

辐射对小鼠组织中脂质过氧化物和蛋白质的影响及单宁酸与鲨烯的抗脂质过氧化作用

王崇道 劳勤华 强亦忠 沈维明

(苏州医学院, 苏州 215007)

摘要 采用改良的TBA比色法测定组织中的脂质过氧化物(LPO)。结果表明:(1) $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 内照射后第15d时,小鼠肝、脾、肾和骨髓中的LPO含量明显升高,而组织中的蛋白质却明显降低,两者呈负相关;(2) γ 线整体照射(2—4 Gy)后72h,小鼠肝、脾和肾中的LPO含量随着剂量的增加而升高。辐射剂量与LPO含量之间呈现显著线性关系;(3)单宁酸与鲨烯有抗脂质过氧化作用。

关键词 γ 辐射, 脂质过氧化物, 小鼠, 单宁酸, 鲨烯, 比色法

生物膜富于磷脂与胆固醇,其中不饱和脂肪酸极易与活性氧发生脂质过氧化反应。脂质过氧化物(LPO)是脂质过氧化反应的产物^[1]。脂质过氧化作用可引起膜的通透性增强、线粒体膨胀、溶酶体酶的释放以及酶失活等损伤^[2]。它与某些病理过程如肿瘤、化学中毒、感染、自身免疫疾病、辐射损伤及衰老等有关^[1]。因此有关脂质过氧化的研究,越来越受到人们的重视。本文报道 $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 内照射条件下,小鼠某些组织中LPO和蛋白质的变化及 γ 线外照射时辐射剂量与组织中LPO的关系,以及单宁酸与鲨烯的抗脂质过氧化作用。

1 材料与 方法

试验用小鼠为昆明种、雄性,本院动物房提供,体重 $20 \pm 3 \text{ g}$ 。 $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$,上海跃龙化工厂出品。单宁酸(Tannic acid),遵义第二化工厂出品,十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS),上海化学试剂采购供应站试剂厂分装。鲨烯(Squalence),上海试剂一厂出品。1,1,3,3-四乙氧丙烷(TEP),Sigma公司出品。

1.1 组织样本的制备

小鼠颈动脉放血致死,分别取出肝、脾和肾,用冰冷的0.9%NaCl溶液灌注冲洗,拭干后称取100 mg组织加入冰冷的1.15%KCl溶液,研磨成10%的组织匀浆,置冰箱中待测。

制备骨髓细胞悬液时,先取出小鼠两侧股骨,剪断股骨,冲洗出骨髓细胞,洗出液离心后,于沉淀细胞中加入0.9%NaCl溶液,使之成一定体积悬液,进行骨髓细胞计数,置冰箱中待测其它指标。

1.2 LPO的测定

采用Ohkawa的TBA比色法^[3]测定LPO,但以0.8%TBA醋酸溶液代替原法中的0.8%TBA

收稿日期:1991-10-28

水溶液,以正丁醇代替正丁醇-吡啶。

小鼠肝、脾和肾中 LPO 含量以 nmol MDA/g 湿组织表示,骨髓中的 LPO 含量以 nmol MDA/ 10^7 细胞表示。

1.3 组织蛋白质的测定

按 Folin-Lowry 酚试剂显色法测定组织蛋白质,以 mg/g 湿组织表示其含量。

1.4 实验分组与照射条件

1.4.1 小鼠受 $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 内照射时组织中 LPO 测定 小鼠分成实验组与对照组。将配制的 10 mg/ml 的 $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 溶液,经实验组小鼠腹腔注入,剂量为 0.5 mg/g 体重,对照组小鼠注入同量的注射用蒸馏水。于 15 d 后处死。用分光光度计(72-1 型分光光度计)测定 LPO。

1.4.2 辐照与组织中 LPO 的剂量效应 小鼠分成 3 组,分别接受 ^{60}Co γ 线照射,剂量率 1 Gy/min,总剂量分别为 2、3 和 4 Gy。小鼠于照后 72 h 处死并测定 LPO。

1.4.3 单宁酸与鲨烯的抗脂质过氧化作用 小鼠分成 3 组,各接受 ^{60}Co γ 线照射,总剂量为 3 Gy,剂量率为 1 Gy/min。分别于照后 15 min 开始灌胃,一组灌入 0.3 ml 2.5% 单宁酸, b.i.d.; 另一组灌入 0.3 ml 鲨烯, b.i.d., 第三组灌入 0.3 ml 注射用蒸馏水, b.i.d.。于照后 72 h 处死,测定 LPO。

2 结 果

2.1 $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 内照射时小鼠某些组织内 LPO 与蛋白的变化

小鼠经腹腔注入 $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 后第 15 d,肝、脾、肾和骨髓中 LPO 较对照组明显升高,其中肝、脾、肾和骨髓中分别增加 70.96%、71.91%、53.26% 和 103.35%,以骨髓为最;而组织中蛋白质却明显降低,其中肝、脾和骨髓中分别减少 38.56%、30.17% 和 45.43%,亦以骨髓为最,两者呈负相关(见表 1 和 2)。

Tab 1. The changes of LPO in some tissues (NO_3)₄ of mice at the 15 th day after internal radiation by ip injection of $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ /0.5 mg·g⁻¹

Organ	LPO/nmol (MDA)/g(wt) ⁻¹		
	$\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ group	Control group	
Liver	216.81±21.89	126.82±35.38	p<0.01
Spleen	194.27±7.28	113.01±28.03	p<0.01
Kidney	168.72±15.34	110.09±13.00	p<0.01
Bone marrow*	79.00±18.34	38.85±11.71	p<0.05

* The level of LPO in bone marrow is expressed in terms of nmol(MDA) / 10^7 cells.

Tab 2. The changes of proteins in some tissues of mice at the 15 th day after internal radiation by ip injection of $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$

Organ	Proteins/mg·(g·wt) ⁻¹		
	$\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ group	Control group	
Liver	132.74±31.61	216.06±10.49	p<0.01
Spleen	128.91±18.82	188.18±23.35	p<0.01
Kidney	147.77±30.43	211.60±17.51	p<0.01
Bone marrow *	42.86±8.12	78.54±12.64	p<0.01

*The level of Proteins in bone marrow is expressed in terms of mg/ 10^7 cells

2.2 辐照与组织中 LPO 的剂量效应关系

小鼠经 γ 线照射(总剂量 2—4 Gy, 剂量率 1 Gy/min) 72 h 后, 组织中 LPO 含量也随着剂量的增加明显升高。(见表 3、图 1)。在 0—4 Gy 范围内, 小鼠肝、脾和肾中 LPO 的变化与剂量存在明显的线性关系。

2.3 单宁酸鲨烯的抗脂质过氧化作用

小鼠于接受 3 Gy γ 线照射后, 分别以单宁酸与鲨烯灌胃, 在照射后 72 h, 其肝、脾和肾中 LPO 含量与对照组相比, 均有不同程度的降低(见表 4)。单宁酸组, 肝、脾和肾中 LPO 分别降低 27.51%、22.83% 和 20.68%; 鲨烯组, 肝、脾和肾的 LPO 分别降低 27.32%、25.00% 和 23.68%, 两组降低皆以肝中为最。由表 4 可见单宁酸和鲨烯的抗脂质过氧化作用的差异在统计学上无意义 ($P > 0.05$)。

3 讨 论

关于 γ 线整体照射组织中 LPO 含量的增高, 国内外皆有报道^[4,5], 但有关内照射条件下组织中 LPO 的变化尚未见报道。本研究证实了在内照射时小鼠组织中的 LPO 同样明显增加。由于钚的半衰期很长, 其急性中毒时化学毒性所占的贡献较大, 故组织中的 LPO 增加应视为辐射毒性与化学毒性综合作用的结果。辐照时组织中蛋白质降低, 可能与钚使蛋白质分解代谢加强, 合成抑制有关^[6]。

Tab 4. The anti-LPO effects of tannic acid and squalen in some tissues of mice exposed to a dose of 3Gy at the 72 th hour after whole-body gamma radiation

Organ	Control group	Tannic acid group	Squalene group
Liver	559.18 $\pm$ 54.20 (A)	405.34 $\pm$ 24.19 (B)	406.40 $\pm$ 32.39 (C)
Spleen	488.78 $\pm$ 58.93 (D)	377.21 $\pm$ 14.35 (E)	366.57 $\pm$ 24.41 (F)
Kidney	469.39 $\pm$ 44.50 (G)	372.30 $\pm$ 22.36 (H)	358.26 $\pm$ 9.23 (I)

Note: (1) The mice were given intragastrically with 2.5% tannic acid or squalene or distilled water 0.3 ml, b.i.d, in 3 consecutive days at the 15 th min after radiation. (2) No. of samples, control group, 4, tannic acid and squalene groups 5;

(3) A:B $P < 0.001$, A:C $P < 0.01$, B:C $P > 0.05$, D:E $P < 0.01$, D:F $P < 0.01$ E:F $P > 0.05$, G:H $P < 0.01$ H:I $P < 0.01$, H:I $P > 0.05$. (4) The level of LPO is expressed in terms of

nmol (MDA)(g·wt)⁻¹

国内有关动物整体辐照的研究所采取的辐照剂量为 4—10 Gy^[7], 本研究表明在低于 4 Gy 辐照时, 小鼠肝、脾和肾中 LPO 仍明显增加。在 0—4 Gy 范围内 LPO 含量的变化与剂量间存有良好的线性关系。

单宁酸有一定的抗脂质过氧化作用, 能抑制 LPO 的生成, 鲨烯也具有一定的抗脂质过氧化作用。

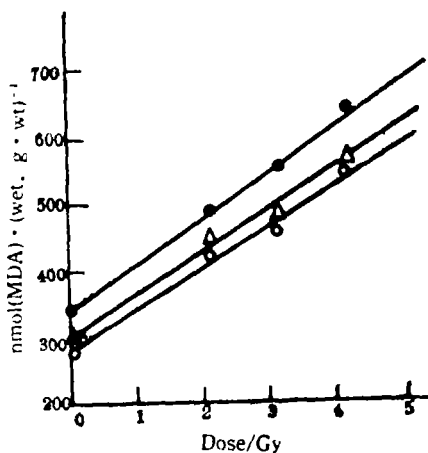


Fig 1. The changes of LPO contents in some tissues of mice exposed to a dose from 2 to 4 Gy at the 72 th hour after whole-body gamma radiation (●) Liver (△) Spleen (○) Kidney

参 考 文 献

- 1 曹锡清.生物化学与生物物理进展, 1986, 2: 17
- 2 莫简编.医用自由基生物学导论.北京: 人民卫生出版社, 1989: 59—61
- 3 Ohkawa H, Ohishi N et al.. Anal. Biochem., 1979, 95: 351—358
- 4 Kergonou J F et al., Biochimie., 1981, 63: 555
- 5 王崇道, 林兴成.辐射研究与辐射工艺学报, 1989, 7(4): 47
- 6 朱寿彭编.放射毒理学.北京: 原子能出版社, 1983: 50
- 7 周得, 仲伟强.中华放射医学与防护杂志, 1985, 5(6): 430

EFFECTS OF RADIATION ON LIPID PEROXIDES AND PROTEINS IN RATS AND ANTI-LPO EFFECTS OF TANNIC ACID AND SQUALENE

Wang Chongdao Lao Qinhua Qiang Yizhong Shen Weiming

(Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

ABSTRACT Lipid peroxides (LPO) in the tissues of mice was determined by the modified spectrophotometry with TBA. The results showed, 1) LPO contents in liver, spleen, kidney and bone marrow of mice dramatically increased and their proteins markedly reduced at the 15th day after internal radiation. There exists negative relationship between them. 2) A gradual increase of LPO contents in liver, spleen and kidney of mice at the 72th hour was followed by an increase of whole-body gamma radiation at a dose from 2 to 4 Gy. A linear relationship between the dose and LPO contents was observed in the dose range of 0—4 Gy. 3) Tannic acid and squalene had certain anti-LPO effects.

KEYWORDS γ -Radiation, Lipid peroxides, Mouse, Tannic acid, Squalene, Spectrophotometry