

· 论 著 ·

当归多糖与黄芪多糖配伍对辐射损伤模型小鼠的保护作用

丁 妍¹, 崔 莉², 花曼曼¹, 张勇妹¹, 郭贵宾¹, 孙 锐¹, 陈邦元¹

[摘要] **目的** 研究当归多糖与黄芪多糖配伍对辐射损伤模型小鼠的保护作用。**方法** 采用⁶⁰Co γ 射线对小鼠进行全身照射复制辐射损伤模型。以小鼠 30 d 存活率和死亡小鼠平均存活时间、小鼠外周血白细胞数、骨髓细胞 DNA 含量、血清丙二醛(MDA)含量为指标,观察当归多糖、黄芪多糖及其不同比例配伍对辐射损伤模型小鼠的保护作用。**结果** 在当归多糖、黄芪多糖及其不同比例配伍的药物保护组中,小鼠 30 d 平均存活率升高,死亡小鼠平均存活时间延长,外周白细胞计数增加,骨髓细胞 DNA 含量增加,MDA 含量降低。**结论** 当归多糖、黄芪多糖及其不同比例配伍对辐射损伤模型小鼠均有一定的保护作用,其中以当归多糖:黄芪多糖(3:1)配伍的效果最佳。

[关键词] 当归多糖;黄芪多糖;配伍;辐射保护作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-271X.2014.06.004

Protective effect of angelica sinensis polysaccharide and astragalus polysaccharides on radiation injury in mice model of compatibility

DING Yan¹, CUI Li², HUA Man-man¹, ZHANG Yong-mei¹, GUO Gui-bin¹, SUN Rui¹, CHEN Bang-yuan¹. 1. Pharmacy Department, 359 Hospital of PLA, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China; 2. Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210028, China

[Abstract] **Objective** To study the protective effects of Angelica polysaccharides and Astragali Radix polysaccharides on radiation model mice. **Methods** The mice were total body irradiation to copy the radiation injury model by ⁶⁰Co γ ray. In 30 d mice survival rate and mean survival time of mice death in mice, the number of WBC in peripheral blood, bone marrow cells, the content of DNA of serum malondialdehyde (MDA) content as the index; to observe the protective effect of Angelica polysaccharide, astragalus polysaccharide and different proportions of radiation injury mice model. **Results** Drug protection group of Angelica polysaccharide, astragalus polysaccharide and different proportion of mice 30 d, average survival rate increased, the death of mice prolonged the mean survival time, peripheral white blood cell count increased, increasing the content of DNA in bone marrow cells, decreasing the content of MDA. **Conclusion** Polysaccharide of Chinese angelica, astragalus polysaccharides and its different proportions of injury mouse model of radiation has a certain, with Angelica polysaccharide, astragalus polysaccharide (3:1) on the compatibility of the best effect.

[Key words] angelica polysaccharides; astragali radix polysaccharides; compatibility; radioprotective effect

中医认为辐射造成机体气血受损,其基本病机是气血两虚及血瘀。中药当归、黄芪具有补气补血活血的作用,其经典组方当归补血汤在临床上应用广泛。多糖广泛存在于中药材中,现代药理学表明,多糖是中草药发挥独特疗效的重要物质基础^[1]。近年来研究^[2-5]发现,当归多糖具有激活补体活性,可去除自由基,提高免疫力,对造血系统有明显作用,对抗肿瘤、抗辐射损伤也显示显著疗效。黄芪多糖是黄芪的主要活性成分,具有显著地提升缺氧的耐受性、增强免疫、抗突变和抗衰老的活性^[6-8]。但是,当归多糖与黄芪多糖联用对辐射损伤是否有保护作用鲜有报道。本研究旨在探索当归多糖与黄芪

多糖对辐射损伤的防护作用,并优化出配伍的最佳比例,为其临床合理应用提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试验仪器与材料 ⁶⁰Co 辐射源(江苏省中西医结合医院放射治疗中心提供)、BC-5800 型全自动血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)、680 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)、UV3600 型紫外分光光度计(日本岛津公司)。当归多糖(自制,纯度 > 70%)、黄芪多糖(自制,纯度 > 70%)、丙二醛(MDA)测定试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司)。昆明种雄性小鼠 140 只,SPF 级,体重(20 ± 2)g,由上海斯莱克实验动物中心提供,合格证号:SCK(沪)2007-0005。

1.2 方法 复制模型与分组:将 140 只小鼠随机分空白对照组、模型对照组、当归多糖组、黄芪多糖组、

基金项目:南京军区医学科技创新课题(12MA042)

作者单位:1. 212001 江苏镇江,解放军 359 医院药械科;2. 210028 江苏南京,江苏省中医药研究院

通讯作者:陈邦元, E-mail:13805289877@163.com

当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组、当归多糖: 黄芪多糖(1:1)组、当归多糖: 黄芪多糖(1:3)组共 7 组。每组 20 只,雌雄各半,其中 10 只用于记录小鼠 30 d 存活时间,另 10 只用于测定外周血白细胞、骨髓细胞 DNA 和 MDA 含量。各给药组每天按 100 mg/kg 灌胃给药,1 次/d,连续 14 d。空白对照组与模型对照组每天给予等体积蒸馏水,灌胃方法同给药组。末次给药后,除空白组外,其余各组采用 5 Gy 的 ⁶⁰Co γ射线照射,吸收剂量率为 1 Gy/min,辐射距离为 100 cm,连续照射 3 d,以复制小鼠辐射损伤模型。

1.3 小鼠辐射后观察指标 ①观察小鼠给药造模后的饮食、皮毛脱落、活动状态,记录小鼠 30 d 存活数量和死亡小鼠平均存活时间。②于辐射后第 3 天,在小鼠眼眶取血 20 μL,加入 0.38 mL 1% 的盐酸中混匀,用全自动血细胞分析仪测定外周血白细胞数。③辐射后第 3 天,颈椎脱臼处死相应小鼠,剥离出股骨,除去软组织,用 5 mmol/L 的 CaCl₂ 溶液 5 mL 将股骨中的骨髓细胞全部冲入离心管中,置 4 °C 冰箱 30 min,2500 r/min (离心半径 8 cm)离心 15 min,弃上清液,在沉淀物中加入 0.2 mol/L 的 HClO₄ 10 mL,充分混匀,90 °C 加热 15 min,冷却,过滤,滤液用紫外分光光度计在 260 nm 处测定其紫外吸收值(OD)作为模型小鼠骨髓细胞 DNA 含量。④辐射后第 14 天,颈椎脱臼处死相应小鼠,股动脉取血分离血清,用试剂盒测定 MDA 含量。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计分析软件处理有关数据,计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较用 SNK-q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 联合用药对模型小鼠状态的影响 与空白对照组比较,模型对照组小鼠照射后 2 d 出现精神差、

食欲降低、皮毛脱落。当归多糖组、黄芪多糖组照射后 8 ~ 11 d 恢复正常;而联合用药各组照射后 4 ~ 6 d 即可恢复正常。

2.2 联合用药对模型小鼠 30 d 存活率和存活时间的影响 与空白对照组比较,模型对照组小鼠存活率降低,存活时间缩短($P < 0.01$,表 1);与模型对照组比较,用药各组小鼠存活率升高,存活时间延长($P < 0.01$),且以当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组效果最好。

表 1 联合用药对模型小鼠存活率和存活时间的影响

组别	n	存活率 [n(%)]	存活时间 (d, $\bar{x} \pm s$)
空白对照组	10	10(100)	30.00 ± 0.00
模型对照组	10	1(10)*	13.34 ± 2.12*
当归多糖组	10	5(50) [#]	21.45 ± 2.56 [#]
黄芪多糖组	10	5(50) [#]	22.65 ± 2.35 [#]
当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组	10	9(90) [#]	28.77 ± 3.43 [#]
当归多糖: 黄芪多糖(1:1)组	10	8(80) [#]	25.67 ± 2.11 [#]
当归多糖: 黄芪多糖(1:3)组	10	7(70) [#]	27.64 ± 2.99 [#]

注:与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与模型对照组比较,[#] $P < 0.01$

2.3 联合用药对模型小鼠外周血白细胞数、骨髓细胞 DNA 及 MDA 含量的影响 与空白对照组比较,模型对照组小鼠外周血白细胞数减少($P < 0.01$,表 2);与模型对照组比较,用药各组小鼠外周血白细胞数增加($P < 0.01$),且以当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组效果最好。与空白对照组比较,模型对照组小鼠骨髓细胞 DNA 含量显著减少($P < 0.01$);与模型对照组比较,用药各组小鼠骨髓细胞 DNA 含量增加($P < 0.01$),且以当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组效果最好。与空白对照组比较,模型对照组小鼠 MDA 含量显著增加($P < 0.01$);与模型对照组比较,用药各组小鼠 MDA 含量降低($P < 0.01$),且以当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组效果最好。

表 2 联合用药对模型小鼠有关指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	白细胞数 ($\times 10^9/L$)	DNA 含量 (OD)	MDA 含量 (nmol/mL)
空白对照组	10	7.67 ± 0.86	1.85 ± 0.42	17.46 ± 2.45
模型对照组	10	1.18 ± 0.25*	0.37 ± 0.06*	55.36 ± 6.79*
当归多糖组	10	1.84 ± 0.34 [#]	0.78 ± 0.13 [#]	39.21 ± 5.36 [#]
黄芪多糖组	10	1.97 ± 0.27 [#]	0.67 ± 0.18 [#]	41.25 ± 5.48 [#]
当归多糖: 黄芪多糖(3:1)组	10	2.76 ± 0.75 [#]	0.92 ± 0.26 [#]	27.34 ± 4.15 [#]
当归多糖: 黄芪多糖(1:1)组	10	1.83 ± 0.67 [#]	0.78 ± 0.15 [#]	39.22 ± 8.35 [#]
当归多糖: 黄芪多糖(1:3)组	10	2.11 ± 0.89 [#]	0.85 ± 0.17 [#]	34.17 ± 7.68 [#]

注:与空白对照组同项比较,* $P < 0.01$;与模型对照组同项比较,[#] $P < 0.01$

3 讨论

放射性物质除了军事用途外,生活中亦常用于核能发电、放射技术治疗肿瘤等。据报道,肿瘤患者约有 70% 是采用放射治疗,但放疗在杀死肿瘤细胞的同时,易使治疗肿瘤的药物在很大一定程度上造成药源性肝损伤^[9]。目前,人们已经发现了众多的抗辐射损伤物质,其中大多为含硫的化学合成物^[10],在有效剂量时毒性较大,故实用价值有限。中医学是研究抗辐射药物的一个重要领域,在抗辐射方面具有独特优势。近年来,通过多成分多靶点协同发挥抗辐射作用的中草药越来越受到研究者的关注,尤其是补益类药物对免疫、造血等功能的改善报道较多,但其对辐照后机体的保护作用及机制研究尚少。

本研究发现,当归多糖、黄芪多糖及其不同比例的配伍能显著提高受 γ 射线辐射小鼠的平均存活天数,并延长其生存期,特别是当归多糖:黄芪多糖(3:1)组存活率最高且提高存活时间一倍以上,说明当归多糖、黄芪多糖及其配伍对受致死剂量⁶⁰Co γ 射线辐射小鼠具有较强的防护作用。

白细胞是机体免疫调节和免疫效应细胞,对辐射具有极高的敏感性,易受到辐射的影响而发生 DNA 的断裂、细胞形态、功能以及细胞数量改变,因而白细胞计数被用来作为辐射损伤程度的评估指标^[11-12]。与模型对照组比较,当归多糖、黄芪多糖及其配伍组小鼠白细胞有不同程度的增加,表明当归多糖、黄芪多糖及其配伍对辐射损伤有保护作用。同时,当归多糖:黄芪多糖(3:1)组的白细胞数大于单独给药组和其他配伍组,提示联合用药对免疫细胞的保护作用优于单独给药组和其他配伍组。辐射亦会引起机体的造血功能障碍,即骨髓造血功能的损害。有学者发现,照射后骨髓造血细胞凋亡率明显增高,细胞随即死亡,细胞 DNA 含量的高低可反映其增殖活性,DNA 含量增多,细胞分裂增殖旺盛,反之,则分裂增殖受抑^[13-14]。与模型对照组比较,当归多糖、黄芪多糖及其各配伍组小鼠骨髓细胞 DNA 含量均提高,表明当归多糖、黄芪多糖及其配伍对辐射损伤有保护作用。同时,当归多糖:黄芪多糖(3:1)组的骨髓细胞 DNA 含量大于单独给药组和其他配伍组,提示当归多糖:黄芪多糖(3:1)组对 DNA 的保护作用优于单独给药组和其他配伍组。另外辐射可激发体内产生自由基,引起脂质过氧化,造成对细胞、酶类及核酸等生物大分子的损害。中药能够清除辐射产生的 H^+ 、 OH^- 、 H_2O_2 等自由基,

即消除辐射的间接作用以防止其对机体的损伤^[15]。与模型对照组比较,当归多糖、黄芪多糖及各配伍组小鼠 MDA 含量均降低,表明当归多糖、黄芪多糖及其配伍对辐射损伤有保护作用。当归多糖:黄芪多糖(3:1)组的小鼠 MDA 含量小于单独给药组和其他配伍组,也提示当归多糖:黄芪多糖(3:1)组的抗辐射作用优于单独给药组和其他配伍组。

综上所述,当归多糖和黄芪多糖及其不同比例配伍,通过免疫调节等途径,提高机体抗辐射损伤的能力,配伍使用可协同增效,且以当归多糖:黄芪多糖(3:1)配伍的效果最佳。但详细作用机制和制剂工艺的提高尚有待深入进行。

【参考文献】

- [1] 梁忠岩. 中草药多糖的应用研究[J]. 长春师范学院学报, 2001, 20(1): 38-40.
 - [2] Zhang YW, Yamada H. Complement activation galactan chains in a pectic arabinogalactan (AG II b-1) from the roots of *Angelica acutiloba* Kitagawa[J]. Carbohydr Polym, 1996, 31: 149-156.
 - [3] Yamada H, Komiyama K, Kiyohara H, et al. Structure characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from the roots of *Angelica acutiloba*[J]. Planta Med, 1990, 56(2): 182-186.
 - [4] Kumazawa Y, Mizunoe K, Otsuka Y. Immunostimulating polysaccharide separated from hot water extract of *Angelica acutiloba* Kitagawa (Yamato tohki)[J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33(12): 5351-5354.
 - [5] Lee SE, Yang TA. Radiation protective effects of two traditional Chinese medicine prescriptions si-wu-tang and si-jun-zi-tang[J]. Am J Chin Med, 1999, 27: 387-396.
 - [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010 版. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 196.
 - [7] 丁海玲, 李华伟, 李雪花, 等. 复方黄芪多糖对小鼠的抗疲劳和耐缺氧作用[J]. 延边大学医学学报, 2009, 32(4): 160-162.
 - [8] 钟 灵, 王振富, 文德鉴, 等. 黄芪多糖抗衰老作用的实验研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2013, 29(4): 350-352.
 - [9] 孙永海, 王乃华, 王 伟, 等. 药源性肝损害(附 96 例)临床分析[J]. 中南药学, 2003, 3(1): 170.
 - [10] 吴红星, 杨剑婷. 抗辐射剂的研究现状[J]. 放射免疫学杂志, 2005, 18(1): 58-60.
 - [11] Williams JP, Brown SL, Georges GE, et al. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure[J]. Rad Res, 2010, 173(4): 557.
 - [12] Van Landeghem L, Blue RE, Dehmer JJ, et al. Localized intestinal radiation and liquid diet enhance survival and permit evaluation of long-term intestinal responses to high dose radiation in mice[J]. Plos One, 2012, 7(12): e51310.
 - [13] 李百龙, 杨如俊, 项莺松, 等. γ 射线照射后小鼠骨髓造血细胞凋亡及 Fas 表达的研究[J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(8): 516-518.
 - [14] 王树庆, 张圣明, 李建华, 等. 再生障碍性贫血的骨髓细胞 DNA 定量研究[J]. 山东医药, 1997, 37(3): 25-26.
 - [15] 王 宁, 李应东, 刘 凯. 当归、黄芪及其有效成分抗辐射作用研究概况[J]. 中国辐射卫生, 2008, 17(1): 121-122.
- (收稿日期: 2014-08-05; 修回日期: 2014-10-06)
(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)