

蕨麻多糖对⁶⁰Co γ射线辐射损伤小鼠的治疗作用

吴代燕 冯洋洋 张琳梓 刘前虔 李杭雨 央尖珍玛 封海波

(西南民族大学畜牧兽医学院 成都 610041)

摘要 选取48只小白鼠,随机分为8组,每组6只,1组为对照组,2、3、4组为给药组,5组为照射组,6、7、8组为照射给药组,1~4组不照射,5~8组用5 Gy ⁶⁰Co γ射线照射,照后30~60 min,1、5组和2~4、6~8组分别灌胃5 d蒸馏水和蕨麻多糖,第6天处死小鼠,采集血液、肝脏、脾脏和股骨进行检测。结果显示,蕨麻多糖可以使辐射小鼠红细胞和白细胞数量、血红蛋白含量升高、红细胞比积增大,使脾脏指数、总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性、淋巴细胞亚群比例上升,促进丙二醛(MDA)含量降低,一定程度提升辐射小鼠的DNA系数。蕨麻多糖对辐射损伤小鼠的造血系统、抗氧化系统和骨髓细胞DNA损伤具有较好的治疗效果。

关键词 ⁶⁰Co γ射线,蕨麻多糖,造血系统,抗氧化功能

中图分类号 R818.74,R811.5,R967,S859.3

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0080

Therapeutic effect of *Potentilla anserina* L polysaccharide on mice injured by ⁶⁰Co γ ray irradiation

WU Daiyan FENG Yangyang ZHANG Linzi LIU Qianqian LI Hangyu

YANG Jianzhenma FENG Haibo

(College of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT Forty-eight mice were randomly divided into eight groups of six mice each. Group 1 was the control group, groups 2, 3, and 4 were the *Potentilla anserina* L drug groups, group 5 was the irradiation group, and groups 6, 7, and 8 were the irradiated *Potentilla anserina* L drug groups. The control group was administered distilled water by gavage for 5 d without irradiation; the irradiation groups were irradiated with 5 Gy ⁶⁰Co γ rays. In the drug groups, the mice were gavaged with distilled water and *Potentilla anserina* L polysaccharide within 30–60 min after irradiation for 5 d and euthanized on the sixth day. The effects of different doses of *Potentilla anserina* L polysaccharide on the blood routine, organ index, DNA content in bone marrow, superoxide dismutase (SOD) activity, total antioxidant capacity (T-AOC), lymphocyte subpopulation ratio, and malondialdehyde (MDA) content in the mouse livers were determined. The results showed that *Potentilla anserina* L polysaccharide increased the erythrocyte and leukocyte counts, hemoglobin content, and erythrocyte-specific volume as well as the spleen index, liver T-AOC, SOD activity, and lymphocyte count and decreased the MDA content. The DNA coefficient of irradiated mice was improved to some extent. *Potentilla anserina* L polysaccharide exert good therapeutic effect on

基金资助:国家自然科学基金面上项目(31872511)、四川省应用基础研究计划项目(2021YJ0289)、引进人才科研启动金资助项目(RQD2021075)资助

第一作者:吴代燕,女,1995年5月出生,西南民族大学2020级兽医硕士研究生

通信作者:封海波,博士,副教授,E-mail: fenghaiborc@126.com

收稿日期:初稿 2022-08-16;修回 2022-10-27

Supported by National Natural Science Foundation of China General Program (31872511), Sichuan Province Applied Basic Research Program (2021YJ0289), and Introduced Talents Research Start-up Fund (RQD2021075)

First author: WU Daiyan (female) was born in May 1995. 2020 class of veterinary master student at Southwest Minzu University
Corresponding author: FENG Haibo,doctoral degree, associate professor, master supervisor, E-mail: fenghaiborc@126.com

Received 16 August 2022; accepted 27 October 2022

the hematopoietic and antioxidant systems and can mitigate the DNA damage of bone marrow cells in radiation-injured mice.

KEYWORDS ⁶⁰Co γ ray, *Potentilla anserina* L polysaccharide, Hematopoietic system, Antioxidant system

CLC R818.74, R811.5, R967, S859.3

随着科技的发展进步,放射性物质在工农业等领域应用广泛,电离辐射严重危害人体健康,大剂量电离辐射会导致骨髓造血功能障碍,DNA发生改变^[1],直接或间接对身体产生影响^[2]。传统防辐射药物用量和副作用大,因此,天然低毒甚至无毒防辐射药物的研究热度与日俱增。

目前,天然产物和药用植物的研究是制药领域中最重要的课题之一^[3],很多药用植物具有抗炎、止咳、抗真菌、抗癌、抗寒和抗氧化活性^[4]。蕨麻(*Potentilla anserina* L)是一种藏药,又名人参果,是鹅绒委陵菜的膨大块根,广泛分布在中国西部地区,尤其是青藏高原。千百年来,它被当做功能性食品和民间食用药物^[5],富含黄酮、香豆素、生物碱、鞣质、多糖、三萜和皂苷等^[6],其提取物具有提高机体免疫力、抗氧化、补血等活性,有良好的开发潜力和较高的经济价值。植物多糖具有免疫调节^[7]、抗氧化、抗缺氧^[8]等功能,还有抗高血脂和保肝^[9-10]等多种药理作用。蕨麻多糖(*Potentilla anserina* L polysaccharide, PAP)是蕨麻的主要活性成分之一,具有调节免疫、抗氧化、抗衰老等功能^[11]。研究表明,蕨麻多糖免疫调节作用较强,可以促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖^[12],拮抗和修复环磷酰胺导致的胸腺和脾的损伤^[13],对肝损伤模型有较好的保护作用^[14-15],使D-Gla N急性肝损伤小鼠肝组织中丙二醛(MDA)含量降低,提升超氧化物歧化酶(SOD)的活性。蕨麻多糖可能是通过清除自由基、保护细胞膜以及抗脂质过氧化^[16]对小鼠肝起到保护作用的。

本研究旨在探究不同剂量的蕨麻多糖对5 Gy ⁶⁰Co γ射线辐射损伤小鼠的造血系统、抗氧化系统和骨髓细胞DNA的治疗作用,为开发利用藏药蕨麻及其提取物和天然防辐射药物具有重大意义,为促进畜牧业发展提供参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蕨麻干燥根,购自四川省成都市药材市场;

SOD试剂盒、T-AOC试剂盒、MDA试剂盒、总蛋白定量试剂盒,购自南京建成生物工程研究所;CD3-FITC、CD8-PE、CD4-PE,购自赛默飞世尔科技公司;兽用血细胞分析溶血剂,购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.2 仪器与设备

SB-5200DT超声波清洗机,购自宁波新芝生物科技股份有限公司;UV-5100紫外可见分光光度计,购自上海元析仪器有限公司;FA1604N电子天平,购自上海菁海仪器有限公司;RE-5203旋转蒸发器,购自上海亚荣生化仪器厂;SHB-III循环水式多用真空泵,购自郑州长城科工贸有限公司;XTP-500A高速多功能粉碎机,购自浙江省永康市红太阳机电有限公司。

1.3 蕨麻多糖的提取

蕨麻多糖提取方法参照文献[17]、[18]:蕨麻干燥块茎→粉碎→药材预处理→脱脂→水浸取→浓缩→醇沉→脱蛋白→离心→洗涤→烘干→蕨麻多糖,采用苯酚-硫酸法测得蕨麻多糖含量为87.5%。

1.4 试验动物及分组

48只SPF级雌性昆明小白鼠,6~8周龄,体重25~30 g,来源:成都达硕实验动物有限公司,实验环境温度为(22±2)℃,相对湿度为(50±10)%,随机分为8组,每组6只,1组为对照组(0 Gy),2、3、4组为蕨麻多糖给药组(0 Gy蕨麻多糖给药组),5组为照射组,6、7、8组为照射蕨麻多糖给药组。

饲养1周后,照射组和照射给药组小鼠使用5 Gy的⁶⁰Co γ射线照射,剂量率为0.8 Gy/min,单次全身均匀照射,照射后30~60 min内给每只小鼠进行灌胃,照射当天为第0天。具体方案见表1,所有动物实验均经西南民族大学动物护理与使用委员会批准,并按照国家和国际动物福利标准进行。⁶⁰Co放射源由四川农业科学院生物技术与核技术研究所提供。

表1 分组及方案
Table 1 Groups and plan

组别 Groups	处理方式 Methods	灌胃剂量 / (1次·d ⁻¹) Gavage dose	灌胃时间 / d Gavage time
1	不照射 Not irradiated	0.5 mL 蒸馏水 0.5 mL distilled water	5
2	不照射 Not irradiated	0.5 mL 蕤麻多糖(150 mg/kg B.W.) 0.5 mL PAP (150 mg/kg B.W.)	5
3	不照射 Not irradiated	0.5 mL 蕤麻多糖(300 mg/kg B.W.) 0.5 mL PAP (300 mg/kg B.W.)	5
4	不照射 Not irradiated	0.5 mL 蕤麻多糖(600 mg/kg B.W.) 0.5 mL PAP (600 mg/kg B.W.)	5
5	5 Gy γ 射线照射, 剂量率为 0.8 Gy/min 5 Gy γ ray irradiation with a dose rate of 0.8 Gy/min	0.5 mL 蒸馏水 0.5 mL distilled water	5
6	5 Gy γ 射线照射, 剂量率为 0.8 Gy/min 5 Gy γ ray irradiation with a dose rate of 0.8 Gy/min	0.5 mL 蕤麻多糖(150 mg/kg B.W.) 0.5 mL PAP (150 mg/kg B.W.)	5
7	5 Gy γ 射线照射, 剂量率为 0.8 Gy/min 5 Gy γ ray irradiation with a dose rate of 0.8 Gy/min	0.5 mL 蕤麻多糖(300 mg/kg B.W.) 0.5 mL PAP (300 mg/kg B.W.)	5
8	5 Gy γ 射线照射, 剂量率为 0.8 Gy/min 5 Gy γ ray irradiation with a dose rate of 0.8 Gy/min	0.5 mL 蕤麻多糖(600 mg/kg B.W.) 0.5 mL PAP (600 mg/kg B.W.)	5

1.5 检测指标

在实验的第6天给小鼠称量体重, 眼睑采血后颈椎脱臼处死小鼠, 并采取肝脏、脾脏和两侧的股骨。

1.5.1 脏器指数

对脾脏、肝脏进行称重, 用公式(1)计算出脏器指数。肝脏保存在-70 °C待测。

$$\text{脏器指数} = \frac{\text{肝(脾)脏重量(mg)}}{\text{小鼠重量(g)}} \quad (1)$$

1.5.2 总蛋白含量测定

使用双缩脲反应方法测定小鼠肝脏组织总蛋白含量。制备质量分数为10%的组织匀浆液: 称取待测肝组织的重量, 按重量与体积的比值1:9加入生理盐水, 然后3 000 r/min离心10 min, 取组织匀浆上清液待测。按照顺序加入标准蛋白液、组织匀浆上清液以及双缩脲试剂, 用涡旋仪混匀, 37 °C水浴10 min, 流水冷却后, 波长540 nm, 光径1 cm比色杯, 蒸馏水调零, 测各管吸光值。

1.5.3 超氧化物歧化酶活性测定

把质量分数为10%的肝组织匀浆上清液稀释成1%, 按照次序把试剂及样品加到5 mL EP管中, 使用涡旋混匀器充分混匀, 在37 °C恒温水浴40 min之后, 取出将显色剂加入, 涡旋混匀, 室温静置10 min, 1 cm光径比色杯, 蒸馏水调零, 在波长550 nm

处比色。

1.5.4 总抗氧化能力测定

按试剂盒说明操作, 测定管中加入各种试剂和样品, 对照管不加样品, 使用涡旋混匀器充分混匀, 37 °C水浴30 min, 管中会形成沉淀, 把沉淀溶解通过加试剂四溶解沉淀, 把样品加到对照管里, 显色, 混匀, 放置10 min, 蒸馏水调零, 1 cm光径, 测定各个管在520 nm处的吸光值。

1.5.5 丙二醛含量测定

按照试剂盒说明, 空白管里用无水乙醇代替, 把0.1 mL组织匀浆上清液加到测定管里面, 把体积相同的标准品(10 nmol/L)加到标准管里面, 按照次序把反应试剂加进去, 使用涡旋仪混匀30 s, 试管口使用保鲜膜扎紧后, 再用针头刺破一个小孔, 在95 °C水浴40 min, 在流水下冷却, 然后4 000 r/min离心10 min。用移液器轻轻吸取上清液, 1 cm光径, 蒸馏水调零, 测定各个管的吸光值OD_{532 nm}。

1.5.6 淋巴细胞亚群测定

采取小鼠脾脏, 制备脾单细胞悬液, 使用CD3、CD4、CD8荧光染色剂染色, 在流式细胞仪上进行检测。

1.5.7 骨髓中DNA含量测定

取小鼠另一侧股骨, 把毛、皮、肉处理干净, 进行称重。用10 mL CaCl₂溶液把骨髓冲洗到15 mL离

心管里面,在4 °C的条件下放置30 min,3 500 r/min离心10 min,把上清液去掉。再把5 mL 0.005 mol/L HClO₄溶液加进去,吹打混匀,在95 °C的条件下水浴15 min后,在流水下冷却,2 500 r/min离心10 min。测上清液在268 nm处的吸光值,通过公式:DNA系数=A_{268nm}/股骨重(g),计算DNA系数。

1.6 数据处理

使用SPSS 26.0统计分析软件对数据进行单因素ANOVA分析、LSD检验与Duncan检验,使用PRISM 5软件作图。用*表示数据差异的显著性,*表示p<0.05差异显著,具有统计学意义,**表示p<0.01差异非常显著,***表示p<0.001。

2 结果与分析

2.1 血常规分析结果

PAP为不照射,灌胃不同剂量蕨麻多糖;5 Gy+PAP为5 Gy⁶⁰Co γ射线照射,灌胃不同剂量蕨麻多糖(0:0.5 mL蒸馏水;150:0.5 mL 150 mg/kg B.W.;300:0.5 mL 300 mg/kg B.W.;600:0.5 mL 600 mg/kg B.W.)。由图1(a)红细胞数量结果可知,5 Gy+PAP(0)组的红细胞数极显著低于PAP(0)组(p<0.01),说明照射后外周血中红细胞数量极显著降低;PAP(300)组、PAP(600)组红细胞数显著高于PAP(0)组(p<0.05);5 Gy+PAP(600)组的红细胞数与PAP(0)组、PAP(150)差异不显著(p>0.05);说明蕨麻多糖能提升外周血中红细胞的数量,而且能使照射组小鼠外周血中红细胞数量恢复至对照组水平。由图1(b)血红蛋白含量结果可知,照射后,5 Gy+PAP(0)组血红蛋白含量极显著降低(p<0.001);5 Gy+PAP(600)组外周血中血红蛋白含量与PAP(0)组差异不显著(p>0.05);说明PAP能促进外周血中血红蛋白的含量升高,且能恢复至PAP(0)组水平。由图1(c)红细胞比积结果可知,照射后,5 Gy+PAP(0)组与PAP(0)组相比红细胞比积极显著降低(p<0.01);5 Gy+PAP(150)、5 Gy+PAP(300)、5 Gy+PAP(600)组与PAP(0)组、PAP(150)组无显著差异(p>0.05);说明PAP能提升外周血中红细胞比积,且能使红细胞比积恢复至对照组水平。由图1(d)白细胞数量结果可知,5 Gy射线照射后,外周血中白细胞数量显著降低,5 Gy+PAP(0)组与PAP(0)组相比白细胞数量极显著降低(p<0.001);给照射损伤小鼠灌胃蕨麻多糖后,5 Gy+PAP(300)、5 Gy+PAP(600)组的白细胞

数量显著高于PAP(0)组(p<0.05);说明蕨麻多糖可以促进照射小鼠外周血中白细胞数量的恢复,能使照射后小鼠外周血白细胞数量明显高于PAP(0)对照组。

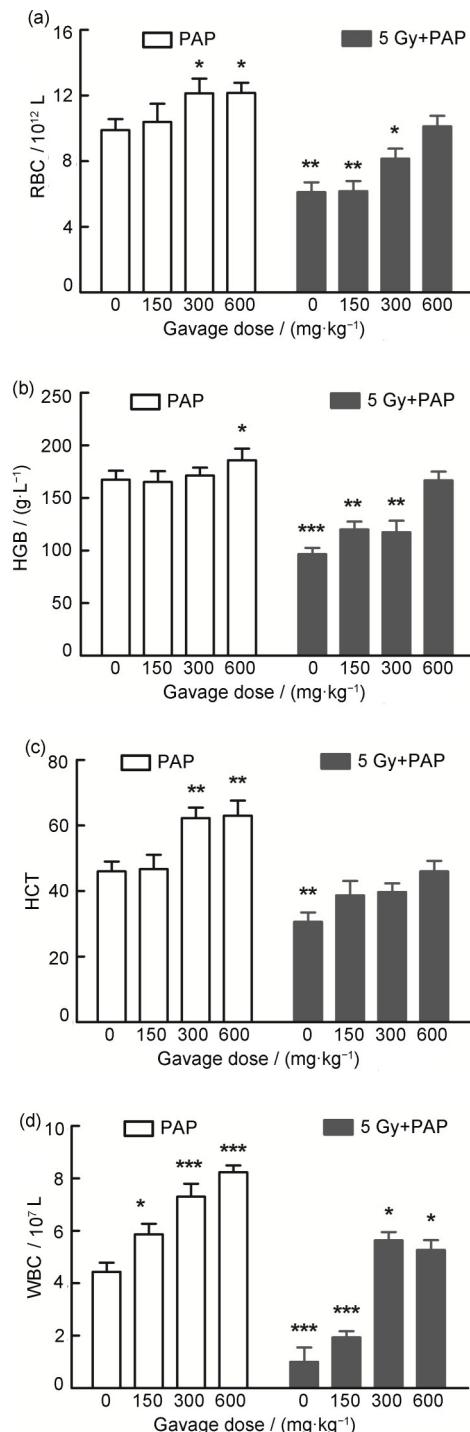


图1 血常规分析:(a)红细胞数量;(b)血红蛋白含量;(c)红细胞比积;(d)白细胞数量

*p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; 与0 Gy 0.5 mL蒸馏水相比

Fig.1 Routine blood analysis: (a) RBC; (b) HGB;

(c) HCT; (d)WBC

*p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water

2.2 脏器指数结果

由图2可见,经过射线照射后,脾脏指数极显著降低,5 Gy+PAP(0)组与PAP(0)组相比,脾脏指数极显著降低($p<0.001$);PAP(300)组和PAP(600)组的脾脏指数极显著高于PAP(0)组和PAP(150)组($p<0.001$);5 Gy+PAP(600)与PAP(0)组、PAP(150)组无显著差异($p>0.05$);说明PAP能显著提高小鼠的脾脏指数,且呈剂量依赖型。

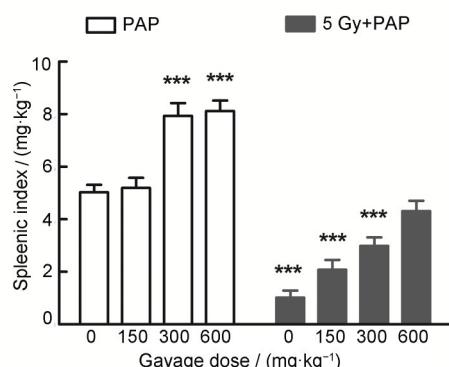


图2 蕨麻多糖对小鼠脾脏指数的影响
*** $p<0.001$;与0 Gy 0.5 mL蒸馏水相比

Fig.2 Effects of PAP on the spleen index of mice
*** $p<0.001$; compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water

2.3 超氧化物歧化酶(SOD)活性结果

由图3可知,经过5 Gy射线照射之后,超氧化物歧化酶活性极显著降低,5 Gy+PAP(0)组与PAP(0)组相比超氧化物歧化酶活性极显著降低($p<0.001$);灌胃蕨麻多糖后,5 Gy+PAP(300)组、5 Gy+PAP(600)组的超氧化物歧化酶活性与PAP(0)组无显著差异($p>0.05$);说明蕨麻多糖可以使超氧化物歧化酶活性升高。

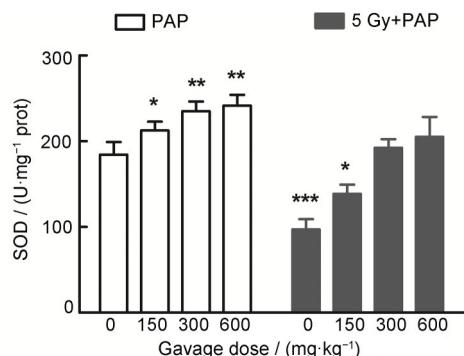


图3 蕨麻多糖对 ^{60}Co γ射线辐射小鼠肝脏中SOD的影响
* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$;与0 Gy 0.5 mL蒸馏水相比

Fig.3 Effects of PAP on the liver SOD in ^{60}Co -γ radiation-induced mice
* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water

2.4 总抗氧化能力(T-AOC)结果

由图4可知,照射后,小鼠肝脏的总抗氧化能力显著降低($p<0.05$):5 Gy+PAP(150)组的总抗氧化能力与PAP(0)组和PAP(150)组无显著差异($p>0.05$);5 Gy+PAP(300)组和5 Gy+PAP(600)组的总抗氧化能力显著高于PAP(0)组和PAP(150)组($p<0.05$);说明蕨麻多糖能显著提高照射小鼠的肝脏总抗氧化能力。

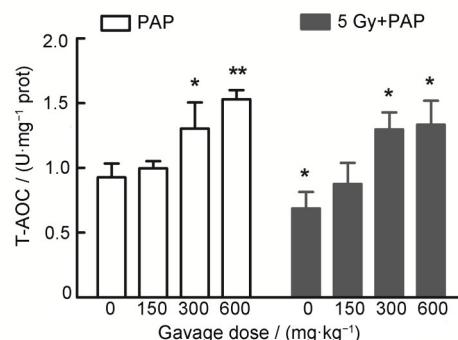


图4 蕨麻多糖对 ^{60}Co γ射线辐射小鼠肝脏中T-AOC的影响
* $p<0.05$; ** $p<0.01$;与0 Gy 0.5 mL蒸馏水相比

Fig.4 Effects of PAP on the liver T-AOC in ^{60}Co γ radiation-induced mice
* $p<0.05$; ** $p<0.01$; compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water

2.5 丙二醛(MDA)结果

由图5可见,经过照射后,5 Gy+PAP(0)组丙二醛含量极显著高于PAP(0)组($p<0.01$),小鼠肝脏丙二醛含量升高极其显著;PAP(300)组和PAP(600)的丙二醛含量显著低于PAP(0)组和PAP(150)组($p<0.05$);5 Gy+PAP(300)组与PAP(0)组的丙二醛含量无明显差异($p>0.05$);5 Gy+PAP(600)组丙二醛含量显著低于PAP(0)组($p<0.05$);说明蕨麻多糖能使肝脏中丙二醛含量降低。

2.6 淋巴细胞亚群结果

由图6(a)可见,在照射之后,CD3⁺T淋巴细胞比例极显著降低($p<0.001$),灌胃蕨麻多糖后,CD3⁺T淋巴细胞数量比例显著上升,当蕨麻多糖浓度为600 mg/kg B. W.时,5 Gy+PAP(600)组的CD3⁺T细胞比例与PAP(0)对照组无显著差异($p>0.05$);PAP(300)、PAP(600)组的CD3⁺T细胞比例显著高于PAP(0)组($p<0.05$);说明PAP能使照射小鼠CD3⁺T细胞恢复至对照组水平,当PAP含量为300 mg/kg B.W.能使未照射小鼠CD3⁺T淋巴细胞比例显著上升。由图6(b)可见,经照射后,CD4⁺T淋巴细胞比例极显著降低($p<0.001$),灌胃PAP后,

CD4⁺T 淋巴细胞比例明显上升, 当 PAP 浓度为 600 mg/kg B.W. 时, 5 Gy+PAP(600)组的 CD4⁺T 淋巴细胞比例与 PAP(0)对照组无显著差异($p>0.05$); 未照射组灌胃 PAP 后, CD4⁺T 淋巴细胞比例显著升高($p<0.05$), 说明 PAP 能够使 CD4⁺T 淋巴细胞比例上升。由图 6(c)可知, 照射后, CD8⁺T 淋巴细胞比例极显著降低($p<0.001$), 灌胃 PAP 后, CD8⁺T 淋巴细胞比例明显升高, 5 Gy+PAP(300)、5 Gy+PAP(600)组的 CD8⁺T 淋巴细胞比例与 PAP(0)对照组差异不显著($p>0.05$), 未照射组灌胃不同剂量的 PAP 后, CD8⁺T 淋巴细胞比例都显著高于 PAP(0)组($p<0.05$), 说明 PAP 能使 CD8⁺T 淋巴细胞比例升高。

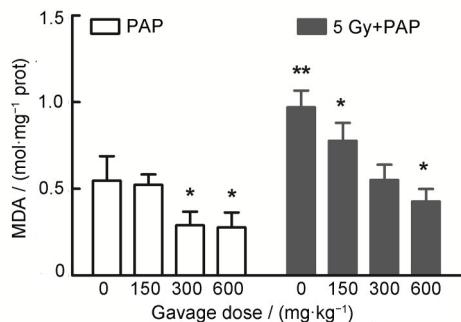


图 5 蕨麻多糖对⁶⁰Co γ射线辐射小鼠肝脏中 MDA 的影响

* $p<0.05$; ** $p<0.01$; 与 0 Gy 0.5 mL 蒸馏水相比

Fig.5 Effects of PAP on the liver MDA in ⁶⁰Co γ radiation-induced mice

* $p<0.05$; ** $p<0.01$; compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water

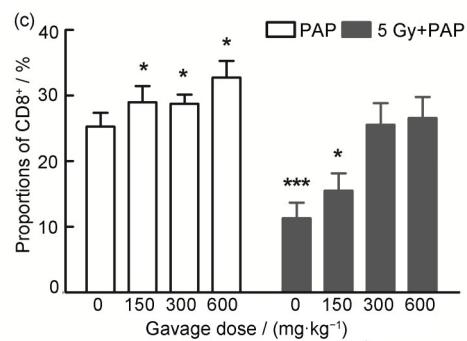
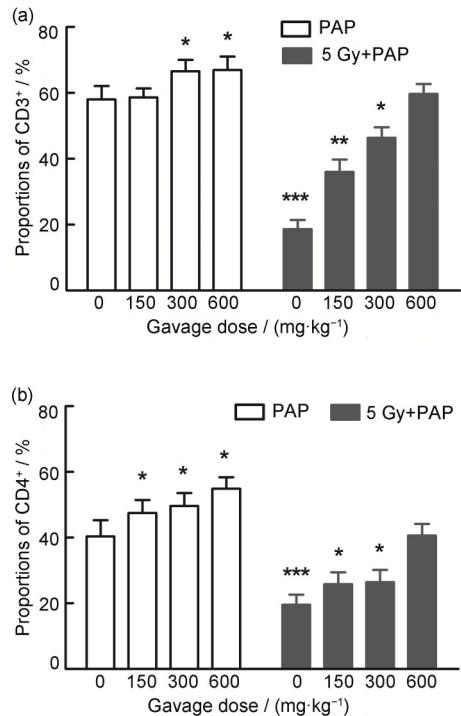


图 6 淋巴细胞亚群:(a) CD3⁺淋巴细胞比例;(b) CD4⁺淋巴细胞比例;(c) CD8⁺淋巴细胞比例

* $p<0.05$; *** $p<0.001$; 与 0 Gy 0.5 mL 蒸馏水相比

Fig.6 Lymphocyte subsets: (a) proportion of CD3⁺ lymphocytes; (b) proportion of CD4⁺ lymphocytes; (c) proportion of CD8⁺ lymphocytes

* $p<0.05$; *** $p<0.001$; compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water

2.7 蕨麻多糖对⁶⁰Co γ射线辐射小鼠骨髓 DNA 系数的影响

由图 7 可知, 在照射之后, 小鼠 DNA 系数极显著降低, 5 Gy+PAP(0)组的骨髓 DNA 系数极显著低于 PAP(0)组($p<0.001$), 5 Gy+PAP(150)组、5 Gy+PAP(300)组和 5 Gy+PAP(600)组显著高于 5 Gy+PAP(0)组($p<0.05$), 说明 PAP 能一定程度提高照射小鼠的骨髓 DNA 系数。

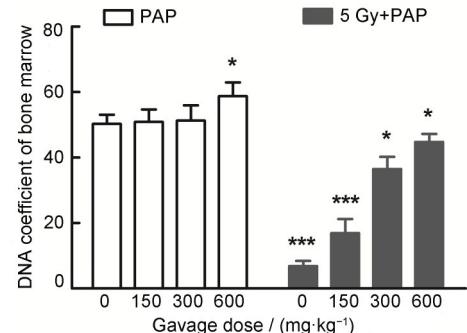


图 7 与 0 Gy 0.5 mL 蒸馏水相比, 蕨麻多糖对⁶⁰Co γ射线辐射小鼠骨髓 DNA 系数的影响

* $p<0.05$; *** $p<0.001$

Fig.7 Compared with 0 Gy 0.5 mL distilled water, effects of PAP on the DNA coefficient of bone marrow of mice

* $p<0.05$; *** $p<0.001$

3 讨论

辐射在一定程度上会对机体造成不可逆的损伤^[22], 抗辐射药物种类很多, 有激素类药物、细胞因子类和天然药物等^[23], 多糖是一种天然的药物, 具有抗辐射的作用^[24], 蕨麻是一种藏药, PAP 的防辐射的作用^[25]具有抗辐射药物研究开发的价值。辐射之

后机体最早出现的基本损伤之一是造血系统^[26]。骨髓是机体主要的造血组织,可以一直自我复制成同级细胞,它们的功能相同,增殖分化成特定系统的下级细胞^[27-28]。急性辐射后,骨髓造血功能严重受损,外周血中各种血细胞数量就会表现为急剧减少^[29]。本实验中,PAP可能是通过修复骨髓造血机能来提升辐射小鼠外周血中红细胞和白细胞的数量。内脏器官的重量在一定程度反映器官发育程度还有器官内各种类细胞的数量。脾脏具有造血、滤血、储存血液、清除衰老血细胞还有参与免疫反应等功能^[30]。脏器指数结果显示,辐射会影响器官的正常功能,而蕨麻多糖对辐射损伤器官功能的重建有促进的作用。

肝脏是最要的代谢器官之一,SOD对机体的氧化以及抗氧化有平衡的作用,MDA含量的多少表明脂质过氧化作用程度,细胞和组织受损伤的程度可以通过血清和组织水平间接反映^[30]。本研究中,MDA含量在照射后显著升高,通过灌胃蕨麻多糖可以使照射小鼠肝脏中MDA的含量显著降低,可能是因为蕨麻多糖可以阻断自由基链式反应,抑制辐射诱发自由基的产生,保护抗氧化系统免受自由基的攻击,减少抗氧化酶的消耗和损失;同时,自由基的减少使脂质过氧化的程度减轻,从而降低脂质过氧化产物MDA的含量。

T淋巴细胞亚群在免疫反应中有着很重要的作用^[31],机体的免疫功能和很多疾病的发生有密切的关系,可以通过分析T淋巴细胞亚群来判断机体细胞免疫和体液免疫的水平,CD3⁺抗原是T淋巴细胞的生物标志物^[32]。T淋巴细胞分为辅助性T淋巴细胞和抑制性T淋巴细胞^[33]。CD4⁺抗原作为T辅助淋巴细胞的标志,能诱导B细胞分泌抗体,CD8⁺抗原是T淋巴细胞表面标志,能反映细胞免疫反应^[32]。辐射通过直接作用或者间接作用使DNA损伤,产生碱基脱落、碱基破坏等,对DNA的复制以及生物的合成产生影响^[26]。本实验中,蕨麻多糖对辐射损伤的小鼠的免疫功能重建有很好的促进作用,还可以减少脂质过氧化,一定程度上减轻辐射对DNA的损伤,从而降低对细胞以及器官的损伤。

4 结论

通过灌胃不同剂量的蕨麻多糖可以使辐射小鼠外周血中红细胞和白细胞数量上升、血红蛋白含量升高和红细胞比积增大以及使脾脏指数上升、肝脏T-AOC升高、SOD的活性上升和淋巴细胞亚群比

例升高、对MDA含量的降低有较好的促进效果,能一定程度提高辐射小鼠的DNA系数,使小鼠体内抗氧化能力、造血能力及免疫力上升,对辐射损伤的小鼠具有较好的治疗效果。

作者贡献声明 吴代燕、冯洋洋和封海波提供实验思路;吴代燕和冯洋洋完成实验方案、数据分析;吴代燕、冯洋洋、张琳梓、刘前虔、李杭雨和央尖珍玛完成数据采集;吴代燕完成论文撰写;封海波指导实验设计、论文修订。所有作者均已阅读并认可该论文最终版的所有内容。

致谢 感谢四川农业科学院生物技术与核技术研究所提供⁶⁰Co放射源。

参考文献

- 1 Belli M, Tabocchini M A. Ionizing radiation-induced epigenetic modifications and their relevance to radiation protection[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(17): 5993. DOI: 10.3390/ijms21175993.
- 2 曹毅, 谢文. 电离辐射的生物效应及健康影响[J]. 科技导报, 2018, 36(15): 48-53.
CAO Yi, XIE Wen. The biological effects and health impacts of ionizing radiation[J]. Science & Technology Review, 2018, 36(15): 48-53.
- 3 Sut S, Baldan V, Faggian M, et al. Nutraceuticals, a new challenge for medicinal chemistry[J]. Current Medicinal Chemistry. 2016, 23(28): 3198-3223. DOI: 10.2174/0929867323666160615104837.
- 4 Zhao B T, Tao F Q, Wang J L, et al. The sulfated modification and antioxidative activity of polysaccharides from *Potentilla anserine* L[J]. New Journal of Chemistry, 2020, 44(12): 4726-4735. DOI: 10.1039/DONJ00356E.
- 5 Guo T, Wei J Q, Ma J P. Antitussive and expectorant activities of *Potentilla anserina*[J]. Pharmaceutical Biology, 2016, 54(5): 807-811. DOI: 10.3109/13880209.2015.1080734.
- 6 石子林, 李军乔, 王雅琼, 等. 蕨麻地上部分多糖提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 720-726. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.03.026.
SHI Zilin, LI Junqiao, WANG Yaqiong, et al. Optimization on the extraction process of polysaccharide from the aerial part of *Potentilla anserina* L. and its antioxidant activity[J]. Jiangsu Journal of Agricultural

- Sciences, 2020, **36**(3): 720-726. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-4440.2020.03.026.
- 7 沈蓉, 刘迪生, 侯晨晨, 等. 蕨麻多糖提取纯化及生物活性研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2017, **24**(8): 125-128.
SHEN Rong, LIU Disheng, HOU Chenchen, et al. Research progress in extraction, purification and bioactivities of potentilla anserine polysaccharide[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2017, **24**(8): 125-128.
- 8 刘冬妍, 陈飞, 李霞, 等. 普莱特康胶囊抗缺氧作用研究[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2019, **28**(3): 26-29. DOI: 10.16548/j.2095-3720.2019.03.006.
LIU Dongyan, CHEN Fei, LI Xia, et al. Study on the anti-hypoxia effect of PULAITEKANG capsule[J]. Journal of Logistics University of PAP (Medical Sciences), 2019, **28**(3): 26-29. DOI: 10.16548/j.2095-3720.2019.03.006.
- 9 Zhang L, Liu Y, Li J Y, et al. Protective effect of rosamultin against H₂O₂-induced oxidative stress and apoptosis in H9c2 cardiomyocytes[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018, **2018**: 8415610. DOI: 10.1155/2018/8415610.
- 10 Shen R, Liu D S, Hou C C, et al. Protective effect of *Potentilla anserina* polysaccharide on cadmium-induced nephrotoxicity *in vitro* and *in vivo*[J]. Food & Function, 2017, **8**(10): 3636-3646. DOI: 10.1039/C7FO00495H.
- 11 王利军, 闵光宁, 王鑫. 蕨麻多糖药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2016, **43**(5): 867-869. DOI: 10.13220/j.cnki.jipr.2016.05.011.
WANG Lijun, MIN Guangning, WANG Xin. Pharmacology of *Potentilla anserina* polysaccharide: research advances[J]. Journal of International Pharmaceutical Research, 2016, **43**(5): 867-869. DOI: 10.13220/j.cnki.jipr.2016.05.011.
- 12 Chen J R, Yang Z Q, Hu T J, et al. Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide from *Potentilla anserina*[J]. Fitoterapia, 2010, **81**(8): 1117-1124. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.07.009.
- 13 王谢忠, 胡庭俊, 马睿麟. 蕨麻多糖对免疫抑制小鼠免疫器官作用的组织学观察[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2009, (5): 33-35. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-7725.2009.05.019.
WANG Xiezong, HU Tingjun, MA Ruilin. Histological observation on the effect of *Potentilla anserina* polysaccharide on immune organs of immunosuppressed mice[J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2009(5): 33-35. DOI: 10.3969/j. issn.1000-7725.2009.05.019.
- 14 闵光宁, 鹿琼, 闵光涛, 等. 蕨麻多糖的提取及对CCl₄急性肝损伤的保护作用[J]. 兰州大学学报(医学版), 2008, **34**(2): 5-7. DOI: 10.13885/j.issn.1000-2812.2008.02.002.
MIN Guangning, LU Qiong, MIN Guangtao, et al. Extracring and protective effect of *Potentilla anserina* L. polysaccharide on mice with acute liver injury by CCl₄[J]. Journal of Lanzhou University (Medical Sciences), 2008, **34**(2): 5-7. DOI: 10.13885/j.issn. 1000-2812.2008.02.002.
- 15 闵光涛, 王利军, 段钟平, 等. 蕨麻多糖保护D-氨基半乳糖急性肝损伤小鼠的作用机制[J]. 第二军医大学学报, 2016, **37**(7): 916-919. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2016.07.0916.
MIN Guangtao, WANG Lijun, DUAN Zhongping, et al. Protective mechanism of *Potentilla anserina* polysaccharide on mice with D-galactosamine-induced acute liver injury[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2016, **37**(7): 916-919. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2016.07.0916.
- 16 闵光涛, 冯颖, 闵光宁, 等. 蕨麻提取物保护小鼠四氯化碳急性肝损伤的作用机制[J]. 兰州大学学报(医学版), 2012, **38**(1): 49-52. DOI: 10.13885/j. issn. 1000-2812.2012.01.003.
MIN Guangtao, FENG Ying, MIN Guangning, et al. Effect mechanism of *Potentilla* extract on protecting mice with acute liver injury induced by carbon tetrachloride[J]. Journal of Lanzhou University (Medical Sciences), 2012, **38**(1): 49-52. DOI: 10.13885/j. issn. 1000-2812.2012.01.003.
- 17 张泽生, 张婕, 张建平, 等. 蕨麻多糖的提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2009, **30**(1): 46-49.
ZHANG Zesheng, ZHANG Jie, ZHANG Jianping, et al. Study on extract technology of *Potentilla anserina* polysaccharide[J]. Food Research and Development, 2009, **30**(1): 46-49.
- 18 陈昊然, 王琴. 蕨麻多糖的提取及其清除自由基的作用[J]. 中国兽医科技, 2004, **34**(4): 59-62. DOI: 10.16656/j. issn.1673-4696.2004.04.015.
CHEN Jiongran, WANG Qin. Extraction of *Potentilla anserina* polysaccharide and its effects of scavenging oxygen free radicals[J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 2004, **34**(4): 59-62. DOI: 10.16656/j.issn.1673-4696.2004.04.015.
- 19 王文平, 郭祀远, 李琳, 等. 野木瓜水溶性多糖的提取、

- 分离及结构分析[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2008, **36**(7): 128-133.
- WANG Wenping, GUO Siyuan, LI Lin, et al. Extraction, separation and structural analysis of water-soluble polysaccharides from chaenomeles cathayensis[J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition), 2008, **36**(7): 128-133.
- 20 汪小兰. 有机化学[M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2005: 110-114.
- WANG Xiaolan. Organic chemistry[M] 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2005: 110-114.
- 21 Zhabankov R G. Vibrational spectra and structure of mono- and polysaccharides[J]. Journal of Molecular Structure, 1992, **275**: 65-84. DOI: 10.1016/0022-2860(92)80182-H.
- 22 杜欣, 向阳, 成玉斌, 等. 电磁辐射效应及中药防辐射研究进展[J]. 临床军医杂志, 2016, **44**(12): 1319-1320. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2016.12.35.
- DU Xin, XIANG Yang, CHENG Yubin, et al. Research progress of electromagnetic effect and radiation protection of traditional Chinese medicine[J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2016, **44**(12): 1319-1320. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2016.12.35.
- 23 Hosseiniemehr S J. Trends in the development of radioprotective agents[J]. Drug Discovery Today, 2007, **12**(19/20): 794-805. DOI: 10.1016/j.drudis.2007.07.017.
- 24 张淑杰, 康玉凡. 天然活性多糖研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, **38**(2): 379-382. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.065.
- ZHANG Shujie, KANG Yufan. Advances in bio-active polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, **38**(2): 379-382. DOI: 10.13386/j.issn.1002-0306.2017.02.065.
- 25 吴依茜. 蕨麻多糖的提取工艺及抗辐射、抗氧化药理学研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2008.
- WU Yiqian. Studies on the extraction technology, anti-radiation and anti-oxidation activity of *Potentilla anserina* polysaccharide[D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2008.
- 26 段玉清, 张海晖, 唐瑛, 等. 莲房原花青素对⁶⁰Co-γ射线致亚急性辐射损伤防护的研究[J]. 营养学报, 2005, **27**(6): 491-493. DOI: 10.3321/j. issn: 0512-7955.2005.06.018.
- DUAN Yuqing, ZHANG Haihui, TANG Ying, et al. Study on protection of *proanthocyanidins* from lotus seedpod on subacute damage caused by ⁶⁰Co γ radiaton [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2005, **27**(6): 491-493. DOI: 10.3321/j.issn: 0512-7955.2005.06.018.
- 27 王东晓, 陈孟莉, 殷建芬, 等. 鸡血藤活性成分SS8对骨髓抑制小鼠造血祖细胞增殖的作用[J]. 中国中药杂志, 2003, **28**(2): 152-155.
- WANG Dongxiao, CHEN Mengli, YIN Jianfen, et al. Effect of SS8, the active part of *Spatholobus suberectus* dunn, on proliferation of hematopoietic progenitor cells in mice with bone marrow depression[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2003, **28**(2): 152-155.
- 28 Wang D X, Liu P, Chen Y H, et al. Effect of SS8, an active component extracted from *Spatholobus suberectus* Dunn, on the Proliferation of hematopoietic Progenitor cells in marrow-depressed mice[J]. China Journal of Clinical Rehabilitation, 2005, **9**(30): 254-257.
- 29 周永, 麋漫天, 杨镇洲, 等. 染料木素对小鼠辐射损伤保护作用的研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, **28**(24): 2406-2409.
- ZHOU Yong, MI Mantian, YANG Zhenzhou, et al. Radioprotective effect of genistein on radiation injury in mice[J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2006, **28**(24): 2406-2409.
- 30 耿艳艳. 姜辣素对不同剂量⁶⁰Co γ射线辐射损伤小鼠治疗作用的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- GENG Yanyan. The therapeutic effects of gingerol on mice irradiated by different doses of ⁶⁰Co γ-ray[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2011.
- 31 Malin S G, Shavva V S, Tarnawski L, et al. Functions of acetylcholine-producing lymphocytes in immunobiology [J]. Current Opinion in Neurobiology, 2020, **62**: 115-121. DOI: 10.1016/j.conb.2020.01.017.
- 32 Feng H B, Yang X N, Fan J, et al. DEC-205 receptor-mediated long-circling nanoliposome as an antigen and *Eucommia ulmoides* polysaccharide delivery system enhances the immune response via facilitating dendritic cells maturation[J]. Drug Delivery, 2020, **27**(1): 1581-1596. DOI: 10.1080/10717544.2020.1844343.
- 33 Bellesoeur A, Torossian N, Amigorena S, et al. Advances in theranostic biomarkers for tumor immunotherapy[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2020, **56**: 79-90. DOI: 10.1016/j.cbpa.2020.02.005.