

UV照射下药物对红细胞和脂过氧化的影响*

陈舜华 赵小奎

(中山大学生物学系)

林永成 龙康侯

(中山大学化学系)

摘要 5,3',5'-三羟基-7-甲氧基二氢黄酮(TDF)及谷氨酸钠均能抑制UV引起的黄鳍离体红细胞血红蛋白的释出,UV照射引起黄鳍肝脏匀浆脂质过氧化物的增高,并随着照射时间的延长而有所上升,TDF一定的浓度能抑制UV照射所引起的黄鳍肝脏匀浆脂质过氧化物的增高,谷氨酸钠在本实验中对脂过氧化未显示其抑制作用。

关键词 紫外线照射,艾纳香提取物(TDF),谷氨酸钠,红细胞,脂质过氧化物

许多学者重视辐射损伤的生物学效应^[1~4]。如应用⁶⁰Co- γ 射线进行辐射损伤以及各种防护药物的机理研究已有许多报导^[5,6],但UV辐射引起的生物学效应,尤其是脂质过氧化物的变化则较少报导,我们在过去工作的基础上^[7,11],应用UV引起的辐射损伤效应,用5,3',5'-三羟基-7-甲氧基二氢黄酮(艾纳香提取物,以下称TDF)^[8]作为抗辐射药物与谷氨酸钠作对比,并以血红蛋白释出和脂质过氧化为检测指标进行研究。

1 材料与方 法

1.1 动物材料

黄鳍购自农贸市场,平均体重25g左右,体长约25cm。

1.2 试剂

TDF: 5,3',5'-三羟基-7-甲氧基二氢黄酮,先用DMSO溶解,并用生理盐水稀释至400mg/ml备用。谷氨酸钠(Sodium Glutamate),硫代巴比妥酸钠(TBA)0.81%,十二烷基硫酸钠(SDS) 8.1%, NaCl: 0.7%及0.9%, 乙酸盐缓冲液(NaAc)(0.2 mol/L, pH3.5), KCl: 1.15%。

1.3 仪器设备

紫外线灯: 波长2537 Å, 72型分光光度计等。

1.4 实验方法

红细胞悬浮液的制备及血红蛋白的测定参照文献^[7]脂质过氧化反应及O.D测定:

本文1991年9月25日收到

* 周卫东和邓一军参加部分实验工作

1) 陈舜华等. 紫外线、电子束、⁶⁰Co- γ 射线对动物红细胞膜的损伤与保护作用的研究, 第三届全国辐射与环境生物物理学学术会议论文摘要汇编, 1989

①黄鳍肝脏匀浆液的制备参考文献[9~11]; ②用DMSO溶解TDF(按1.2), 药物加入时间为UV照射前1h, 分别加入TDF和DMSO以及谷氨酸钠。药物的终浓度如表1所示, 加入药物后肝脏匀浆的终浓度为10%(w/v), 空白对照组加入与药物等体积的1.15%KCl, 样品分装于 ϕ 2.8cm的玻璃小培养皿各2ml, 5~6个平行; ③UV照射的方法同[7], 照射时间0、30、45、60、75min、照后进行脂质过氧化的测定; ④脂质过氧化的测定及换算: 参考文献[9~11]以1,1,3,3-四乙氧丙烷(TEP)作为检测丙二醛(MDA)的标准, 取8nmol TEP按同法操作测定光密度并按下式计算100mg肝组织中LPO值^[9,11];

$$\text{LPO(n mol MDA)/100mg 肝组织} = K \times \frac{f}{F} \times \frac{1}{C \times S} \times 10$$

其中: K为标准管TEP含量(nmol), f为肝组织匀浆光密度, F为标准(TEP)光密度, C为肝组织匀浆液浓度, S为匀浆液量(ml)。

2 实验结果与讨论

2.1 TDF及谷氨酸钠对黄鳍离体红细胞受UV照射的影响

陈去恶^[12]等报导谷氨酸钠能防止UV、⁶⁰Co- γ 射线对离体红细胞膜的损伤, 我们也曾报导^[7,11]; 广辐-I号(即谷氨酸钠)能防止UV、电子束、⁶⁰Co- γ 射线对离体红细胞膜的损伤, 降低血红蛋白的释出。为了研究TDF对红细胞膜的防护作用, 我们在过去工作的基础上应用谷氨酸钠作为对比, 研究TDF对UV引起的离体红细胞膜损伤的保护作用, 结果如表1。

表1 药物对UV引起的黄鳍离体红细胞血红蛋白释出的影响

Tab.1 Effect of drugs on the release of hemoglobin erythrocytes of *Monopterus albus* in vitro caused by UV irradiation

组别	UV照射30min (O.D值)	溶血率 (%)	不照射 (O.D值)	溶血率 (%)
空白	0.339 \pm 0.037	17.0	0.184 \pm 0.021	9.2
全溶 加药组	2 \pm 0	100	2 \pm 0	100
TDF(μ g/ml) 20	0.189 \pm 0.017	9.45	0.192 \pm 0.031	9.6
10	0.212 \pm 0.021	10.6	0.199 \pm 0.008	10.0
5	0.244 \pm 0.032	12.2	0.178 \pm 0.02	8.9
DMSO(%) 1	0.377 \pm 0.089	18.9	0.163 \pm 0.019	8.2
0.5	0.509 \pm 0.067	25.5	0.144 \pm 0.003	7.2
0.25	0.462 \pm 0.066	23.1	0.185 \pm 0.013	9.3
谷氨酸钠 (mmol/L) 19.25	0.189 \pm 0.005	8.9	0.183 \pm 0.005	9.2

表1可以看到红细胞受UV照射30min, 血红蛋白释出为全溶血的17%, TDF及谷氨酸钠均能防止UV引起的黄鳍离体红细胞膜的损伤, 抑制血红蛋白的释出量, 当TDF

浓度为20 $\mu\text{g/ml}$ 时，血红蛋白释出量为全溶血的9.45%，为空白对照组的55.59%，表中列出TDF的3种不同浓度的测定结果看来，以20 $\mu\text{g/ml}$ 的含量，能较好地抑制血红蛋白的释出，与谷氨酸钠的作用相接近。

图1说明UV照射引起黄鳝离体肝脏匀浆脂质过氧化变化规律与其他辐射引起的效应相类似，即脂质过氧化作用随照射时间(剂量)的延长而增高，照射组测定的O.D值换算为LPO值与对照组相比较，脂质过氧化物增加分别为7.35%、9.31%、19.61%和21.08%，照射时间越短，脂质过氧化物增加越少。

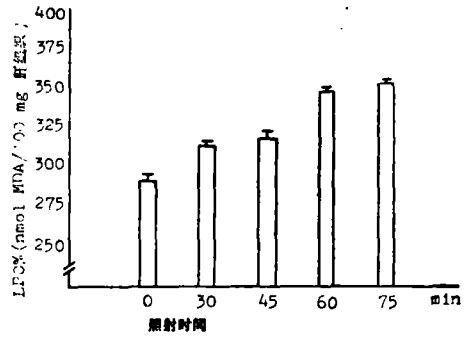


图1 UV照射黄鳝离体肝脏匀浆脂质过氧化的变化

Fig.1 Changes of Lpo of liver homogenate of *Monopterus albus* in vitro caused by UV irradiation

图2显示所加入的药物中TDF的不同浓度(40,20以及10 $\mu\text{g/ml}$)能够抑制UV照射所引起的脂质过氧化物的增加，与不加药物的照射组相比较，抑制率分别为16.4%、15.9%及14.3%，P值均小于0.001，具有显著性差异，作为溶解TDF的DMSO，当溶液浓度为2%时无抑制作用，浓度为1%及0.5%时，抑制率分别为3.17%及2.1%，作用不明显，P<0.01，而谷氨酸钠的3种不同浓度对黄鳝肝组织匀浆液未显示其抑制作用。

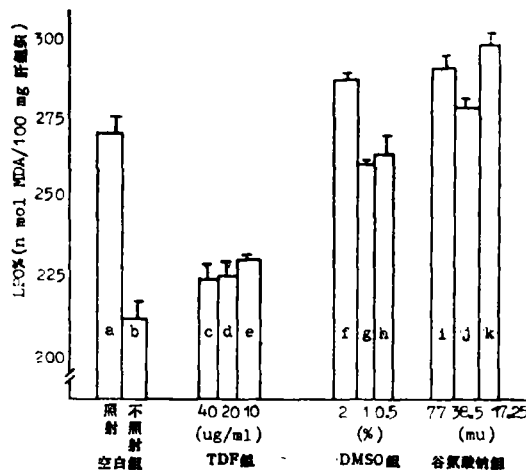


图2 药物对UV引起黄鳝离体肝脏匀浆脂质过氧化的影响

Fig.2 Effect of drugs on the LPO of Liver homogenate of *Monopterus albus* in vitro caused by UV irradiation (图中mu应为mmol)

- a. irradiation
- b. without irradiation
- a,b. control group
- c, d, e. TDF group
- c. 40 $\mu\text{g/ml}$
- d. 20 $\mu\text{g/ml}$
- e. 10 $\mu\text{g/ml}$
- f, g, h. DMSO group
- f. 2%
- g. 1%
- h. 0.5%
- i, j, k. sodium glutamate group
- i. 77mmol
- j. 38.5mmol
- k. 19.25mmol

根据我们的实验,黄鳍肝脏匀浆在室温(25℃)放置5h,或在冰箱4~8℃放置18h,或37℃水浴1.5h,脂质过氧化物的生成量变化不大。

实验初步证明TDF能防止UV所引起的动物离体红细胞血红蛋白的释出,它与谷氨酸钠的作用效果相近似。据程龙生^[13]的实验证明 γ 射线照射红细胞时,在细胞悬液中加入OH \cdot 清除剂PABGA(对氨基苯甲酰基-L-谷氨酰胺)能有效地保护红细胞防止溶血,他们还进一步阐明OH \cdot 引起溶血的机理可能与光致溶血相同,辐射作用于膜引起膜的阳离子通透性增加,导致胶质通透而溶血。据此推测TDF与谷氨酸钠很可能也是一种OH \cdot 的清除剂。单独使用DMSO不能防止UV引起的溶血现象,且有加剧溶血的趋势,但加入DMSO不照射则对溶血无影响。因此说明作为OH \cdot 清除剂应是TDF本身的作用。

实验还证明TDF一定浓度范围能抑制UV辐射引起的动物离体肝组织匀浆脂质过氧化的作用,单独使用溶解它的介质DMSO效果远不及TDF,所以起主要作用的也应是TDF,根据脂质过氧化物产生的原因是一个自由基链式反应的过程,即射线使脂质分子脱氢并与氧反应而形成脂质自由基和脂质过氧化物的反复进行的过程^[14],这也就可以推测艾纳香提取物TDF具有抗氧化作用。它能够抑制自由基对肝脏细胞膜不饱和脂肪酸的氧化之连锁反应,因此若能够清除脂质自由基的产生也就能够抑制脂质过氧化物的生成,实验初步结果表明TDF连同溶解它的介质联用,具有消除由于UV引起的脂质自由基的作用。

正如Nakazawa,T.^[2]等的研究证明:膜的损伤是由于电离辐射和UV辐射通过脂质过氧化并伴随膜渗透性的改变所引起的,因此中药艾纳香提取物TDF在UV辐射中能防止红细胞的溶血以及降低脂质过氧化的作用是由于它能消除辐射对膜的危害因素的作用,我们根据有关理论推测TDF具有消除或抑制自由基的特性。

参 考 文 献

- 1 Kotetes G J. *Environ Biophys*, 1982, 21:1~18
- 2 Nakazawa T *et al.* *J Radiat Res*, 1985, 26:418~425
- 3 Myers D K. *Res*, 1966, 27:250~263
- 4 陆如山等. *中华放射医学和防护杂志*, 1981(1):61~66
- 5 穆新运等. *中华放射医学和防护杂志*, 1990, 10(4):280~282
- 6 黄明欣. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1986, 4(2):1~8
- 7 陈舜华等. *中山大学学报(自然科学版)*, 1989, 28:134~138
- 8 林永成等. *中山大学学报(自然科学版)*, 1988, 27(2):77~80
- 9 周 浔等. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1985, 3:4
- 10 Riéhy C A *et al.* *Ethame Evolution: A New Index of Lipid Peroxidation Science*, 1974, 183:208~210
- 11 陈文为等. *中西医结合杂志*, 1984, 4(11):686~688
- 12 陈去恶等. *实验生物学报*, 1979, 12(3):257~261
- 13 程龙生等. *辐射研究与辐射工艺学报*, 1988, 6(4):
- 14 莫简主编. *医用自由基生物学导论*. 北京:人民卫生出版社, 1989. 1~36, 214~219

Effect of Drugs on the Erythrocytes and LPO under UV Irradiation

Chen Shunhua Zhao Xiaokui Lin Yongcheng Long Konghou*

Abstract It was found that both TDF (Trihydroxy-methoxydihydro-flavone) and sodium glutamate can inhibit the erythrocytes of *Monopterus albus* in vitro release of hemoglobin. caused by UV irradiation the release of hemoglobin from in vitro erythrocytes of *Monopterus albus* irradiated by UV LPO of Liver homogenate of *Monopterus albus* in vitro increases with the irradiation time of UV.

Proper TDF concentration could significantly reduced the increase of LPO caused by UV irradiation. The sodium glutamate showed no inhibition effect on LPO in this experiment.

Keywords UV-irradiation, trihydroxy-methoxydihydro-flavone, sodium glutamate, erythrocyte, lipid peroxidaes

* Department of Biology, Zhongshan University