

“四物汤”对辐射危害的辅助保护作用研究

王浩 沈秀 靳瑾 吴红英 周则卫 周晓靓

【摘要】目的 研究传统方剂“四物汤”对急性辐射损伤的辅助保护作用。**方法** 根据国家食品药品监督管理局对抗辐射保健品的规定进行功效评价,包括外周血白细胞数、股骨有核细胞数;检测了小鼠30 d存活率。**结果** 照射后3 d与照射前1 d比较,对照组的白细胞数、红细胞数和血红蛋白量均明显降低;照射后14 d,与对照组比较,低剂量给药组(0.5 g/kg)的白细胞数、红细胞数及血小板数均有升高,差异有统计学意义;小鼠30 d存活率的实验表明,与对照组比较,3个给药组均延长了小鼠的存活天数。**结论** 笔者制备的“四物汤”提取液在推荐剂量对辐射损伤具有辅助保护作用。

【关键词】 辐射损伤;造血系统;营养保健品;四物汤

Protective activity of Siwu Decoction against radiation hazards Wang Hao, Shen Xiu, Jin Jin, Wu Hongying, Zhou Zewei, Zhou Xiaoliang. Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Zhou Xiaoliang, Email: zhouxiaoliang@irm-cams.ac.cn

【Abstract】 Objective To investigate the protective activity of Siwu Decoction against acute radiation injury. **Methods** The population of peripheral white blood cells(WBCs) and bone marrow nucleated cells, as well as the 30 d survival rate of mice were studied in accordance with the China Food and Drug Administration regulation on anti-radiation health food. **Results** Compared with the control group, mice treated with Siwu Decoction showed significantly increased peripheral WBCs, red blood cells, hemoglobin, platelets, and bone marrow nucleated cells. The 30 d survival rate increased in all administration groups of mice. **Conclusion** Siwu Decoction extract at recommended dose exerts protective activity against radiation injury.

【Key words】 Radiation injuries; Hemopoietic system; Dietary supplements; Siwu Decoction

医疗辐射已经成为人类接触电离辐射的主要来源^[1]。另据不完全统计,我国现有30余万从事放射性工作人员^[2],由于放射性工作人员在职业过程中受到低剂量电离辐射照射,存在一定的辐射损伤风险,因此有必要对这些人员进行健康监护及预防性保健工作,对于这些人员来说,最佳的防护是给予食补保健的办法。造血系统损伤是辐射损伤的主要症状,实验表明,传统经方“四物汤”对辐射导致的小鼠外周血白细胞的恢复有明显的促进作用^[3]。“四物汤”最早记录于“太平惠

民合剂局方”,其药材组成为熟地、当归、川芎、白芍,主治营血虚滞证。现代药理学研究结果表明,“四物汤”中的熟地黄多糖、当归多糖对辐射引起的造血系统损伤有较明显的保护作用,可以认为是“四物汤”发挥补血作用的物质基础^[4-5]。本研究根据国家食品药品监督管理局对辐射保健食品功效学的检验要求对“四物汤”的保健功效进行评价。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

全自动血细胞计数仪(MEK-7222K,日本光电公司)。¹³⁷Cs γ射线照射源(Auto-cell40,加拿大原子能有限公司)。当归、熟地等中药材均购自天津市兴达药业有限公司,符合《中国药典》规定。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2015.02.004

基金项目:国家自然科学基金(81301983);协和青年基金(3332013133)

作者单位:300192,天津,中国医学科学院放射医学研究所,天津市放射医学和分子核医学重点实验室

通信作者:周晓靓(Email: zhouxiaoliang@irm-cams.ac.cn)

1.2 动物

C57BL/6 雄性小鼠, 6~8 周龄, 18~22 g/只, 共 120 只, 购自北京维通利华实验技术有限公司。实验室温度为 20℃~24℃, 相对湿度为 40%~70%, 自由饮水和摄食。

1.3 “四物汤”的提取^[4]

称取熟地 36 g、当归 24 g、白芍 24 g、川芎 15 g, 置于回流加热装置中, 加入 12 倍量蒸馏水浸泡 1 h, 武火煮沸后文火煎煮 1 h。以 8 层纱布滤过, 同法重复提取 3 次后, 合并 3 次煎药液, 浓缩至小体积, 加入药用乙醇使含醇量为 55%, 离心 (800×g, 15min) 后, 取上清液浓缩至膏状, 出膏率为 (44.94±3.53)%。采用苯酚硫酸法检测多糖含量为 (10.69±1.02)%, 将膏体稀释至 100 ml, 高压灭菌后密封, 在 4℃ 冰箱保存, 给药前进行稀释。

1.4 分组及给药

将 C57BL/6 小鼠按照随机区组法分为对照组、高剂量给药组、中剂量给药组、低剂量给药组, 每组 10 只。3 个给药组的小鼠每日分别灌胃给予高剂量 2 g/kg、中剂量 1 g/kg、低剂量 0.5 g/kg (生药量计算, 0.2 ml/只) 的“四物汤”提取液, 对照组每日给予 0.2 ml/只的纯净水, 连续给药 14 d 后, ¹³⁷Cs γ 射线 4 Gy 全身照射 (吸收剂量率为 0.87 Gy/min), 照射后继续给药至实验结束。

1.5 外周血细胞计数及血红蛋白含量^[6]

在照射前 1 d, 照射后 3 d、14 d, 每只实验小

鼠眼底静脉丛采血 20 μl, 用全自动血细胞计数仪进行检测。

1.6 股骨有核细胞计数

分组及给药方法同 1.4 节, 连续给药 14 d 后, ¹³⁷Cs γ 射线全身照射 (吸收剂量率为 0.87 Gy/min), 照射后继续给药至照射 7 d 后, 处死动物, 采集单侧股骨, PBS 缓冲液冲洗骨髓, 过滤后用全自动血细胞计数仪检测。

1.7 小鼠 30 d 存活率

分组及给药方法同 1.4 节, 连续给药 14 d 后进行 8 Gy ¹³⁷Cs γ 射线全身照射 (吸收剂量率为 0.87 Gy/min), 照射后继续给药至 30 d。

1.8 统计学方法

采用 origin8.0 软件进行统计学分析, 各组数值均以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间的差异用 *t* 检验分析, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血细胞和股骨有核细胞计数

由表 1、2 可见, 照射前血细胞计数的结果表明, 不同剂量的“四物汤”提取液对小鼠的外周血细胞数均有一定影响。经过 14 d 给药后, 高剂量给药组的白细胞数、红细胞数、血红蛋白含量和血小板数与对照组比较均有不同程度降低, 其中除白细胞数与对照组相比差异无统计学意义, 其他指标的差异均有统计学意义。4 Gy γ 射线全身照射后,

表 1 “四物汤”提取液对 4 Gy γ 射线照射小鼠外周血细胞数及血红蛋白含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

Table 1 Effect of Siwu Decoction extract on peripheral blood cells count and hemoglobin of mice under 4 Gy γ-ray irradiation ($\bar{x} \pm s$, *n*=10)

组别	白细胞数 (×10 ⁹ /L)			红细胞数 (×10 ⁹ /L)		
	照射前 1 d	照射后 3 d	照射后 14 d	照射前 1 d	照射后 3 d	照射后 14 d
对照组	2.69±0.37	0.36±0.13	1.46±0.48	3.38±0.26	2.57±0.13	4.58±1.67
高剂量给药组	2.43±0.62	0.32±0.15	0.97±0.28* (<i>t</i> =2.49)	3.00±0.21* (<i>t</i> =4.20)	2.57±0.16	4.50±0.26
中剂量给药组	2.46±0.58	0.39±0.23	1.82±0.35	3.23±0.16	2.90±0.16** (<i>t</i> =6.35)	4.43±0.19
低剂量给药组	2.43±0.60	0.38±0.14	1.94±0.43* (<i>t</i> =2.82)	3.28±0.27	2.74±0.16* (<i>t</i> =2.73)	6.23±2.02* (<i>t</i> =2.05)
组别	血红蛋白 (g/L)			血小板数 (×10 ⁹ /L)		
	照射前 1 d	照射后 3 d	照射后 14 d	照射前 1 d	照射后 3 d	照射后 14 d
对照组	50.1±4.0	40.6±1.9	70.9±22.3	137.6±25.9	142.8±15.7	186.6±32.2
高剂量给药组	43.8±2.7** (<i>t</i> =5.10)	37.7±1.5* (<i>t</i> =4.25)	63.7±3.2	103.3±31.6* (<i>t</i> =2.95)	124.9±36.1	123.6±39.8* (<i>t</i> =4.24)
中剂量给药组	46.4±2.7* (<i>t</i> =2.66)	43.5±1.8* (<i>t</i> =3.93)	63.3±3.0	115.3±11.8* (<i>t</i> =2.73)	134.5±30.5	156.8±26.7
低剂量给药组	47.5±3.8	41.2±2.5	95.25±26.2	123.5±11.7	130.7±15.3	352.3±170.1* (<i>t</i> =3.07)

注: 表中, 所有检测结果为血样稀释 3 倍后的检测值; 与对照组比较: * 表示 *P*<0.05, ** 表示 *P*<0.01。

可见对照组的外周血白细胞数与照射前比较显著下降,在照射后3 d时最低,照射后14 d时检测值呈现恢复趋势,但仍低于照射前。与对照组比较,在照射后14 d时低剂量给药组的白细胞数、红细胞数和血小板数的差异均有统计学意义;中剂量给药组能够显著提高照射后3 d的红细胞数和血红蛋白含量;高剂量给药组照射后的白细胞数和血小板数均显著低于对照组,表现出负性调节作用。

“四物汤”提取液的不同剂量组对 γ 射线照射后7 d的小鼠股骨有核细胞数均有不同程度提高,血样稀释3倍后检测,对照组、低剂量给药组、中剂量给药组、高剂量给药组的股骨有核细胞数分别为 $(2.91\pm 0.44)\times 10^9/L$ 、 $(3.35\pm 0.48)\times 10^9/L$ 、 $(3.56\pm 0.73)\times 10^9/L$ 、 $(3.19\pm 0.39)\times 10^9/L$,其中低剂量给药组和中剂量给药组与对照组比较差异有统计学意义($t_{低}=2.33, t_{中}=2.43, P$ 均 <0.05)。

2.2 小鼠30 d存活率

由图1结果可见,高、中、低3个剂量给药组受 γ 射线照射后小鼠的存活率均有明显的改善。平均存活天数(高剂量给药组为17 d,中剂量给药组为24 d,低剂量给药组为18 d)与对照组(14 d)相比有所提高,提示“四物汤”提取液对于致死剂量8 Gy照射的小鼠有较好的整体辐射保护作用。

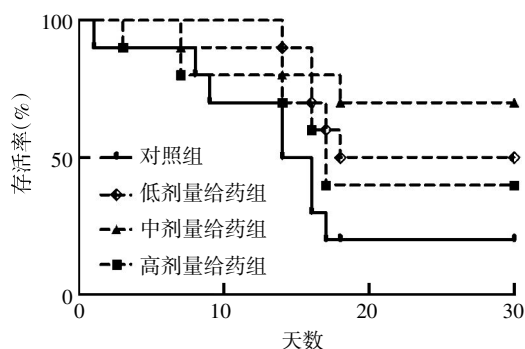


图1 “四物汤”提取液对8 Gy γ 射线照射后小鼠的30 d存活率的影响

Fig 1 Effect of Siwu Decoction extract on survival rates in 30 d of mice under 8 Gy γ -ray irradiation

3 讨论

“四物汤”是补血经典方剂,具有促进机体造血功能的作用,将其作为抗辐射保健食品开发对于放射性工作人员的保健以及肿瘤临床放疗患者的康复都具有非常重要的意义。本文根据国家食品药品监督管理局对抗辐射保健食品功效学评价的要

求,对“四物汤”提取液的抗辐射功效进行评价。结果表明,该提取液在低剂量给药组(0.5 g/kg)表现出较好的造血保护作用,能够显著提高照射后14 d小鼠的外周血白细胞数、红细胞数和血小板数;中剂量给药组(1 g/kg)显著提高照射后3 d小鼠的红细胞数和血红蛋白含量。值得注意的现象为高、中、低剂量给药组在单给药14 d后(即照射前1 d)与对照组相比均表现出一定程度的造血负向作用,其中高剂量给药组能够显著降低外周血红细胞数、血红蛋白含量和血小板数。30 d存活率结果表明,3个给药组与对照组相比均表现出辐射保护作用,其中中剂量给药组表现最为理想。综合以上结果,“四物汤”可能对造血系统具有双向调节作用而并非仅有正向调节作用,在没有造血系统损伤的生理条件下,一定程度的造血抑制,可能更有利于造血系统损伤后的恢复,即表现出一种低毒兴奋效应。

根据卫生部出版的《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)的要求,外周血白细胞计数、骨髓细胞DNA含量或骨髓有核细胞数、小鼠骨髓细胞微核实验、血/组织中超氧化物歧化酶活性和血清溶血素含量实验中,任何二项的实验结果为阳性即可判定该受试样品对辐射危害具有辅助保护功能^[7]。本研究使用的“四物汤”提取液已经满足这一规定,其中低剂量0.5 g/kg可以作为临床推荐剂量进行服用。而且,30 d存活率结果也表明该提取液具有明确的辐射保护作用,作为抗辐射保健食品具有进一步研究的价值。

参 考 文 献

- [1] 傅颖华,杜维霞,孙全富,等.我国放射工作人员职业健康管理现状及其问题[J].中国职业医学,2008,35(1):44-46.
- [2] 孙全富,牛昊巍,李小娟.我国放射工作人员职业健康管理的几个问题[J].中华放射医学与防护杂志,2014,34(3):161-163.
- [3] 高月,马增春,谭洪玲,等.四物汤及其提取物对辐射致血虚证小鼠造血作用的研究[J].天津中医药,2003,20(6):47-51.
- [4] 王东根,马增春,邵帅,等.新型四物方活血活性部位的初步筛选[J].解放军药学学报,2011,27(2):95-98.
- [5] 肖成荣,马增春,梁乾德,等.四物汤不同部位对辐射小鼠外周血象的影响[J].解放军药学学报,2014,30(4):306-309.
- [6] 闫玉军,叶翔,宋娜玲,等.DHEA对放、化疗损伤造血功能保护作用的实验研究[J].国际放射医学核医学杂志,2014,38(3):164-166,178.
- [7] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[Z].2003:97-104.

(收稿日期:2015-01-05)