto(淋巴细胞) M, Monocyte(单核细胞) PT, Platelet(血小板) 注: 与阳性对照组相比, *** $P < 0.001$ 。

4. 芫菁汁对⁶⁰Co-γ辐照小鼠骨髓PCE微核率的影响

由表6可见组II小鼠骨髓PCE微核率明显高于组I。组III、IV、V、VI小鼠骨髓PCE微核率均低于组II ($P < 0.001$), 抑制率分别为83.76%、90.60%、87.18%、79.49%。

表6 芫菁汁对⁶⁰Co-γ辐照小鼠骨髓PCE微核率的影响

组别	含微核的PCE数	微核率‰	抑制率%
I(对照)	20	2.0***	
II	117	11.7	
III	19	1.9***	83.76
IV	11	1.1***	90.60
V	15	1.5***	87.18
VI	24	2.4***	79.49

注: 观察PCE总数均为10000。抑制率(%) = $[(\text{MNCF of II group}) - (\text{MNCF of test group})] / \text{MNCF of II group}$ 。与阳性对照组相比, *** $P < 0.001$ 。

讨论

当小鼠受到⁶⁰Co-γ射线照射后, 其胸腺和脾脏细胞受到严重损伤, 并使免疫器官细胞坏死和凋亡。胸腺是T淋巴细胞分化、发育的场

所, 以往研究表明胸腺又是辐射的敏感器官, 一定量的辐射即可引起胸腺细胞发生死亡。小鼠在受⁶⁰Co-γ射线辐照前或后或连续ig芫菁汁可降低免疫细胞的损伤、促使受损免疫器官细胞的修复, 使体重有所增加。实验过程中隔天称量体重, 结果如表2、3所示。辐照后第十天处死小鼠, 称体重、胸腺重及脾脏重, 计算胸腺指数和脾脏指数, 结果如表4所示。表3、4中结果表明: 无论是辐照前或辐照后或连续ig一定量的芫菁汁的试验组, 小鼠的体重、免疫器官指数均明显高于⁶⁰Co-γ辐照组。由于造血细胞是一个增殖活跃的细胞群, 首先受到射线损伤; 放射损伤后, 造血功能障碍的主要原因之一, 就是射线杀伤了赖以维持造血功能的造血干祖细胞。造血干祖细胞受到辐射损伤后, 有丝分裂停止, 细胞更新中断, 反映在外周血象中各类细胞急剧下降。由表5可见小鼠在⁶⁰Co-γ射线辐照前、后或连续ig芫菁汁的试验组的红细胞、白细胞和血小板均明显高于⁶⁰Co-γ辐照组, 其中的红细胞、血小板接近正常值。辐照后, 因淋巴细胞对辐照较敏感数量急剧下降^[1], 在白细胞中所占比例较正常有所下降, 中性粒细胞下降稍慢, 所占比例反而上升。小鼠在⁶⁰Co-γ射线辐照前、后或连续ig芫菁汁的

试验组的淋巴细胞百分数均明显高于 ^{60}Co - γ 辐照组,而嗜中性粒细胞则明显低于 ^{60}Co - γ 辐照组。结果说明茺菁汁不仅能对 ^{60}Co - γ 辐射所致的血象损伤具有明显的防护效应,而且对辐射损伤的造血组织也有明显的修复作用。电离辐射会引起遗传物质的损伤。故小鼠受到 ^{60}Co - γ 照射后骨髓PCE的微核率明显升高。由表6可见,小鼠在辐照前、后或连续ig茺菁汁的试验组中,其PCE微核率均明显低于 ^{60}Co - γ 辐照组,说明茺菁汁具有抑制电离辐射诱发的PCE的微核效应,其抑制率分别为83.76%、90.60%、87.18%。

自由基在疾病发生发展中的意义日益受到人们重视,并从不同途径研究降低体内自由基水平的措施。机体为防止自由基的过量累积,具有一整套的清除防御系统。该体系的功能在相当程度上有赖于摄入营养素的合理平衡。许多蔬菜和水果具有清除超氧负离子的效应^[7]。蔬菜水果具有的抗氧化活力是其降低肿瘤发病率的可能机理^[8,9]。维生素E、C和B₂胡萝卜素是重要的抗氧化剂。VE及脂化的VE能减少DNA的损害^[10]。B-胡萝卜素可减轻有机自由基的损伤作用^[11]。通过补充维生素E、C和B₂胡萝卜素,可以有效地降低H₂O₂所致的DNA损伤^[12]。茺菁是十字花科的蔬菜,关于其块根成分分析尚未见报道。但十字花科的大头菜含有硫胺素、核黄素、尼克酸、抗坏血酸(维C)、维E及对人体有益的微量元素如铁、钾、钙、锌、硒等,还具有18种氨基酸^[13]。同属的甘蓝中含有二硫酚硫酮及吲哚-3-甲醇,动物实验表明,前者可抑制肿瘤生长,减少辐射损伤,后者能增强对致癌物的抵抗力^[14]。据此我们推测茺菁汁中可能含有维C、硒、二硫酚硫酮等与大头菜、甘蓝相似的成分。茺菁汁所具防辐射效应,我们认为与其可能有的成分维生素、某些微量元素及其他活性成分有关,更可能是其所特有的某些有效成分协同作用的结果。为开发利用温州茺菁(盘菜)资源,需进一步分析茺菁汁的成分、深入研究其抗辐射的机制。

摘 要

用清洁级ICR小鼠为实验动物,探讨茺菁块根汁对 ^{60}Co - γ 射线辐照损伤的防护和修复效应。测定血象、白细胞分类计数、脾指数、胸腺指数和小鼠PCE的微核试验等方法。结果表明:辐照前给茺菁汁组、辐照后给茺菁汁组和连续给茺菁汁组分别使小鼠体重、免疫器官指数、血象、PCE微核率等明显高于 ^{60}Co - γ 辐照组,其中免疫器官指数、红细胞、白细胞和血小板、PCE微核率等数据与 ^{60}Co - γ 辐照组的差异极为显著($P < 0.001$)。说明茺菁块根汁对小鼠机体造血和免疫系统受到电离辐射损伤时不仅具有明显的防护作用,而且对辐射损伤具有一定的修复作用。

关键词:茺菁块根汁 辐射损伤 防护 ^{60}Co - γ 射线

参 考 文 献

- [1]夏寿萱主编,1998,放射生物学:29-31.
- [2]El-Mofy M M., 1994, 国外医学卫生学分册, 21(4):249-252.
- [3]薛颖等,1996,营养学报,18(3):338-341.
- [4]Demirer T, et al., 1990, *Cancer*, 65:2344-2347.
- [5]汪谦主编,1998,现代医学实验方法:1049-1052.
- [6]黄幸纾等主编,1985,环境化学致突变致畸致癌试验方法:203-207.
- [7]潘碧霞等,1993,上海第二医科大学学报,13(3):210-213.
- [8]Weinstein I B, 1991, *Cancer Research* (suppl), 51:5080-5083.
- [9]张细志等,1991,营养学报,12(2):191-193.
- [10]Knekt P, Aromaa R A., Matela J, et al., 1991, *Am J Clin Nutr*, 53:283s-286s.
- [11]Micozzi M S, Brown E D, Edwards B K, et al., 1992, *Am J Clin Nutr*, 55:1120-1125.
- [12]马爱国等,1999,中华预防医学杂志,33(1):16-19.
- [13]王光亚主编,1998,食物成分表(全国分省值):29. 人民卫生出版社.
- [14]程剑华等,1997,抗癌植物药及其验方:10. 江西科学出版社.

PROTECTIVE EFFECTS OF *BRASSICA RAPA* JUICE ON RADIO-DAMAGE OF MOUSE

QIAN Xiao Wei

(Department of Biology, WenZhou Teacher's College, WenZhou, 325003 China)

ABSTRACT

We studied protection and repairation of *Brassica rapa* juice on radio-damage mouse induced by $^{60}\text{Co}\gamma$ -rays. The measurement of hemogram of mice, the classification of WBC, the measurement of the weight of spleens and chest glands and micronucleus test were used. The result showed that the *Brassica rapa* juice irrigated after radiation or before radiation or before and after radiation was significantly effective in curing the decrease of white blood cell, red blood cell and platelet from $^{60}\text{Co}\gamma$ -radiation. The *Brassica rapa* juice could also protect normal immune function of spleen and thymus of mice and increase the immunocyte number. The *Brassica rapa* juice could apparently reduce micronucleus of PCE induced by $^{60}\text{Co}\gamma$ -rays in bone marrow of mice. The conclusion was the *Brassica rapa* juice could remarkably protect and repair the injury radiated with $^{60}\text{Co}\gamma$ -rays. So the *Brassica rapa* juice has efficient capacity of antiradiation and repairation the injury of radiation. The possible mechanism of antiradiation of *Brassica rapa* juice was discussed.

Key words: The *Brassica rapa* juice Radiation damage Protection $^{60}\text{Co}\gamma$ -rays

实验技术

漏出液用于外周血淋巴细胞培养

肖桂芝 马晓明 宁志芬

(承德医学院生物学教研室 承德 067000)

细胞培养技术已广泛应用于基础理论研究,染色体疾病的检测与诊断,多种物质的毒性检测及生物制品的研制等各个领域^[1]。以往培养外周血淋巴细胞均采用 M199、MEM、RP-MI1640 等合成培养基,这些培养基多由国外进口,价格昂贵,不利于基层及经济条件较差的单位开展工作。我们试用肝硬化病人漏出液(transudate)培养 30 例人外周血淋巴细胞获得了理想的结果,现介绍如下:

材料与方 法

1. 主要试剂

M199 为美国 GIBCO 产品,PHA 为广州医药工业研究所产品,秋水仙胺、肝素钠为上海化学试剂厂产品,小牛血清为浙江产。

2. 漏出液的采集与除菌

肝硬化病人的漏出液,无菌条件下用 G₅ 或 G₆ 玻璃砂芯漏斗抽滤除菌,冰冻保存备用。

3. 培养基的配制

实验组用同一个体的漏出液,方法及分组见表 1。

表 1 培养液配制与分组(100ml)

组别	培养液 (ml)	小牛血 清(ml)	pH	PHA (mg/ml)
I	漏出液 80	20	7.0-7.2	0.08
II	漏出液 90	10	7.0-7.2	0.08
III	漏出液 100	0	7.0-7.2	0.08
IV(对照)	M199 80	20	7.0-7.2	0.08

4. 细胞培养与标本制备

随机抽取 30 名健康献血员静脉血,肝素抗凝,每 5ml 培养液中接全血 0.3ml,同时按文献^[2]做淋转实

本文 2000 年 1 月 21 日收到,5 月 8 日接受。