

红景天多糖对长波紫外线致大鼠氧化损伤的保护作用

黄冰洋, 魏海, 周权明, 郭婧, 钟丽婷, 沈楠, 姜艳霞

摘要: [目的] 探讨红景天多糖对长波紫外线(ultraviolet A, UVA)辐照大鼠损伤的防护效果。[方法] 用红景天多糖干预 UVA 辐照大鼠, 检测各组血清、肝脏匀浆中超氧化物歧化物(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及羟自由基, 观察红景天多糖的防护效果。[结果] 981.71 J/cm² UVA 辐照组血清中 SOD、GSH、抑制羟自由基能力明显低于正常对照组($P < 0.05$), MDA 含量明显高于正常对照组($P < 0.05$)。经高剂量红景天多糖干预的 UVA 辐照组血清中 GSH 和抑制羟自由基能力明显高于 UVA 辐照组($P < 0.05$), MDA 含量明显低于 UVA 辐照组($P < 0.05$); 低剂量组 MDA 含量明显低于 UVA 辐照组($P < 0.05$), 抑制羟自由基能力明显高于 UVA 辐照组($P < 0.05$)。肝组织匀浆中, UVA 辐照组 SOD 活性、抑制羟自由基能力明显低于正常对照组($P < 0.05$); 高剂量组 SOD 活性、抑制羟自由基能力明显高于 UVA 辐照组($P < 0.05$), MDA 含量明显低于 UVA 辐照组($P < 0.05$)。[结论] 红景天多糖对 UVA 辐照所导致的氧化损伤有一定的修复能力, 具体机制尚有待进一步研究。

关键词: 红景天; 多糖; 长波紫外线; 氧化损伤

Protective Effect of Rhodiola Rosea Polysaccharide on UVA-induced Oxidative Damage in Rats
HUANG Bing-yang, WEI Hai, ZHOU Quan-ming, GUO Jing, ZHONG Li-ting, SHEN Nan, JIANG Yan-xia
(School of Basic Medical Science, Jilin Medical College, Jilin, Jilin 132013, China). Address correspondence to JIANG Yan-xia, E-mail: jiangyx123@163.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To explore the protective effect of rhodiola rosea polysaccharide on the ultraviolet A (UVA) radiated rats. [Methods] The UVA radiated rats were interfered with rhodiola rosea polysaccharides and detected for superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and hydroxyl radical in serum and liver homogenate to observe the role of rhodiola rosea polysaccharide in protection. [Results] The serum SOD, GSH and inhibition ability of hydroxyl radical in 981.71 J/cm² UVA group were significantly lower than that in control group ($P < 0.05$), but MDA in that test group was higher than that in control group ($P < 0.05$). In the high dose rhodiola rosea polysaccharide group, serum GSH and inhibition ability of hydroxyl radical were significantly higher than that in UVA radiation group ($P < 0.05$), and MDA was significantly lower than that in UVA radiation group ($P < 0.05$); while in the low dose rhodiola rosea polysaccharide group, MDA was obviously lower ($P < 0.05$) and inhibition ability of hydroxyl radical was significantly higher ($P < 0.05$) than that in UVA radiation group. In the liver homogenate, SOD activity and hydroxyl radical inhibition ability in UVA radiation group were significantly lower than that in control group ($P < 0.05$), and that in high dose rhodiola rosea polysaccharide group were significantly higher than that in UVA radiation group ($P < 0.05$), but MDA was obviously lower ($P < 0.05$). [Conclusion] Rhodiola rosea polysaccharide has definite ability to repair UVA radiation damage, but its mechanism need to be further studied.

Key Words: rhodiola rosea; polysaccharide; ultraviolet A (UVA); oxidative damage

随着大气污染的日趋严重, 臭氧层的破坏导致地表紫外线(ultraviolet, UV)辐射增加, 对人体产生各种不良影响。如引起皮肤光老化、皮肤癌、眼角膜光损伤以及晶状体混浊。在自然环境中, UV 约占太阳光的 13%。到达地球表面时, 大部分的中波紫外线(ultraviolet B, UVB)和几乎全部的短波紫外线(ultraviolet C, UVC)被大气平流层的臭氧层所吸收, 因此, 自

然界中的长波紫外线(ultraviolet A, UVA)约占 97%, UVB 仅占 3%^[1]。但由于 UVA 的生物活性比 UVB 弱得多, 约为 UVB 的 1/1 000, 过去人们认为引起皮肤光老化、DNA 损伤和皮肤癌的 UV 主要是 UVB, 而 UVA 除了使皮肤晒黑外几乎对人体无害。近年来, 研究发现 UVA 对皮肤的穿透能力远远高于 UVB, 尤其是 UVA(340~400 nm)能穿透到真皮层, 引起真皮组织中胶原及弹力纤维的损伤进而引起更深层次的氧化损伤。UVA 剧烈照射与 UVB 一样, 也能产生红斑和血管损伤, 引起的改变甚至比 UVB 更为严重。有研究显示 UVA 对细胞具有强烈的氧化损伤^[2], UVA 在 UV 氧化损伤中扮演比 UVB 更为重要的角色^[3]。因此 UVA 的氧化损伤作用也日益受到重视^[4-5]。

从传统中药红景天中提取的多糖具有对抗 ⁶⁰Co-γ 辐射^[6]、

[基金项目] 吉林医药学院大学生科研基金(编号: 200903)

[作者简介] 黄冰洋(1991—), 男, 本科生, 研究方向: 生殖医学及表观遗传学; E-mail: bingyanghuang@foxmail.com

[通信作者] 姜艳霞副教授, E-mail: jiangyx123@163.com

[作者单位] 吉林医药学院基础医学院, 吉林 吉林 132013

抗氧化、抗病毒、提高免疫^[7]及降血糖^[8]的作用,同时对精子冷冻保存有良好保护效果^[9],但对紫外线损伤的防护研究尚未见报道。本实验拟针对红景天多糖对 UVA 损伤大鼠血清及肝脏氧化指标超氧化物歧化物(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)和抑制羟自由基能力的影响进行研究,探讨红景天多糖新的药用价值。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和仪器

SOD、MDA、GSH、抑制羟自由基能力试剂盒(购于南京建成生物工程研究所)。365 nm 的 40 W 紫外线 UVA 灯管 4 根(购于北京点光源研究所),721 可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司),M 275235 紫外线辐射照度计(北京中西远大科技有限公司),LXJ-II 型离心沉淀机(上海医用分析仪器厂),H110D 电子分析天平(美国 Sartorius 公司)。

1.2 药品

西藏红景天药材(干燥红景天根茎购自吉林市乐买康大药房,经吉林医药学院药学院雷钧涛教授鉴定为正品。)按水提法提取红景天多糖^[10],制备为粉末,临用时配成所需浓度液体。

1.3 动物分组

健康成年 Wistar 雄性大鼠 32 只,体重 180~220 g[吉林大学白求恩医学院实验动物中心,许可证号:SCXK-(吉)2007-003],标准饲料。适应性饲养一周,将大鼠随机分为 4 组(每组 8 只):正常对照组(不给任何处理因素)、UVA 照射 + 生理盐水组(UVA 辐射组)、高剂量红景天多糖 + UVA 照射组(高剂量组)和低剂量红景天多糖 + UVA 照射组(低剂量组),本实验参考了吴万征等^[11]的大鼠红景天多糖灌胃剂量以及实际红景天多糖溶解度,最终确定高剂量组和低剂量组红景天多糖的灌胃给药量分别为 1200 mg/(kg·d)和 600 mg/(kg·d)。

1.4 UVA 损伤的造模方法

采用机械脱毛法脱去大鼠颈部到臀部的毛发,使其背部完全暴露于紫外线的照射下。将大鼠放入自制照射盒中,

UVA 灯管 4 根,并列穿插安装到自制的照射箱中。各组大鼠按照一定次序轮换放置于紫外灯下,距离灯源 20 cm,每次照射前灯管预热 15 min。参考刘洪英等^[12]无毛小鼠光老化模型计量和方法,根据本实验情况提高 4 倍照射剂量。第 1 周适应实验室环境,从第 2 周开始到第 7 周隔日照射,每次照射剂量 3MED(6 h),第 8~13 周隔日照射,每次照射剂量 6MED,第 13 周后终止 UV 暴露(UVA 照射强度累计 981.71 J/cm²),1 周后处死,用 10% 的水合氯醛麻醉,腹主动脉取血,离心得血清,−20℃ 保存待用。同时取肝脏并且匀浆,对肝组织匀浆液及血清进行指标测定。实验过程中每天观察动物背部皮肤,如有水泡、糜烂等不良表现,停止照射 2~3 d,症状消失后,再继续照射。

1.5 指标检测

SOD 的测定采用黄嘌呤氧化酶法,MDA 采用硫代巴比妥酸法,GSH 和抑制羟自由基能力分别采用化学比色法和 fenton 法,按试剂盒说明书操作。

1.6 统计处理

所有数据通过 SPSS 13.0 软件进行处理,各组参数以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异采用方差分析进行检验,并用最小明显差法(LSD 法)检验作两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 血清氧化指标检测

由表 1 可见,UVA 辐射组血清中的 SOD 活性明显低于正常对照组($P<0.05$),高剂量组和低剂量组的 SOD 活性与 UVA 辐射组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),高剂量组较低剂量组 SOD 活性有所提高($P<0.05$);UVA 辐射组中 MDA 含量明显高于正常对照组($P<0.01$),经两种剂量的红景天干预后血清 MDA 含量恢复正常($P<0.01$);UVA 辐射组血清中 GSH 活性明显低于正常组($P<0.05$),低剂量组与 UVA 辐射组差异无统计学意义($P>0.05$),高剂量组较 UVA 辐射组和低剂量组明显提高($P<0.05$);UVA 辐射组抑制羟自由基的能力明显低于正常对照组($P<0.05$),高剂量组及低剂量组抑制血清羟自由基的能力明显高于 UVA 辐射组($P<0.05$)。

表 1 血清中 SOD、MDA、GSH 和抑制羟自由基能力检测($n=8, \bar{x} \pm s$)
Table 1 Serum SOD, MDA, GSH, and the inhibition ability of hydroxyl radical

组别 Group	SOD (mmol/mL)	MDA (mmol/mL)	GSH (μ mol/L)	抑制羟自由基能力 Inhibition ability of hydroxyl radical (U/mL)
正常对照组(Control)	173.40 $\pm$ 7.85	6.85 $\pm$ 0.68	19.52 $\pm$ 1.60	998.17 $\pm$ 47.64
UVA 辐射组(UVA radiation)	164.35 $\pm$ 3.99 ^a	8.44 $\pm$ 0.77 ^a	15.76 $\pm$ 3.45 ^a	660.44 $\pm$ 127.24 ^a
低剂量组(Low-dose)	164.73 $\pm$ 8.50 ^a	6.91 $\pm$ 0.78 ^b	16.77 $\pm$ 2.97	780.05 $\pm$ 145.13 ^{ab}
高剂量组(High-dose)	171.01 $\pm$ 6.99 ^a	6.39 $\pm$ 0.73 ^b	19.15 $\pm$ 2.71 ^{bc}	841.31 $\pm$ 112.67 ^b

[注] ^a: 与正常对照组比较(Compared with normal control group), $P<0.05$; ^b: 与 UVA 辐射组比较(Compared with UVA radiation group), $P<0.05$;
^c: 与低剂量组比较(Compared with low-dose group), $P<0.05$ 。

2.2 肝组织匀浆氧化指标检测

由表 2 可见,肝脏组织匀浆中,UVA 辐射组 SOD 活性明显低于正常对照组($P<0.01$),低剂量组和高剂量组 SOD 活性明显高于 UVA 辐射组($P<0.05$);UVA 辐射组较正常对照组 MDA 含量差异无统计学意义,高剂量组 MDA 含量明显低于 UVA 辐射

组($P<0.05$);UVA 辐射组、低剂量组、高剂量组的 GSH 活性与正常对照组相比,差异均无统计学意义($P>0.05$);UVA 辐射组与低剂量组抑制羟自由基的能力较正常对照组明显降低($P<0.01$);高剂量组抑制羟自由基能力较 UVA 辐射组明显增强($P<0.01$),与低剂量组相比抑制羟自由基能力亦增强($P<0.05$)。

表 2 肝组织匀浆中 SOD、MDA、GSH 和抑制羟自由基能力检测 (n=8, $\bar{x} \pm s$)
Table 2 SOD, MDA, GSH, and the inhibition ability of hydroxyl radical in liver homogenate

组别 Group	SOD (U/mg prot)	MDA (U/mg prot)	GSH (mg/g prot)	抑制羟自由基 Inhibition ability of hydroxyl radical (U/mg prot)
正常对照组 (Control)	95.72 ± 2.08	1.87 ± 0.18	4.59 ± 0.74	174.35 ± 48.59
UVA 辐射组 (UVA radiation)	88.41 ± 4.55 ^a	2.14 ± 0.46	4.35 ± 1.35	116.71 ± 4.58 ^a
低剂量组 (Low-dose)	93.13 ± 5.57 ^b	2.03 ± 0.34	4.18 ± 0.72	129.30 ± 16.39 ^a
高剂量组 (High-dose)	93.71 ± 4.33 ^b	1.82 ± 0.16 ^b	4.19 ± 1.28	172.50 ± 31.10 ^c

[注]^a: 与正常对照组比较 (Compared with normal control group), $P < 0.05$; ^b: 与 UVA 辐射组比较 (Compared with UVA radiation group), $P < 0.05$;
^c: 与低剂量组比较 (Compared with low-dose group), $P < 0.05$ 。

3 讨论

UVA 辐射对机体的损害主要表现在两个方面, 一方面是可使体内抗氧化酶类含量减少、活性降低, 防护功能减退或发生障碍; 另一方面还会促进机体产生过多自由基, 尤其是以 HO·、HOO· 增多明显, MDA 是脂质过氧化的终产物之一, 它能使膜蛋白发生交联反应, 使其结构和功能受到损伤。SOD、GSH 活性可防止自由基在体内通过脂质过氧化等作用造成组织细胞损伤和器官的退行性变。UVA 辐射组血清 SOD、GSH、抑制羟自由基的能力明显低于正常对照组, MDA 含量明显高于正常对照组, 表明 UVA 辐射可使生物体造成抗氧化能力下降, 导致氧化损伤。另外肝脏组织匀浆中 SOD 活性和抑制羟自由基的能力明显低于正常对照组, 说明具有修复功能的肝脏也受到了 UVA 辐射的损伤。

高剂量组较 UVA 辐射组血清中 GSH 和抑制血清羟自由基的能力明显增强, MDA 含量明显降低, 均接近于正常值; 而低剂量组 GSH 和抑制血清清除羟自由基的能力与 UVA 辐射组相比有所增加, 但低于高剂量组, 说明高剂量红景天多糖较低剂量具有较强的抗氧化能力, 可对抗 UVA 辐射所造成的损伤。高剂量组肝组织匀浆抑制羟自由基能力和 MDA 的变化趋势同血清, 而 SOD 高于 UVA 辐射组, 说明肝组织损伤还可通过 SOD 使超氧离子自由基歧化为 O₂ 和 H₂O₂, 达到降低损伤的作用。可见红景天多糖可以通过抗氧化酶的活性增强提高机体抗氧化能力, 提高抑制羟自由基的能力对抗羟自由基对机体造成的氧化损伤, 同时抑制机体脂质过氧化损伤从而减少 MDA 含量, 达到了对抗 UVA 对大鼠造成的氧化损伤, 以上结果显示红景天多糖对 UVA 辐射所造成的损伤有一定的防护作用, 具体机制尚有待进一步研究。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

[1] 金锡鹏, 帕它木, 吴玉霞. 紫外辐射对人体健康的不良影响[J]. 环境与职业医学, 2002, 19(1): 44-48.

[2] MERWALD H, KLOSNER G, KOKESCH C, et al. UVA-induced oxidative damage and cytotoxicity depend on the mode of exposure[J]. J Photochem Photobiol B, 2005, 79(3): 197-207.

[3] HOERTER JD, WARD CS, BALE KD, et al. Effect of UVA fluence rate on indicators of oxidative stress in human dermal fibroblasts[J]. Int J Biol Sci, 2008, 4(2): 63-70.

[4] 李春雨, 张丽宏, 张宁, 等. 紫外线诱导皮肤光老化的形成机制[J]. 中国美容医学, 2009, 18(3): 416-419.

[5] WENK J, BRENNISEN P, MEEWES C, et al. UV-induced oxidative stress and photoaging[J]. Curr Probl Dermatol, 2001, 29: 83-94.

[6] 李静, 祝彼得, 陈永锋, 等. 红景天多糖对骨髓抑制贫血小鼠外周血及骨髓细胞周期的影响[J]. 四川解剖学杂志, 2006, 14(3): 4-6.

[7] 孙非, 于起福, 孙寒, 等. 高山红景天多糖对病毒感染大鼠心肌细胞的抑制作用[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(6): 525-528.

[8] 程秀娟, 邸琳, 吴岩, 等. 高山红景天多糖降血糖作用—不同给药途径的比较[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(11): 685-687.

[9] 张树山, 李青旺, 胡建宏, 等. 红景天多糖对猪精子冷冻保护效果的研究[J]. 农业生物技术学报, 2010, 18(3): 519-525.

[10] 黄冰洋, 魏海, 周权明, 等. 正交试验优选红景天多糖的提取工艺[J]. 吉林医药学院学报, 2011, 32(1): 22-24.

[11] 吴万征, 李朝晖, 梁球. 西藏红景天对小鼠辐射损伤的保护作用及其抗高原反应与低温环境的作用[J]. 中药材, 2005, 28(2): 128-130.

[12] 刘洪英, 李善如. 无毛小鼠皮肤光老化模型的建立[J]. 军事医学科学院院刊, 1999, 23(2): 111-113.

(收稿日期: 2011-06-20)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 郭薇薇; 校对: 张晶)