

大鼠 X 射线辐照后对血清抗氧化酶影响的实验研究*

李大鹏^a, 吕春雷^b, 王凤娇^a, 翟真真^a, 郑文哲^b

(解放军 88 医院 a. 中心实验室; b. 医务处, 山东泰安 271000)

摘要:目的 探讨大鼠 X 射线辐照后对血清抗氧化酶的影响。方法 选择无特定病原体成年大鼠 19 只, 随机分为试验组(A)、试验组(B)和对照组(C)。A、B 两组大鼠均每日进行全身一次性 X 线照射, 连续 6 天, 1 次/天。A 组照射剂量为 3Gy, B 组照射剂量为 2Gy, C 组不进行 X 线照射, 完后留取血样检测 3 组大鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性, 并予以统计分析。结果 SOD: A 组 185.486 ± 27.606 U/ml, B 组 255.087 ± 43.519 U/ml, C 组 299.171 ± 26.890 U/ml, A、C 组间与 A、B 组间差异均有统计学意义($P < 0.05$), B 与 C 组间差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明 A 组 SOD 水平显著低于 C 组, 且 A 组显著低于 B 组; CAT: A 组 0.438 ± 0.400 U/ml, B 组 1.173 ± 0.457 U/ml, C 组 1.497 ± 0.702 U/ml, A、C 组间与 A、B 组间差异均有统计学意义($P < 0.05$), B 与 C 组间差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明 A 组 CAT 水平显著低于 C 组, 且 A 组显著低于 B 组; GSH-Px: A 组 3139.474 ± 435.677 U/ml, B 组 3160.150 ± 335.989 U/ml, C 组 3189.473 ± 338.204 U/ml, GSH-Px 检测各组间差异均无统计学意义($P > 0.05$), 表明 A 和 B 组 GSH-Px 水平低于 C 组, 且 A 组低于 B 组。结论 X 线辐射对血清 SOD 和 CAT 指标具有显著性影响, 可显著降低血清 SOD 及 CAT 水平, 抗氧化酶 SOD 及 CAT 活性与照射剂量呈负相关; X 线辐射可降低血清 GSH-Px 水平, 但对 GSH-Px 指标无显著性影响。

关键词: X 射线; 辐射; 大鼠; 脂质过氧化; 抗氧化酶; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 谷胱甘肽过氧化物酶
中图分类号: R-332 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2015)06-094-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.06.028

Experimental Study on Influence on the Antioxidant Enzymes of Serum in Rates Irradiated by X-Rays

LI Da-peng^a, LÜ Chun-lei^b, WANG Feng-jiao^a, ZHAI Zhen-zhen^a, ZHENG Wen-zhe^b

(a. Department of Central Laboratory;

b. Department of Medical, the 88th Hospital of PLA, Shandong Taian 271000, China)

Abstract: **Objective** To explore influence on the antioxidant enzymes of serum in rates irradiated by X-ray. **Methods** Chose 19 rats without specific pathogen free and they were randomly divided into experimental group (A), experimental group (B) and the control group (C). A, B two group rats were daily with whole body one-time X-ray irradiation, A, B group to X-ray irradiation for 6 d consecutive time and 1 time/d, A group radiation dose were 3Gy, B group radiation dose were 2Gy, C group hadn't radiation. Then got blood specimens of 3 group rats and superoxide dismutase (SOD), hydrogen peroxide enzyme (CAT) and glutathione oxidation reductase (GSH-Px) wrer detected. The data had statistics analyse. **Results** SOD: A group 185.486 ± 27.606 U/ml, B group 255.087 ± 43.519 U/ml, C group 299.171 ± 26.890 U/ml, the difference between A and C group was statistically significant ($P < 0.05$), the difference between A and B group was statistically significant ($P < 0.05$), no difference between B and C groups was statistically significant ($P > 0.05$), while the level of SOD for A group was significantly below than C group, and A group was significantly below than B group. CAT: A group 0.438 ± 0.400 U/ml, B group 1.173 ± 0.457 U/ml, C group 1.497 ± 0.702 U/ml, the difference between A and C group was statistically significant ($P < 0.05$), the difference between A and B group was statistically significant ($P < 0.05$), no difference between B and C groups was statistically significant ($P > 0.05$), while the level of CAT for A group was significantly below than C group, and A group was significantly below than B group. GSH-Px: A group 3139.474 ± 435.677 U/ml, B group 3160.150 ± 335.989 U/ml, C group 3189.473 ± 338.204 U/ml, there was no statistically significant difference between the groups in GSH-Px detection ($P > 0.05$), while the level of GSH-Px for A and B group were below than C group, and A group was below than B group. **Conclusion** X-ray radiation had significant influence on the SOD and CAT of serum, and could significantly reduce the level of serum SOD and CAT. The antioxidant enzyme active of SOD and CAT was anticorrelation with irradiation dose. X-ray radiation can reduce the level of serum GSH-Px, there was no significant influence on the GSH-Px.

Keywords: X-ray; radiation; rat; lipid peroxidation; antioxidant enzyme; superoxide dismutase; hydrogen peroxide enzyme; glutathione oxidation reductase

* 作者简介: 李大鹏(1964—), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 医学实验, Tel: 13583848186, E-mail: lidapeng1964@126.com。

通讯作者: 吕春雷, 男, 主任医师, Tel: 15505486678, E-mail: 15653808901@163.com。

随着现代工业化社会的快速发展,与X射线接触机会增多致遭受辐射损伤的可能性增加,现阶段X射线辐射损伤防护及放射病治疗已成为防护及临床医学重要研究课题^[1,2]。为探讨X射线辐射对机体抗氧化酶活性的影响,笔者通过不同剂量X射线辐射大鼠方式,监测大鼠血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(hydrogen peroxide enzyme, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione oxidation reductase, GSH-Px)指标变化,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择健康雄性Wistar大鼠($n=19$),SPF级,体重质量(0.2 ± 0.005)kg,购于山东省鲁抗医药股份有限公司[实验动物生产许可证:SCXK(鲁)2013-0001]。

购买实验动物在屏障环境[SYXK(军)2012-0045]中恒温、恒湿条件下适应性饲养6天,自由进食及饮水,山东省鲁抗医药股份有限公司提供标准颗粒动物饲料。

1.2 仪器与试剂 选择Brecise Treatment System医用直线加速器(瑞典医科达公司)进行大鼠全身X线照射,照射野(20×20)cm,照射野距离100 cm。

测定T-SOD, CAT和GSH-Px活性,主要仪器包括722型光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂, T-SOD检测波长550 nm, 1 cm光径比色杯; CAT测定为波长405 nm, 0.5 cm光径比色杯; GSH-Px测定波长412 nm, 1 cm光径比色杯)、5415R台式冷冻小型离心机、5810R台式冷冻高速离心机(德国Eppendorf公司)等。T-SOD, CAT, GSH-Px活性测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组:19只大鼠适应性饲养6天后进行实验,随机分为试验组A、试验组B、对照组C共3组,其中试验组A为6只、试验组B为7只、对照组C为6只,均称重并记录。

1.3.2 辐射方法:实验中,试验组A、B 2组大鼠均每日进行X线照射,全身一次性照射,1次/天,均连续6天,其中试验组A照射剂量为3Gy,试验组B照射剂量为2Gy,两组剂量率均为1.5Gy/min。对照组C不进行X线照射。实验过程中,各组大鼠均自由饮水及相同标准饲料喂养。

1.3.3 标本采集:试验组A、B两组大鼠末次照射后,均禁食24 h(自由饮水)进行血液标本采集,对照组C直接禁食24 h后采集血液标本。采集操作作用10 ml/dl水合氯醛进行麻醉,按0.3 ml/100 g

大鼠体重的剂量,腹腔注射方式。麻醉稳定后,将大鼠仰卧固定在解剖台上,消毒后仔细进行心脏采血,留取血标本2 ml以上,迅速按常规方法分离血清, -80°C 保存待检。

1.3.4 指标测定:T-SOD测定采用羟胺法,严格按试剂盒操作说明书要求进行标准品处理和实验操作,550 nm波长测各孔吸光度A,检测范围为 262.79 ± 23.24 U/ml。CAT活性测定采用可见光法,严格按试剂盒操作说明书要求进行标准品处理和实验操作,405 nm波长测各孔吸光度A,检测范围为0.2~24.8 U/ml。GSH-Px活性测定采用DTND显色法,严格按试剂盒操作说明书要求进行标准品处理和实验操作,412 nm波长测各孔吸光度A,检测范围为500~4 000 U/ml。

1.4 统计学分析 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示,使用SPSS13.0统计学软件进行处理。采用两样本均数差别t检验进行组间数据分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果 ①:A~C各组T-SOD, CAT, GSH-Px指标检测结果见表1。

表1 各组T-SOD, CAT, GSH-Px检测值及组间比较结果($\bar{x} \pm s$, U/ml)

检测指标	组别	检测结果	比较组别	t	P
T-SOD活性	A组	185.486 ± 27.606	A-C	-7.226	<0.001
	B组	255.087 ± 43.519	B-C	-2.147	0.055
	C组	299.171 ± 26.890	A-B	-3.368	0.006
CAT活性	A组	0.438 ± 0.400	A-C	-3.828	0.003
	B组	1.173 ± 0.457	B-C	-1.001	0.338
	C组	1.497 ± 0.702	A-B	-3.767	0.003
GSH-Px活性	A组	3139.474 ± 435.677	A-C	-0.222	0.829
	B组	3160.150 ± 335.989	B-C	-0.156	0.879
	C组	3189.473 ± 338.204	A-B	-0.097	0.925

T-SOD检测, A组低于C组、B组低于C组、A组低于B组;CAT检测, A组低于C组、B组低于C组、A组低于B组;GSH-Px检测, A组低于C组、B组低于C组、A组低于B组。②A~C各组T-SOD, CAT, GSH-Px指标组间比较结果见表1。T-SOD组间比较:A组与C组间和A组与B组间差异均有统计学意义($P < 0.05$), B组与C组间差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明A组血清T-SOD活性显著低于C组, 也显著低于B组, T-SOD与照射剂量呈负相关关系。CAT组间比较:A组与C组间和A组与B组间差异均有统计学意义($P > 0.05$), B组与C组间差异无统计学意义($P > 0.05$), 表明A组血清CAT活性显著低于C组, 也显著低于B组, CAT与照射剂量呈负相关关系。GSH-Px组间比较:A~C各组间差异均无统计学意义($P > 0.05$), 表明A与B及C组间血清GSH-

Px 活性均无显著性差异。

3 讨论 有氧条件下,大剂量 X 射线辐射可致细胞内水辐解并产生多种活性氧自由基,形成脂质过氧化及造成生物大分子和生物膜损伤,导致细胞功能丧失及死亡。

氧化应激是由于各种因素刺激使机体组织或细胞内氧自由基生成增多和(或)清除能力降低,导致氧自由基在体内或细胞内蓄积,出现脂质过氧化及造成细胞或组织氧化损伤。机体防御自由基攻击的抗氧化酶系统主要有 SOD, CAT 和 GSH-Px 等,与非酶性抗氧化物协同发挥保护作用。SOD 是一种氧自由基清除剂,对机体氧化及抗氧化平衡具有重要作用,可间接反映氧自由基在体内生成和清除情况,以及对组织损伤程度和体内抗氧化防御作用的功能情况,其活性强弱是衡量机体清除自由基及抗氧化能力的重要指标。CAT 是抗氧化酶系统中主要成分,可有效清除自由基,减轻及阻断脂质过氧化反应,还原体内不断生成的过氧化氢等,产生保护细胞膜结构和功能完整的作用,可间接反应抗氧化酶的活性及机体清除自由基的能力。GSH-Px 作为清除自由基的抗氧化制剂,是抗氧化系统中重要的抗氧化物酶,可还原体内不断生成的脂质过氧化物和过氧化氢,减少活性氧自由基及脂质过氧化物产生,清除自由基和衍生物,增强机体抗氧化能力,防止脂质过氧化物对机体组织造成损害,产生保护细胞膜结构和功能完整的作用^[3~9]。

本文实验数据表明:X 线辐射对 SOD 指标具有显著性影响,SOD 活性与照射剂量呈负相关关系,接受辐射的 A 和 B 组血清 SOD 活性均低于对照组,且接受 3Gy 照射剂量的 A 组 SOD 活性显著低于接受 2Gy 照射剂量的 B 组,也显著低于未进行 X 线辐射的 C 组,显示过量自由基水平致抗氧化酶 SOD 消耗增加,使血清 SOD 活性显著下降,降低了机体清除自由基及抗氧化能力,导致脂质过氧化反应上调,促进脂质过氧化并导致生物膜损伤。X 线辐射对 CAT 指标具有显著性影响,CAT 活性与照射剂量呈负相关关系,接受辐射的 A 和 B 组血清 CAT 活性均低于对照组,且 3Gy 照射剂量的 A 组 CAT 活性显著低于接受 2Gy 照射剂量的 B 组,也显著低于未进行 X 线照射的 C 组,显示 X 线辐射引起氧化应激显著降低了抗氧化酶 CAT 活性及抗氧化能力,促进脂质过氧化并导致生物膜损伤。GSH-Px 指标检测,接受辐射的 A 和 B 组血清 GSH-Px 活性均低于 C 组,且接受 3Gy 照射剂量的 A 组 GSH-Px 活性低于 2Gy 照射剂量的 B 组,而 A 与 B 及 C 组间 GSH-Px 活性均无显著性差异,表明 X 线辐射可降低 GSH-Px 活性及抗氧

化能力。

X 射线辐射对人体损伤的防护是国内外研究热点^[1]。本文通过不同剂量 X 线辐射大鼠方式,监测大鼠血清中 SOD, CAT 和 GSH-Px 指标变化,评价不同剂量 X 线辐射对抗氧化酶活性的影响,显示 X 线辐射可显著降低 SOD, CAT 活性,以及降低血清 GSH-Px 活性,SOD, CAT 活性与照射剂量呈负相关关系,为如何清除自由基、提高抗氧化能力、加强辐射防护等研究提供了数据支持。

今后仍有待于进一步增加实验研究数量,开展相关生理病理机制研究,并在辐射防护及临床医疗工作中不断加以推广^[10]。

参考文献:

- [1] 曲保忠,杨帆,孙鹏飞,等.林蛙油复方冲剂对 X 射线照射大鼠血白细胞及血清羟自由基的影响[J].中国职业医学,2010,37(1):74-75.
Qu BZ, Yang F, Sun PF, et al. Effects of rana japonical oil compound granules on white blood cells and serum hydroxyl radical in rats subjected to pre-and post-irradiation [J]. China Occupational Medicine, 2010, 37(1):74-75.
- [2] 韩琴芳,柳晓兰,赵振虎,等.重组人粒细胞集落刺激因子对 8Gy γ 射线照射大鼠凝血系统的影响[J].军事医学科学院院刊,2010,34(2):115-118.
Han QF, Liu XL, Zhao ZH, et al. Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) on the coagulation system of 8Gy gamma-irradiated wistar rats [J]. Bull Acad Mil Med Sci, 2010, 34(2):115-118.
- [3] 徐其岭,闫莉.富氢生理盐水对大鼠重度颅脑损伤后氧化应激保护作用的研究[J].重庆医学,2014,43(8):943-945,948.
Xu QL, Yan L. Protective effects of hydrogen-rich saline on systemic oxidative stress in rats with severe traumatic brain injury [J]. Chongqing Medical, 2014, 43(8):943-945,948.
- [4] 秦小惠,古再丽努尔·艾麦提,邵伟,等.移植 BM-SCs 对乳腺炎大鼠血清中自由基和抗氧化酶水平变化影响的研究[J].现代生物医学进展,2013,13(30):5817-5820,5884.
Qin XH, Guzailinuer · Aimaiti, Shao W, et al. The study on free radicals and antioxidant enzyme levels in the serum of mastitis model rats after injecting bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(30):5817-5820, 5884.
- [5] 金晨,郑昌吉,郑明昱.山核桃油对四氯化碳诱导的大鼠急性肝损伤的影响[J].延边大学医学学报,2013,36(3):177-180.
Jin S, Zheng CJ, Zheng MY. Effects of wild walnut oil on carbon tetrachloride-included acute liver injury in rats [J]. Journal of Medical Science Yanbian University, 2013, 36(3):177-180.
- [6] 周峰.烟酰胺对甲基苯丙胺注射后小鼠脑组织中脂质过氧化的影响[J].江苏医药,2014,40(1):13-15.
Zhou F. Effect of nicotinamide on lipid peroxidation in brain tissue after intraperitoneal injection of methylamphetamine in rat [J]. Jiangsu Medicine Journal, 2014, 40(1):13-15.

- [7] 温 啸,贺大方,倪雪勤,等. 干酪乳杆菌与银杏叶提取物对肥胖小鼠血脂及抗氧化功能的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2014,42(1):8-12,17.

Wen X, He DF, Ni XQ, et al. Effect of lactobacillus casei and ginkgo biloba extract on blood lipids and antioxidant of obese mice[J]. Journal of Northwest Sci-Tech Univ of Agr and For(Natural Science Edition),2014,42(1):8-12,17.

- [8] 张歆薇,刘海强,徐胜龙,等. 次声作用对大鼠血浆SOD,MDA,NO水平的影响[J]. 现代生物医学进展,2012,12(18):3416-3419.

Zhang XW, Liu HQ, Xu SL, et al. Effects of infrasound on the levels of SOD, MDA and NO in rat plasma[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(18):3416-3419.

- [9] 杨明聪,范小平,王 春. 低频超声对大鼠颊囊黏膜溃

疡组织 SOD,MDA 含量的影响[J]. 重庆医学,2012,41(26):2711-2713.

Yang MC, Fan XP, Wang C. Effects of low-frequency ultrasound irradiation on SOD and MDA levels in cheek pouch mucosa ulcer tissue of rats [J]. Chongqing Medical Journal, 2012, 41(26):2711-2713.

- [10] 代全德,司金春,徐忠海,等. 急性脑出血患者血清炎症因子和氧化应激产物的动态监测及其临床意义[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2014,8(3):398-402.

Dai QD, Si JC, Xu ZH, et al. The change of inflammatory cytokines and products of oxidative stress in the patients with acute cerebral hemorrhage and its clinical significance [J]. Chinese Journal Clinicians (Electronic Version), 2014, 8(3):398-402.

收稿日期:2015-07-23

修回日期:2015-09-21