

· 综述 ·

抗氧化物质在辐射防护中的作用

张春生¹, 彭珊茁²

(1. 沈阳市卫生监督所, 辽宁 沈阳 110014; 2. 沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024)

摘要: 电离辐射对生物体构成损伤, 一是辐射能量传递的直接作用, 二是通过水在辐解反应中产生的自由基所引起的损伤的间接作用, 氧化损伤是辐射对机体损伤的重要机制之一。抗氧化物质可以清除自由基, 理应具有辐射防护作用。

关键词: 辐射防护; 抗氧化酶; 抗氧化物质

中图分类号: X591 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)04-0022-03

Effects of antioxidant substances on radioprotection

ZHANG Chun-sheng¹, PENG Shan-zhuo²

(1. Shenyang Public Health Inspection Institute, Shenyang 110014, China; 2. Shenyang Municipal Ninth People's Hospital, Shenyang 110024, China)

Abstract: Organisms usually can be injured by ionizing radiation, involving two possible mechanisms, one is direct energy transmission by ionizing and the other is indirect effect of free radical produced in radiolysis of water. Oxidant damage is one of important mechanisms causing body injury by radiation. Free radicals can be eliminated by antioxidant substances so they should have effects on radioprotection.

Key words: Radioprotection; Antioxidant enzymes; Antioxidant substances

水的含量约占生物体总重的 80%。因此可以认为, 辐射引起的生物效应很大程度上来自于辐射对水的作用。笼统地讲, 辐射可使水分子分解为 OH[·] 和 H[·] 两种自由基, 这一过程与液相中水分子的自发性电解有着明显区别, 因此称为水的辐射解反应 (radiolysis of water)。电离辐射可通过水的辐解反应产生自由基, 这属于外界因素在生物体内诱导自由基生成的途径。生物体或细胞在有氧代谢的过程中, 也在不断地生成自由基, 可称为内源性自由基。为了自身保护的需要, 生物在进化中形成了一系列清除自由基的物质。由于提到自由基总是联系到氧, 以及自由基损伤主要表现为氧化作用的缘故, 清除自由基的物质被统称为抗氧化物质, 由此构成的体系称为抗氧化系统。目前已知的抗氧化物质主要为抗氧化酶以及其他化合物, 以下择其重点予以介绍抗氧化物质的种类以及与辐射的相互关系。

1 抗氧化酶系的种类^[1]

1.1 过氧化氢酶与过氧化物酶

过氧化氢酶与过氧化物酶都可以催化 H₂O₂ 转变为 H₂O 的反应。两者的不同处在于过氧化氢酶直接将 H₂O₂ 分解为 H₂O 和 O₂; 而过氧化物酶则是先使 H₂O₂ 氧化一个特定的底物, 再以氧化底物作为氢的供体来形成 H₂O。

1.1.1 过氧化氢酶 1937年 Summer 和 Dounce 从牛肝中得到了过氧化氢酶的结晶。抗坏血酸、亚铁氰化物、苯酚、醇、亚

硝酸盐、叠氮化物、羟胺等都可成为底物。过氧化氢酶的生理功能有以下几方面: (1) 在红细胞中清除 H₂O₂, 以防止血红蛋白氧化为高铁血红蛋白; (2) 在微粒体中清除由尿酸酶、黄嘌呤氧化酶、α-羟酸氧化酶等多种酶促反应所产生的 H₂O₂; (3) 清除线粒体中由超氧化物歧化酶催化 O₂ 自由基的歧化反应所产生, 并进入微粒体的 H₂O₂。

1.1.2 谷胱甘肽过氧化物酶 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px), 最初由 Mills 于 1957 年自牛红细胞中发现。GSH-Px 由 4 个相同或极为相似的亚基组成, 来源于人与动物的 GSH-Px, 相对分子质量在 7 600~9 500。GSH-Px 是一种含有硒元素的酶, 酶的含量为 4.2 g/mol, 相当于每个亚基含有一个硒原子。GSH-Px 可使 H₂O₂ 转变为 H₂O, 但更重要的是使生物体内几乎所有的有机氢过氧化物 (R-OOH) 还原为 R-OH。催化反应中还原型谷胱甘肽 (GSH) 作为氢的供体被氧化为氧化型谷胱甘肽 (GSSG)。GSH-Px 的生物学意义主要有两个方面: (1) 清除有机氢过氧化物, 尤其是自由基造成脂质过氧化而大量产生的脂质过氧化物; (2) 在过氧化氢酶含量较低的组织中, 替代过氧化氢酶清除 H₂O₂。

1.2 超氧化物歧化酶

超氧化物歧化酶 (SOD) 是一组金属酶。最初由 McCord 和 Fridovich 于 1969 年自牛红细胞中发现, 后被证实在生物界普遍存在。按所含金属离子的不同, SOD 可分为 3 种类型, 即含有 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 的 CuZn-SOD、含 Mn²⁺ 的 Mn-SOD 和 Fe²⁺ 的 Fe-SOD。3 种 SOD 在生物界的分布及细胞内的定位有所不同, CuZn-SOD 存在于真核细胞的细胞浆, Mn-SOD 存在于真核细胞

收稿日期: 2002-02-18; 修回日期: 2002-10-22

作者简介: 张春生 (1953-), 男, 山东文登人, 副主任技师, 现从事放射卫生监督工作。

的线粒体及原核细胞, Fe-SOD 存在于原核细胞。SOD 在催化 O_2^- 歧化反应中产生 H_2O_2 , 因此 SOD 的抗氧化作用需要过氧化氢酶或过氧化物酶的参与和协同才能体现。但 O_2^- 可经 Haber Weiss 反应生成对机体毒性更强的 OH^- , SOD 清除 O_2^- , 可有效地降低 OH^- 的含量, 就这一意义而言, 有人也将 SOD 称作是“一线抗氧化酶”。

2 抗氧化酶的辐射防护作用

辐射防护一直是放射医学工作者所面临的一个重要课题。电离辐射对生物体构成损伤主要来自两方面的作用, 一是辐射能量传递的直接作用, 二是间接作用, 即通过水在辐解反应中产生的自由基所引起的损伤。对于辐射直接作用的防护, 除了机械的屏蔽手段之外, 别无选择, 因此说到辐射防护研究, 主要是指从缓解或阻断辐射的间接作用上探寻有效的途径。抗氧化酶清除自由基, 理应具有辐射防护作用。目前从细胞、器官与组织, 乃至整体动物水平都观察到抗氧化酶对辐射损伤的防护作用, 以及缓解辐射并发的急性与慢性炎症的显著疗效。在此方面 SOD 的研究工作较多, 而其他抗氧化酶的研究报道并不多见。

2.1 SOD 对脂质过氧化与生物膜损伤的防护作用

有相当长的一段时间 DNA 被认为是细胞中辐射作用的惟一靶分子, 现在看来这一认识并不全面。例如, 从细胞周期中的辐射效应来看, 细胞膜损伤所起的作用更为重要, 而 DNA 的损伤不象是最为敏感的环节。在辐射对生物膜损伤中自由基造成的脂质过氧化是一个起决定作用的步骤。从这一步骤入手, 采用小分子自由基清除剂将会有助于减轻辐射对生物膜的损伤。Pentkau 和 Chelack 曾以 232 nm 光吸收的增加值作为检测脂质过氧化产物的指标, 观察了 SOD 对 X 射线和 γ 射线所致大豆磷脂质体损伤的防护效应。结果表明, 当体系中加入 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的 SOD 时, 可使脂质过氧化大为减轻^[2]。

2.2 SOD 对造血干细胞与骨髓损伤的防护作用

骨髓是哺乳动物体内对辐射最敏感的组织。骨髓损伤导致的造血功能衰竭是辐射致死的主要原因, 因此骨髓的辐射损伤防护对于放射病的救治意义重大。Pentkau 等曾以脾细胞集落形成单位 (CFU-S) 为指标, 观察了静脉注射 SOD ($3 \mu\text{g}/\text{g}$ 体质量) 对 8.0 Gy 致死剂量照射的小鼠骨髓造血干细胞损伤的防护效果, 结果表明, 照射前或照射后给药均可明显提高照射后小鼠的 CFU-S 计数, 但以照射前和照射后都给药的效果最佳。Pentkau 等还观察了 SOD 对全身照射小鼠血象变化的影响, 结果显示, 照射前及照射后 1 h 静脉注射 SOD ($3 \mu\text{g}/\text{g}$ 体质量) 可使照射后小鼠外周血中红细胞与白细胞数的下降程度得到明显减轻^[3]。Van 等给接受全身照射的小鼠提前 20 h 给予 G-Kit 配体、IL-1 和 SOD, 可提高骨髓干细胞对射线的抵抗力, 避免造血系统死亡^[4]。

2.3 SOD 对照射小鼠存活率的影响

Pentkau 等同样用静脉给药的方法观察了 SOD 对照射小鼠存活率的影响, 结果表明分别以 15、35、70 和 $100 \mu\text{g}/\text{g}$ 体质量剂量静脉注射 SOD 均可降低 6.5 Gy 剂量全身照射小鼠 30 d

时的死亡率, 其中以 $35 \mu\text{g}/\text{g}$ 体质量给药量的效果最佳, 如在照射前后均给予 SOD, 受照小鼠的死亡率可进一步降低^[5]。Epperly 应用注射人类 MnSOD 转基因产物, 将基因治疗引入正常组织保护的研究, 也可提高小鼠的存活率^[6]。

2.4 SOD 对辐射损伤并发炎症反应的疗效

对肿瘤病人实施放射治疗, 难免对肿瘤临近部位的正常组织造成损伤。炎症是放射治疗中较为普遍存在的一种并发症。在造成此类无菌性炎症的原因中, 除辐射引起细胞破损 (释放活性物质) 外, 吞噬过程中过度消耗氧而大量产生自由基也是一个重要方面, 因此放疗期间外源性给予 SOD 应可预防或改善辐射引起的炎症反应。Menander-Huber 等曾对 38 例接受放射治疗的膀胱癌病人进行过观察, 如在放疗期间及照射后每日皮下注射 4 mg SOD, 可明显改善在肠道、膀胱及尿路所引起的急性炎症^[7]。

2.5 放射工作人员血中抗氧化酶活性的变化

放射工作人员所接触的辐射是低剂量率、低水平的辐射, 其生物效应是目前各国学者非常感兴趣的课题。国内罗时文等测定了放射人员和对照组的 SOD、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性。发现染色体缺失的放射人员 SOD、CAT 明显低于对照组 ($P < 0.05$); 染色体正常的放射人员 SOD、CAT 明显高于对照组 ($P < 0.01$)。SOD 升高主要在放射工龄 5 年以上、累积剂量 (0.0177 ± 0.0032) Gy 以上的人员中出现^[8]。范雪云等研究了放射人员染色体损伤与血清 SOD 活性和细胞免疫功能的关系, 结果表明射线接触组染色体畸变率、血清 LPO 含量、 CD_8 阳性率明显高于对照组, 说明接触射线人员体内脂质过氧化增加、染色体畸变率明显增加, 细胞免疫功能处于抑制状态; 研究结果还表明工业探伤组血清 LPO 含量明显高于对照组, 医用射线血清 SOD 活性明显高于探伤组; 染色体异常组 LPO 含量明显高于对照组, 染色体正常组血清 SOD 活性明显高于对照组和染色体异常组, 提示 SOD 活性的增高使辐射损伤效应降低^[9]。

3 其他抗氧化物质及其辐射防护作用

3.1 金属硫蛋白与辐射关系

1957 年 Margoshes 和 Vallee 首次从马肾中分离出金属硫蛋白 (MT), MT 的相对分子质量为 $6000 \sim 7000$, 整个分子呈椭圆形, 分子最大直径为 $30 \sim 50 \text{ \AA}$, MT 的多肽链上含有 20 个活性巯基。MT 的独特结构决定了它具有极为重要的生理功能。MT 在体内的主要功能是清除自由基和抗氧化, 而且还具有重金属解毒和调节体内微量元素等功能。由于辐射电离细胞中的水产生氧化自由基, 辐射损伤主要是氧化损伤, 因此假定辐射诱发的氧化损伤作为氧化应激作用诱导产生 MT, 并且在辐射诱发氧化损伤中起防护作用是合乎情理的^[10]。有学者在活体内研究发现 MT 的预诱导可以明显降低随后电离辐射引起的损伤, 即降低死亡率和皮肤细胞损伤, 这证明了 MT 对辐射损伤的直接保护作用^[11]。有人在活体外研究也证明由镉在两种不同的细胞系 (人体正常皮肤上皮细胞系和小鼠成纤维母细胞系) 中诱导 MT 的辐射防护作用, 发现 MT 的防护作用

不仅对辐射细胞毒性而且对辐射遗传毒性有效^[12]。

3.2 一氧化氮及其与辐射的关系

1987年Palmer等发现血管内皮细胞含一氧化氮合成酶(NOS),提出血管内皮舒张因子就是一氧化氮(NO)自由基。实验证明NO的作用是舒张血管,抑制细胞异常增殖,消除氧自由基和保护细胞^[13]。Slater等人发现氮氧化物可保护哺乳动物的细胞对抗辐射导致的细胞毒性,并可提高大鼠胸腺细胞对抗化学诱导的凋亡,可使细胞间GSH水平接近抑制凋亡浓度的事实提示有抗氧化剂的作用机制^[14,15]。我们曾测定了123名放射工作人员血清中NO含量,结果表明射线接触人员血清中NO水平明显高于对照组,工业探伤组的NO水平明显高于接触医用射线组,医用射线组的NO水平高于放免组和对照组,说明射线接触人员由于电离辐射引起体内氧自由基增多,而NO的作用就是消除氧自由基,所以NO代偿性增高^[16]。

3.3 维生素C和E与辐射防护的关系

维生素C是一种含有6个碳原子的酸性多羟化合物,由于其分子结构的特点,维生素C既可以氧化型,又可以还原型存在于体内,所以它既可作为供氢体又可作为受氢体,是很强的还原剂。维生素C还与谷胱甘肽的氧化还原有密切联系,它可以使氧化的谷胱甘肽转变为还原型谷胱甘肽,这样可以保证后者对机体的多方面作用。由于还原型谷胱甘肽参加机体中辐射引起的氧化反应,因此维生素C也有抗氧化防辐射的作用。维生素E又名生育酚,化学结构系苯骈二氢吡喃的衍生物,维生素E对氧十分敏感,极易被氧化,因此可以保护其他易被氧化的物质不被破坏,所以维生素E是极为有效的抗氧化剂,具有抗辐射、消除自由基等功效。Bertonecello等人发现抗氧化维生素类的化合物能很好的降低放射损伤,小剂量的无毒性的VE(1.5 μg于3 μl盐水中)可提高小鼠精原细胞对抗¹²⁵I的Auger电子线损伤,DEF=2.3。饮食中的抗氧化成分如抗坏血酸、VE对小鼠淋巴细胞和骨髓细胞有保护作用^[17]。

3.4 微量元素与辐射的关系

WHO将铜、铁、锌、硒等列为人体的必需微量元素,而微量元素参与了体内4大生理功能:(1)参与酶的构成与激活;(2)构成体内重要载体及电子传递系统;(3)参与激素和维生素的合成;(4)调控自由基水平。由于Cu、Fe、Zn、Mn等元素参与SOD的构成,而Se是谷胱甘肽的组成成分,所以微量元素与辐射有密切关系。近年来已有多篇文章报道了放射工作人员血清微量元素的水平^[18~20],结果表明,放射工作人员血清Zn水平低于对照组,而其他元素结果报道不一致,电离辐射引起血清中微量元素含量的变化机制目前仍不完全清楚,只能给评价防护效果提供依据。

参考文献:

[1] 夏寿萱. 放射生物学[M]. 北京: 军事医学出版社, 1998. 22-36.
[2] Pertkau A, Chelack WS. Radioprotective effect of superoxide dismutase on model phospholipid membranes [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1976, 433: 445.

[3] Pertkau A, Chelack WS, Pleskach SD. Protective effect of superoxide dismutase on erythrocytes of X-irradiated mice [J]. *Int J Radiat Biol*, 1976, 29: 297.
[4] Van OS R, Lamont C, Witsell A, et al. Radioprotective effect of bone marrow stem subsets by interleukin-1 and kit ligand; implications for CFU-S as the responsible target cell population [J]. *Exp Hematol*, 1997, 25: 205.
[5] Pertkau A, Kellyk, Chelack WS, et al. Radioprotection of mice by superoxide dismutase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1975, 65: 886.
[6] Epperly MW, Bray JA, Krager S, et al. Intratracheal injection of adenovirus containing the human MnSOD transgene protects athymic under mice from irradiation-induced organizing alveolitis [J]. *Int J Radiat Oncol Biophys*, 1999, 43: 169.
[7] Menander-Huber KB, Edsmyr F, Hultew. Orgotein (superoxide dismutase): A drug for the amelioration of radiation-induced side effects. A double blind, placebo-controlled study in patients with bladder tumors [J]. *Urd Res*, 1978, 6: 255.
[8] 罗时文, 林元藻, 杨勇, 等. 放射人员血超氧化物歧化酶等的活性测定 [J]. *中华预防医学杂志*, 1992, 26: 135-137.
[9] 范雪云, 李君, 白玉萍, 等. 放射人员染色体损伤与血清SOD活性和细胞免疫功能的关系 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 1997, 17: 318.
[10] 周湘艳, 蔡露, 高卫民. 金属硫蛋白与辐射关系的研究现状及展望 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 1999, 19: 61.
[11] Kotenov AN, Sazykin Aiu, Filippovich IV. The connection between the content of metallothioneins in bone marrow and liver and the survivability of irradiated mice after Cd chloride administration [J]. *Radiobiologia*, 1993, 33: 122.
[12] Renan MJ, Downman PI. Increased radioresistance of tumor cells exposed to metallothionein-inducing agents [J]. *Radiat Res*, 1989, 120: 442.
[13] Mooradian DL, Hutsell TC, Keefer LK, et al. No donor molecules; effect of NO release rate on vascular smooth muscle cell proliferation in vitro [J]. *J Cardiovas pharmacol*, 1995, 25: 674.
[14] Slater AFG, Noble CSI, Macellaro E, et al. Nitroxide spin traps and a nitroxide antioxidant inhibit a common pathway of thymocyte apoptosis [J]. *Biochem J*, 1995, 306: 771.
[15] Metodiewa D, Skolimowski J, Karolczak S. Tempone and trolox novel synthesized 2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidine derivatives as antioxidants and radioprotectors [J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1996, 40: 1211.
[16] 张春生, 郝卓利, 杨晓霞, 等. 放射工作人员血清一氧化氮水平初探 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2000, 20: 372.
[17] Bertonecello I, Krieger AB, Woodcock DM, et al. Hematopoietic radioprotection by cremophor EL: a polyethoxylated castor oil [J]. *Int J Radiat Biol*, 1995, 67: 57.
[18] 史菊妹, 唐翠云. 放射性作业人员血清中某些微量元素水平的分析 [J]. *微量元素与健康研究*, 1995, 12: 46.
[19] 李健, 张翔, 刘慧, 等. 放射性作业人员血清中铜、铁、锌水平的分析 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 1999, 19: 427.
[20] 张春生, 郝卓利, 杨晓霞, 等. 放射工作人员血清铜、锌的变化 [J]. *中国工业医学杂志*, 2000, 14: 124.