

生脉散对实验动物小肠辐射损伤的保护作用

廖泽云¹, 刘红¹, 姜锦林²

中图分类号: R818.05 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)03-0264-03

【摘要】 目的 观察生脉散对实验性小鼠小肠辐射损伤的保护作用及其机制。方法 选用昆明小鼠 60只, 按随机抽签法将动物分为: 正常组、辐射组、不同剂量生脉散给药组(灌服低、中、高剂量分别为 40 60 80 g·kg⁻¹·bw)。各组小鼠均食常规饲料并自由进食。除正常组外, 其余各组用⁶⁰Co γ 射线一次性全身均匀照射, 建立肠辐射损伤模型。灌胃用药 2周后, 测定鼠不同肠段的肠腺存活率, 检测肠组织谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及超氧化物歧化酶(SOD)活性, 丙二醛(MDA)含量和血液 IL-2(白细胞介素-2)、IL-4(白细胞介素-4)、IL-6(白细胞介素-6)、IL-11(白细胞介素-11)水平。结果 不同剂量生脉散(40 60 80 g·kg⁻¹·bw)灌胃均可提高十二指肠、空肠和回肠段的肠腺存活率, 减少组织 MDA含量, 提高 GSH-Px、SOD活性, 提高血液中 IL-2、IL-4、IL-6、IL-11水平, 且与用药剂量呈一定量效关系。结论 生脉散通过拮抗氧化、调节白细胞介素及损伤修复作用有效减轻小肠的辐射损伤。

【关键词】 生脉散; 抗氧化作用; 白细胞介素; 肠辐射损伤; 实验研究

Effects of Shengmai-san on the Small Intestine of Mice after ⁶⁰Co γ -whole Body Irradiation. LIAO Ze-yun, LI Hong-jiang Jin-ling. Department of Physiology Medical College Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000 Medical School of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000 China

【Abstract】 Objective To study the protect effect of Shengmai-san water extract on the small intestine of mice after ⁶⁰Co γ -whole body irradiation. Methods mice model with irradiative was established by ⁶⁰Co γ -ray. Shengmai-san water extract was used by gaster once a day of two weeks. 14 days later, the mice were sacrificed and about 2 cm long segment of duodenum, jejunum and ileum were dissected respectively for crypt survival assay using the technique of crypt counting per unit area. The activity of GSH-Px, SOD and the levels of MDA in the small intestine, the levels of IL-2, IL-4, IL-6 and IL-11 in the serum were measured. Results Shengmai-san water extract (40 60 80 g·kg⁻¹·bw) can increase crypt survival assay of duodenum, jejunum and ileum, and the activity of GSH-Px, SOD and decrease the levels of MDA, increase the activity of SOD in model rats and increase the high levels of IL-2, IL-4, IL-6 and IL-11 in the model group in a dose-dependent manner. Conclusion Treatment with Shengmai-san water extract can improve the ability to eliminate oxygen free radical and blood interleukin and repair wound.

【Key words】 Shengmai-san; Small Intestine; Anti-oxidation; Interleukin

古方“生脉散”乃中医名方, 功能主治: 益气生津、养心补肺, 临床上常用于治疗气阴两虚患者, 有大补元气、固脱复脉的功效。该方由人参、麦冬、五味子组成, 其有效成分为人参皂甙、麦冬皂甙、麦冬黄酮、五味子素等, 有多种药理作用^[1]。有关临床研究发现生脉散对组织辐射损伤有防止作用^[2], 但对动物小肠辐射后损伤的防护作用未见报导。本实验通过⁶⁰Co γ 射线照射建立肠辐射损伤动物模型, 观察了生脉散口服液对小鼠小肠组织辐射后在抗过氧化损伤、调节白细胞介素水平及小肠腺组织存活率等方面的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品 生脉散由人参、麦冬、五味子组成, 所用药物均来自湖北民族学院附属医院中药房, 并由医学中药制剂室按传统方法煎制成含生药 2 g/ml 的水煎液备用。

1.1.2 试剂和仪器 SOD、GSH-Px、MDA检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, IL-2、IL-4、IL-6试剂盒由解放军总医院科技开发中心放免所提供, IL-11试剂盒由深圳晶美生物工程公司提供, AEROSET 09D05-01全自动生化分析仪(美国)、TL-16G型高速冷冻离心机(上海实验仪器厂生产)、GC-1200 γ 放射免疫计数器(中国安徽科大创新股份有限公司)、双筒光学显微镜。

基金项目: 湖北省卫生厅重点资助项目(JX13120)

作者单位: 1 湖北省民族学院医学院, 湖北恩施 445000 2 湖北民族学院医学院附属医院

作者简介: 廖泽云(1965-), 男, 湖北恩施人, 在职研究生, 主要从事临床医学基础研究。

1.1.3 动物 健康昆明小鼠, 9~10周龄, 体重 20~22 g, 雌雄兼用, 由湖北省动物实验中心提供。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立及处理 参照^[3]将各组动物(除正常对照组外)进行⁶⁰Co γ 射线一次性全身均匀照射, 单位质量的照射剂量为 3.89×10^{-2} Gy·kg⁻¹, 距离 0.80 m 受照剂量为 6 Gy。实验设正常组、模型组、不同剂量生脉散给药组(每天灌服 40 60 80 g·kg⁻¹·bw), 照射后 24 h 持续给药, 每日 1 次, 共 14 d。正常组、模型组 灌给等容量体积生理盐水灌胃。

1.2.2 指标检测及方法 实验完成后将动物麻醉, 取各组小鼠的十二指肠、空肠和回肠段, 在低倍镜下分别计数单位面积肠片上的肠腺数和绒毛数, 并计算肠腺存活率(结果以肠腺存活百分率表示)。同时取新鲜肠组织, 用预冷的生理盐水冲洗除去血液和粪渣, 滤纸吸干称重, 加 9 倍生理盐水, 在低温(冰水)中用玻璃研磨器研磨制成 10% 的组织匀浆, 高速离心取上清液低温(3℃)保存待测。SOD、GSH-Px、MDA 检测按试剂盒说明书进行。尾动脉采血放免法检测 IL-2、IL-4、IL-6、IL-11。

1.2.3 数据分析 实验数据采用 SPSS FOR WINDOWS 10.0 软件进行检验统计处理。

2 结果

2.1 生脉散对小肠肠腺存活率的影响 小肠粘膜单位面积上的肠腺数和绒毛数的变化及计算出的肠腺存活率, 是反映小肠辐射损伤程度的主要指标, 其变化在模型组小鼠肠腺数和绒毛数减少, 肠腺存活率降低(表中以肠腺存活百分率表示), 而不同剂量生脉散给药组(40 60 80 g·kg⁻¹·bw)灌胃后不同程度使肠腺数和绒毛数增多及提高肠腺存活率($P < 0.05$)且生

脉散的作用呈现一定剂量效应关系。见表 1

表 1 生脉散对小肠不同肠段肠腺存活率的影响 (n= 12)

组别	剂量 (g· kg ⁻¹)	十二指肠	空肠	回肠
模型组	—	55±4	64±5	50±6
低剂量组	40	64±4 ¹⁾	71±6	56±7 ¹⁾
中剂量组	60	71±5 ¹⁾	77±7	63±7 ¹⁾
高剂量组	80	77±6 ¹⁾	82±7 ¹⁾	73±7 ¹⁾

注: 1)与模型组相比, P< 0. 05
2. 2 生脉散对辐射损伤小鼠氧化与抗氧化损伤的影响 与模型组比较, 不同剂量生脉散给药组 (40 60 80g· kg⁻¹)灌胃均升高组织中 GSH-Px、SOD活性, 肠组织中 MDA含量减少, 且生脉散给药组中、大剂量作用显著 (P< 0. 01)。见表 2

表 3 生脉散对小鼠血清 IL-2 4 6 11含量的影响 (n= 12)

组别	剂量 (mg· kg ⁻¹)	IL-2 (ng/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-11 (pg/ml)
对照组	—	0. 59±0. 17	12. 59±2. 19	68. 31±16. 62	47. 59±14. 17
模型组	—	0. 40±0. 38 ¹⁾	7. 40±2. 08 ¹⁾	43. 74±12. 91 ¹⁾	35. 74±13. 37 ¹⁾
低剂量组	40	0. 79±0. 33 ²⁾	9. 79±2. 23 ²⁾	49. 36±9. 65 ²⁾	39. 36±10. 15 ²⁾
中剂量组	60	0. 83±0. 24 ³⁾	10. 83±2. 34 ³⁾	55. 26±11. 32 ³⁾	44. 26±12. 41 ³⁾
高剂量组	80	0. 86±0. 13 ³⁾	11. 36±2. 51 ³⁾	59. 68±13. 65 ³⁾	45. 68±12. 58 ³⁾

注: 与对照组相比 1) P< 0. 01; 与模型组相比 2) P< 0. 05 3) P< 0. 05.

3 讨论

电离辐射照射后, 可引起动物明显的消化道急性损伤, 小肠是营养物质消化吸收的主要部位, 小肠对辐射损伤最敏感, 临床上肠型放射病表现为广泛的肠粘膜脱落、坏死并失去正常粘膜的屏障功能。小肠腺干细胞因照射而引起死亡, 当肠腺内干细胞的数目趋于零时, 即可引起该肠腺的死亡, 并随着照射剂量的增加, 肠腺存活率降低^[4]。自由基在辐射损伤的发病机制中有重要作用, 多种细胞因子可以恢复辐射损伤后造血功能、免疫功能重建及加强对肠上皮损伤的保护作用^[5-7]。本实验采用⁶⁰Coγ射线一次性全身均匀照射诱发小鼠辐射损伤模型后, 发现小鼠不同小肠段腺数和绒毛数减少, 肠腺存活率降低, 肠组织中 MDA含量明显升高、GSH-Px SOD活性降低, 血清中的多种白细胞介素水平变化明显, 证明了辐射损伤小肠组织损伤明显, 氧自由基和细胞因子在辐射性肠损伤发病机制中起重要作用。

在实验研究中观察到, 生脉散给药组肠组织辐射损伤程度明显缓解, 且呈一定剂量效应, 显示采用生脉散灌胃用药可明显减轻模型组小鼠的肠损伤, 使肠腺数和绒毛数增多及提高肠腺存活率, 表现出抗损伤的作用; 实验中, 生脉散灌胃用药能降低辐射损伤小鼠代谢产生的脂质过氧化物 MDA含量, 升高 GSH-Px SOD活性, 表现出抗氧化特性, 从而对肠组织中的脂质过氧化反应具有抑制作用, 保护组织细胞; 辐射损伤引起小鼠白细胞介素 (IL-2、IL-4、IL-6、IL-11)水平降低, 生脉散灌胃用药后可明显升高白细胞介素水平。电离辐射可引起机体组织生成性质活泼的自由基, 破坏组织大分子结构, 通过直接作用和间接作用引起生物大分子损伤, 研究表明细胞因子是一类小分子多肽, 具多种生物学活性, 近几年发现有些细胞因子在辐射损伤的预防和治疗中作用明显^[6, 7], IL-2 和 IL-11 可维持肠上皮细胞完整性及提高肠隐窝干细胞的抗损伤作用, IL-4和 IL-6可促进淋巴细胞增殖和肠免疫功能。生脉散具有益气生津、养心补肺的作用, 有大补元气、固脱复脉的功效, 其组成为人参、麦冬、五味子, 有增强对各种有害刺激的防御能力、刺激造血器官、增强免疫力、加速淋巴母细胞转化、调节血液循环等功能。有关研究显示人参、麦冬、五味子单味药及生脉散复方具有清除氧自由基的能力, 生脉散可调节热损伤大鼠和糖尿病患者血 IL-2和 IL-6^[6-10], 由于氧自由基在辐射性肠损伤发病机制中起重要作用, 而多种细胞因子及白细胞介素的相互作用可以减轻组织损伤, 所以实质上提高组织抗氧

表 2 生脉散对小肠组织 SOD、GSH-Px活性和 MDA含量的影响 (n= 12)

组别	剂量 (g· kg ⁻¹)	SOD(Nu/ mg Pro)	GSH-Px(U/g)	MDA(nmol/mg Pro)
对照组	—	270. 30±37. 45	11. 76±0. 37	1. 73±0. 24
模型组	—	159. 77±36. 22 ¹⁾	8. 65±0. 29 ¹⁾	2. 66±0. 65 ¹⁾
低剂量组	40	187. 04±32. 30 ²⁾	9. 41±0. 31 ²⁾	2. 26±0. 41 ²⁾
中剂量组	60	215. 37±34. 64 ³⁾	10. 87±0. 40 ³⁾	1. 97±0. 35 ³⁾
高剂量组	80	241. 80±22. 54 ³⁾	11. 35±0. 39 ³⁾	1. 86±0. 30 ³⁾

注: 与对照组相比 1) P< 0. 01; 与模型组相比, 2) P< 0. 05 3) P< 0. 01
2. 4 生脉散对辐射损伤小鼠白细胞介素的影响 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 IL-2、IL-4、IL-6、IL-11水平明显降低 (P< 0. 01); 经过 2周的灌胃用药, 模型组大鼠血清中 IL-2、IL-4、IL-6、IL-11水平升高 (P< 0. 05 P< 0. 01)。见表 3

化能力及白细胞介素对辐射损伤的防护是非常重要的。实验中生脉散降低 MDA含量、升高重要的 GSH-Px SOD活性及升高白细胞介素水平足以表明其抗氧化特性和对细胞因子异常有调节恢复作用, 从而缓解肠组织辐射损伤程度, 对于该复方各种成分在实验中的作用需要进一步探讨。

参考文献:

[1] 黄正良, 李仪奎. 中成药药理与应用 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997: 227—230
[2] 尹强, 黄英昌, 陈玉, 等. 生脉注射液减轻放射性肺损伤的临床观察 [J]. 肿瘤防治杂志, 2002 9(5): 506—507.
[3] 蒋晓燕, 王晓雯, 王雪飞等. 肉苁蓉总苷对⁶⁰Coγ射线照射小鼠造血系统损伤保护作用的研究 [J]. 中国药理学通报, 2000; 16(3): 332—335.
[4] FOWLER J F, HARARI P M, LEBORGNE F, et al. Acute radiation reactions in oral and pharyngeal mucosa: tolerable levels in altered fractionation schedules [J]. Radiother Oncol, 2003 69(2): 168
[5] 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—463
[6] NDARRM A V, VISVALINGAM V, LOCKE M, et al. Mucosal cytokine production in radiation-induced proctosigmoiditis compared with in inflammatory bowel disease [J]. Am J Gastroenterol, 2000 95: 1221—1225
[7] POTTEN C S. Protection of the small intestinal cryptogenic stem cells from radiation-induced damage by pretreatment with interleukin 11 also increases murine survival time [J]. Stem Cells, 1996 14: 452—459
[8] 王晓春, 余庆皋, 杨长兴, 等. 三种剂型生脉制剂对氧自由基清除作用的比较研究 [J]. 湖南医学, 2002 19(2): 83—84
[9] 李敏, 赵法及, 郭俊生, 等. 生脉散对热损伤大鼠免疫功能的保护作用 [J]. 中国公共卫生, 1999 15(10): 874—875
[10] 段顺元, 杨铭, 徐军发, 等. 生脉注射液对 2 型糖尿病肾病患者血液肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 的影响 [J]. 中国临床康复, 2005 9(3): 172—174

(收稿日期: 2007—01—04)