

养胃方减轻放射线所致小鼠自由基损伤的实验研究^{*}

★ 刘健 (广州中医药大学第三临床医学院 广州 510405)

摘要:目的:探讨养胃方对放射线所致小鼠自由基氧化损伤的保护作用。方法:采用TBA法和DTNB法。结果:养胃方可降低小鼠的内脏(肝、肾)组织的MDA含量,增高GSH含量。结论:养胃方能减轻放射线对小鼠的自由基损伤。

关键词:养胃方;放射线;自由基

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

Experimental study of Yangwei Decoction on releasing scathe caused by free radical after radiotherapy on mice

LIU Jian

The 3rd Medical College of Guangzhou university of Chinese medicine, Guangzhou 510405

Objective: To study the effect of Yangwei decoction on releasing scathe caused by free radical after radiotherapy on mice. **Methods:** To study the protective effects of mice scathed by free radical after radiation using TBA and DTNB. **Results:** Yangwei decoction reduces content of MDA, improves content of GSH (in both liver and kidney). **Conclusion:** Yangwei decoction can reduce scathe caused by free radical.

Key words: Yangwei decoction; Radiotherapy; Free radical

养胃方为广东省名老中医沈英森的临床经验方,由益气健脾、柔润养阴中药北沙参30g、麦冬10

g、茯苓10g、厚朴10g、炒扁豆10g、黄芪30g、石斛10g、柿蒂10g、鸡内金10g、砂仁10g、生牡蛎30g

均接近正常对照组。钙奇补低剂量组疗效较差,但与模型组比较仍有一定程度改善。

4 讨论

从实验结果可知,钙奇补颗粒对大鼠佝偻病有较好治疗作用,其中以钙奇补高、中剂量效果较好,与龙牡壮骨颗粒疗效相近或略优。钙奇补低剂量效果较差。钙奇补颗粒由熟地、黄芪、煅牡蛎、骨碎补、苍术、猪脊髓、猪脊骨粉、鸡子黄粉、维生素D、葡萄糖酸钙等药物组成。按中医关于肾主骨的理论,治疗佝偻病应以补肾为主。方中熟地主人肝肾经善补肾滋阴,益精填髓以培补先天之本,熟地中且含有较高的铁、镍、硒等微量元素,有利于类骨质钙化。黄芪补中益气健脾以扶固后天,药理研究还显示黄芪有降低破骨细胞骨吸收,促进骨形成的补骨作用^[4]。煅牡蛎富含天然活性钙质且性咸入肾,猪脊髓坚阴填髓,猪脊骨粉补钙健骨,鸡子黄粉为血肉有情之品

且富含天然维生素D。骨碎补补肾强骨。现代药理研究表明,苍术中含有与钙磷吸收有关的维生素D,其挥发油具有促进骨骼钙化作用。钙奇补颗粒中还配有适宜量的维生素D和葡萄糖酸钙,使维生素D和钙剂的补充更为充分。诸药配伍,综合发挥补肾健骨,益气健脾、安神定惊、生肌敛汗等功效,既能治缺钙之标,又可治肾虚骨弱之本,且利于促进钙剂吸收,故实验治疗佝偻病获得较好疗效。

参考文献

- [1] 汪翼. 儿科学[M]. 5版. 北京:人民卫生出版社,2004:44.
- [2] 薛辛东. 儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:85.
- [3] 朱列伟,周丽君,金丕焕,等. 大鼠佝偻病模型和血钙浓度与骨病理参数的量效关系[J]. 中华物理医学杂志 1995,17(3):135.
- [4] 谢华,吴铁,黄连芳,等. 黄芪水提液对大鼠的类固醇性骨质疏松的防治作用[J]. 中草药,1997,29(1):25.

(收稿日期:2008-04-30)

* 基金项目:广东省中医药管理局科研项目(98407)

组成,具有养阴益气、健脾和胃、降逆止呕的作用,临床用于治疗恶性肿瘤放、化疗后出现的疲倦乏力、恶心呕吐、腹胀纳呆及白细胞数下降,免疫功能抑制等毒副作用,临床效果理想,病人用后放、化疗毒副反应减轻,生存质量提高,有利于放化疗的坚持进行。本研究观察了养胃方对放射线致小鼠自由基损伤的作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 实验动物:昆明小鼠 20 只,雄性,每只(20±2)g,由本校实验动物房提供。(2) 试剂:三氯乙酸(AR),江苏洪声化工厂;DTNB[5,5-二硫双-(2-硝基苯甲酸)],FLUKA 公司;TBA(硫代巴比妥酸),SERVA 公司;1,1,3,3-四乙氧基丙烷,FLUKA 公司;80-2 离心沉淀器,上海手术气节器械厂;组织匀浆器,海门其林医用仪器厂;电热恒温水浴箱,北京西城区医疗器械厂;722 光栅分光光度计,上海第三分析仪器厂;谷胱甘肽(GSH),上海酵母厂生产,生化试剂;双圈牌 MA260S 电子天平,上海第二天平仪器厂。

1.2 方法 (1) 动物分组:分两组,分别为照射对照组和养胃方组,每组 10 只。(2) 放疗参数:两组均使用暨南大学医学院第一附属医院肿瘤科⁶⁰Co γ 射线一次性全身照射 5GY^[1];(3) 养胃方制备:由本院制剂室提供。(4) 给药方法:两组均采用每日一次灌胃给药法,照射对照组每日灌胃 NS 0.5 ml,养胃方组每日灌胃养胃方 0.5 ml(1.8 g/ml)。(5) 动物处理:杀鼠,取肝脏、肾脏,作组织匀浆。(6) 指标检测:①取匀浆 4 ml,加入冷却 10% TCA 1 ml 充分混合,3 000 r/min,15 min 后得上清;②取上清 0.5 ml,加入 0.2 mol/L pH 8.0 PB 2 ml,摇匀;③加入 DTNB 0.3 ml,混匀,10 min 后于 722 光栅分光光度计上测定吸光度值(GSH);④取上清 2 ml,加入 0.67% TBA 1 ml,混匀;⑤于 95℃ 电热恒温水浴箱中放置 15 min,然后流水冷却,于 722 光栅分光光度计上测定吸光度值。(7) 统计分析:数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验比较。

1.3 标准曲线测定 (1) 丙二醛(MDA)标准曲线:分别取 4.743 5 nmol/ml 四乙氧基丙烷(TEP)0、0.5、1、1.5、2、2.5 ml,将抗自由基氧化实验中吸光度数据代入曲线方程中,求组织 MDA 含量,单位以 nmol/g 湿重表示,得线性方程: $Y = 0.0192X + 0.0089$ 。(2) GSH 标准曲线:分别取 1 mmol/L GSH 溶液 0、0.2、0.4、0.8、1.6 ml 加入 1 ml 10% TCA,用 NS 补至 5 ml 混匀,求标准曲线,将抗自由基氧化实验中吸光度数据代入曲线方程中,求组织 GSH 含

量,单位以 $\mu\text{mol/g}$ 湿重表示,得线性方程: $Y = 0.06619X + 0.01929$ 。

2 结果

见表 1、2、3。

表 1 两组小鼠肾脏组织 MDA 比较

组别	n	MDA/nmol · g ⁻¹
照射对照	8	365.4748 ± 63.9558
养胃方组	9	240.4105 ± 86.8143 *

注: * 与照射对照组相比, $t = 4.173$, $P = 0.004$ 。

表 2 两组小鼠肝脏组织 MDA 比较

组别	n	MDA/nmol · g ⁻¹
照射对照	8	679.3586 ± 182.0365
养胃方组	7	475.4909 ± 67.2392 *

注: * 与照射对照组相比, $t = -3.177$, $P = 0.019$ 。

表 3 两组小鼠肝脏组织 GSH 比较

组别	n	GSH/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
照射对照	7	0.233 ± 0.204
养胃方组	7	0.408 ± 0.210 *

注: * 与照射对照组相比, $t = 2.642$, $P = 0.038$ 。

3 讨论

脂质过氧化物反应是自由基攻击细胞膜上的多聚不饱和脂肪酸而发生的一系列链式反应,最终产物有 MDA^[2],MDA 稳定,检测方便,其含量在很大程度上反映了体内脂质过氧化损伤的严重程度,此方法目前已被大家所公认为评价脂质过氧化的指标^[3]。MDA 在酸性水溶液中,与 TBA 反应,生成红色的 MDA-TBA 复合物,在分光光度计下可测出其吸光度值。此红色物质在波长 532 nm 有极大吸收峰,可用分光光度进行定量测定,是一种灵敏度很高的方法。

纵观国内外的放射防护研究,自由基一向是重要的评价药物防护效力的指标。放射线产生机体的毒副反应重要的机理之一是通过辐解产生大量的自由基,其对生物体分子攻击,导致细胞膜、细胞器乃至整个细胞损伤。本实验表明,养胃方组小鼠肝肾脏组织细胞中的 MDA 含量下降而 GSH-Px 含量升高,表明养胃方能减轻辐射的自由基损伤,增强机体清除自由基的能力,减少放射线所致的毒副作用,对辐射生物体具有防护效力。

参考文献

- [1] 王景华,殷金珠,白小微. 91 方加速放射损伤小鼠免疫功能的恢复[J]. 中华放射医学与防护杂志,1994,14(2):86.
- [2] Dianzani M U. Free Radical Biology: Xenobiotics, Cancer, and aging, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1982;45-50.
- [3] 莫简. 医用自由基生物学导论[M]. 北京:人民卫生出版社出版,1989;35,214.

(收稿日期:2008-06-24)