

**研究论文及
科研成果报告****体外照射 RBC 对 SeGSHPx 活性的影响**

陈 媛 周 玫 齐凤菊 孔 华

(第一军医大学)

摘要 本文以大小鼠 RBC 为模型观察了不同剂量体外照射对 SeGSHPx 活性的影响,以探讨全身照射时 RBC SeGSHPx 活性降低的原因、RBC 体外照射 SeGSHPx 活性变化特点以及 SeGSHPx 在抗辐射脂质过氧化中的作用。结果是, RBC 悬液和全血体外照射 SeGSHPx 活性都不降低,温育可使受照 RBC SeGSHPx 活性增高,与受照 RBC K^+ 渗漏和溶血程度的变化规律相一致; VE 对体外照射 RBC 的脂质过氧化损伤无保护作用,但对体外照射 SeGSHPx 受抑制的 RBC 则显示保护作用。

关键词: 辐射效应; 体外照射; 红细胞; 硒谷胱甘肽过氧酶; 脂质过氧化。

前 言

不同剂量(5、10、20 Gy)全身照射后小鼠 RBC SeGSHPx 活性的变化是: 照射后酶活性降低,降低的程度随照射剂量的增加而增加,大剂量(20 Gy)照射还随着照后时间的延长而增加^[1]。10 Gy 照射大鼠的研究也说明照后 RBC SeGSHPx 活性降低^[2]。为了探讨全身照射 RBC SeGSHPx 活性降低的原因,体外照射 RBC SeGSHPx 活性变化的特点以及 SeGSHPx 在抗辐射脂质过氧化中的作用,我们以大小鼠 RBC 为模型观察了不同剂量体外照射对 SeGSHPx 活性的影响。

材料和方法**1. RBC 样品的制备及照射条件**

全血样品 体重为 180—220 g 的 SD 雄性大鼠和 18—22 g ICR 雄性小鼠,断头取血,肝素抗凝。按用量盛于 10 ml 带塞圆底离心管中分成 0 号管和不同剂量照射管。大鼠全血为同一鼠的血,小鼠全血为多只鼠的混合血。

RBC 悬液 肝素抗凝全血,离心分离 RBC 并以生理盐水洗涤三次,最后一次以 3000 r/min 离心 30 min,用生理盐水制成 50% 压积的 RBC 悬液,与全血样品一样编号和处理。

照射条件 ^{60}Co γ 源,中心距离 20 cm,剂量率为 20.756 Gy/min

2. 实验和测定方法

RBC SeGSHPx 活性的测定主要按 Paglia 等^[3]的方法,酶活性以每克血红蛋白(Hb)每分钟氧化 NADPH 的微克分子数表示,为了比较将正常 RBC 酶活性定为 100。RBC K^+ 渗漏和溶血程度按前法测定^[4,5]。RBC K^+ 渗漏和溶血程度也是以正常 RBC 测得的数值为 100。文中提到的碘乙酸对 SeGSHPx 的抑制和 VE 对 RBC 的保护试验按文献 5 的方法。碘乙酸的终浓度为 0.5 mmol/L。

结果和讨论**1. 体外照射 RBC 悬液对 SeGSHPx 活性的影响**

大小鼠 RBC 悬液经不同剂量照后 SeGSHPx 活性无明显变化(表 1)说明全身照后 RBC SeGS-

表 1 RBC 悬液体外照射后 SeGSHPx 活性的变化

Table 1 Changes in SeGSHPx activity of RBC irradiated in vitro in normal saline solution

	剂 量 doses(Gy)			
	0	100	500	1000
小鼠 Mice	22.72±2.58(5)	23.07±2.58(5)	23.79±0.96(5)	23.34±2.55(5)
大鼠 Rats	43.25±3.80(5)	45.85±2.74(5)	45.68±1.76(5)	45.60±1.34(5)

(N) = Number of Observations

HPx 活性的降低不是辐射的直接作用。

2. 体外照射全血对 SeGSHPx 活性的影响

考虑到全身照射时 SeGSHPx 活性降低可能与血浆受到照射有关, 血浆中的某些成分受到辐射的破坏而成为酶活性的抑制物, 为此进行了全血照射, 观察酶活性的变化(表 2)

表 2 全血体外照射后 RBC SeGSHPx 活性的变化

Table 2 Changes in SeGSHPx activity of RBC irradiated in vitro in plasma ($\bar{x} \pm SD$)

	剂 量 doses (Gy)			
	0	100	500	1000
小鼠 Mice	19.62±0.06(5)	19.46±1.61(5)	20.89±1.79(5)	20.06±1.11(5)
大鼠 Rats	44.62±0.20(5)	44.64±2.00(5)	44.26±4.01(5)	45.57±5.18(5)

(N) = Number of Observations

由表 2 可见, 酶活性也无明显变化, 与照射 RBC 悬液所得的结果相似。这说明 全身照射后 RBC SeGSHPx 活性的降低与血浆成份也无关。由此推测, 酶活性的降低可能是由于 机体受照后产生的异常代谢物对酶的抑制。

3. 温育对受照 RBC SeGSHPx 活性的影响

表 3 体外照射的小鼠 RBC 悬液 4 小时温育(37℃)后 SeGSHPx 活性的变化

Table 3 Changes in SeGSHPx activity of mouse RBC irradiated in vitro in normal saline solution or plasma after incubation (4 hs37℃) ($\bar{x} \pm SD$)

照射剂量 Irradiation doses(Gy)	对照组 Control	体外照射 Irradiation in vitro	
		RBC 悬液 RBC in normal saline solution	全血 RBC in plasma
0	100.00	124.61±11.0**(5)	146.79±14.98*(3)
100	100.00	123.45±12.47*(5)	138.03±9.30*(3)
500	100.00	125.45±7.27**(5)	125.38±3.60*(3)
1000	100.00	122.58±11.94*(5)	126.52±17.95(3)

*P<0.05 **P<0.01

(N) = Number of Observations

为了进一步了解酶活性的变化规律, 我们观察了受照 RBC 温育 4 小时后的 SeGSHPx 活性。表 3 为体外照射小鼠 RBC 温育 4 小时后的酶活性变化, 不论是 RBC 悬液还是全血受照, 不论受照还是非受照以及受照剂量的多少, RBC SeGSHPx 活性都增加, 除全血 1000 Gy 照射组外, 各组的增加都有统计学意义。大鼠 RBC 的实验也显示同样的变化规律(未列出)。

4. 体外照射 RBC 悬液对 RBC K⁺ 渗漏和溶血程度的影响

上述结果说明不论对 RBC 悬液还是全血照射, 随着照射剂量的增加酶活性无明显变化, 但温育 4 小时后酶活性都明显增加, 为了探讨其增高的原因, 我们测定了体外照射的小鼠 RBC 温育 4 小时后 K⁺ 渗漏和溶血程度, 以观察 RBC 膜的脂质过氧化强度变化, 因为 RBC K⁺ 渗漏和溶血程度直接反映 RBC 膜的脂质过氧化强度。结果显示, 温育 4 小时后 RBC 的脂质过氧化强度明显增加(表 4), 与酶活性的增加相一致(表 3), 说明脂质过氧化强度增加可能是 SeGSHPx 活性增高的原因。

表 4 体外照射的小鼠 RBC 悬液 4 小时温育(37℃)后 K⁺ 渗漏和溶血程度的变化

Table 4 Changes in K⁺ loss and hemolysis of RBC irradiated in vitro in normal saline solution after incubation (4 hs 37℃)($\bar{x} \pm SD$)

照射剂量 Irradiation doses(Gy)	对照组 Control	受照 RBC 悬液 RBC irradiated in normal saline solution	
		K ⁺ 渗漏 K ⁺ loss	溶血程度 Hemolysis
0	100.00(2)	696.78 $\pm$ 6.45** (2)	257.30 $\pm$ 3.12** (2)
100	100.00(2)	748.39 $\pm$ 25.81** (2)	257.30 $\pm$ 46.88** (2)
500	100.00(2)	1241.94 $\pm$ 29.04** (2)	303.13 $\pm$ 15.62** (2)
1000	100.00(2)	1954.84 $\pm$ 6.45** (2)	679.13 $\pm$ 31.25** (2)

**P<0.01

(N) = Number of observations

已知 SeGSHPx 除主要存在于细胞的胞浆和线粒体基质中外, RBC 膜中也存在 SeGSHPx, 它与膜疏松地结合着^[6]。很多文献报道^[7]脂质过氧化作用可以使膜酶活性增高。非照射小鼠 RBC 温育后脂质过氧化强度与酶活性都增加更能说明这一点。因为非照射 RBC 唯一的变化是在温育时 RBC 膜受到空气中氧的引发而发生脂质过氧化损伤。

5. VE 对体外照射 RBC K⁺ 渗漏的保护作用

先前的工作说明 VE 对 100 和 200 Gy 照射 RBC 的 K⁺ 渗漏无保护作用, 本实验(表 5)进一步证实即使受到 500 和 1000 Gy 这样大的剂量照射对 K⁺ 渗漏也无保护作用。文献中提到 VE 对受照 RBC 脂质过氧化损伤的保护作用, 多是以缺 VE 动物的 RBC 作模型或受照 RBC 再受 H₂O₂ 的攻击, 也即是 RBC 膜处于较明显的低 VE 状态时, VE 才显示保护作用。我们曾观察到, 随着 SeGSHPx 抑制 RBC 膜的脂质过氧化强度增加以及 VE 有保护作用^[5]。这是由于膜的脂质过氧化强度不仅受抗氧化剂 VE 的影响, 还要受抗氧化酶 SeGSHPx 的制约。

表 5 VE 对体外照射 RBC K⁺ 渗漏的保护作用

Table 5 Protection of VE from K⁺ Loss of RBC irradiated in vitro ($\bar{x} \pm SD$)

RBC	照射剂量 Irradiated doses(Gy)	VE μ g/ml		
		0	50	100
小鼠 Mice	0	100.00(2)	110.77 $\pm$ 3.85(2)	108.81 $\pm$ 2.67(2)
	500	100.00(2)	112.19 $\pm$ 8.60(2)	107.57 $\pm$ 2.39(2)
	1000	100.00(2)	103.88 $\pm$ 4.31(2)	102.37 $\pm$ 0.65(2)
大鼠 Rats	0	100.00(2)	99.14 $\pm$ 2.59(2)	99.14 $\pm$ 4.31(2)
	500	100.00(2)	107.46 $\pm$ 1.00(2)	101.00 $\pm$ 1.50(2)
	1000	100.00(2)	101.46 $\pm$ 0.73(2)	97.10 $\pm$ 1.70(2)

(N) = Number of Observations

6. VE 对体外照射 SeGSHPx 受抑制的 RBC 溶血的保护作用

为了说明 SeGSHPx 在抗辐射脂质过氧化损伤中的作用, 我们用碘乙酸处理的 RBC(SeGSHPx

受到抑制)进行不同剂量照射, 观察 VE 对溶血程度的影响(表 6)。

表 6 VE 对体外照射 SeGSHPx 受抑制的大鼠 RBC 溶血的保护作用
Table 6 Protection of VE from hemolysis of SeGSHPx inhibited RBC irradiated in vitro
(incubation 6 hs 37°C)($\bar{x} \pm SD$)

剂量 doses(Gy)	VE $\mu\text{g/ml}$		
	0	100	500
0	100.00(2)	77.64 $\pm$ 3.66(2)	80.89 $\pm$ 7.73(2)
100	100.00(2)	80.25 $\pm$ 0.42**(2)	77.31 $\pm$ 10.93**(2)
500	100.00(2)	76.69 $\pm$ 2.91*(2)	65.53 $\pm$ 0.49**(2)

*P<0.05 **P<0.01

(N) = Number of observations

由表 6 可见, VE 对 SeGSHPx 受抑制而未经照射的 RBC 的溶血虽有一定的保护作用, 但无统计学意义, 而对 SeGSHPx 受抑制又经照射的 RBC 溶血则有明显的保护作用, 特别是较大剂量(500 Gy)照射时尤为明显。本结果与我们观察到的事实相一致^[5], 即 VE 对 SeGSHPx 受抑制的 RBC 的保护作用在 RBC 处于低 VE 状态时远较处于高 VE 状态为明显, 这说明, SeGSHPx 抑制在辐射脂质过氧化损伤中具有重要作用以及 SeGSHPx 和 VE 协同地保护细胞膜免受脂质过氧化损伤。

结 语

体外照射 RBC 悬液, SeGSHPx 活性不降低, 说明全身照射时 RBC SeGSHPx 活性降低不是辐射的直接作用。全血照射, SeGSHPx 活性也不降低, 说明全身照射酶活性降低与血浆成分无关, 推测很可能是由于机体受照射后产生的异常代谢物对 RBC SeGSHPx 的抑制。RBC 悬液及全血照后, 4 小时温育酶活性不是降低而是增高, 与脂质过氧化强度的增加基本相一致, 说明脂质过氧化强度增加可能是体外照射酶活性增高的原因。VE 对体外照射 RBC K⁺ 渗漏无保护作用, 但对体外照射 SeGSHPx 受抑制的 RBC 溶血显示保护作用, 说明 SeGSHPx 抑制在辐射脂质过氧化损伤中具有重要作用。细胞辐射研究说明 SeGSHPx 和 VE 协同地保护细胞免受脂质过氧化损伤。

参 考 文 献

- [1] 周 玫, 陈 瑗, 齐凤菊, 黄文伟, 潘正尧, 辐射研究与辐射工艺学报, 3(3), 52(1985).
- [2] 陈 瑗, 周 玫, 齐凤菊, 孔 华, 黄文伟, 生物化学杂志, 1(5,6), 191(1985).
- [3] D. E. Paglia and W. N. Valente, J. Lab. Clin. Med., 70(1), 158(1976).
- [4] 陈 瑗, 孔 华, 生物化学与生物物理进展, 3.49(1985).
- [5] 陈 瑗, 周 玫, 齐凤菊, 孔 华, 生物化学杂志, 3(2), 113(1987).
- [6] H. E. Granther, D. G. Hafeman, R. A. Lawrence, R. E. Serfass and W. G. Hoekstra, in A. S. Prasad et al. eds "Trace elements in health and disease", P. 186. Academic Press, New York, 1976.
- [7] 陈 瑗, 周 玫, 中华放射医学与防护杂志, 4(6), 63(1984).

(收到日期 1986 年 3 月 10 日)

EFFECT OF IRRADIATION IN VITRO OF RBC ON SeGSHPx ACTIVITY

Chen yuan Zhou Mei Kong Hua Qi Fengju

(The First Medical College of PLA Guangzhou)

ABSTRACT In the present paper it was studied that the effect of irradiation in vitro of RBC on SeGSHPx activity to explore the cause of the decrease in SeGSHPx activity of RBC irradiated in vivo, the features of the changes in SeGSHPx activity of RBC irradiated in vitro and the role of enzyme in protection against radiation induced lipoperoxidation. The experimental results were: All RBC SeGSHPx activities were not decreased whether RBC was irradiated in normal saline solution or in plasma. The enzyme activities became higher as the incubation (4 hours) elapsed on the contrary. The regularity of the change was basically consistent with that in K^+ loss and hemolysis of RBC irradiated in vitro. VE didn't show protection of RBC irradiated in vitro from lipoperoxidation, when RBC whose SeGSHPx was inhibited by iodoacetic acid was irradiated in vitro, VE showed protection of SeGSHPx irradiated in vitro and inhibited RBC from lipoperoxidation.

Key words Radiation effect; Irradiation in vitro; RBC; Selenium-dependent glutathione peroxidase; Lipoperoxidation

(上接第 49 页)

EFFECTS OF TETRANDRINE ON THE RADIOTHERAPY OF PRIMARY LUNG CANCER

Jiang GuoLiang Liu TaiFu

(Department of Radiation Oncology Cancer Hospital Shanghai Medical University)

ABSTRACT It has been reported that Tetrandrine, a Chinese medical herb, could enhance the radiotherapy of primary lung carcinomas. The purpose of the study was to verify whether Tetrandrine is a potential radiosensitizer. The experimental results showed the drug was not able to increase effects of radiation on S-180 and Lewis tumors, with E/O less than 1.4 in all experiments. There was no evidence to prove that the immediate radioresponse of primary lung carcinomas to combination of radiotherapy and Tetrandrine was better than that of radiotherapy alone. Therefore, probably Tetrandrine is not a radiosensitizer.

KEY WORDS Radiosensitizer; Tetrandrine; Sarcoma-180; Lewis carcinoma; Radiotherapy of primary lung carcinoma.