

葛根素对实验性大鼠电离辐射损伤的保护效应

金乐红, 刘传飞, 曾 宇

(杭州师范学院基础医学部生理学教研室, 浙江 杭州 310012)

[摘要] 目的: 观察葛根素对实验性大鼠电离辐射损伤的保护效应, 探讨其保护作用的可能机制。方法: Wistar 大鼠随机分为 4 组, 每组 8 只: 生理盐水非辐射 (physiological saline non-radiation, SN) 组, 葛根素非辐射 (puerarin non-radiation, PN) 组, 生理盐水辐射 (physiological saline radiation, SR) 组, 葛根素辐射 (puerarin radiation, PR) 组。辐射源为 ^{60}Co 源, 1 次辐射剂量为 18 Gy, 流量为 1.2 Gy/min。葛根素为注射剂, 辐射后连续静脉注射 6 d, 每次剂量为 30 mg/kg。辐射 1 周后取样测定。结果: 葛根素处理能够有效缓解辐射引起的大鼠外周血红细胞和白细胞的下降; 减轻辐射大鼠胸腺指数和脾脏指数的下降; 提高心肌组织超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性和降低膜脂过氧化产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的含量。结论: 葛根素对实验性大鼠电离辐射损伤有明显的保护效应, 其保护效应的机制可能与葛根素的抗氧化作用有关。

[关键词] 葛根素; 辐射, 电离; 血细胞; 免疫力; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 动物, 实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2005)01-0043-03

Protective effects of puerarin on radiation injury of experimental rats

JIN Le-Hong, LIU Chuan-Fei, ZENG Yu

(Department of Physiology, School of Basic Medicine, Hangzhou Teachers College, Hangzhou, Zhejiang Province 310012, China)

ABSTRACT Objective: To observe the protective effects of puerarin on radiation injury of experimental rats and to discuss the possible mechanism of its radiation protection. Methods: Wistar rats were divided randomly into 4 groups with 8 rats in each group: physiological saline non-radiation (SN) group, puerarin non-radiation (PN) group, physiological saline radiation (SR) group, puerarin radiation (PR) group. The source of radiation was cobalt-60 gamma rays, and the rats were exposed to radiation (1.2 Gy/min) at a dose of 18 Gy. Following irradiation of the rats, puerarin was injected intravenously at each dose of 30 mg/kg in 6 consecutive days (24 h interval). Samples were collected and assayed one week later. Results: Puerarin delayed effectively the declines of the quantity of red blood cells and white blood cells in circulation due to ionizing irradiation, improved the index of thymus and spleen in ionizing irradiation rats, increased the activity of superoxide dismutase (SOD) and decreased the level of malondialdehyde (MDA) in the rat myocardial tissue. Conclusion: Puerarin has a marked protective effect on ionizing irradiation injury of experimental rats, and its protective mechanism is probably based on oxidation-resistance.

KEYWORDS puerarin; radiation, ionizing; blood cells; immunity; superoxide dismutase; malondialdehyde; animals, laboratory

J Chin Integr Med, 2005, 3(1):43-45

肿瘤是现代人类易患的主要病症之一, 放射疗法是治疗这类病症的重要手段, 然而放射疗法在杀

伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长的同时, 也对健康组织产生有害作用, 即产生所谓放射性损伤。如何

[基金项目] 杭州师范学院科研基金资助项目 (No. XY201)

[作者简介] 金乐红 (1969-), 女, 实验师. E-mail: jinlehong@sohu.com

Correspondence to: Prof. LIU Chuan-Fei. E-mail: chuanfeiliu@sohu.com

在改善、提高放射疗法效果的同时,避免或减少放射疗法对健康组织的有害作用,一直是医务工作者不懈的追求。葛根素(puerarin)是我国传统中药野葛(*Pueraria lobata*)块根的主要有效成分,近年来广泛用于心脑血管疾病的预防和治疗,已取得良好效果^[1]。葛根素对人体没有任何毒副作用,其化学本质是异黄酮类化合物,它的抗氧化作用生理效应受到人们重视。一般认为,在有氧条件下,电离辐射损伤除了射线本身的直接作用外,主要原因还在于辐射机体产生的各种活性氧(reactive oxygen species, ROS)对细胞膜及生物大分子过氧化反应的综合作用结果,因此不少抗氧化作用的天然和合成类药物对电离辐射损伤有一定的保护效应。本实验主要研究葛根素对实验性大鼠电离辐射损伤的保护效应及可能机制,以便为葛根素的临床和保健应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 药 物 葛根素,烟台中策药业有限公司提供(批号:981022),为注射针剂,每支 2 ml,含葛根素 100 mg。

1.1.2 动 物 健康清洁级 Wistar 大鼠,雌雄兼用,体质量 250~300 g,由杭州师范学院实验动物中心提供。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组 32 只动物随机分成 4 组,每组 8 只。即:生理盐水非辐射(physiological saline non-radiation, SN)组,葛根素非辐射(puerarin non-radiation, PN)组,生理盐水辐射(physiological saline radiation, SR)组,葛根素辐射(puerarin radiation, PR)组。各组喂养条件和方法完全相同。

1.2.2 处理方法 辐射后立即静脉注射葛根素针剂,连续 6 d,每次剂量为 30 mg/kg。辐射源为⁶⁰Co 源,用整体辐射法。1 次辐射剂量为 18 Gy,流量为 1.2 Gy/min。

1.2.3 样本采集和指标检测 辐射后 7 d 采样,取材前称重,股动脉取血,显微镜计数 WBC 和 RBC^[2]。各组大鼠处死后,立即取出胸腺和脾脏,计算胸腺指数和脾脏指数^[2]。无菌取出左心室后从正中横切,取 100 mg 样品冷冻匀浆后定容于 10 ml 磷酸盐缓冲液中待测。心肌组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性采用改良的联苯三酚自氧化测定方法,丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸法^[3]。

1.3 统计学方法 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比

较采用单因素方差分析,用 SPSS 软件包进行统计分析处理。

2 结 果

2.1 葛根素处理对辐射大鼠血象的影响 SN 组和 PN 组大鼠之间外周血中红细胞和白细胞数量没有明显差异,表明葛根素并不改变未辐射大鼠血象;SR 组和 PR 组外周血中红细胞和白细胞数量均降低,但 PR 组红细胞和白细胞数量较 SR 组仍然保持较高水平($P < 0.01$),表明葛根素处理对辐射大鼠血象有一定的保护作用。见表 1。

表 1 葛根素处理对辐射大鼠血象的保护作用

Tab 1 Protective effect of puerarin on hemogram of radiated rats

| ($\bar{x} \pm s$) | | | |
|---------------------|---|----------------------------|-------------------------|
| Group | n | RBC ($\times 10^{12}/L$) | WBC ($\times 10^9/L$) |
| SN | 8 | 6.65 \pm 1.65 | 8.77 \pm 1.80 |
| PN | 8 | 6.40 \pm 1.60 | 8.90 \pm 1.75 |
| SR | 8 | 3.62 \pm 1.25 | 2.88 \pm 0.52 |
| PR | 8 | 5.22 \pm 1.35** | 6.10 \pm 0.65** |

** $P < 0.01$, vs SR group

2.2 葛根素处理对辐射大鼠脾脏和胸腺损伤的保护作用 SN 组和 PN 组大鼠之间的脾脏指数和胸腺指数没有明显差异,表明葛根素处理同样不改变非辐射大鼠的脾脏指数和胸腺指数;SR 组和 PR 组大鼠的脾脏指数和胸腺指数均降低,但 PR 组大鼠脾脏指数和胸腺指数较 SR 组仍然保持较高水平($P < 0.01$),表明葛根素处理可明显减轻电离辐射对大鼠脾脏和胸腺的损伤,有一定的保护作用。见表 2。

表 2 葛根素处理对辐射大鼠脾脏和胸腺损伤的保护作用

Tab 2 Protective effect of puerarin on injury of spleen and thymus of radiated rats

| ($\bar{x} \pm s, \%$) | | | |
|-------------------------|---|---------------------------|---------------------------|
| Group | n | Spleen weight/body weight | Thymus weight/body weight |
| SN | 8 | 0.52 \pm 0.05 | 0.25 \pm 0.06 |
| PN | 8 | 0.50 \pm 0.03 | 0.27 \pm 0.05 |
| SR | 8 | 0.32 \pm 0.05 | 0.16 \pm 0.02 |
| PR | 8 | 0.46 \pm 0.07** | 0.22 \pm 0.05** |

** $P < 0.01$, vs SR group

2.3 葛根素处理对辐射大鼠抗氧化能力的影响 PN 组与 SN 组比较, SOD 活性明显升高($P < 0.05$),同时 MDA 含量明显降低($P < 0.05$),表明葛根素处理能够有效提高非辐射大鼠心肌 SOD 活

性,同时降低膜脂过氧化产物 MDA 含量;电离辐射后,PR 组与 SR 组的 SOD 活性均明显降低,MDA 含量均明显升高,但 PR 组的改变较 SR 组明显小,有显著性差异($P < 0.01$),表明电离辐射可导致大鼠心肌 SOD 活性下降,使 MDA 含量增加,而葛根素处理又可明显减轻电离辐射对大鼠心肌 SOD 活性的损伤作用,从而抑制 MDA 含量上升。见表 3。

表 3 葛根素处理对辐射大鼠抗氧化能力的影响

Tab 3 Effect of puerarin on oxidation resistance of radiated rats ($\bar{x} \pm s$)

| Group | n | SOD (U/ mg protein) | MDA (μmol mg protein) |
|-------|---|------------------------|--------------------------------------|
| SN | 8 | 276.6 ± 58.5 | 17.6 ± 2.6 |
| PN | 8 | 338.2 ± 78.5 | 13.2 ± 2.2 |
| SR | 8 | 136.6 ± 50.8 | 35.3 ± 3.3 |
| PR | 8 | 192.8 ± 62.2** | 22.8 ± 3.4** |

** $P < 0.01$, vs SR group; * $P < 0.05$, vs SN group

3 讨论

血象反映了机体造血系统的功能状态,而造血系统是对辐射损伤最敏感的系统之一,辐射治疗的患者常常出现血液中红细胞和白细胞数量的急剧下降,因此保护造血系统或改进机体血液中红细胞和白细胞计数是衡量各种方法对辐射损伤保护效果的生化指标之一^[4]。本实验中,电离辐射导致的大鼠红细胞和白细胞计数明显下降,可能是电离辐射对大鼠骨髓造血系统严重损伤的结果;因为葛根素并没有改变未辐射大鼠的红细胞和白细胞计数,所以葛根素处理可能通过缓解电离辐射对大鼠骨髓造血系统的损伤,从而减轻电离辐射所致的大鼠红细胞和白细胞计数下降。

脾脏和胸腺是哺乳动物重要的免疫器官,同骨髓一样是免疫细胞形成、各种免疫因子产生的场所,共同构成机体的防御系统,在抵抗各种病菌或理化伤害中有重要作用。胸腺和脾脏同样对辐射损伤最为敏感,因此接受放射治疗的患者往往免疫力急剧下降,是放射治疗的主要副作用之一^[5]。本实验中电离辐射导致大鼠胸腺和脾脏指数明显下降,是电离辐射对大鼠胸腺和脾脏严重损伤的结果;而葛根素处理减轻了电离辐射所致大鼠胸腺和脾脏指数下降的趋势,说明葛根素有缓解电离辐射对大鼠胸腺和脾脏损伤的作用,即对放射性免疫器官损伤有一定的保护作用。

MDA 是 ROS 对生物膜脂质分子过氧化作用的产物,MDA 含量反映了细胞膜成分受 ROS 损伤的程度。ROS 是一类具有高生物活性的氧分子或含氧化合物,主要由细胞内的有氧代谢过程产生,正常情况下,机体依靠自身存在的清除活性氧的酶系统和非酶系统维持细胞的氧代谢稳态。SOD 是细胞内清除 ROS 的主要酶系统,衰老、电离辐射、环境污染造成 SOD 活性下降,破坏机体氧代谢稳态,诱发各种疾病^[3]。在放射治疗情况下,健康组织中的水分子及其他含氧分子,吸收高能射线能量引起电子重排,产生大量 ROS 分子,攻击和破坏生物膜脂质成分和其他生物大分子,形成过氧化损伤,是放射疗法的主要副作用^[4]。心肌组织是机体中主要的耗氧组织,是 ROS 产生和清除的主要组织,也是机体对 ROS 损伤最敏感的组织之一。电离辐射导致大鼠心肌组织中 SOD 下降,MDA 增加,反映了电离辐射情况下机体细胞内 ROS 分子不能及时清除,导致机体损伤增加。有研究表明,葛根异黄酮有明显的清除 ROS 和自由基的作用,葛根素作为葛根中的主要异黄酮成分,其抗氧化作用的效果已有报道^[6]。因此葛根素通过提高大鼠心肌组织中 SOD 活性,及时清除机体细胞内 ROS 分子,有效缓解 ROS 对生物膜的过氧化作用(降低 MDA 含量),是葛根素对电离辐射损伤起保护作用的主要机制。

[参考文献]

- 1 Lee JS, Mamo J, Ho N, *et al*. The effect of Puerariae radix on lipoprotein metabolism in liver and intestinal cells[J]. BMC Complement Altern Med, 2002, 2(1): 12-15.
- 2 施新猷主编. 医学动物实验方法[M]. 北京:人民卫生出版社,1985. 268-335.
- 3 吴伟康, 罗汉川, 侯 灿. 增龄对小鼠心肌氧自由基浓度、超氧化物歧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 中国老年学杂志, 1994, 14(4): 230-232.
- 4 Edwards JC, Chapman D, Cramp WA, *et al*. The effect of ionizing radiation on biomembrane structure and function[J]. Prog Biophys Mol Biol, 1984, 43(1): 71-93.
- 5 Szumiel I. Ionizing radiation-induced cell death[J]. Int J Radiat Biol, 1994, 66(4): 329-341.
- 6 Yu WL, Zhao YP, Shu B. The radical scavenging activities of radix puerariae isoflavonoids: A chemiluminescence study[J]. Food Chemistry, 2004, 86(4): 525-529.

[收稿日期] 2004-09-05 [本文编辑] 白玉金