

大豆异黄酮和皂甙对 *D*-氨基半乳糖所致肝损伤小鼠肝脏抗氧化活力的影响

尹学哲¹, 金延华¹, 王玉娇², 全吉淑²

(1. 延边大学附属医院, 吉林 延吉 133000; 2. 延边大学 医学院, 吉林 延吉 133000)

摘要:为研究大豆异黄酮和皂甙对 *D*-氨基半乳糖 (GalN) 所致小鼠急性肝损伤的保护作用以及对肝脏抗氧化活力的影响, 将试验小鼠随机分为正常组、模型组、大豆异黄酮组、大豆皂甙组及联苯双脂组 (阳性对照组)。每日给药 1 次, 连续 7 d。试验末期, 腹腔注射 GalN 建立小鼠急性肝损伤模型, 比色法检测血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、白蛋白 (ALB) 以及肝脏过氧化脂质 (LOOH)、丙二醛 (MDA)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量和超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 活性。结果表明: 大豆异黄酮和皂甙降低 GalN 所致急性肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 活性, 增高血清 ALB 水平, 减少肝 LOOH 和 MDA 含量, 升高肝组织 GSH 水平和 SOD、CAT、GPx 活性。大豆异黄酮和皂甙对 GalN 所致小鼠急性肝损伤具有保护作用, 其机制可能与抗氧化作用有关。

关键词:大豆; 异黄酮; 皂甙; 肝损伤; 抗氧化

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2014)01-0139-03

Effects of Soy Isoflavones and Saponins on Hepatic Anti-oxidative Activity of Mice with Acute Liver Injury Induced by *D*-galactosamine

YIN Xue-zhe¹, JIN Yan-hua¹, WANG Yu-jiao², QUAN Ji-shu²

(1. Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, China; 2. Medical College of Yanbian University, Yanji 133000, China)

Abstract: For the purpose of studying the protective effect of soy isoflavones and saponins on acute liver injury induced by *D*-galactosamine (GalN) in mice, the experimental mice were randomly assigned to the normal control, model control, soy isoflavone, saponin and bifendate (positive control) groups. Animals were treated once daily for 7 days. GalN were given intraperitoneally to the mice of groups, and then the alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB), lipid hydroperoxide (LOOH), malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) were detected by the colorimetric method. The administration with soy isoflavones and saponins reduced the serum ALT and AST activities, increased the serum ALB level, decreased the hepatic LOOH and MDA contents, and increased the SOD, CAT, GPx and GSH levels of liver in mice with acute liver injury. It is suggested that soy isoflavones and saponins have protective effects on acute liver injury induced by GalN in mice, probably *via* anti-oxidative activity.

Key words: Soy; Isoflavones; Saponins; Liver injury; Anti-oxidative

大豆异黄酮和皂甙主要存在于大豆胚轴中, 具有增强机体免疫、抗氧化、抗癌和防治心血管疾病等药理作用^[1-5]。近年来的研究表明, 大豆异黄酮和皂甙对肝脏脂质过氧化损伤具有抑制作用, 对多种损伤因素引起的肝损伤和肝纤维化具有保护作用^[3-5]。本试验利用 *D*-氨基半乳糖 (GalN) 所致小鼠化学性肝损伤模型, 观察大豆异黄酮和皂甙的抗肝脏氧化应激作用, 旨在为大豆在肝病防治中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物与试剂 大豆异黄酮和皂甙 (纯度 ≥

80%) 购于华北制药股份有限公司; GalN 购自 Sigma 公司; 联苯双脂购于北京协和药厂; 白蛋白 (ALB)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 及蛋白质测试盒购于南京建成科技有限公司; 过氧化脂质 (LOOH) 测试盒购于日本协和公司。

1.1.2 仪器设备 3-30K 型离心机 (德国 Sigma 公司); S22PC 型分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 将 50 只雄性昆明小鼠

收稿日期: 2013-08-05

基金项目: 国家自然科学基金 (30360113, 81160539)。

第一作者简介: 尹学哲 (1962-), 男, 博士, 教授, 主要从事分子肿瘤学研究。E-mail: yinxz@ybu.edu.cn。

通讯作者: 全吉淑 (1968-), 女, 硕士, 教授, 主要从事中药药理学研究。E-mail: quanjs@ybu.edu.cn。

(体质量为 22 ~ 26 g)随机分为正常组、模型组、大豆异黄酮组、大豆皂甙组和联苯双脂组(阳性对照组)。大豆异黄酮组和大豆皂甙组小鼠按 200 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃,联苯双脂组按 100 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃,正常组及模型组小鼠则以等体积生理盐水灌胃,每日 1 次,连续 7 d。末次给药 1 h 后,除正常组腹腔注射无菌生理盐水外,其余各组小鼠腹腔注射给予 500 mg·kg⁻¹ GalN。造模期间禁食,不禁水。

1.2.2 血清及肝组织生化指标测定 造模 24 h 后处死小鼠,分离血清,检测小鼠血清 ALT、AST 活性和 ALB 含量。迅速取出肝组织,4℃ 裂解肝细胞,离心取上清。按照各测试盒操作方法测定 SOD、CAT、GPx、GSH、LOOH、MDA 水平。

1.2.3 数据分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 11.5 统计软件进行 *t*-检验和方差分析。

2 结果与分析

2.1 大豆异黄酮和皂甙对急性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 活性和 ALB 含量的影响

如表 1 所示,与正常组比较,模型组小鼠血清 ALT、AST 活性显著升高($P < 0.05$),ALB 含量显著减少($P < 0.05$),表明小鼠急性肝损伤模型制备成功。大豆异黄酮组、大豆皂甙组和联苯双脂组小鼠血清 ALT、AST 活性与模型组小鼠比较显著降低($P < 0.05$),ALB 含量显著增高($P < 0.05$),表明大豆异黄酮和皂甙对 GalN 所致小鼠急性肝损伤具有保护作用。大豆异黄酮组、大豆皂甙组对血清 ALT 活性的抑制率分别为 41% 和 37%,AST 活性的抑制率分别为 78% 和 63%,ALB 含量的提高率为 62% 和 57%,接近或高于水飞蓟素组的 36%、85% 和 75%,说明二者的保肝活性基本接近于联苯双酯。

表 1 大豆异黄酮和皂甙对小鼠血清 ALT、AST 和 ALB 水平的影响

Table 1 Effect of soy isoflavones and saponins on ALT,AST and ALB levels of serum in mice with liver injury

组别 Group	剂量 Dose/mg·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALB/g·L ⁻¹
正常 Control	-	61.7 ± 10.9	82.4 ± 15.3	36.7 ± 4.1
模型 Model	-	221.6 ± 31.5 *	172.5 ± 18.4 *	26.2 ± 3.0 *
异黄酮 Isoflavones	200	155.9 ± 17.7 #	102.6 ± 13.5 #	32.7 ± 3.6 #
皂甙 Saponins	200	162.8 ± 20.4 #	115.3 ± 19.2 #	32.2 ± 3.1 #
联苯双脂 Bifendate	100	164.3 ± 23.5 #	94.7 ± 16.5 #	34.2 ± 3.3 #

($\bar{x} \pm s$), $n = 10$; 与正常组比较, *: $P < 0.05$; 与模型组比较, #: $P < 0.05$; 下同。

($\bar{x} \pm s$), $n = 10$; Compared with control, *: $P < 0.05$; Compared with model, #: $P < 0.05$; The same below.

2.2 大豆异黄酮和皂甙对急性肝损伤小鼠肝组织脂质过氧化水平的影响

如表 2 所示,与正常组比较,模型组小鼠肝匀浆 LOOH 和 MDA 含量显著增高($P < 0.05$),说明 GalN

引起小鼠肝组织氧化应激。大豆异黄酮和皂甙较模型组可降低小鼠肝匀浆 LOOH 和 MDA 水平,降低小鼠肝组织氧化应激水平。

表 2 大豆异黄酮和皂甙对肝损伤小鼠肝组织 LOOH 和 MDA 的影响

Table 2 Effects of soy isoflavones and saponins on hepatic LOOH and MDA levels in mice with liver injury

组别 Group	剂量 Dose/mg·kg ⁻¹	LOOH/μmol·g ⁻¹	MDA/μmol·g ⁻¹
正常 Control	-	4.07 ± 0.43	2.02 ± 0.34
模型 Model	-	7.41 ± 0.82 *	3.35 ± 0.54 *
异黄酮 Isoflavones	200	5.59 ± 1.03 #	2.54 ± 0.46 #
皂甙 Saponins	200	4.87 ± 1.15 #	2.71 ± 0.56 #
联苯双脂 Bifendate	100	4.95 ± 0.86 #	2.32 ± 0.35 #

2.3 大豆异黄酮和皂甙对急性肝损伤小鼠肝组织抗氧化活力的影响

如表 3 所示,与正常组比较,模型组小鼠肝匀浆 SOD、CAT、GPx 和 GSH 水平显著降低($P < 0.05$),

说明 GalN 所致急性肝损伤小鼠肝脏抗氧化能力显著降低。大豆异黄酮和皂甙可回升急性肝损伤小鼠肝匀浆 SOD、CAT、GPx 活性和 GSH 含量,提高肝组织抗氧化活力($P < 0.05$)。

表 3 大豆异黄酮和皂甙对肝损伤小鼠肝组织 SOD、CAT、GPx 和 GSH 水平的影响

Table 3 Effect of soy isoflavones and saponins on hepatic SOD, CAT, GPx and GSH in mice with liver injury

组别 Group	剂量 Dose/mg·kg ⁻¹	SOD /U·mg ⁻¹	CAT /U·mg ⁻¹	GPx /U·mg ⁻¹	GSH /μmol·g ⁻¹
正常 Control	—	67.3 ± 5.9	32.8 ± 2.6	186.4 ± 20.2	39.5 ± 4.9
模型 Model	—	42.1 ± 5.3 *	23.7 ± 2.8 *	133.4 ± 19.5 *	25.4 ± 5.2 *
异黄酮 Isoflavones	200	66.2 ± 8.3 #	42.8 ± 5.4 #	188.3 ± 28.4 #	34.7 ± 6.2 #
皂甙 Saponins	200	69.4 ± 7.1 #	43.1 ± 5.2 #	175.1 ± 25.6 #	33.9 ± 5.7 #
联苯双脂 Bifendate	100	68.3 ± 8.2	43.5 ± 4.8 #	230.2 ± 30.4 #	37.4 ± 6.3 #

3 讨 论

利用 GalN 诱发的动物肝组织损伤在形态学和功能学上与人类急性重症肝炎相似,是筛选保肝药物和研究药物作用机制的经典动物模型之一^[6-7]。ALT 和 AST 是肝细胞内酶,肝细胞损伤可导致 ALT 和 AST 释放入血,因此血清 ALT 和 AST 水平的高低可反映肝细胞损伤程度^[8]。本试验中, GalN 使模型组小鼠血清 ALT、AST 水平升高, ALB 含量降低,而大豆异黄酮和皂甙降低 GalN 所致急性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 活性,增高血清 ALB 含量,说明大豆异黄酮和皂甙可减轻 GalN 所致小鼠急性肝损伤程度。

GalN 是肝细胞磷酸尿嘧啶核苷干扰剂,以往认为 GalN 引起的肝细胞损伤的机制是 GalN 在细胞内与磷酸尿苷结合形成复合物,致使尿苷酸耗竭,导致核酸、糖蛋白和糖脂等物质合成受阻,引起肝细胞损伤。而进一步的研究发现自由基和脂质过氧化反应在 GalN 引起的肝损伤中起着十分重要的作用。GalN 引起肝细胞内钙镁比例失调,抑制线粒体的呼吸功能,加速氧自由基的产生和脂质过氧化反应,从而加剧肝细胞损伤^[8-10]。本试验中, GalN 使模型组小鼠肝组织 LOOH 和 MDA 水平升高,肝脏 GSH 水平降低,肝组织 SOD、CAT、GPx 活性降低,表明急性肝损伤小鼠肝细胞存在一定程度的氧化应激损伤。而大豆异黄酮和皂甙降低肝损伤小鼠肝组织 LOOH 和 MDA 水平,增高 GSH 含量和多种抗氧化酶活性。综上所述,大豆异黄酮和皂甙对 GalN 所致小鼠急性肝损伤具有保护作用,其机制可能与抗氧化作用有关。

参考文献

[1] 许惠仙,汪霞,金延华,等. 大豆异黄酮和皂甙对肝癌前病变大鼠血清标志酶及抗氧化活性的影响[J]. 大豆科学,2012,31(1):82-84. (Xu H X, Wang X, Jin Y H, et al. Effect of soybean isoflavones and saponins on serum marker enzymes and antioxidative activities of rat with hepatic preneoplasia [J]. Soybean Science, 2012, 31 (1) : 82-84.)

[2] 赵育芳,张永生,徐珊,等. 大豆异黄酮对实验性肝纤维化大鼠肝星状细胞活化的影响[J]. 营养学报,2010,32(3):295-296.

(Zhao Y F, Zhang Y S, Xu S, et al. The inhibitory effect of soybean isoflavones on activation of hepatic stellate cell in experimental hepatic fibrosis rats [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2010, 32 (3) : 295-296.)

[3] 杨丽娜,郭英,陈秋丽,等. 大豆复合物对四氯化碳致大鼠肝损伤的防护作用[J]. 中国老年学杂志,2009,29(3):559-560. (Yang L N, Guo Y, Chen Q L, et al. Effect of soybean compounds on liver injury induced by carbon tetrachloride in rats [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2009, 29 (3) : 559-560.)

[4] 李建芳,陈必成,余震,等. 染料木素对硫代乙酰胺诱导的肝纤维化大鼠 PDGF-BB 表达的影响[J]. 肝胆胰外科杂志,2009,21(2):118-121,125. (Li J F, Chen B C, Yu Z, et al. Effect of genistein on the expression of PDGF-BB in hepatic fibrosis of rats induced by thioacetamide [J]. Journal of Hepatopancreatobiliary Surgery, 2009, 21 (2) : 118-121, 125.)

[5] 杨修仕. 大豆皂苷对急性酒精性肝损伤的保护作用研究[D]. 太原:山西大学,2011. (Yang X S. Protective effects of soysaponins on acute alcohol-induced liver damage [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2011.)

[6] 李迪,申镭源,赵薇,等. 草苈蓉环烯醚萜对 *D*-氨基半乳糖所致急性肝损伤小鼠肝组织抗氧化活性的影响[J]. 延边大学医学学报,2012,35(2):97-100. (Li D, Shen H Y, Zhao W, et al. Effects of the *Boschniakia rossica* iridoids on hepatic antioxidative function of mice injured by *D*-galactosamine [J]. Journal of Medical Science Yanbian University, 2012, 35 (2) : 97-100.)

[7] 宋志伟,吴艳玲,朴惠善. 桦褐孔菌对小鼠急性肝组织损伤的保护作用[J]. 延边大学医学学报,2007,30(1):34-36. (Song Z W, Wu Y L, Piao H S. Protective effects of extracts of *Inonotus obliquus* on acute hepatic failure in mice [J]. Journal of Medical Science Yanbian University, 2007, 30 (1) : 34-36.)

[8] 张红,史天陆,王静,等. 五乙酰栀子酰苯胺对 *D*-GalN 所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 安徽医科大学学报,2013,48(7):786-789. (Zhang H, Shi T L, Wang J, et al. Protective effect of GP-Ac-aniline on acute liver injury induced by *D*-galactosamine in mice [J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2013, 48 (7) : 786-789.)

[9] 吕俊兰,李仙义,袁海龙,等. 波棱甲素纳米混悬剂对 *D*-半乳糖胺诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学杂志,2011,46(24):1898-1901. (Lyu J L, Li X Y, Yuan H L, et al. Protective effect of herpetrione nanosuspension against acute liver injury induced by *D*-galactosamine in mice [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2011, 46 (24) : 1898-1901.)

[10] 李勤勤,耿欣. 精制玉米麸皮对小鼠肝损伤的预防保护作用研究[J]. 中国食品学报,2011,11(5):7-14. (Li Q Q, Geng X. Study on the protective effect of refined corn bran on liver injury in mice [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11 (5) : 7-14.)