



当归补血汤对辐射损伤小鼠的防护作用

冯 璟¹, 于远望²

(1. 陕西中医药大学医学技术学院, 陕西 咸阳 712046;
2. 陕西中医药大学基础医学院, 陕西 咸阳 712046)

【摘要】 目的 观察当归补血汤对⁶⁰Co- γ 射线辐照小鼠的防护作用。**方法** 将实验小鼠随机分为5组(正常对照组、模型组、当归补血汤低、中、高剂量组),采用⁶⁰Co- γ 放射源照射除正常对照组外的各组小鼠,建立辐射损伤模型,测定各组小鼠外周血中性粒细胞数(NEUT)、骨髓有核细胞数(BMC)、血清超氧化物歧化酶(SOD)活性及血清丙二醛(MDA)含量。**结果** 辐射损伤小鼠的NEUT、BMC及SOD活性均明显降低($P < 0.01$),MDA含量增高($P < 0.01$)。当归补血汤可升高辐射损伤后小鼠NEUT、BMC及SOD活性,降低MDA含量,且当归补血汤高剂量组对辐射损伤小鼠的保护作用更好($P < 0.01$)。**结论** 当归补血汤对辐射小鼠的电离损伤有保护作用,且与剂量相关。

【关键词】 当归补血汤;辐射损伤;防护作用

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 10-0055-04
doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.010.013

The protective effect of Danggui Buxue decoction on radiation injury in mice

FENG Jing¹, YU Yuan-wang²

(1. School of Medical Techniques in Shanxi University of Chinese Medicine, Shanxi Xianyang 712046, China;
2. Basic Medical College of Shanxi University of Chinese Medicine, Shanxi Xianyang 712046, China)

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of Danggui Buxue Decoction on ⁶⁰Co- γ ray irradiated mice. **Methods** The experimental mice were randomly divided into 5 groups (the normal control group, model group, Danggui Buxue Decoction of low, middle and high dose groups). The mouse except the normal control group were irradiated by ⁶⁰Co- γ ray and established the radiation-damage model. Peripheral blood neutrophil count (NEUT), the number of bone marrow nucleated cells (BMC), the activity of serum superoxide dismutase (SOD) and the serum levels of malondialdehyde (MDA) were measured. **Results** Radiation injury in mice of NEUT, BMC and SOD were significantly decreased ($P < 0.01$), MDA were increased ($P < 0.01$). Danggui Buxue Decoction can increase the levels of NEUT, BMC and SOD in mice after radiation injury, decrease the content of MDA. And protective effect of high dose group was better ($P < 0.01$). **Conclusions** Danggui Buxue Decoction has protective effect on radiation injury in mice. And there is a correlation between the protection effect and dose.

【Key words】 Danggui Buxue decoction; Radiation injury; Protective effect

金元时代李东垣创造的当归补血汤是著名的补血益气良方,黄芪和当归按照5:1的比例组成,具

有较好的益气补血功效。研究发现,当归补血汤具有促进造血、调节免疫、提高自由基清除水平,增强

机体抵抗力等生物学活性^[1]。本研究观察了当归补血汤对辐射损伤小鼠 NEUT、BMC、SOD 活性及 MDA 含量的影响,探讨其作用机制,为广泛推广使用当归补血汤提供有力的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康雄性昆明种小鼠,SPF 级,6 ~ 8 周龄,体重 18 ~ 22 g,由西安交通大学医学院动物实验中心提供【SCXK(陕)2013-001】。小鼠饲养环境为陕西中医药大学药理实验室【SYXK(陕)2007-006】,按实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.2 仪器与材料

当归补血汤(自行煎制,将黄芪和当归按照 5:1 的比例^[2]煎制为浓度 3.6 g/mL,此为高剂量浓度,用生理盐水配制低剂量浓度 0.9 g/mL 和中剂量浓度 1.8 g/mL)。⁶⁰Co- γ 射线辐射源(第四军医大学辐照中心);BC-2300 全自动血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗股份有限公司);E220 光学生物显微镜(Olympus 公司);SOD 测试盒、MDA 测试盒(南京建成生物工程研究所);21R 型高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司);UV3600 型紫外分光光度计(日本岛津公司)。

1.3 方法

1.3.1 动物分组及给药方式:将实验小鼠随机分为 5 组,分别为正常对照组、模型组、当归补血汤低剂量组、当归补血汤中剂量组和当归补血汤高剂量组,每组 10 只。正常对照组与模型组在照射前、后均给予生理盐水灌胃,其它各给药组在照射前、后给予相应浓度当归补血汤灌胃。灌胃给药容量为 0.1 mL/10 g,每日一次,照射前连续给药 10 d,照射后以同样方法继续给药 14 d。

1.3.2 造模方法:⁶⁰Co- γ 射线全身单次照射 5 Gy,剂量率 218.63 cGy/min,照射时间 2 min 17 s,源皮距 80 cm。

1.4 观察指标

1.4.1 外周血中性粒细胞数(NEUT)检测:分别于照射前、照射当天及照射后第 5、10 天,各取小鼠尾血一次,每次约 20 μ L,滴入血细胞稀释液内混匀,用全自动血细胞分析仪测定小鼠外周血中性粒细胞数。

1.4.2 骨髓有核细胞计数(BMC):辐射后第 14 天颈椎脱臼处死小鼠并解剖,取其右侧股骨,除净肌肉组织,用 6 号针头刺穿股骨末端,以 2 mL 生理盐水冲洗

骨髓至股骨为白色,将冲出的骨髓液充分混匀,静置 2 min,再次混匀后取少许滴入计数板的计数池内,在显微镜下计数 4 个大格细胞数(N),依公式计算每毫升有核细胞数(C): $C = N \times 2.5 \times 10^5 / \text{mL}$ 。

1.4.3 血清超氧化物歧化酶(SOD)测定:辐射后第 14 天取小鼠眼球血,2500 r/min 离心 15 min,分离血清,用试剂盒检测 SOD 含量。

1.4.4 血清丙二醛(MDA)含量测定:辐射后第 14 天取小鼠眼球血,2500 r/min 离心 15 min,分离血清,用试剂盒测定 MDA 含量。

1.5 统计学分析

所有数据采用 SPSS16.0 软件包分析,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 当归补血汤对小鼠外周血 NEUT 的影响

辐射前 5 组小鼠外周血中性粒细胞数无明显差异($P > 0.05$)。辐射当天,与正常对照组比较,模型组 NEUT 与其有统计学差异($P < 0.05$),当归补血汤各组 NEUT 均有所降低,但无统计学意义($P > 0.05$)。在辐射后第 5 天,各受辐射组小鼠 NEUT 均与正常对照组有显著统计学差异($P < 0.01$),当归补血汤高剂量组与模型组比较有显著差异($P < 0.01$)。在辐射后第 10 天,与模型组比较,当归补血汤中剂量与其有统计学差异($P < 0.05$),高剂量组差异明显($P < 0.01$)(表 1)。

2.2 当归补血汤对小鼠 BMC 的影响

与正常对照组比较,受辐射各组 BMC 与其均有显著差异($P < 0.01$);与模型组比较,当归补血汤高剂量组与其有显著的统计学差异($P < 0.01$)(表 2)。

2.3 当归补血汤对小鼠血清 SOD 含量的影响

与正常对照组比较,各受照射组小鼠血清 SOD 含量均明显减低($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组 SOD 含量均有所增加,当归补血汤低剂量组与其有统计学差异($P < 0.05$),高、中剂量组与其有显著差异($P < 0.01$)(表 3)。

2.4 当归补血汤对小鼠血清 MDA 含量的影响

与正常对照组比较,各组小鼠血清 MDA 含量均明显增高($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组 MDA 含量均显著降低($P < 0.01$),且以当归补血汤高剂量组 MDA 降低最为明显(表 3)。

表 1 当归补血汤对小鼠外周血中性粒细胞数的影响($n = 10, \times 10^9 / L$)

Tab. 1 Effect of Danggui Buxue decoction on mice peripheral blood neutrophil count ($n = 10, \times 10^9 / L$)

组别 Group	辐射前 Before radiation	辐射当天 Radiation day	辐射后第 5 天 Fifth days after radiation	辐射后第 10 天 Tenth days after radiation
正常对照组 Normal control group	9.39 ± 1.50	9.10 ± 1.66	8.92 ± 1.49	9.80 ± 1.35
模型组 Model group	8.45 ± 1.42	5.77 ± 1.37*	0.45 ± 0.24 [△]	0.57 ± 0.15 [△]
低剂量组 Low dose group	8.28 ± 0.87	6.21 ± 1.35	0.30 ± 0.12 [△]	0.66 ± 0.19 [△]
中剂量组 Middle dose group	9.29 ± 1.06	7.07 ± 2.39	0.51 ± 0.19 [△]	0.83 ± 0.24 ^{△*}
高剂量组 High dose group	9.44 ± 1.47	7.41 ± 1.57	0.69 ± 0.17 ^{△*}	1.21 ± 0.32 ^{△*}

注:与正常对照组比较,[△] $P < 0.01$, * $P < 0.05$;与模型组比较,* $P < 0.01$,^{*} $P < 0.05$ 。
Note:Compared with the normal control group, [△] $P < 0.01$, * $P < 0.05$; Compared with the model group, * $P < 0.01$, ^{*} $P < 0.05$.

表 2 当归补血汤对小鼠骨髓有核细胞计数的影响($\times 10^6 / mL$)

Tab. 2 Effect of Danggui Buxue decoction on the content of BMC($\times 10^6 / mL$)

组别 Group	样本数 n	骨髓有核细胞计数 BMC
正常对照组 Normal control group	10	108.9 ± 29.01
模型组 Model group	10	45.6 ± 11.72 [△]
低剂量组 Low dose group	10	37.3 ± 12.28 [△]
中剂量组 Middle dose group	10	51.9 ± 19.11 [△]
高剂量组 High dose group	10	67.6 ± 15.31 ^{△*}

注:与正常对照组比较,[△] $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.01$ 。
Note:Compared with the normal control group, [△] $P < 0.01$; Compared with the model group, * $P < 0.01$.

表 3 当归补血汤对小鼠血清 SOD、MDA 含量的影响

Tab. 3 Effect of Danggui Buxue decoction on serum SOD, MDA levels in mice

组别 Group	样本数 n	血清超氧化物歧化酶 SOD(U/mL)	血清丙二醛 MDA($nmol/mL$)
正常对照组 Normal control group	10	454.03 ± 14.61	18.51 ± 1.11
模型组 Model group	10	315.75 ± 17.27 [△]	57.58 ± 2.30 [△]
低剂量组 Low dose group	10	362.18 ± 11.51 ^{△*}	39.63 ± 1.02 ^{△*}
中剂量组 Middle dose group	10	396.36 ± 5.63 ^{△*}	30.37 ± 1.87 ^{△*}
高剂量组 High dose group	10	420.77 ± 10.99 ^{△*}	28.31 ± 1.09 ^{△*}

注:与正常对照组比较,[△] $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$, * $P < 0.01$ 。
Note:Compared with the normal control group, [△] $P < 0.01$; Compared with the model group, * $P < 0.05$, * $P < 0.01$.

3 讨论

当归补血汤中的黄芪与当归在配伍时黄芪为君,当归为臣,二者均具有补气补血活血的作用,而黄芪多糖与当归多糖又是其重要的有效成分。有

研究表明,多糖是多种中草药的主要活性物质之一,具有抗细菌、抗病毒、抗肿瘤、抗辐射、抗衰老等功效^[3]。本实验主要观察当归补血汤的抗辐射作用并探讨其机制。

机体受辐射后,造血系统最早出现形态变化,

其主要原因是造血细胞分化程度低,对辐射损伤敏感。电离辐射可抑制或破坏造血干细胞和各系祖细胞的增殖能力^[4-5],因此外周血白细胞计数明显减少^[6]。中性粒细胞计数是白细胞分类中的重要一项,在环境医学研究中是反应白细胞分类变化的重要指标之一。骨髓造血功能的损伤亦会影响中性粒细胞计数的变化。本实验结果表明,在小鼠接受辐射当天,当归补血汤各剂量组 NEUT 均降低,但与正常对照组无统计学差异($P > 0.05$),说明在辐射前使用当归补血汤,可对早期辐射损伤引起的 NEUT 降低起一定程度的保护作用。在辐射后第 5 天,各受照射组 NEUT 均明显降低($P < 0.01$),与模型组比较,当归补血汤高剂量组有明显差异($P < 0.01$)。在辐射后第 10 天,各受照射组 NEUT 均较辐射损伤早期有所回升,与模型组比较,当归补血汤中、高剂量组与其有统计学差异(中剂量组 $P < 0.05$,高剂量组 $P < 0.01$),说明当归补血汤有明显的升中性粒细胞作用,且这一作用与使用当归补血汤的时间和浓度相关。

骨髓是辐射高度敏感的组织,小鼠骨髓有核细胞数可反映其造血功能^[7]。骨髓有核细胞计数的减少表明机体造血功能障碍,这与体内造血干细胞或造血微环境受损有关。实验结果显示,小鼠骨髓有核细胞数在受⁶⁰Co- γ 射线辐射后显著减少($P < 0.01$),而高剂量当归补血汤在照射后期可明显保护骨髓有核细胞,减少其破坏,促进骨髓造血干细胞的修复。

自由基是吸收辐射能量和损伤生物分子的重要媒介,辐射使组织中自由基增加,SOD 减少、活性降低^[8]。SOD 是机体中最重要的抗氧化酶,在清除自由基和脂质过氧化物中起关键作用^[9]。实验结果表明,小鼠在受到辐射后组织中自由基增加,血清抗氧化酶 SOD 含量明显减低,而当归补血汤可以提升照射后小鼠血清中 SOD 含量,具有保护机体免受自由基损害和抗氧化的作用,且这一作用与当归补血汤的浓度相关。

MDA 是脂质氧化的主要产物,可反映机体自由基水平和氧化应激水平^[10]。本实验结果表明,小鼠受辐射后血清 MDA 明显增多,其主要原因是辐

射致机体抗氧化机制被破坏,SOD 活性明显降低,细胞被自由基攻击,导致大量脂质过氧化物堆积,MDA 含量增加^[11]。而当归补血汤可明显抑制辐射损伤小鼠的脂质过氧化,显著降低 MDA 含量,具有较好的抗辐射作用。

综上所述,当归补血汤对辐射所致造血系统损伤具有保护和促进修复的作用,且当归补血汤可明显提升血清 SOD 含量,增强其活性,使机体组织细胞免受自由基攻击,大大降低 MDA 含量,可起到保护机体、抗辐射的作用。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 北京: 化学工业出版社,2005:765.
- [2] 窦骏. 不同剂量黄芪配合的当归补血汤对小鼠免疫功能的影响[J]. 实用中西医结合杂志,1996,9(5):293.
- [3] 贺晓静,陈广伟. 人參多糖体外抑制人非小细胞肺癌 A549 细胞作用研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2013,27(11):1097-1098.
- [4] 凌绍苹. 细胞生物学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001.
- [5] Li S, Zhong J, Sun F, et al. Study on the protective effect of grape procyanidins on DNA damage induced by irradiation [J]. Zhonghua Yufang Yi xue Zazhi,2000,34(3):131-133.
- [6] 冯璟,于远望,林洁,等. 用当归补血汤对受⁶⁰Co- γ 射线辐照小鼠的外周血细胞进行防护的效果研究[J]. 当代医药论丛,2014,(20):167-169.
- [7] 杨岚,朱柏贵,田琼,等. 血小板第 4 因子对小鼠骨髓造血细胞辐射损伤保护机理的研究[J]. 中华放射医学与防护杂志,2000,20(5):340.
- [8] 贾晓民,赵杰,刘永彪,等. 超氧化物歧化酶对接受全身放射的荷瘤小鼠脾及外周血的影响[J]. 徐州医学院学报,2003,23(3):232-234.
- [9] 姚勇,孟庆勇. 半叶马尾藻多糖口服液对小鼠的抗辐射作用研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2014,28(11):1060-1062.
- [10] 高旭,刘斌钰,邢雁霞,等. 黄芪多糖对运动损伤心肌的影响[J]. 山西大同大学学报(自然科学版),2013,29(3):43-45,48.
- [11] 蔡彬新,陈爱平,林金科,等. 太子参白茶对辐射的防护作用[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版),2013,25(1):21-23,27.

[修回日期]2015-07-22