



CN9702796

CNIC-01211

SMC-0139

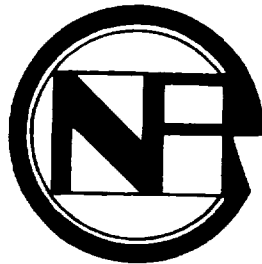
# 中国核科技报告

## CHINA NUCLEAR SCIENCE AND TECHNOLOGY REPORT

放射损伤时血浆与红细胞膜 8-表氧-前列腺素  $F_{2\alpha}$  的改变

ALTERATION OF 8-EPI-PROSTAGLANDIN  
 $F_{2\alpha}$  IN PLASMA AND RBC MEMBRANE  
DURING IRRADIATION INJURY

*(In Chinese)*



中国核情报中心  
原子能出版社

29-01-

China Nuclear Information Centre  
Atomic Energy Press

R



王兆钺：苏州医学院副教授，1965年毕业于南京医学院医疗系，1981年获医学硕士学位。

Wang Zhaoyue; Associate Professor of Suzhou Medical College. Graduated from Medicine Department of Nanjing Medical College in 1965 and got a master degree in medicine in 1981.

CNIC-01211

SMC-0139

# 放射损伤时血浆与红细胞膜 8-表氧-前列腺素 $F_{2\alpha}$ 的改变

王兆铨 王山喜 江家贵 阮长耿

(苏州医学院, 苏州)

## 摘 要

8-表氧-前列腺素 (PG)  $F_{2\alpha}$  是氧自由基催化的脂质过氧化的一个产物, 不依赖于环氧化酶。犬经  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线照射 (总剂量 3 Gy) 期间及照射后血浆与红细胞膜 8-表氧-PGF $_{2\alpha}$  含量明显增加, 超氧化物歧化酶可抑制这个反应。血浆与红细胞膜丙二醛含量无显著改变。结果提示 8-表氧-PGF $_{2\alpha}$  可作为观察放射损伤时过氧化反应的一个新的敏感的指标。

# **Alteration of 8-epi-prostaglandin F<sub>2α</sub> in Plasma and RBC Membrane during Irradiation Injury**

*(In Chinese)*

WANG Zhaoyue   WANG Shanxi   JIANG Jiagui   RUAN Changgeng  
(Suzhou Medical College, Suzhou)

## **ABSTRACT**

8-epi-prostaglandin F<sub>2α</sub> (8-epi-PGF<sub>2α</sub>) is formed by oxygen free radical-catalyzed lipid peroxidation and is independent of cyclooxygenase. The dogs were irradiated with <sup>60</sup>Co-γ rays at a total dose of 3 Gy. During and after irradiation, the 8-epi-PGF<sub>2α</sub> concentrations of their plasma and RBC membrane were significantly increased and this reaction could be inhibited by superoxide dismutase. On the other hand, melondialdehyde level in either plasma or RBC membrane was not changed. These results suggest that 8-epi-PGF<sub>2α</sub> might serve as a new and sensitive marker of peroxidative reaction induced by radiation injury.

# 引言

在很多疾病与病理过程中都有大量的自由基产生，引起脂质的过氧化反应。目前研究脂质过氧化最常用的方法是丙二醛（MDA）测定法。但其他途径，特别是血小板，也能产生丙二醛，并且测定方法受多种因素的影响，特异性与敏感性均较低<sup>[1]</sup>。90年代人们发现，异构前列腺素（PG）在结构与来源上均不同于一般的PG，它是氧自由基催化的脂过氧化产物，不依赖于环氧化酶。在体外与体内的脂质过氧化实验中都证明有大量的异构PGF<sub>2α</sub>生成<sup>[2,3]</sup>。因此异构PGF<sub>2α</sub>可能成为脂质过氧化反应的一个新的、特异的实验指标。异构PGF<sub>2α</sub>的一个主要成分是8-表氧-PGF<sub>2α</sub>。最近我们建立了8-表氧-PGF<sub>2α</sub>酶免疫测定法<sup>[4]</sup>。由于电离辐射导致自由基的大量生成，后者是细胞损伤的主要机理之一，因此，我们观察了犬放射损伤时血浆与红细胞膜8-表氧-PGF<sub>2α</sub>含量的改变，并与MDA及环氧化酶依赖性的11-去氢-血栓烷B<sub>2</sub>（11-DH-TXB<sub>2</sub>）对比，探讨8-表氧-PGF<sub>2α</sub>在观察放射损伤时脂质过氧化反应中的价值以及超氧化物歧化酶（SOD）的防护作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

成年杂种犬18只，雌雄不拘，重5.4~6.8 kg。随机分为低剂量SOD组、高剂量SOD组与对照组。每日给予<sup>60</sup>Co γ线照射0.6 Gy，连续5 d，总照射剂量3 Gy。每次照射后给3组犬分别肌注75 IU/kg超氧化物歧化酶（SOD，由苏州医学院放射医学研究所提供）、150 IU/kg SOD与注射用水。在第7天（d<sub>7</sub>）与第9天（d<sub>9</sub>），对照组与低剂量SOD组分别有1只犬死亡。

### 1.2 实验方法

（1）血浆与红细胞膜制备：照射前（d<sub>0</sub>）、照射期（d<sub>2</sub>，d<sub>5</sub>）与照射后（d<sub>7</sub>，d<sub>9</sub>）从犬股静脉取血2 ml，以3.8%枸橼酸三钠抗凝（含消炎痛10 mmol/L与0.02%丁羟基甲苯），离心200 g，10 min，吸出富血小板血浆（PRP），将PRP与余血分别离心800 g，10 min，吸出贫血小板血浆供测定用。红细胞膜的制备按Wittman等的方法<sup>[5]</sup>。将沉淀的红细胞用生理盐水洗涤2次后低渗溶解，在4℃条件下离心15 000 g，20 min。将沉淀的红细胞膜洗涤6次至无色，再悬浮于生理盐水中。用改良Lowry's氏法测定膜蛋白浓度。

（2）8-表氧-PGF<sub>2α</sub>测定：用酶免疫测定法，药盒由我室研制。以提纯的羊抗兔IgG包板，牛血清白蛋白封闭，加入8-表氧-PGF<sub>2α</sub>标准品或待测标本、乙酰胆碱脂酶标记物及兔抗血清，4℃反应16 h，洗涤后加入Ellman's试剂显色，在酶免疫测定仪（华东电子管厂）上测定波长410 nm的吸光度，计算出标本8-表氧-PGF<sub>2α</sub>的含量。

（3）丙二醛测定：用改良的微量硫代巴比妥酸法，药盒由暨南大学病理生理教研室提供，按说明书操作。

（4）11-DH-TXB<sub>2</sub>测定：用酶免疫测定法<sup>[6]</sup>，11-DH-TXB<sub>2</sub>乙酰胆碱脂酶标记物与兔抗血清由法国医学科学院Maclouf博士惠赠。

### 1.3 统计学处理

结果中的数据以均数及标准差表示，用配对t检验统计。

## 2 结果

(1) 犬受到 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线照射期间, 血浆 8-表氧-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 水平逐渐升高, 比照射前水平增高 1.5 倍, 照射结束后有所下降, 但仍高于照射前水平 ( $P$  值均小于 0.01)。SOD 能抑制血浆 8-表氧-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 的升高, 除在第五天 ( $d_5$ ) 血浆 8-表氧-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 达最高水平时低剂量 SOD 未表现明显抑制效应外, 在其余时间两种剂量 SOD 的作用基本相同 (见图 1)。三组犬的血浆 MDA 水平在照射期间与照射后均无明显改变 (见表 1), 血浆 11-DH-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 浓度也无变化 (见表 2)。

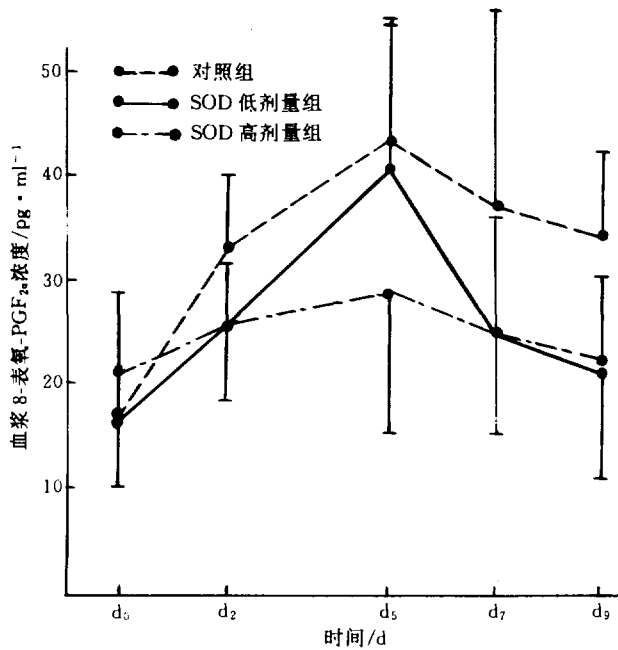


图 1  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 线照射期间与照射后血浆 8-表氧-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 的变化

表 1  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 线照射对犬血浆 MDA 水平的影响 ( $\bar{X} \pm s$ )

组别	MDA/nmol · ml <sup>-1</sup>				
	d <sub>0</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>5</sub>	d <sub>7</sub>	d <sub>9</sub>
低剂量组	4.72 ± 2.68	5.12 ± 0.96	4.05 ± 1.32	5.85 ± 1.54	5.11 ± 2.45
高剂量组	4.47 ± 1.78	5.21 ± 1.5	4.94 ± 2.42	5.52 ± 2.1	4.53 ± 1.97
对照组	4.55 ± 1.53	5.5 ± 1.19	5.57 ± 2.11	5.76 ± 2.08	4.1 ± 1.68

表 2  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线照射对犬血浆 11-DH-TXB<sub>2</sub> 水平的影响 ( $\bar{X} \pm s$ )

组别	11-DH-TXB <sub>2</sub> /pg · ml <sup>-1</sup>				
	d <sub>0</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>5</sub>	d <sub>7</sub>	d <sub>9</sub>
低剂量组	18.25 ± 3.74	22.4 ± 4.33	22.5 ± 4.67	19.42 ± 13.32	17.64 ± 3.42
高剂量组	20.83 ± 5.64	22.08 ± 5.59	23.33 ± 8.06	25.33 ± 5.39	22.08 ± 5.85
对照组	18.05 ± 4.93	22 ± 4.58	23.75 ± 11.75	18.9 ± 7.23	21.52 ± 5.84

(2) 与血浆 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的变化一样, 红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 含量在照射期间增加, 但增加的幅度更大。在照射第五天时红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 浓度 [(20.85 ± 8.21) pg/mg (蛋白)] 比照射前 [(6.12 ± 1.3) pg/mg (蛋白)] 增加 2.4 倍。在照射后第七天达到最高值, 然后开始下降。SOD 对红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的增加也有抑制作用, 在照射后第七天红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 含量达最大值时, SOD 低剂量组仅表现轻度抑制。在其余时间两种剂量 SOD 的作用强度大致相同 (见图 2)。在照射期间与照射后犬红细胞膜 MDA 含量有增加的倾向, 但无统计学意义 (见表 3)。

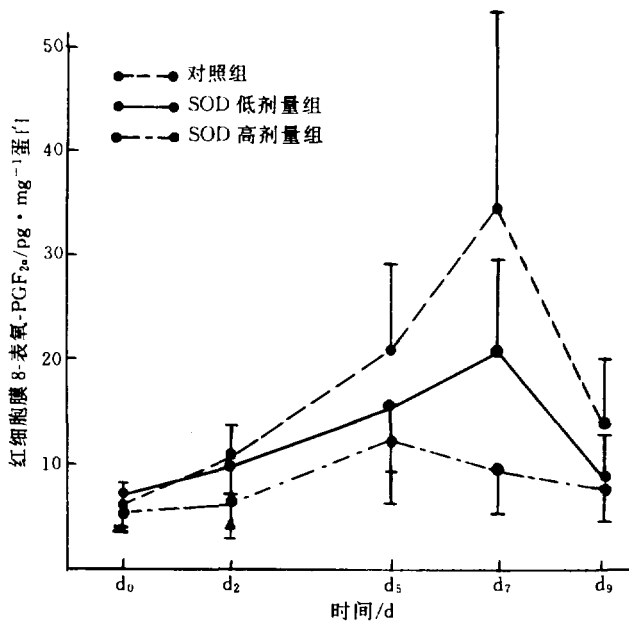


图 2  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线照射期间与照射后红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的变化

表3  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 线照射对犬红细胞膜 MDA 含量的影响

组别	MDA/nmol · ml <sup>-1</sup> 蛋白				
	d <sub>0</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>3</sub>	d <sub>7</sub>	d <sub>9</sub>
低剂量组	1.92±0.74	2.23±0.58	2.47±1.24	2.53±1.25	2.61±1.24
高剂量组	1.91±0.52	2.16±0.77	1.99±0.81	2.41±0.98	1.85±0.79
对照组	1.74±0.4	2.03±0.73	2.17±0.7	2.47±1.24	1.79±0.49

### 3 讨论

异构 PGF<sub>2α</sub> 是氧自由基催化的脂质过氧化的一个产物, 与环氧化酶的作用无关<sup>[2,3]</sup>。Lynch 等<sup>[7]</sup>证实, 血浆经过氧化处理后产生大量的异构 PGF<sub>2α</sub>。8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 是异构 PGF<sub>2α</sub> 的主要成分。电离辐射引起自由基的大量生成, 因此我们观察了犬经<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 线照射后血浆 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 浓度的变化。结果表明, 照射期间血浆 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 逐渐增高, 照射后仍保持较高水平。两种剂量的 SOD 都能抑制这个反应。SOD 的作用机理是阻止超氧阴离子 (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 转变成羟自由基 (OH<sup>·</sup>) 的过程, 减轻氧自由基的损伤作用及脂质过氧化反应。这也说明 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 是自由基催化的脂质过氧化的产物。我们没有发现血浆 MDA 浓度的变化。MDA 是脂质过氧化后代谢的终末产物之一, 其测定受多种因素的干扰<sup>[1]</sup>。我们的结果显示, MDA 作为脂质过氧化指标的敏感性要比 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 低得多。本研究中, 血浆 11-DH-TXB<sub>2</sub> 浓度不受照射和/或 SOD 治疗的影响, 这和 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的变化特点完全不同, 其原因是两者在体内的生成途径各异。11-DH-TXB<sub>2</sub> 来源于 TXA<sub>2</sub>, 后者依赖于环氧化酶; 而 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 来源于过氧化脂质, 它的生成不依赖于环氧化酶。

红细胞膜富含不饱和脂肪酸, 比其他细胞或组织容易发生过氧化反应<sup>[8]</sup>, 但至今尚未见有关红细胞膜异构 PGF<sub>2α</sub> 的报道。我们试测了犬红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的含量, 平均浓度为 5.3~6.4 pg/mg 蛋白 (见图 2)。照射期间红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 增加的幅度比血浆大, 并且在照射后 2 天继续增加。这提示红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 能比血浆 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 更敏感地反映出放射损伤时自由基生成与脂质过氧化的病理改变。Yamaoka 等<sup>[9]</sup>发现, 电离辐射引起小鼠各脏器或组织的过氧化反应程度有很大的不同。我们推测, 由于血浆与红细胞膜中的不饱和脂肪酸的成分与含量不同, 它们产生 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的能力有一定的差异。SOD 也可抑制红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 的生成, 但生成过多时要增加 SOD 的剂量。与血浆情况相似, 红细胞膜 MDA 含量在照射期间与照射后也无明显改变或仅有增加的倾向。Ayene 等<sup>[10]</sup>曾报道, 大剂量 (400 Gy) 照射能引起红细胞脂质的过氧化反应, 但这比我们所用的照射剂量要大 100 倍以上。本研究结果表明, 8-表氧-PGF<sub>2α</sub>, 特别是红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub>, 可作为放射损伤时脂质过氧化反应的一个新的敏感的观察指标。我们设想, 血浆和/或红细胞膜 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 将来可用于长期接触辐射人员的体检, 以早期发现他们可能受到的放射损伤。除放射损伤外, 多种疾病与病理过程都可引起自由基增加与脂质过氧化反应, 8-表氧-PGF<sub>2α</sub> 也可能为这些疾病的研究提供一个新的实验手段。



## 参 考 文 献

- 1 Ledwozyw A, Michalak J, Stepien A, et al. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipid and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *clinica Chemica Acta*, 1986, 155: 275
- 2 Morrow J D, Hill K E, Burk R F, et al. A series of prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 9383
- 3 Morrow J D, Roberts L J. Quantification of noncyclooxygenase derived prostanoids as a marker of oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 1991, 10: 195
- 4 Wang Z, Creminon C, Lawson J, et al. Assessment of 8-epi-prostaglandin F<sub>2α</sub> in human urine by enzymeimmunoassay. 9th International conference on prostaglandins and related compounds. Florened, 1994, 127
- 5 Wittmann I, Past T, Tapsony Z, et al. In vitro method for measurement of free radicals effects: effect of PMS on red blood cell membrane. *Acta Physiol Hung*, 1989, 73: 342
- 6 Lellouche F, Fradin A, Fitzgerald G, et al. Enzyme immunoassay measurement of the urinary metabolites of thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin. *Prostaglandins*, 1990, 40: 297
- 7 Lynch S M, Morrow J D, Roberts L J, et al. Formation of noncyclooxygenase-derived prostanoids (F<sub>2</sub>-prostanes) are formed in plasma and low density lipoproteins exposed to oxidative stress in vitro. *J Clin Invest*, 1994, 93: 998
- 8 曹锡清. 脂质过氧化对红细胞和机体的作用. *生物化学和生物物理学进展*, 1986, 13 (2): 17
- 9 Yamaoka K, Hattori S, Edamatsu R, et al. Increased SOD activities and decreased lipid peroxide levels induced by low dose X irradiation in rat organ. *Free Radical Biol Med*, 1991, 11: 299
- 10 Ayene S I, Serivastava P N. Effect of WR-2721 on radiation induced lipid peroxidation and enzyme release in erythrocytes and microsomes. *Int J Radiat Biol*, 1989, 56: 265

### 图书在版编目 (CIP) 数据

中国核科技报告 CNIC-01211 SMC-0139: 放射损伤时  
血浆与红细胞膜 8-表氧-前列腺素  $F_{2a}$  的改变/王兆钺等著.  
—北京: 原子能出版社, 1997. 10  
ISBN 7-5022-1751-7

I. 中… II. 王… III. 核技术-研究报告-中国 N. TL-

2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (96) 第 21013 号

#### 放射损伤时血浆与红细胞膜 8-表氧-前列腺素 $F_{2a}$ 的改变

王兆钺等著

©原子能出版社, 1997

原子能出版社出版发行

责任编辑: 郭向阳

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

核科学技术情报研究所印刷

开本 787×1092 1/16·印张 1/2·字数 10 千字

1997 年 10 月北京第一版·1997 年 10 月北京第一次印刷

定价: 5.00 元

# CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN 7-5022-1751-7



9 787502 217518 >