

胡颓子多糖对小肠辐射损伤的保护作用

廖泽云, 林平, 李玉山, 姜锦林

廖泽云, 林平, 李玉山, 湖北民族学院医学院 湖北省恩施市 445000

姜锦林, 湖北民族学院附属医院中医儿科教研室 湖北省恩施市 445000

湖北省卫生厅科研基金项目, No. JX2C42

通讯作者: 廖泽云, 445000, 湖北省恩施市学院路39号, 湖北民族学院医学院. lzy121192004@126.com

电话: 0718-8431861

收稿日期: 2007-01-25 接受日期: 2007-02-09

Effects of *Elaeagnus bockii* Diels polysaccharide on the small intestine of mice after whole body irradiation with $^{60}\text{Co}\gamma$ ray

Ze-Yun Liao, Ping Lin, Yu-Shan Li, Jin-Ling Jiang

Ze-Yun Liao, Ping Lin, Yu-Shan Li, Medical School of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, Hubei Province, China

Jin-Ling Jiang, Department of Traditional Chinese Medicine (Paediatrics), the Affiliated Hospital of Medical School of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, Hubei Province, China

Correspondence to: Ze-Yun Liao, Medical School of Hubei Institute for Nationalities, 39 Xueyuan Road, Enshi 445000, Hubei Province, China. lzy121192004@126.com

Received: 2007-01-25 Accepted: 2007-02-09

Abstract

AIM: To study the protective effect of *Elaeagnus bockii* Diels (EbD) polysaccharide on the small intestine of mice after whole body irradiation with $^{60}\text{Co}\gamma$ ray.

METHODS: Sixty Kunming mice were divided in normal group, irradiative injury group, and EbD-treated groups (100, 300, 500 mg/kg). Irradiative injury was induced using $^{60}\text{Co}\gamma$ ray. EbD polysaccharide was administered by clyster once a day for two weeks. Fourteen days later, the mice were sacrificed and about 2-cm segment of duodenum, jejunum and ileum were dissected respectively for crypt survival assay. The contents of intestinal mucosal protein, DNA and diamine oxidase (DAO) were determined. The activity of superoxide dismutase (SOD), the level of malondialdehyde (MDA) in the small intestine, the serum levels of tumor necrosis fac-

tor (TNF), interleukin-4 (IL-4) and IL-6 were also measured.

RESULTS: EbD polysaccharide (100, 300, 500 mg/kg) increased crypt survival rates of duodenum, jejunum and ileum ($P < 0.05$), promoted the synthesis of intestinal mucosal protein and DNA ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), enhanced the levels of IL-4 (9.79 ± 2.23 , 10.83 ± 2.34 , 11.36 ± 2.51 vs 7.40 ± 2.08 ; $P < 0.05$ or $P < 0.01$), IL-6 (49.36 ± 9.65 , 55.26 ± 11.32 , 59.68 ± 13.65 vs 43.74 ± 12.91 ; $P < 0.05$ or $P < 0.01$) and the activity of SOD, while decreased the level of TNF (6.89 ± 1.33 , 6.74 ± 1.24 , 5.87 ± 1.13 vs 8.53 ± 1.08 ; $P < 0.05$ or $P < 0.01$) and the content of MDA. The above effect was dose dependent.

CONCLUSION: EbD polysaccharide can protect the small intestine from irradiation-induced injury by promoting the synthesis of intestinal mucosal protein and DNA, modulating the abnormality of cytokines, and eliminating oxygen free radicals.

Key Words: *Elaeagnus bockii* Diels; Polysaccharide; Small intestine; Diamine oxidase; Anti-oxidation; Cytokine

Liao ZY, Lin P, Li YS, Jiang JL. Effects of *Elaeagnus bockii* Diels polysaccharide on the small intestine of mice after whole body irradiation with $^{60}\text{Co}\gamma$ ray. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(13):1541-1544

摘要

目的: 观察长叶胡颓子多糖对小肠辐射损伤的保护作用及其机制。

方法: 昆明小鼠60只随机分为: 正常组、辐射组、不同剂量(100, 300, 500 mg/kg)胡颓子多糖给药组。采用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线一次性全身均匀照射建立小肠辐射损伤模型, 相应灌胃用药2 wk后, 测定小鼠肠段的肠腺存活率百分比和二胺氧化酶(DAO)含量, 检测肠黏膜蛋白质和DNA含量(mg/cm), 肠组织中SOD活性和MDA含量, 血清中TNF、IL-4、IL-6水平。

结果: 不同剂量长叶胡颓子多糖灌胃均不同

■背景资料

电离辐射引起消化道急性损伤在临床上表现为肠型放射病, 研究表明自由基作用在辐射损伤的发病机制中有重要作用, 多种细胞因子可恢复辐射损伤后造血功能、免疫功能, 多糖物质具有影响造血功能、免疫调节及抗脂质过氧化作用, 长叶胡颓子(*Elaeagnus bockii* Diels)属珍贵的药食两用植物, 可健脾胃, 涩肠止泻, 此项研究探讨了长叶胡颓子多糖对小鼠放射性肠损伤的保护作用。

■创新盘点

相关报道以多糖物质影响造血功能、免疫功能及抗脂质过氧化等可以减轻辐射损伤程度为主,且长叶胡颓子多糖对小鼠放射性肠损伤后的作用尚未见报道。本研究证实胡颓子多糖可以影响小肠蛋白质和DNA合成及二胺氧化酶含量,降低肠组织MDA含量、升高SOD的活性及调节动物细胞因子分泌,从而缓解肠组织辐射损伤程度。

程度提高十二指肠、空肠和回肠段肠腺存活率($P<0.05$),促进肠黏膜蛋白质、DNA合成($P<0.05$ 或 $P<0.01$),降低血液中TNF水平(6.89 ± 1.33 , 6.74 ± 1.24 , 5.87 ± 1.13 vs 8.53 ± 1.08 ; $P<0.05$ 或 $P<0.01$)和MDA含量,提高IL-4(9.79 ± 2.23 , 10.83 ± 2.34 , 11.36 ± 2.51 vs 7.40 ± 2.08 ; $P<0.05$ 或 $P<0.01$)、IL-6水平(49.36 ± 9.65 , 55.26 ± 11.32 , 59.68 ± 13.65 vs 43.74 ± 12.91 ; $P<0.05$ 或 $P<0.01$)和SOD活性,且与用药剂量呈量效关系。

结论:长叶胡颓子多糖通过促进肠黏膜蛋白质和DNA合成、增强抗氧化能力、调节细胞因子异常和损伤修复作用维护肠黏膜的完整性、增强屏障作用,有效减轻小肠辐射损伤。

关键词:胡颓子多糖;小肠辐射损伤;二胺氧化酶;氧自由基;细胞因子

廖泽云, 林平, 李玉山, 姜锦林. 胡颓子多糖对小肠辐射损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2007;15(13):1541-1544
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1541.asp>

0 引言

长叶胡颓子(*Elaeagnus bockii* Diels)属珍贵的药食两用植物,在80余种胡颓子中其药用价值很高,根、叶、果皆可入药^[1-2]。我国长叶胡颓子主要分布于湖北、四川、贵州、陕西和甘肃等地,民间习用。长叶胡颓子可健脾胃,治疗脾胃虚弱,消化不良等症状效果好,其果实味酸、涩,含鞣质,有涩肠止泻作用^[3],药理实验也表明其对实验动物有抗脂质过氧化作用和免疫调节作用^[4-5]。为探讨长叶胡颓子多糖对小肠辐射损伤的保护作用,我们通过建立小鼠放射性肠损伤模型,采用长叶胡颓子多糖灌胃给药,进行了相关实验研究,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 9-10周龄健康昆明小鼠,体质量20-22 g,雌雄兼用,由湖北省动物实验中心提供。野生长叶胡颓子果实于2006-07采购于湖北恩施自治州巴东野三关镇。长叶胡颓子果实多糖(以下简称胡颓子多糖)的提取采用水煮醇沉法粗提^[6]。SOD、MDA检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, TNF试剂盒由解放军总医院科技开发中心放免所提供, 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, AEROSSET 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 r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, 所用其他试剂均购自深圳晶美生物工程公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立及处理 参照文献[7]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,照射剂量为 3.89×10^{-2} Gy/kg, 距离0.80 m, 受照剂量为6 Gy。实验设正常组、模型组、不同剂量胡颓子多糖给药组(灌服剂量分别为100, 300, 500 mg/kgBW), 照射后24 h持续ig给药, 每日1次, 共14 d。正常组、模型组ig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, 参照文献[8]方法, 取各组小鼠的十二指肠、空肠和回肠段, 在光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(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, 滤纸吸干称质量, 加9倍生理盐水, 在低温(冰水)中用玻璃研磨器研磨制成100 g/L匀浆, 高速离心取上清液低温(3℃)保存待测。DAO采用分光光度法测定, 考马斯亮蓝法测定组织蛋白质, 溴化乙锭荧光法测定肠黏膜DNA。SOD、MDA检测按试剂盒说明书进行。尾动脉采血放免法检测TNF, IL-4, IL-6。

统计学处理 实验数据采用SPSS10.0软件进行 t 检验统计处理。

2 结果

2.1 胡颓子多糖对小肠肠腺存活率的影响 小肠黏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, 在模型组小鼠肠腺数和绒毛数减少, 肠腺存活率降低, 而不同剂量胡颓子多糖给药组(灌服剂量分别为100, 300, 500 mg/kgBW)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($P<0.05$), 且胡颓子多糖的作用呈现一定剂量效应关系(表1)。

2.2 胡颓子多糖对小肠肠黏膜蛋白质和DNA含量的影响 与模型组比较, 不同剂量胡颓子多糖给药组(灌服剂量分别为100, 300, 500 mg/kgBW)灌胃均促进组织中蛋白质和DNA的合成, 且胡颓子多糖给药组中、大剂量作用显著($P<0.05$, $P<0.01$)(表2)。

2.3 胡颓子多糖对辐射损伤小鼠氧化与抗氧化损伤的影响 与模型组比较, 不同剂量胡颓子

表 1 胡颓子多糖对⁶⁰Co γ 照射小鼠小肠不同部位肠腺存活率的影响(mean \pm SD, $n = 12$)

分组	剂量(mg/kgBW)	十二指肠	空肠	回肠
模型组	—	58.43 \pm 3.76	65.73 \pm 5.16	51.03 \pm 6.02
胡颓子低剂量组	100	63.32 \pm 4.47 ^a	71.62 \pm 6.07 ^a	55.42 \pm 6.75 ^a
胡颓子中剂量组	300	69.16 \pm 5.04 ^a	75.06 \pm 6.75 ^a	63.68 \pm 7.20 ^a
胡颓子高剂量组	500	73.76 \pm 5.53 ^a	79.83 \pm 7.43 ^a	74.91 \pm 7.32 ^a

^a $P < 0.05$ vs 模型组.表 2 胡颓子多糖对小鼠小肠肠黏膜蛋白质和DNA含量的影响(mean \pm SD, $n = 12$)

分组	剂量(mg/kgBW)	蛋白质(mg/cm)	DNA(mg/cm)
正常组	—	0.13 \pm 0.04	1.17 \pm 0.27
模型组	—	0.10 \pm 0.02 ^c	0.95 \pm 0.19 ^c
胡颓子低剂量组	100	0.11 \pm 0.03 ^b	1.11 \pm 0.23 ^b
胡颓子中剂量组	300	0.12 \pm 0.05 ^a	1.12 \pm 0.24 ^a
胡颓子高剂量组	500	0.12 \pm 0.03 ^a	1.15 \pm 0.23 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 模型组; ^c $P < 0.05$ vs 正常组.表 3 胡颓子多糖对辐射损伤小鼠氧化与抗氧化损伤的影响(mean \pm SD, $n = 12$)

分组	剂量(mg/kgBW)	SOD(nU/mg prot)	MDA(nmol/mg prot)
正常组	—	260.30 \pm 33.45	1.63 \pm 0.24
模型组	—	164.77 \pm 37.22 ^d	2.56 \pm 0.65 ^d
胡颓子低剂量组	100	191.04 \pm 31.30 ^a	2.34 \pm 0.41 ^a
胡颓子中剂量组	300	213.37 \pm 38.64 ^b	1.92 \pm 0.35 ^b
胡颓子高剂量组	500	239.80 \pm 29.54 ^b	1.84 \pm 0.30 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 模型组; ^d $P < 0.01$ vs 正常组.表 4 胡颓子多糖对辐射损伤小鼠血清TNF, IL-4, IL-6的影响(mean \pm SD, $n = 12$)

分组	剂量(mg/kgBW)	TNF(μ g/L)	IL-4 (ng/L)	IL-6 (ng/L)
正常组	—	5.59 \pm 0.17	12.59 \pm 2.19	68.31 \pm 16.62
模型组	—	8.53 \pm 1.08 ^d	7.40 \pm 2.08 ^d	43.74 \pm 12.91 ^d
胡颓子低剂量组	100	6.89 \pm 1.33 ^a	9.79 \pm 2.23 ^a	49.36 \pm 9.65 ^a
胡颓子中剂量组	300	6.74 \pm 1.24 ^b	10.83 \pm 2.34 ^b	55.26 \pm 11.32 ^b
胡颓子高剂量组	500	5.87 \pm 1.13 ^b	11.36 \pm 2.51 ^b	59.68 \pm 13.65 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 模型组; ^d $P < 0.01$ vs 正常组.

多糖给药组(灌服剂量分别为100, 300, 500 mg/kgBW)灌胃均升高组织中SOD活性, 肠组织中MDA含量减少, 且胡颓子多糖给药组中、大剂量作用显著($P < 0.05$, $P < 0.01$)(表3).

2.4 胡颓子多糖对辐射损伤小鼠细胞因子的影响 与对照组比较, 模型组大鼠血清中TNF水平升高, 血清中IL-4、IL-6水平明显降低($P < 0.01$); 经过2 wk不同剂量胡颓子多糖灌胃用药, 使模型组大鼠血清中TNF降低, 血清中IL-4、IL-6水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)(表4).

3 讨论

电离辐射引起消化道急性损伤在临床上表现为肠型放射病, 出现广泛的肠黏膜脱落、坏死并失去正常黏膜的屏障功能. 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, 小肠腺干细胞因照射而引起死亡最终导致该肠腺的死亡, 并随着照射剂量的增加肠腺存活率降低^[9]. 有研究表明自由基作用在辐射损伤的发病机制中有重要作用, 多种细胞因子可恢复辐射损伤后造血功能、免疫功能, 加强对肠上皮损伤的保护作用^[10-11]. 本实验采用⁶⁰Co γ 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, 肠黏膜组织蛋白质和DNA含量减少, 二胺氧化酶减少, 组织中MDA含量明显升高、SOD活性降低, 血清中的细胞因子水平异常, 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, 胡颓子多糖给药组

■应用要点

长叶胡颓子属珍贵的药食两用植物, 对消化系统功能有明显调节作用, 且胡颓子野生植物资源丰富, 果实富含蛋白质、氨基酸、维生素、糖类、有机酸及矿物质元素等, 本研究为开发利用胡颓子的药用食用价值提供了一定的依据.

■同行评价

本文研究了长叶胡颓子多糖对小肠辐射损伤的保护作用及其机制,研究内容为开发利用胡颓子的药用价值提供了一定的依据,有一定的理论与实用价值,研究内容科学,有一定的新颖性与可读性。

肠组织辐射损伤程度明显缓解,且呈一定剂量效应,显示采用胡颓子多糖用药后明显减轻模型组小鼠肠辐射损伤程度,使肠腺数和绒毛数增多及提高肠腺存活率,同时使小肠黏膜组织蛋白质和DNA含量升高,黏膜上皮二胺氧化酶含量增加,表现出明显抗损伤作用;实验中,胡颓子多糖灌胃用药能降低辐射损伤模型组小鼠代谢产生的脂质过氧化物MDA含量,升高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TNF水平增加及IL-4、IL-6水平降低,胡颓子多糖用药后可明显降低TNF水平及提高IL-4、IL-6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,某些细胞因子在辐射损伤的预防和治疗中作用明显,TNF可调节机体造血功能,IL-4和IL-6可促进淋巴细胞增殖和肠免疫功能。研究表明长叶胡颓子多糖具有造血功能、免疫调节及抗脂质过氧化作用,由于氧自由基在辐射性肠损伤发病机制中起重要作用,而多种细胞因子的作用可以减轻组织损伤,所以实质上提高组织抗氧化能力及调节细胞因子对肠辐射损伤的防护是非常重要的。实验中胡颓子多糖通过影响蛋白质和DNA合成及二胺氧化酶含量,而维护肠黏膜的完整性和修复组织损伤,通过降低MDA含量、升高SOD的活性及调节细胞因子分泌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。胡颓子为野生植物资源,果实富含蛋白质、氨基酸、维生素、糖类、有机酸及矿物质元素等,以上研究为开发利用胡颓子药用价值提供了一定的依据。

4 参考文献

- 1 林来官. 福建植物志. 福州: 福建科学技术出版社, 1989: 45-51
- 2 胡丰林. 中国胡颓子属植物利用价值的初步分析. 生物化学杂志 1996; 30-32
- 3 黄泰康, 丁志遵, 莫代文. 现代本草纲目. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 1843-1844
- 4 李玉山, 李田, 谭志鑫, 肖本见, 黄在彬. 长叶胡颓子降血糖、血脂及抗脂质过氧化作用的研究. 安徽医药 2005; 9: 489-491
- 5 肖本见, 李玉山, 谭志鑫. 富硒长叶胡颓子果抗炎和免疫作用的实验研究. 中国中医药信息杂志 2005; 12: 23-24
- 6 李贵荣. 枸杞多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用. 中国现代应用药学 2002; 19: 94-96
- 7 蒋晓燕, 王晓雯, 王雪飞, 毛新民, 李琳琳, 堵年生. 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. 中国药理学通报 2000; 16: 332-335
- 8 周元恺, 沈世仁. 小鼠肠腺剂量存活曲线的一种测定方法——单位面积肠腺计数. 生物化学与生物物理进展 1979; 70-73
- 9 Fowler JF, Harari PM, Leborgne F, Leborgne JH. Acute radiation reactions in oral and pharyngeal mucosa: tolerable levels in altered fractionation schedules. *Radiother Oncol* 2003; 69: 161-168
- 10 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. 中华放射医学与防护杂志 2002; 22: 461-463
- 11 Indaram AV, Visvalingam V, Locke M, Bank S. Mucosal cytokine production in radiation-induced proctosigmoiditis compared with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1221-1225

电编 张敏 编辑 王晓瑜