

中药对辐射抗氧化能力的干预作用

瞿 彬 张 蓉 杨云霜 李延晖 赵 雪

(中国人民解放军火箭军总医院,北京,100088)

摘要 目的:观察不同方药对辐射抗氧化能力的干预作用。方法:72 只 C57BL/6J 小鼠(20 ± 2)g,雌雄各半。雌鼠与雄鼠分别随机分为空白对照组、辐射模型组、辐射模型+补肾解毒方组,每组各 12 只。除空白对照组外,其余小鼠均施予 ^{60}Co γ -射线全身照射,吸收剂量分别为 5 Gy。均于照射后第 1 天、第 14 天取材,每组每次 6 只。随后断头取脑,在冰盘上剥离大脑,摘取两侧下丘脑,将其充分研磨使组织匀浆化,制成 10% 匀浆。采用酶联免疫法(ELISA),严格按 SOD、MDA 检测试剂说明书操作,检测 SOD 活性及 MDA 含量,观察下丘脑胞质 SOD、MDA 水平,作出中药对辐射抗氧化能力干预作用的分析。结果:各组小鼠 SOD 活性,经辐射后 14 d 辐射模型组(110.26 ± 5.50)与空白对照组(127.34 ± 4.38)比较有统计学意义($P < 0.01$),补肾解毒方组(130.98 ± 4.55)、空白对照组均与辐射模型组比较有统计学意义($P < 0.01$);辐射模型组、补肾解毒方组在辐射后第 14 天与其第 1 天(126.41 ± 4.95 , 120.05 ± 7.17)比较有统计学意义($P < 0.01$)。各组小鼠 MDA 数值变化,经辐射后 1 d、14 d 空白对照组(6.99 ± 1.85 , 6.93 ± 1.82)、补肾解毒方组(9.82 ± 0.70 , 6.95 ± 1.43)均与辐射模型组(126.41 ± 4.95 , 17.88 ± 3.39)比较有统计学意义($P < 0.01$),辐射后 1 d 补肾解毒方组、辐射模型组均与空白对照组比较有统计学意义($P < 0.01$),辐射后 14 d 仅辐射模型组与空白对照组间比较有统计学意义($P < 0.01$);辐射后 14 d 仅补肾解毒方组与其辐射后 1 d 比较有统计学意义($P < 0.01$)。

关键词 中药;下丘脑;抗氧化能力;辐射;小鼠

Intervention Effects of Chinese Materia Medica on Radiation Antioxidant Capacity

Qu Bin, Zhang Rong, Yang Yunshuang, Li Yanhui, Zhao Xue

(Rocket Forces of the PLA General Hospital, Beijing 100088, China)

Abstract Objective: To observe the effect of different prescriptions on the antioxidant capacity of radiation. **Methods:** A total of 72 C57BL/6J mice weighting (20 ± 2)g, with 10 male and 10 female were obtained. Female rats and male rats were randomly divided into blank control group, radiation model group, radiation model + kidney detoxification group, with 12 in each group. Except the blank control group, the remaining mice were given ^{60}Co γ -ray whole body irradiation, and absorbed dose were 5 Gy. Materials were taken on 1 d and 14 d after irradiation with 6 mice of each group each time. Then the head was cut, and the brain was removed from the ice plate. And the two sides of the hypothalamus were removed, and the tissue was homogenized to make 10% homogenate. By enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), SOD MDA kit, in strict accordance with the instructions, the numerical SOD activity and MDA detection were observed in the hypothalamus of intracellular SOD and MDA levels, to analyse the effect of Chinese materia medica on the antioxidant capacity of radiation intervention. **Results:** The mice of SOD activity, with the radiation of 14 d radiation model group (110.26 ± 5.50) and control group (127.34 ± 4.38) had significant statistical difference ($P < 0.01$). Bushen Jiedu Decoction group (130.98 ± 4.55) and blank control group had statistically significant differences with the model group ($P < 0.01$); Compared with 1 d (126.41 ± 4.95 , 120.05 ± 7.17), the model group and Bushen Jiedu decoction group had significant statistical differences on 14 d after the radiation ($P < 0.01$). For mice MDA value changes, there were significant differences in control group (6.99 ± 1.85 , 6.93 ± 1.82), Bushen Jiedu Decoction group (9.82 ± 0.70 , 6.95 ± 1.43) and model group (126.41 ± 4.95 , 17.88 ± 3.39) at 1 d, 14 d after the radiation ($P < 0.01$). Bushen Jiedu Decoction group, model group and blank control group have significant difference at 1 d after radiation ($P < 0.01$). At 14 d after radiation, only the radiation model group had significant difference between blank control group ($P < 0.01$); Bushen Jiedu Decoction group had significant difference between 14 d and 1 d after radiation ($P < 0.01$).

Key Words Chinese materia medica; Hypothalamus; Antioxidant capacity; Radiation; Mouse

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.02.046

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 C57BL/6J 小鼠 20 ± 2 g 75 只,雌雄各半。北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物许可证号:[SCXK(京)2012-0001]。自由进水摄食,普通颗粒饲料饲养,北京师范大学生命科学院实验动物中心饲养。

1.1.2 药物 补肾解毒方(熟地黄 10 g、山茱萸 12 g、山药 10 g、牡丹皮 10 g、茯苓 10 g、泽泻 10 g、冬虫夏草 3 g、白花蛇舌草 10 g 组成)。上述中药由北京康仁堂药业有限公司中药颗粒剂配制而成。按人体给药量换算成大鼠等效剂量作为小鼠给药量,小鼠给药剂量为 $13.5 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。

1.1.3 试剂与仪器 酶联免疫试剂盒(北京瑞格博科技发展有限公司,96T);电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司,型号:00000246);60Co γ 射线辐射装置(北京伽玛高新有限公司,型号:GM-11-030A);高速台式冷冻离心机(上海天美科学仪器有限公司,型号:CT15RT)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 雌鼠与雄鼠分别随机分为 3 组。空白对照组、辐射模型组、辐射模型 + 补肾解毒方组,每组 12 只。除空白组外,其余小鼠均接受一次性 5Gy 60Co γ -射线全身照射。

1.2.2 给药方法 正式实验开始后,每天上午 8:00 给予中药干预组灌胃中药,给予空白对照组、辐射模型组等容积的生理盐水,连续灌胃 10 d,第 11 天进行一次 5Gy 60Co γ -射线照射,照射后继续给药 14 d。

1.2.3 检测指标与方法 小鼠分别于辐射后第 1 天、14 天取材,每组每次 6 只,随后断头取脑,在冰盘上剥离大脑,摘取两侧下丘脑,将其充分研磨使组织匀浆化,制成 10% 匀浆。采用酶联免疫法(ELISA),严格按 SOD、MDA 检测试剂说明书操作,检测 SOD 活性及 MDA 含量,观察下丘脑胞浆 SOD、MDA 水平,并将各组数据用均数 $\pm$ 标准差表示,运用 SPSS 19.0 统计软件,综合上述两项试验数据结果,作出中药对辐射抗氧化能力干预作用的分析。

1.3 统计学方法 抗氧化能力分析,测定下丘脑胞浆 SOD、MDA 水平,并将各组数据用均数 $\pm$ 标准差表示,运用 SPSS 19.0 统计软件。采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验,所有统计数据以 $P < 0.05$ 为有统计学意义,以 $P < 0.01$ 为有显著统计学意义。

2 结果

2.1 下丘脑胞质 SOD 活性(U/mgprot) 1)经单因素方差分析,空白对照组雌雄小鼠 SOD 活性无统计学意义($P > 0.05$),即未经辐射的 C57BL/6J 小鼠 SOD 活性雌雄间无统计学意义。2)经辐射后 1 d 3 组小鼠间无统计学意义,辐射后 14 d 辐射模型组与空白对照组比较有明显统计学意义($P < 0.01$),补肾解毒方组、空白对照组均与辐射模型组具有明显统计学意义($P < 0.01$),而补肾解毒方组则与空白对照组无统计学意义($P > 0.05$);辐射模型组、补肾解毒方组在辐射后第 14 天与其第 1 天比较有显著性统计学意义($P < 0.01$),空白对照组无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。3)分别对雌、雄小鼠各组用单因素方差分析发现,经辐射后雌、雄小鼠各组 SOD 活性动态变化分析结果并无统计学意义。

表 1 辐射后各组小鼠 SOD 活性动态变化($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量 (只)	辐射后 第 1 天	样本量 (只)	辐射后 第 14 天
空白对照组	12	127.17 $\pm$ 3.98	12	127.34 $\pm$ 4.38 $\Delta\Delta$
辐射模型组	12	126.41 $\pm$ 4.95	12	110.26 $\pm$ 5.50 $\Delta\Delta^{**}$
补肾解毒方组	12	120.05 $\pm$ 7.17	12	130.98 $\pm$ 4.55 $\Delta\Delta\Delta$

注:与同时时间点空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与同时时间点辐射模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与同组第 1 天比较: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 下丘脑胞质 MDA 含量(nmol/mgprot) 1)经单因素方差分析,空白对照组雌雄小鼠 MDA 数值无统计学意义($P > 0.05$),即未经辐射的 C57BL/6J 小鼠 MDA 含量雌雄间无统计学意义。2)经辐射后 1 d、14 d 空白对照组、补肾解毒方组均与辐射模型组有明显统计学意义($P < 0.01$),补肾解毒方组与空白对照组间无统计学意义($P > 0.05$);辐射后 1 d 补肾解毒方组、辐射模型组均与空白对照组有明显统计学意义($P < 0.01$),辐射后 14 d 仅辐射模型组与空白对照组间存在明显统计学意义($P < 0.01$),补肾解毒方组与空白对照组间无统计学意义($P > 0.05$);辐射后 14 d 仅补肾解毒方组与其辐射后 1 d 比较存在明显统计学意义($P < 0.01$),其他 2 组均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。3)分别对雌、雄小鼠各组用单因素方差分析发现,经辐射后雌、雄小鼠各组 MDA 含量动态变化分析结果并无统计学意义。

3 讨论

在科技飞速发展的今天,核技术被人们越来越多的应用于各个领域,小到平日生活通讯烹饪就医的电离辐射,大到各国不断改进研发用于战备的核辐射,可以说辐射无处不在^[1]。自由基广泛存在于

生物体内,在正常生理情况下,其处于生成与清除的平衡状态,不损害机体且有降解毒物的作用^[2]。机体在射线的激发下,OH·、H·等自由基转化为氧自由基,自由基的原始平衡被打破,进而引发不同程度的氧化损伤^[3]。超氧化物歧化酶(SOD)是一种存在于脑组织中可有效清除氧自由基的抗氧化酶,对机体氧化与抗氧化平衡有非常重要的作用,它间接反映机体清除氧自由基的能力^[4]。丙二醛(MDA)是自由基作用于脂质发生过氧化反应的氧化终产物,MDA 含量的高低则直接反映了机体脂质过氧化的程度。因此 SOD、MDA 在脑组织中的含量的动态变化,可直接或间接的反映机体对辐射的抗氧化能力。

表 2 辐射后各组小鼠 MDA 含量动态变化($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量 (只)	辐射后 第 1 天	样本量 (只)	辐射后 第 14 天
空白对照组	12	6.99 ± 1.85 $\Delta\Delta$	12	6.93 ± 1.82 $\Delta\Delta$
辐射模型组	12	14.14 ± 2.10 **	12	17.88 ± 3.39 **
补肾解毒方组	12	9.82 ± 0.70 $\Delta\Delta^{**}$	12	6.95 ± 1.43 $\Delta\Delta\Delta$

注:与同时时间点空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与同时时间点辐射模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与同组第 1 天比较: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

本研究发现,经辐射后 1 d 辐射模型组及补肾解毒方组小鼠 SOD 活性均稍有下降但并未与空白对照组存在统计学意义,而 MDA 含量辐射模型组及补肾解毒方组较空白对照组已显著提高。经辐射 14 d 辐射模型组小鼠 SOD 活性进一步下降,且此时已与空白对照组比较有统计学意义;而补肾解毒方组小鼠 SOD 活性却比 1 d 明显回升了,且此时与辐射模型组差异显著,与空白对照组不存在统计学意义。此时 MDA 含量补肾解毒方组较 1 d 出现明显下降,与辐射模型组比较有统计学意义,与空白对照组无统计学意义,而辐射模型组 MDA 含量虽与 1 d 相比变化不明显,但仍显著高于空白对照组及补肾解毒方组。

本研究补肾解毒方由六味地黄丸、白花蛇舌草及冬虫夏草 3 种成分组成。“六味地黄丸”为源自北宋名医钱仲阳的经典名方,由医圣张仲景的金匱肾气丸衍化而来,由熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、牡丹皮、茯苓六味中药组成,被誉为“补阴方药之祖”,具有滋阴补肾之功能,是治疗肾阴不足的基本方^[5]。相关文献记载,其对心血管系统、免疫系统等均有一定改善作用。六味地黄丸具有抑制氧自由基生成的作用,其组成成分中熟地黄还具有防止细胞中的过氧化物酶和自由基生成过多的临床应用效果^[6]。胡明才,何建华等通过六味地黄丸对 2 型糖尿病伴胰岛素抵抗并发周围神经病变大鼠的抗氧化作用的观察

中发现^[7],六味地黄丸能提高 2 型糖尿病伴胰岛素抵抗大鼠血液 SOD 活性,减少 MDA 生成,减轻机体氧化应激性损伤。冬虫夏草性温味甘,入肺肾经,能补肺益肾、止血化痰,用于久咳虚喘、劳嗽咯血、阳痿遗精、腰膝酸痛等症^[8]。相关文献中记载,顾宇翔^[9]等报道虫草及其发酵制品可作为一种潜在的天然抗氧化剂。盛路^[10]等报道虫草菌酸性胞外多糖(EPS-A)具有显著抗氧化能力,能显著提高体外培养细胞的抗氧化能力,逆转因移植肿瘤而引起的小鼠组织中 MDA 的升高和 SOD 的降低,同时显著抑制肿瘤生长。张敏玲^[11]研究发现冬虫夏草具有较强的抗自由基损伤和抗脂质过氧化损伤作用,服用冬虫夏草可减轻运动所产生的内源性自由基对小鼠的伤害;且对小鼠肝细胞膜有保护作用,可减少组织酶的外泄。白花蛇舌草性寒味苦甘,入胃、大肠、小肠经。具清热解毒、消炎止痛、利尿消肿、抗癌肿等功效^[12]。据相关文献记载,李明^[13]通过研究多糖类化合物对游泳小鼠的抗疲劳作用,证实了白花蛇舌草多糖能显著提高肌糖原和肝糖原的贮存,提高血清中 SOD 水平并降低 MDA 水平,显著延长了游泳小鼠的游泳时间。此外其还具有体外抗氧化活性,并可延缓疲劳的发生,这一作用可能与其抑制过氧化损伤有关。于新等^[14]采用现种不同溶剂提取白花蛇舌草中的成分,实验表明这代种溶剂的提取物均具有抗氧化作用,其中以丙酮提取的氧化物抗氧化作用最强,该提取物可改变氧化态、酮式官能团及烯醇式官能团的化学特征,表现出了较强的抗氧化活性。

纵观全方,补肾解毒方中六味地黄丸、冬虫夏草、白花蛇舌草均有提高机体 SOD 水平降低 MDA 生成的抗氧化作用,本研究发现辐射可使正常机体 MDA 含量随时间的推移呈进行性增高,SOD 水平明显降低。而经补肾解毒方提前干预的机体 MDA 含量则在辐射后出现先明显增高 14 d 后明显降低的趋势,且 14 d 后其含量与正常机体相差无几,SOD 水平也在 14 d 后得到明显提高。这表明补肾解毒方能有效的提高机体抗氧化活性,降低过氧化产物生成,对机体的抗氧化能力有良好的干预作用,我观察组将继续深入此项研究,力求使其能尽早应用于人体,拓展中药抗辐射、抗氧化方面的临床应用。

参考文献

[1]周喜燕,王群.星菱承气汤对中风病痰热腑实证大鼠血 SOD、MDA 水平的影响[J].中医临床研究,2016,18(8):28.

- vitro[J]. Life Sciences, 1990, 47(3): 241-245.
- [8] 周汾, 李肇端, 余剑波. 褪黑素在围手术期的应用[J]. 临床麻醉学杂志, 2015, 31(3): 302-304.
- [9] 赵瑛, 刘志民, 周晖. 松果体及褪黑素[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 9.
- [10] Bao AM, Meynen G, Swaab DF. The stress system in depression and neurodegeneration: focus on the human hypothalamus[J]. Brain Research Reviews, 2008, 57(2): 531-553.
- [11] Abdolsamadi H, Goodarzi M T, Motemayel F A, et al. Reduction of melatonin level in patients with type II diabetes and periodontal diseases[J]. Journal of dental research, dental clinics, dental prospects, 2014, 8(3): 160-165.
- [12] 周珺, 张汝学, 贾正平, 等. 2 型糖尿病患者下丘脑-垂体-肾上腺轴激素水平与糖脂代谢关系的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(11): 843-845.
- [13] Torres-Farfan C, Richter HG, Germain AM, et al. Maternal melatonin selectively inhibits cortisol production in the primate fetal adrenal gland[J]. Journal of Physiology The, 2004, 554(Pt3): 841-856.
- [14] Saito S, Tachibana T, Choi Y H, et al. ICV melatonin reduces a-cute stress responses in neonatal chicks[J]. Behavioural Brain Research, 2005, 165: 197-203.
- [15] 钟历勇, 杨志红, 王惠, 等. 褪黑素对糖尿病患者氧化应激抑制作用和糖脂代谢影响的观察[J]. 中国实用内科杂志, 2005, 25(6): 507-509.
- [16] Bibak B, Khalili M, Rajaei Z, et al. Effects of melatonin on biochemical factors and food and water consumption in diabetic rats[J]. Advanced biomedical research, 2014, 3: 173-174.
- [17] 夏凌, 张春阳, 刘志民. 褪黑素抑制糖尿病大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴功能[J]. 第二军医大学学报, 2008, 28(11): 1184-1187.
- [18] 钟历勇, 金晖, 高峰, 等. 褪黑素抑制四氧嘧啶糖尿病大鼠垂体-肾上腺轴功能[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 19(2): 141-142.
- [19] 夏凌, 张春阳, 刘志民. 褪黑素抑制糖尿病大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴功能[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(11): 1184-1187.
- [20] Zephy D, Ahmad J. Type 2 diabetes mellitus: Role of melatonin and oxidative stress [J]. Diabetes & Metabolic Syndrome Clinical Research & Reviews, 2015, 9(2): 127-131.
- [21] Karaaslan C, Suzen S. Antioxidant properties of melatonin and its potential action in diseases[J]. Current Topics Medicinal Chemistry, 2015, 15(9): 894-903.
- [22] Ortiz-Avila O, Esquivel-Martínez M, Olmos-Orizaba BE, et al. Avocado Oil Improves Mitochondrial Function and Decreases Oxidative Stress in Brain of Diabetic Rats[J]. Journal of Diabetes Research, 2015, 2015(485759): 1-9.
- [23] Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, et al. Protective role of melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders[J]. Archives of Toxicology, 2015, 89(6): 923-939.

(2017-11-24 收稿 责任编辑: 徐颖)

(上接第 435 页)

- [2] 王崇道, 强亦忠. 电离辐射所致自由基对机体的损伤与自由基清除剂的研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2002, 22(6): 461.
- [3] 许文黎, 岳娟. 氮氧自由基在辐射防护中的应用[J]. 辐变·畸变·突变, 2015, 27(6): 490.
- [4] 陆兴熠, 刘剑英. 葡多酚对核辐射接触人员氧化损伤的防护作用[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(9): 1073.
- [5] 黎美香. 六味地黄丸的药理分析及临床应用[J]. 当代医学, 2015, 21(12): 146-147.
- [6] 曹文华. 六味地黄丸及其基础研究和临床应用[J]. 中医中药, 2015, 13(19): 202.
- [7] 胡明才, 何建华. 六味地黄丸对 2 型糖尿病伴胰岛素抵抗并发周围神经病变大鼠的抗氧化作用[J]. 中成药, 2014, 36(4): 840-842.
- [8] 胡占杰, 陈耀章. 冬虫夏草降血糖、降血压、降血脂、抗氧化作用的研究进展[J]. 中医研究, 2015, 28(7): 76.
- [9] 顾宇翔, 宋建文. 虫草及其发酵制品抗氧化能力研究[J]. 中国中医杂志, 2007, 32(11): 1028-1031.
- [10] 盛路, 李静. 虫草菌酸性胞外多糖的抗氧化作用[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(4): 370-373.
- [11] 张敏玲. 冬虫夏草对运动小鼠肝组织自由基代谢及血清酶活性的影响[J]. 西安体育学院学报, 2005, 22(6): 70-72.
- [12] 李波. 白花蛇舌草的化学成分和药理作用研究进展[J]. 天津药学, 2016, 28(5): 77.
- [13] 李明. 白花蛇舌草多糖的抗疲劳抗氧化作用研究[J]. 食品科技, 2014, 39(7): 190-193.
- [14] 于新, 杜志坚. 白花蛇舌草提取物抗氧化作用的研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(3): 10-12.

(2017-04-03 收稿 责任编辑: 徐颖)