

## 补康灵对辐射损伤小鼠造血功能的影响

季屹红<sup>1</sup>,倪美鑫<sup>1</sup>,蔡晶<sup>1</sup>,张锦林<sup>1\*</sup>,王庆华<sup>2</sup>

(1. 南通大学附属肿瘤医院,江苏南通 226361; 2. 南通大学医学院,江苏南通 226300)

**[摘要]** 目的:探讨补康灵对辐射损伤小鼠造血功能的影响。方法:50只小鼠被随机分为5组:正常对照组、辐射对照组、补康灵低、中、高剂量组。实验组小鼠在<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线4 Gy照射后,补康灵组分别灌胃9,18,36 g·kg<sup>-1</sup>,其余2组给予生理盐水,连续给药10 d,照射后第5,10天检测血象。10 d后处死小鼠,观察补康灵对骨髓DNA含量、骨髓有核细胞数、脾结节的影响。结果:<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线照射后小鼠外周白细胞、血小板数减少,补康灵给药后,中、高剂量组小鼠外周白细胞、血小板数升高,中、高剂量组骨髓DNA含量吸光度(A)为(1.05±0.27), (1.22±0.26);骨髓有核细胞数为(5.12±1.22), (6.01±1.35)×10<sup>6</sup>/L,脾结节(7.67±1.56), (8.52±2.12)个,均比辐射对照组明显增加(P<0.05)。结论:补康灵照射后给药能促进辐射损伤小鼠造血功能的恢复。

**[关键词]** 补康灵;辐射损伤;造血功能

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0184-03

## Effects of Bukangling on Hematopoietic Function in Radiation-injured Mice

Ji Yi-hong<sup>1</sup>, Ni Mei-xin<sup>1</sup>, Cai Jing<sup>1</sup>, Zhang Jin-lin<sup>1\*</sup>, Wang Qin-hua<sup>2</sup>

(1. Affiliated Tumor Hospital of Nantong University, Nantong 226361, China;

2. Medical School of Nantong University, Nantong 226300, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of Bukangling on hematopoietic function in radiation-injured mice. **Method:** Fifty mice were randomly divided into five groups: control group, radiation injure group, high, medium and low dose group of Bukangling. 9, 18, 36 g·kg<sup>-1</sup> of Bukangling were ig given for 10 days after they

**[收稿日期]** 20110824(009)

**[基金项目]** 江苏省卫生厅医学科技发展基金项目(P200939)

**[第一作者]** 季屹红,主管药师,从事医院药学研究, Tel: 13585226278

**[通讯作者]** \*张锦林, Tel: 15896263061, E-mail: ntzjl0513@163.com

### [参考文献]

- [1] Fu jimura M, Gache Y, Moritar Fujimura Y, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 and blood brain barrier disruption in mice after focal cerebral ischemia and reperfusion [J]. Brain Res, 1999, 842 (1):92.
- [2] Kanner A A, Marchi N, Fazio V, et al. Serum S100beta: A nonin-vasivemarker of blood-brain barrier function and brain lesions [J]. Cancer, 2003, 97 (11): 2806.
- [3] 孟宜良.线栓法大鼠大脑中动脉局灶性脑缺血模型研究现状[J].国外医学:神经病学神经外科学分册, 2002,29(2):113.
- [4] Garcia J H, Liu K F, Hb K L. Neuronal necrosis after

middle cerebral artery occlusion in Wistar rats progresses at different time intervals in the caudoputamen and the cortex[J]. Stroke, 1995, 2(4):636.

- [5] Nicola M, Marco C, Vincent F, et al. Peripheral markers of blood-brain barrier damage [J]. Clin Chim Acta, 2004, 342(1): 1.
- [6] Marehi N, Rasmussen P, Kapural M, et al. Peripheral markers of brain damage and blood-brain-barrier dysfunction [J]. Restor Neurol Neurosci, 2003, 21 (3/4):109.
- [7] Rothermundt M, Arolt V, Wiesmann M, et al. S100B is increased in melancholic but not in non-melancholic major depression [J]. J Affect Disord, 2001, 66(1):89.

[责任编辑 聂淑琴]

were radiated by  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ . The others were given normal saline. Peripheral blood routine was measured at the 5<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> day after radiation. DNA content, quantity of nucleocyte in bone marrow and (CFUs) in spleen were observed at the 11<sup>th</sup> day after radiation. **Result:** The number of peripheral blood routine was lower after radiation, but was higher after administration of Bukangling in medium and high doses group. DNA content was  $(1.05 \pm 0.27)$ ,  $(1.22 \pm 0.26)$  A, the quantity of nucleocyte in bone marrow was  $(5.12 \pm 1.22)$ ,  $(6.01 \pm 1.35) \times 10^6/\text{L}$ . The number of spleen nodules was  $(7.67 \pm 1.56)$ ,  $(8.52 \pm 2.12)$ , they significantly increased in the midium and high doses compared with the radiation group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Bukangling can promote the recovery of the blood cells in bone marrow in radiation-injured mice.

[ **Key words** ] Bukangling; radiation damage; hematopoietic function

放射治疗是恶性肿瘤的有效治疗手段,但放疗引起机体造血系统功能损伤而影响疗效<sup>[1]</sup>。补康灵是南通大学附属肿瘤医院的医院制剂,临床应用于肿瘤放疗的辅助治疗,取得较好疗效<sup>[2]</sup>。本实验观察补康灵对辐射损伤小鼠造血功能的影响,为其临床应用提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康昆明种小鼠,雄性,体重 $(20 \pm 2)$  g,由南通大学实验动物中心提供,动物合格证号SCXK(苏)2008-0010。

**1.2 药物** 补康灵(BKL),南通大学附属肿瘤医院制剂室提供,批准文号苏药制字Z04000438,批号2009021001,含生药 $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,处方组成党参、黄芪、熟地黄、当归、大枣等。

**1.3 仪器与试剂** 实验动物血细胞分析仪(泰安市泰诺公司);FA1004N电子天平,UV-260紫外分光光度计(日本岛津公司),光学显微镜(Olympus公司)。RPMI-1640培养液(Gibco公司),冰乙酸(东台市利达化学试剂公司),高氯酸(北京兴瑞达化工厂)。

## 2 方法

**2.1 动物分组与处理** 将50只小鼠按体重随机分为正常对照组、单纯辐射组、辐射+补康灵高、中、低剂量组,每组10只,除正常对照组外,其余各组 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线一次性全身照射,照射量为 $4.0 \text{ Gy}$ ,照射量率为 $1.0 \text{ Gy}/\text{min}$ ,动物距照射源为 $80 \text{ cm}$ ,照射后,补康灵高、中、低剂量组分别以 $36, 18, 9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (成人用等效量的 $2.0, 1.0, 0.5$ 倍)ig,每天 $0.4 \text{ mL}/\text{只}$ ,连续 $10 \text{ d}$ ,其他组等量生理盐水ig<sup>[3]</sup>。

### 2.2 观察指标

**2.2.1 外周血象检测** 照射后第5,10天,各组小鼠尾静脉取血,血细胞分析仪上测定白细胞、红细胞和血小板数。

**2.2.2 骨髓DNA含量**<sup>[4]</sup> 取小鼠左侧股骨,用

$5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钙冲洗骨髓,沉淀蛋白质,离心 $15 \text{ min}$ 取沉淀。加 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高氯酸混合溶解,加热、过滤,滤液在 $268 \text{ nm}$ 处测定吸光度(A),以 $A_{268}$ 值作为DNA含量的代表值。

**2.2.3 骨髓有核细胞计数** 小鼠末次给药后 $24 \text{ h}$ 脱颈处死,迅速取右侧完整股骨,用RPMI-1640培养液冲出全部骨髓,3%乙酸液混合充分,使成单细胞悬液,显微镜下计数骨髓有核细胞。

**2.2.4 脾结节计数** 脱颈处死小鼠后,脾脏放入Bouin液固定保存,24 h后冲洗干净,肉眼计数脾结节数。

**2.3 统计学分析** 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0软件进行统计学分析,行组间 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠外周血象的影响** 小鼠接受 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线照射后,白细胞、红细胞、血小板数明显降低( $P < 0.01$ );与辐射对照组相比,补康灵中、高剂量组以 $18, 36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药,可促进白细胞红细胞、血小板的恢复( $P < 0.05$ )。见表1。

**3.2 对小鼠骨髓DNA含量、有核细胞数及脾结节的影响** 与正常组比较,辐射组小鼠骨髓DNA含量、骨髓有核细胞数减少( $P < 0.01$ );与辐射组比较,补康灵中、高剂量组小鼠骨髓DNA含量、骨髓有核细胞数及脾结节数明显增加( $P < 0.05$ )。见表2。

## 4 讨论

造血系统对辐射高度敏感,照射后造血系统损伤产生一系列病理变化,导致机体感染、免疫功能抑制、出血甚至死亡。因此,寻找安全有效的骨髓保护药物是放射治疗中的重要课题。

受到辐射损伤后,机体外周血细胞的数量就会减少,外周血细胞变化反映辐射后小鼠骨髓造血功能,检测外周血细胞的变化可评价辐射防护的作用,本实验发现小鼠接受 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线 $4 \text{ Gy}$ 全身照射后,

表 1 补康灵对辐射损伤小鼠外周血细胞的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	白细胞/ $\times 10^9$ /L		红细胞/ $\times 10^{12}$ /L		血小板/ $\times 10^9$ /L	
		第 5 天	第 10 天	第 5 天	第 10 天	第 5 天	第 10 天
正常	-	7.41 ± 1.13 <sup>2)</sup>	7.37 ± 1.09 <sup>2)</sup>	7.27 ± 1.13 <sup>2)</sup>	7.59 ± 1.24 <sup>2)</sup>	1 135 ± 153 <sup>2)</sup>	1 129 ± 164 <sup>2)</sup>
辐射	-	0.94 ± 0.23	1.53 ± 0.49	4.56 ± 0.78	5.93 ± 0.96	432 ± 102	609 ± 98
BKL	9	1.07 ± 0.45	2.16 ± 0.62 <sup>1)</sup>	5.18 ± 0.85	6.28 ± 0.89	511 ± 126	711 ± 106 <sup>1)</sup>
	18	1.42 ± 0.57 <sup>1)</sup>	2.98 ± 0.85 <sup>2)</sup>	5.53 ± 0.99 <sup>1)</sup>	6.86 ± 0.93 <sup>1)</sup>	585 ± 137 <sup>1)</sup>	757 ± 115 <sup>2)</sup>
	36	1.89 ± 0.61 <sup>2)</sup>	3.14 ± 1.01 <sup>2)</sup>	5.72 ± 1.21 <sup>2)</sup>	6.99 ± 1.02 <sup>1)</sup>	642 ± 129 <sup>2)</sup>	816 ± 127 <sup>2)</sup>

注:与辐射组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 补康灵对辐射损伤小鼠骨髓 DNA 含量、骨髓有核细胞数及脾结节的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	DNA 含量 /A	骨髓有核细胞数 / $\times 10^6$ /L	脾结节 /个
正常	-	1.49 ± 0.19 <sup>2)</sup>	11.38 ± 2.12 <sup>2)</sup>	0
辐射	-	0.81 ± 0.21	3.96 ± 1.12	5.13 ± 1.52
BKL	9	0.92 ± 0.32	4.63 ± 1.15	6.58 ± 1.29 <sup>1)</sup>
	18	1.05 ± 0.27 <sup>1)</sup>	5.12 ± 1.22 <sup>1)</sup>	7.67 ± 1.56 <sup>2)</sup>
	36	1.22 ± 0.26 <sup>2)</sup>	6.01 ± 1.35 <sup>2)</sup>	8.52 ± 2.12 <sup>2)</sup>

辐射组小鼠外周血白细胞、红细胞、血小板明显降低,照射后给予补康灵中、高剂量可促进辐射损伤小鼠外周血白细胞、红细胞和血小板的恢复。DNA 是辐射直接影响的靶点,也是辐射所产生的自由基间接攻击的目标,辐射可引起 DNA 断裂、基因突变、染色体重组、细胞转化和细胞死亡等,也导致造血细胞的增殖抑制<sup>[5]</sup>,骨髓有核细胞包含了粒系、红系和巨核系三系的祖细胞,骨髓有核细胞计数在一定程度上反映骨髓造血细胞的增生情况<sup>[6]</sup>,本研究表明补康灵中、高剂量给药可明显提高骨髓 DNA 含量、骨髓有核细胞数。脾结节是机体受到照射后,体内存活的造血干细胞在脾中增殖、分化,最后生成大小不等的脾集落,它代表照射后体内存活的造血干细胞水平<sup>[7]</sup>,本实验结果显示补康灵能增加辐射小鼠脾结节的数量,提示补康灵对造血系统的保护机制可能是促进骨髓造血干细胞的分化、增殖。

传统医学认为放射线属“火毒之邪”,作用于机体,灼津炼血,伤阴耗气,以致肝肾亏虚,脾胃失调<sup>[8]</sup>。补康灵是以中医药“虚者补之”理论为指导

的中药复方制剂,方中黄芪补气固表、托毒排脓;党参补中益气、健脾益肺;熟地黄补血养阴、填精益髓;当归补血活血、润肠通便;大枣养血安神、健脾和胃,诸药合用可减轻放疗所致的造血功能损伤,有助于损伤机体的恢复。然而补康灵的其他作用和分子机制有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 殷蔚伯,谷铎之. 肿瘤放射治疗学[M]. 3 版. 北京:中国协和医科大学出版社, 2002: 609.
- [2] 张锦林,季屹红,杨磊,等. 补康灵联合 TP 方案治疗中晚期非小细胞肺癌疗效观察[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011, 25(5): 443.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 1757.
- [4] 李德冠,王月英,吴红英,等. 电离辐射对不同品系小鼠造血功能的影响[J]. 中国辐射卫生, 2010, 19(3): 261.
- [5] Goel C, Prashd J, Singh S, et al. Radioprotective potential of an herbal extract of *Tinospora cordifolia* [J]. J Radiat Res (Tokyo), 2004, 45(1): 61.
- [6] 徐瑞荣,崔兴,王琰,等. 当归补血汤促进小鼠骨髓移植后造血组织重建的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(10): 39.
- [7] 栾凤锦,王永新,魏日胞,等. 复方天葡片对辐射损伤小鼠免疫与造血功能的影响[J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(2): 177.
- [8] 姜胜攀. 中医药防治放疗毒副反应的思路和方法探讨[J]. 光明中医, 2011, 26(1): 49.

[责任编辑 聂淑琴]