

续表 5

受试物	剂量 mg/P	Se 剂量 μg/P	AFB1 0.02mg/P	观察数	TA98	
					+ S - 9	
					第一次（抑制率 %）	第二次（抑制率 %）
阴性对照	—	—	—	3	35.7 ± 11.59	29.0 ± 10.39
溶剂对照 (DMSO)	—	—	—	3	32.0 ± 7.21	33.0 ± 6.08
阳性对照 (AFB ₁)	0.02	—	+	3	920.0 ± 144.22	856.7 ± 24.4
硒麦芽粉						
A	12.5	0.5	+	3	413.3 ± 61.10 (57.1)	530.7 ± 136.61
B	25.0	1.0	+	3	429.3 ± 66.49 (55.2)	531.3 ± 59.54 (40)
C	50.0	2.0	+	3	276.3 ± 25.17 (72.5)	331.3 ± 59.54 (63.7)
D	100.0	4.0	+	3	203.3 ± 25.17 (80.7)	246.3 ± 27.5 (74.1)
E	200.0	8.0	+	3	182.7 ± 17.01 (83.0)	192.7 ± 61.98 (80.6)
亚硒酸钠 μg/P						
A	1.10	0.5	+	3	706.67 ± 128.58 (16.5)	936.67 ± 130.51
B	2.20	1.0	+	3	650.00 ± 50.00 (23.17)	751.67 ± 52.52 (18.94)
C	4.40	2.0	+	3	440.00 ± 52.92 (47.99)	628.67 ± 99.73 (32.2)
D	8.80	4.0	+	3	390.00 ± 62.45 (53.90)	501.33 ± 38.02 (45.9)
E	17.6	8.0	+	3	250.00 ± 50.00 (70.4)	412.00 ± 100.96 (55.6)

P: 皿

此次实验结果表明硒麦芽在 Se 1.67 ~ 50.00 μg/kg BW 剂量时有明显抗突变作用,而亚硒酸钠在 Se 1.67 ~ 50.00 μg/kg BW 剂量下体内实验虽有抑制趋势,但无统计学意义。在体外实验有统计学意义,具有抗突变作用,但硒麦芽抗突变作用大于亚硒酸钠。可能是体外实验更加敏感。硒麦芽抗突变作用主要原因可能是硒麦芽除含有机硒 40 μg/g 外,还含有大量维生素 E、麦绿素等其它活化物,增加其抗氧化作用,抑制致突变性。Thompson, H J⁽⁶⁾等的研究已证实维生素 E 能增强硒的抗癌性,具有抑癌的协同作用。这与罗焕造等人的报道是一致的。⁽⁷⁾

4 参考文献

1 中国医学科学院防治克山病科研组. 硒在疾病与健康中的作用. 地方病, 1975, (2): 175
2 Wattenberg LW. Chemoprevention of cancer. Cancer Research 1985, 45: 1~8

3 Boone C W, et al. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. Cancer Research, 1990, 50: 2~9
4 杨光圻, 等. 补充硒预防克山病的途径和方法的研究. 营养学报, 1982, (1): 1
5 杨光圻, 等. 膳食硒需要和安全摄入量范围研究结果述要. 营养学报, 1992, 14: 3, 318~321
6 Thompson H J, et al. Effect of combined selenium and Retinyl Acetate treatment on mammary carcinogenesis. Cancer Res, 1981, 41: 1413
7 罗焕造, 程书钧, 叶树勇, 等. 有机硒和无机硒抗突变作用的初步研究. 中华肿瘤杂志, 1991, (13): 3, 162~164
8 Clement I P. Prophylaxis of Mammary Neoplasia by selenium supplementation in the initiation and promotion phase of chemical carcinogenesis. Cancer Research, 1981, 41: 4386

硒麦芽与亚硒酸钠毒性、抗突变作用比较研究

杨 庆 姚小曼

牛铁琴

北京市卫生防疫站 (100013)

摘 要 为研究硒麦芽与亚硒酸钠毒性及抗突变作用,进行毒性试验和抗突变试验。结果表明 Wistar 大鼠在 $10\ \mu\text{g/g}$ 硒剂量下亚硒酸钠的毒性高于硒麦芽,生物利用率低于硒麦芽。喂饲昆明小鼠 Se $1.67, 16.7, 50\ \mu\text{g/kg BW}$, 硒麦芽在 3 个剂量组均有抗突变作用,亚硒酸钠在体外试验有抗突变作用,在体内实验没有。

关键词 硒 麦芽 亚硒酸钠 毒性试验 抑制,遗传

大量动物实验和人群流行病学调查证明硒的安全作用带非常窄,而且不同形式或来源的硒,其毒性各不相同,生物利用率亦不相同,例如,小麦制品和牛肾中硒的生物利用率高于金枪鱼制品中硒的生物利用率,蕈类中硒的生物利用率很低,约为亚硒酸盐的 4%。我国研制了硒麦芽,为探讨其生物学作用,故用硒麦芽与亚硒酸钠进行了以下对比实验。

1 材料和方法

1.1 材料

实验试样硒麦芽由某北京食品工业研究所提供,硒含量为 $400\ \mu\text{g}/10\ \text{g}$ 。亚硒酸钠由北京化学试剂厂提供,优级纯。

1.2 动物

Wistar 种大鼠,体重 $100\sim 130\ \text{g}$,雌雄各半,共 70 只;昆明小鼠 160 只,雄性,体重 $25\sim 30\ \text{g}$,均由军事医学科学院动物中心提供。

1.3 方法

1.3.1 硒麦芽与亚硒酸钠的毒性和生物利用率的比较

选用 Wistar 大鼠 70 只,以体重为指标随机分成 5 组,第一组为空白对照组,第二、三组的饲料中分别含有 $3.3\ \mu\text{g/g}$ 、 $10\ \mu\text{g/g}$ 硒的硒麦芽,第四、五组饲料中分别加含 $3.3\ \mu\text{g/g}$ 、 $10\ \mu\text{g/g}$ 硒的亚硒酸钠。单笼饲养,自由进食、饮水,观察其活动情况、体重、食物利用率;测血色素、白细胞总数及分类、总蛋白、白蛋白、谷丙转氨酶、碱性磷酸酶、胆固醇、肌酐、尿素十项生化指标;血硒量、肝硒量;病理组织检查。试验期 3 个月。

1.3.2 抗突变试验

小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

选用昆明小鼠 80 只,雄性,体重 $25\sim 30\ \text{g}$,根据

体重随机分成 8 组,每组 10 只。设硒麦芽及亚硒酸钠各 3 个剂量组,硒麦芽和亚硒酸钠 3 个剂量组含硒量均为 $0.001\ 67, 0.01\ 67, 0.05\ \text{mg/kg BW}$,另设阴性对照组及阳性对照组。受试物用蒸馏水稀释,以 $0.1\ \text{mL}/10\ \text{g BW}$ 灌胃。受试物组连续给予受试物 30 d,每天 1 次灌胃,在实验最后 2 天,除阴性对照组以外所有动物均经口给予致突变物环磷酰胺 $40\ \text{mg/kg BW}$,两次给药间隔 24 h。受试物组给予致突变物 1 h 后再给受试物,于末次给阳性物 6 h 后,常规取胸骨骨髓制片、固定、染色,于油镜下对每只动物计数 1 000 个嗜多染红细胞,计算其微核率,并进行统计分析。

小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变试验

选用昆明小鼠 80 只,雄性,体重 $25\sim 30\ \text{g}$,根据体重随机分成 8 组,每组 10 只,设硒麦芽和亚硒酸钠各 3 个剂量组,硒麦芽粉和亚硒酸钠 3 个剂量组含硒量均为 $0.001\ 67, 0.01\ 67, 0.05\ \text{mg/kg BW}$,另设阴性对照组及阳性对照组。受试物用蒸馏水稀释,以 $0.1\ \text{mL}/10\ \text{g BW}$ 按剂量经口灌胃。受试物组连续给予受试物 30 d,每天 1 次经口灌胃,在取材前 12 天,除阴性对照组外所有动物均经口给予致突变物丝裂霉素 C ($2\ \text{mg/kg BW}$),于试验第 30 天处死动物前 6 h 各组小鼠腹腔注射秋水仙素 ($4\ \text{mg/kg BW}$),常规制片、染色,于油镜下对每只动物计数 100 个初级精母细胞中的染色体畸变数,按 Kastenbaum 和 Bownan 方法进行统计检验。

Ames 试验

试样前处理 取硒麦芽 $100\ \text{g}$,加水 $200\ \text{mL}$,加甲醇 $40\ \text{mL}$ 共 $240\ \text{mL}$ 浸泡液放入 37°C 水浴挥干,用甲醇定容至 $50\ \text{mL}$,除菌后即可使用。

测试菌株 选用 Ames 试验室获得的鼠伤寒沙门氏菌 TA98 为本试验的菌株。

剂量设计 硒麦芽和亚硒酸钠每皿试样含硒量均分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 μg , 另设阴性对照组(用双蒸水), 溶剂对照组(DMSO)及阳性对照组(AFB_1 , 每皿 0.02 mg)

测试方法 试验按 Ames 提出的方法进行。采用掺入法, 分别用加或不加 S9 混合液对样品进行测试。每个剂量做三块平皿, 试验重复一次, 将不同浓度的被测试样加入已知阳性物浓度的 AFB_1 中, 观察其回复突变菌落数, 然后与阳性对照组回变菌落数比较, 计算其抑制率。

2 结果

2.1 体重及食物利用率 90 d 中每周称一次体重及食物消耗量, 计算食物利用率。从大鼠生长情况看, 饲以硒麦芽的两组雄鼠与对照组相比体重增长无显著性差异($P>0.05$); 饲以亚硒酸钠两个组的雄鼠与对照组相比, 亚硒酸钠 10 $\mu\text{g/g}$ 组第十一周开始体重增长减慢, 直至实验结束, 与对照组相比 $P<0.05$ 或 $P<0.01$; 3.3 $\mu\text{g/g}$ 亚硒酸钠组第七周开始体重增长减慢($P<0.05$); 10 $\mu\text{g/g}$ 亚硒酸钠组从第三周开始直至实验结束体重明显低于对照组 ($P<0.01$)。未见食物利用率与体重相应的规律变化, 这是由于随剂量增高、进食量有所降低所致。

2.2 毒性试验指标测定结果 于实验第 30 天和第 90 天 各取血一次用自动生化分析仪进行十项指标的测定, 从表 1 可见 90 d 时 10 $\mu\text{g/g}$ 硒麦芽组白蛋白与球蛋白比值(A/G)与对照组相比, $P<0.05$; 而亚硒酸钠的 3.3 $\mu\text{g/g}$ 及 10 $\mu\text{g/g}$ 组的 A/G 比值均显著低于对照组($P<0.01$)。血液指标及其他各项生化指标均未发现有显著差异($P>0.05$)。

2.3 病理组织学检查 各实验组均未见与实验有关的病理变化。

2.4 血硒和肝硒含量 从表 2 可见, 随着剂量的增高, 血硒及肝硒水平也随之增高。值得注意的是两个硒剂量相同水平的硒麦芽组与亚硒酸钠组相比, 硒麦芽组血硒量均显著高于亚硒酸钠组($P<0.01$); 肝硒含量, 3.3 $\mu\text{g/g}$ 硒麦芽组与亚硒酸钠组之间无明显差异($P>0.05$), 但硒麦芽 10 $\mu\text{g/g}$ 组显著高于亚硒酸钠组(雌鼠 $P<0.05$, 雄鼠 $P<0.01$)。

2.5 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验

由 3 表可见, 硒麦芽粉和亚硒酸钠各剂量组的小鼠骨髓嗜多染细胞微核率与阳性对照组相比均有下降, 硒麦芽粉与阳性对照组相比有显著性差异($P<0.05$), 而亚硒酸钠与阳性对照组相比无显著性差异($P>0.05$), 硒麦芽抑制环磷酰胺所诱发的小鼠骨髓嗜多染细胞微核作用大于亚硒酸钠。

表 1 硒麦芽与亚硒酸钠 90 d 喂养各组大鼠末期 A/G 值

受试物	Se 剂量 $\mu\text{g/g}$	性别	动物数 只	A/G $\bar{x} \pm s$
阴性对照		雄	7	0.937 $\pm$ 0.070
		雌	7	1.086 $\pm$ 0.045
硒麦芽粉	3.3	雄	7	0.936 $\pm$ 0.041
	3.3	雌	7	1.084 $\pm$ 0.106
	10.0	雄	7	0.854 $\pm$ 0.050 ⁽¹⁾
	10.0	雌	7	1.021 $\pm$ 0.153
亚硒酸钠	3.3	雄	7	0.754 $\pm$ 0.090 ⁽²⁾
	3.3	雌	7	0.921 $\pm$ 0.060 ⁽²⁾
	10.0	雄	7	0.727 $\pm$ 0.039 ⁽²⁾
	10.0	雌	7	0.736 $\pm$ 0.053 ⁽²⁾

注: (1) 与阴性对照组相比有显著性差异($P<0.05$)
(2) 与阴性对照组相比有显著性差异($P<0.01$)

2.6 小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变

由表 4 可见, 硒麦芽粉和亚硒酸钠各剂量小鼠睾丸初级精母细胞性染色体单价体, 常染色体单价体, 染色体畸变细胞数与阳性对照组相比均有下降, 硒麦芽粉与阳性对照组相比有显著性差异($P<0.05$), 亚硒酸钠与阳性对照组相比无显著性差异($P>0.05$), 硒麦芽粉对丝裂霉素 C 引起的小鼠睾丸初级精母细胞性染色体单价体, 常染色体单价体, 染色体畸变细胞数率增高抑制作用大于亚硒酸钠。

2.7 Ames 试验

由表 5 可见, (1)溶剂对照组与阴性对照组相比无显著性差异($P>0.05$), 说明这两种溶剂对 TA98 均无致突变作用, (2)在加 S9 的情况下, 硒麦芽和亚硒酸钠各剂量组与阳性对照组相比均明显降低, 经统计学分析, 差异有显著性($P<0.05$), 并存在剂量反应关系, 且硒麦芽对黄曲霉毒素 B_1 抑制率大于亚硒酸钠。

表2 硒麦芽与亚硒酸钠 90 d 喂养各组大鼠全血硒和肝硒含量均值($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{g/g}$

受试物	Se 剂量	性别	动物数	全血硒	肝硒
阴性对照		雄	5	0.386 ± 0.012	0.583 ± 0.114
		雌	5	0.396 ± 0.046	1.184 ± 0.065
硒麦芽粉	3.3	雄	5	$0.630 \pm 0.041^{(2)}$	1.077 ± 0.138
	3.3	雌	5	$0.761 \pm 0.068^{(1)}$	1.805 ± 0.364
	10	雄	5	$1.088 \pm 0.080^{(2)}$	$2.673 \pm 0.281^{(2)}$
	10	雌	5	$2.156 \pm 0.175^{(2)}$	$4.074 \pm 0.577^{(1)}$
亚硒酸钠	3.3	雄	5	0.440 ± 0.014	1.062 ± 0.098
	3.3	雌	5	0.586 ± 0.110	2.023 ± 0.294
	10	雄	5	0.826 ± 0.107	1.631 ± 0.258
	10	雌	5	1.257 ± 0.178	3.314 ± 0.330

注:(1) 与相同剂量亚硒酸钠组相比有显著性差异($P<0.05$)
(2) 与相同剂量亚硒酸钠组相比有高度显著性差异($P<0.01$)

表3 硒麦芽粉和亚硒酸钠抗微核试验结果

受试物	剂量 mg/kg BW	Se 剂量 $\mu\text{g/kg BW}$	性 别	动物数 只	嗜多染细胞数 个	有微核细胞数 个	微核率 ‰
阴性对照	—	—	雄	10	10×1000	15	1.5
阳性对照	40(CP)	—	雄	10	10×1000	300	30.0
硒麦芽粉							
低	417	1.67	雄	10	10×1000	174	$17.4^{(1)}$
中	4170	16.70	雄	10	10×1000	163	$16.3^{(1)}$
高	12510	50.00	雄	10	10×1000	158	$15.8^{(1)}$
亚硒酸钠							
低	0.915	1.67	雄	10	10×1000	284	28.4
中	9.145	16.70	雄	10	10×1000	251	25.1
高	27.430	50.00	雄	10	10×1000	193	19.3

注:(1) 与阳性对照组相比有显著性差异($P<0.05$)

3 讨论

硒麦芽是一种新型的有机硒产品,以往解决硒营养不足往往采用亚硒酸钠(Na_2SeO_3)片或食用亚硒酸钠强化食盐。从实验中大鼠生长曲线看,雄性大鼠仅 $10 \mu\text{g/g}$ 亚硒酸钠组于实验末期与对照组相比体重增长减慢,有显著性差异($P<0.05$)。饲以亚硒酸钠雌性大鼠随着剂量升高,生长速度随之降低,存在着较明显的剂量反应关系,整个实验期间 $10 \mu\text{g/g}$ 硒麦芽组的体重高于 $10 \mu\text{g/g}$ 亚硒酸钠组,显示亚硒酸钠的毒性高于硒麦芽。从 A/G 比值测定结果来看, $3.3 \mu\text{g/g}$ 硒麦芽组与对照组相比,雌鼠与雄鼠皆无显著

性差异。仅 $10 \mu\text{g/g}$ 硒麦芽组的雄性大鼠 A/G 比降低,与对照组相比有显著性差异($P<0.05$),而亚硒酸钠组的雌性与雄性大鼠 $3.3 \mu\text{g/g}$ 组与对照组相比,其比值下降,已出现高度显著性差异($P<0.01$),此结果亦说明亚硒酸钠的毒性高于硒麦芽。

硒麦芽与亚硒酸钠生物利用率的比较 为评价硒的生物利用率,芬兰曾用三个指标进行评价。(1)立即利用率,测血浆硒水平和血小板谷胱甘肽过氧化物活性(GSH-Px)。(2)组织贮存情况,了解中期利用率。(3)停止补硒后,血小板 GSH-Px 活性。此次实验表明,在相同剂量下硒麦芽组与亚硒酸钠相比,

硒麦芽组大鼠血中含硒量高于亚硒酸钠组,有高度显著性差异($P<0.01$),10 $\mu\text{g/g}$ 硒麦芽组肝硒含量高于亚硒酸钠。这与杨光圻等人报道是一致的。⁽⁵⁾于亚硒酸钠组,存在显著性差异(雌鼠 $P<0.01$,雄鼠

表 4 硒麦芽粉和亚硒酸钠抗小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变试验结果

受试物	剂量 mg/kg BW	Se 剂量 $\mu\text{g/kg BW}$	动物数 只	观察中期 相细胞数	性染色体单价体		常染色体单价体		染色体畸变细胞数	
					个	%	个	%	个	%
阴性对照	—	—	10	10×100	18	1.8	6	0.6	0	0
阳性对照 MMC	2	—	10	10×100	114	11.4	27	2.7	18	1.8
硒麦芽粉										
低	417	1.67	10	10×100	83	8.3	17	1.7	11	1.1
中	4170	16.70	10	10×100	45	4.5 ⁽¹⁾	8	0.8 ⁽¹⁾	2	0.2 ⁽¹⁾
高	12510	50.00	10	10×100	47	4.7 ⁽¹⁾	10	1.0 ⁽¹⁾	2	0.2 ⁽¹⁾
亚硒酸钠										
低	0.915	1.67	10	10×100	90	9.0	20	2.0	14	1.4
中	9.145	16.7	10	10×100	63	6.3	13	1.3	7	0.7
高	27.430	50.00	10	10×100	58	5.8	14	1.4	6	0.6

注:(1) 与阳性对照组相比有显著性差异($P<0.05$)

表 5 硒麦芽粉和亚硒酸钠 Ames 试验掺入法统计结果

受试物	剂量 mg/P	Se 剂量 $\mu\text{g/P}$	AFB ₁ 0.02mg/P	观察数	TA98	
					- S9	
					第一次	第二次
阴性对照	—	—	—	3	22.7±3.79	28.3±10.41
溶剂对照 (DMSO)	—	—	—	3	26.7±2.89	22.7±3.06
阳性对照 (AFB ₁)	0.02	—	+	3	24.7±5.03	25.3±5.03
硒麦芽粉						
A	12.5	0.5	+	3	34.0±6.00	20.7±3.07
B	25.0	1.0	+	3	38.7±12.22	21.0±2.65
C	50.0	2.0	+	3	32.7±6.43	22.0±3.61
D	100.0	4.0	+	3	31.3±4.16	22.0±3.61
E	200.0	8.0	+	3	27.0±2.65	22.02±2.00
亚硒酸钠 $\mu\text{g/P}$						
A	1.10	0.5	+	3	20.33±2.52	21.00±2.65
B	2.20	1.0	+	3	21.00±3.61	20.33±2.52
C	4.40	2.0	+	3	22.00±5.29	21.00±2.65
D	8.80	4.0	+	3	25.33±4.51	21.33±3.22
E	17.60	8.0	+	3	20.67±3.79	22.67±4.62

P: 皿