

# 萝卜过氧化物酶对小鼠机体抗氧化作用的研究

王歌<sup>1,2</sup>, 刘伟<sup>1</sup>, 王一帆<sup>1</sup>, 王丽<sup>1</sup>, 王林嵩<sup>1\*</sup>

(1. 河南师范大学生命科学学院, 河南新乡 453007; 2. 新乡医学院基础医学院, 河南新乡 453003)

**摘要:**目的 探索新的抗氧化剂。方法 研究萝卜过氧化物酶(POD)对小鼠肝、脾和肾脏超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)的影响。结果 用不同剂量的 POD 处理后,可以提高肝、脾和肾的 SOD、GSH-Px 的活性,减低丙二醛的含量。结论 萝卜过氧化物酶可以提高机体的抗氧化能力。

**关键词:** 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 丙二醛

中图分类号: Q554; Q814.9; Q95-33 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083(2010)03-0395-03

## Studies on Antioxidation of Radish Peroxidase in Mice

WANG Ge<sup>1,2</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, WANG Yi-fan<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, WANG Lin-song<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan Province 453007, China;

2. Medical Teaching Institute, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan Province 453003, China)

**Abstract: Objective** To explore new antioxidant. **Methods** The effect of radish peroxidase as an antioxidant from different tissues of mice was observed by measuring activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and content of malony dialdehyde(MDA). **Results** All doses of radish peroxidase could significantly enhance the activities of both SOD and GSH-Px, whereas effectively reduce MDA content in liver. **Conclusion** Radish peroxidase showed antioxidant function in mice.

**Key words:** peroxidase; superoxide dismutase; glutathione peroxidase; malony dialdehyde

自由基是人体生命活动中多种生化反应的中间代谢产物,在正常情况下处于产生与清除的动态平衡中。若因某些原因导致外源性自由基引入,或体内自由基产生过多,超出机体调节能力,氧化与抗氧化之间失衡,产生自由基连锁反应,诱发脂质过氧化作用,生成过氧化脂质。自由基及过氧化脂质的分解产物如 MDA(申兆菊等,1999),能使蛋白质分子内和分子间交联,发生去氢、加成、裂解等反应(王素敏等,1997),DNA 的双股螺旋交联则出现复制错误等,进而引起 DNA 损伤、基因突变,使正常细胞转化为增殖分化异常的癌细胞(王明臣等,1999)。测试 MDA 的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度,间接地反映出细胞损伤的程度。抗氧化酶是机体抗氧化防御系统中重要的组成部分,主要包括 SOD 和 GSH-Px 等(李传云,2004)。检测组织中 SOD 和 GSH-Px 活力,则能够了解机体清除自由基的能力。

正常生理情况下,自由基在体内不断生成,又不断地被清除,维持着动态平衡,少量自由基的生成是机体维持正常新陈代谢所必需的。但是,过量的自由基会引起广泛的损伤效应,可造成蛋白质、核酸、

脂类、糖类等生物大分子结构与功能的改变,从而导致许多临床疾病的发生(郑荣梁等,2007)。机体内有一套清除自由基的酶系(如 SOD 和 GSH-Px),使得生理条件下体内自由基处于低浓度动态平衡,但因某种因素使得自由基产生过多或清除自由基能力下降时,适当补充外源性抗氧化剂或给予能使机体内源性自由基清除剂恢复到一定水平的药物,可有效改善与自由基过多有关的疾病(Pezzuto,1997)。

萝卜,尤其是心里美萝卜中含有丰富的 POD。POD 能够清除超氧阴离子自由基,从而防止过量自由基对机体造成的损害(Poulsen *et al.*, 1998)。过氧化物酶作为一种天然的抗氧化剂,经动物实验已证实具有降血脂(Wang *et al.*, 2002)和抗肿瘤(Kim *et al.*, 2004)等作用,因此在药品和保健食品方面具有广泛的应用前景。本研究以心里美萝卜过氧化物酶为材料,通过动物实验进一步探讨其功效,为萝卜过氧化物酶作为保健食品的开发提供理论依据和实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期:2009-08-31 接受日期:2009-10-08 基金项目:国家自然科学基金项目(30570135)

\* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wls@henannu.edu.cn

**1.1.1 受试物的提取与制备** 萝卜过氧化物酶由本实验室提纯制取,比活性为  $8 \times 10^6$  U/g, RZ 值为 1 (Wang *et al.*, 2004)。

**1.1.2 试验动物** 清洁级昆明种小鼠,由河南师范大学动物房提供。

**1.2 方法**

**1.2.1 动物处理** 选用昆明种健康小鼠 40 只,体重 18 ~ 22 g,随机分为 4 组,每组 10 只,雌雄各半。根据萝卜过氧化物酶的 LD<sub>50</sub> > 10 g/kg 体重,设置磷酸盐缓冲液阴性对照组和低、中、高 3 个剂量组,剂量分别为 1.25、2.5、5 g/kg · 体重 (1/8、1/4、1/2 LD<sub>50</sub>)。试验动物接触受试物方式为经口灌胃,灌胃量为 1 ml/20 g · 体重。每日一次,连续 30 天。第 30 天动物空腹过夜,次日摘取动物的肝肾脾等主要脏器,取适量组织制成 10% 匀浆, -20℃ 保存,用于测定 SOD、GSH-Px 活力、蛋白质和 MDA 含量。

**1.2.2 生化指标的测定** SOD 活性采用 NBT 光化还原法测定 (Beauchamp, 1971),以抑制 NBT 光化还原 50% 的酶量为一个酶活性单位;谷胱甘肽过氧化

物酶 (GSH-PX) 采用 3,5-二硫二硝基苯甲酸 (DTNB) 直接法进行测定 (夏奕明, 1987); 丙二醛 (MDA) 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法测定 (陈建勋等, 2002); 蛋白测定参照 Bradford 法 (Bradford, 1976)。

**2 结果**

**2.1 萝卜过氧化物酶对小鼠肝、肾、脾组织中 SOD 活性的影响**

表 1 结果显示,低、中、高剂量 POD 处理组小鼠肝脏中 SOD 的活性均明显高于对照组,差别均有显著性 ( $P < 0.05$ ); 与对照组相比,中剂量 POD 处理能显著提高小鼠肾脏中 SOD 活性 ( $P < 0.05$ ),而低剂量和高剂量 POD 处理组中 SOD 活性与对照组相比均有上升趋势。低、中、高剂量 POD 处理组小鼠脾脏中 SOD 活性均明显高于对照组,差别均有显著性 ( $P < 0.05$ ),低剂量组小鼠脾脏中 SOD 活性明显低于中、高剂量组 ( $P < 0.05$ )。

表 1 萝卜过氧化物酶对小鼠组织中 SOD 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 Effect of radish peroxidase on SOD in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Treatment groups	N numbers	肝脏(U/mg 蛋白) Liver (U/mg protein)	肾脏(U/mg 蛋白) Kidney (U/mg protein)	脾脏(U/mg 蛋白) Spleen (U/mg protein)
对照组 Control group	10	113.39 ± 7.50b	45.97 ± 2.39b	27.96 ± 1.91c
低剂量组 Low dose group	10	138.13 ± 3.00a	46.56 ± 2.65b	30.90 ± 1.29b
中剂量组 Middle dose group	10	143.38 ± 11.60a	50.19 ± 2.56a	33.61 ± 2.29a
高剂量组 High dose group	10	143.60 ± 9.52a	47.76 ± 1.72b	34.03 ± 1.55a

注:不同字母表示组间有显著性差异  $P < 0.05$   
Note: The different letters represented significant difference among treatments ( $P < 0.05$ )

**2.2 萝卜过氧化物酶对小鼠肝、肾、脾组织中 GSH-Px 活性的影响**

低、中、高剂量 POD 处理组小鼠肝脏中 GSH-Px 活性均明显高于对照组,差别均有显著性 ( $P < 0.05$ )。与对照组相比,中剂量能显著提高小鼠肾脏中 GSH-Px 的活性 ( $P < 0.05$ ),而低、高剂量组中 GSH-Px 活性与对照组相比有上升趋势。高剂量组小鼠脾脏中 GSH-Px 活性明显高于对照组,差别有显著性 ( $P < 0.05$ ),低、中剂量组小鼠脾脏中 GSH-Px 活性与对照组相比均有上升趋势 (表 2)。

**2.3 萝卜过氧化物酶对小鼠肝、肾、脾组织中 MDA 含量的影响**

MDA 是脂质过氧化产物,测定 MDA 的含量常可反映机体内脂质过氧化的程度。由试验结果可知,低、中、高剂量 POD 处理组小鼠肝脏中 MDA 含量均明显低于对照组且差异均有显著性 ( $P < 0.05$ )。与对照组相比,中剂量小鼠肾脏中 MDA 含量显著降低 ( $P < 0.05$ )。低、中、高剂量组小鼠脾脏中 MDA 含量均显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

表 2 萝卜过氧化物酶对小鼠各组织中 GSH-Px 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Effect of radish peroxidase on GSH-Px in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Treatments groups	N numbers	肝脏(U/mg 蛋白) Liver (U/mg protein)	肾脏(U/mg 蛋白) Kidney (U/mg protein)	脾脏(U/mg 蛋白) Spleen (U/mg protein)
对照组 Control group	10	22.28 ± 1.29b	25.72 ± 1.55b	6.80 ± 0.38b
低剂量组 Low dose group	10	27.47 ± 2.01a	26.87 ± 1.51b	7.01 ± 0.50b
中剂量组 Middle dose group	10	27.67 ± 2.84a	29.61 ± 2.61a	7.84 ± 1.16ab
高剂量组 High dose group	10	29.59 ± 2.05a	26.00 ± 1.11b	8.31 ± 0.97a

注:不同字母表示组间有显著性差异  $P < 0.05$  The note is same as Table 1

表 3 萝卜过氧化物酶对小鼠各组织中丙二醛含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 3 Effect of radish peroxidase on MDA in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Treatments groups	N numbers	肝脏(U/mg 蛋白) Liver (U/mg protein)	肾脏(U/mg 蛋白) Kidney (U/mg protein)	脾脏(U/mg 蛋白) Spleen (U/mg protein)
对照组 Control group	10	2.70 ± 0.22a	2.58 ± 0.29a	1.38 ± 0.23a
低剂量组 Low dose group	10	1.81 ± 0.20b	2.26 ± 0.40a	0.99 ± 0.06b
中剂量组 Middle dose group	10	1.85 ± 0.27b	1.76 ± 0.40b	0.89 ± 0.05bc
高剂量组 High dose group	10	1.84 ± 0.34b	2.29 ± 0.20a	0.79 ± 0.11c

注:不同字母表示组间比较有显著性差异  $P < 0.05$  The note is same as Table 1

### 3 讨论

肝脏在物质代谢、药物代谢、解毒和抗氧化过程中发挥着重要作用。研究发现,肝是脂质过氧化反应及氧化损伤的主要器官,同时肝又具有较强大的抗氧化代偿功能(冯辉,1997)。SOD 和 GSH-Px 在肝脏中含量最高。本实验结果表明萝卜过氧化物酶各剂量组与对照组相比均能显著提高小鼠肝脏中 SOD 和 GSH-PX 的活性,其作用效果随着剂量的增加有增大的趋势。同时萝卜过氧化物酶各剂量组也使肝脏中 MDA 的含量显著降低,说明萝卜过氧化物酶能够提高小鼠肝脏的抗氧化能力。

本研究表明萝卜过氧化物酶的中剂量能够显著提高肾脏中 SOD 和 GSH-Px 活性并显著降低 MDA 含量,说明对于小鼠肾脏组织来讲,中剂量的作用优于其他两剂量组。这或许与组织器官的特异性有关,其具体机制尚需进一步研究。同时实验结果显示萝卜过氧化物酶能够显著升高脾脏的 SOD 活性,并且随剂量增加其作用有增强的趋势。脾脏中 GSH-Px 活性随剂量增加有上升趋势,但是当剂量为 5 g/kg 体重时与对照组相比才达到了显著水平。萝卜过氧化物酶能显著降低脾脏中 MDA 的含量,其作用效果随剂量的增加有增强趋势。

因此,萝卜过氧化物酶提高小鼠脏器抗氧化能力的作用可能与它具有清除氧自由基的功能有关。由于萝卜过氧化物酶是经口摄入,其对内脏器官的作用可能是刺激机体所产生的间接作用,导致 SOD 和 GSH-Px 活性增加,清除氧自由基,减低脂质过氧化,引起 MDA 的含量下降。在本实验中肝脏的 SOD、GSH-Px 和 MDA 的变化远大于其他脏器,则可能与消化道内的物质经消化吸收后,首先经过肝脏,然后再到其他脏器有关。有文献报道,纯度不同的过氧化物酶,其降低高脂饮食小鼠的肝、肠组织 MDA 的作用相似(Wang *et al.*, 2002)。应用过氧化物酶后,机体所产生的抗氧化功能的改变主要是过氧化物酶引起的,其他物质起次要作用。同时实验

结果也提示,在补充功能及营养成分时,必须注意其剂量的选择,适当的剂量更易显示彼此的协同作用,过少可能无明显作用,过大可能出现不良反应。因此在保健食品的开发中要注意最佳剂量的选择问题。

### 4 参考文献

- 陈建勋,王晓峰. 2002. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社:124.
- 冯辉. 1997. 蔬菜优良品种与使用[M]. 北京:中国农业出版社.
- 李传云,李澎涛,潘彦舒,等. 2004. 牛黄、栀子配伍对大鼠局灶性脑缺血再灌注不同时段脂质过氧化损伤的影响[J]. 中国医药学报,19(9):530.
- 申兆菊,肖希龙,周宗灿. 1999. 外源性一氧化氮对大鼠肝脏抗氧化酶和药物代谢酶活性的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志,13(2):145.
- 王明臣,杨利军. 1999. 食管癌与癌前增生人群血清 Cu 和 Cu Zn-SOD 含量及其关系的研究[J]. 微量元素与健康研究,16(1):42~43.
- 王素敏,刘福英,徐增年,等. 1997. 大豆低聚糖对大鼠血脂和抗氧化作用的影响[J]. 营养学报,19(4):469.
- 夏奕明. 1987. 血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶的测定方法[J]. 卫生研究,16(4):29~31.
- 郑荣梁,黄中洋. 2007. 自由基生物学[M]. 北京:高等教育出版社:187~265.
- Beauchamp C, Fridovich I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Anal Biochem,44(2):276~287.
- Bradford MN. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding[J]. Anal Biochem,72:248~254.
- Kim DS, Jeon SE, Park KC. 2004. Oxidation of indole-3-acetic acid by horseradish peroxidase induces apoptosis in G361 human melanoma cells[J]. Cellular Sign,16:81~88.
- Pezzuto JM. 1997. Plant-Derived Anticancer Agents[J]. Biochem Pharmacol,53:121~133.
- Poulsen HE, Prieme H. 1998. Loft S Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion[J]. Eur J Cancer Prve,7(1):9~16.
- Wang LS, Burhenne K, Kristensen BK, *et al.* 2004. Purification and cloning of a Chinese red radish peroxidase that metabolise pelargonidin and forms a gene family in Brassicaceae[J]. Gene,343:323~335.
- Wang LS, Wei LQ, Wang L, *et al.* 2002. Effect of peroxidase on hyperlipidemia in mice[J]. Agri Food Chem,50:868~870.