

硫酸镁对大鼠急性放射性脑损伤后脂质过氧化的抑制作用

王利利 涂彧 周菊英 俞志英 秦颂兵 徐晓婷 李莉

【摘要】目的 探讨硫酸镁对电离辐射诱发的脑组织损伤的保护作用。**方法** 将成熟的SD大鼠60只随机分为空白对照组、实验对照组和硫酸镁实验用药组,用6 MeV电子线对实验大鼠进行20 Gy全脑单次垂直照射,分别于1 d、7 d、14 d和30 d处死,取其脑组织,用考马斯亮蓝法测定总蛋白相对浓度,黄嘌呤氧化法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)浓度,并与空白对照组进行比较。**结果** 与空白对照组相比,实验对照组大鼠脑组织中SOD活性显著下降($P<0.05$),MDA浓度显著升高($P<0.05$);与实验对照组相比,硫酸镁实验用药组大鼠脑组织中SOD活力在照射后7d呈逐渐上升趋势,MDA浓度明显降低($P<0.05$)。**结论** 早期使用硫酸镁可抑制辐射引起的脑组织中脂质过氧化的程度,减轻自由基对脑组织的损伤程度。

【关键词】 脑损伤; 辐射效应; 硫酸镁; 脂质过氧化作用; 大鼠, Sprague-Dawley

【中图分类号】 R818.74 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)01-0037-04

Inhibitory effect of magnesium sulfate on reaction of lipid hyperoxidation after radiation-induced acute brain injuries

WANG Li-li¹, TU Yu², ZHOU Ju-ying¹, YU Zhi-ying¹, QIN Song-bing¹, XU Xiao-ting¹, LI Li¹

(1. Department of Radiation Oncology, The First Affiliated to Soochow University, Jiangsu Suzhou 215006, China; 2. Department of Medical Radioprotection, School of Radiation Medicine and Public Health, Soochow University, Jiangsu Suzhou 215123, China)

【Abstract】 Objective To explore the protection of magnesium sulfate ($MgSO_4$) on radiation-induced acute brain injuries. **Methods** 60 maturity Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 3 groups: blank control group, experimental control group and experimental-therapeutic group. The whole brain of SD rats of experimental control group and experimental-therapeutic group was irradiated to a dose of 20Gy using 6 MeV electron. $MgSO_4$ was injected intraperitoneally into the rats of experimental-therapeutic group before and after irradiation for five times. At different time points ranging from the 1 d, 7 d, 14 d, 30 d after irradiation, the brain tissue were taken. The xanthine oxidase and colorimetric examination were used to measure the superoxide dismutase (SOD) and malonyldialdehyde (MDA) respectively in the rat brain respectively. **Results** Compared with blank control group, the SOD in brain of experimental control group decreased significantly ($P<0.05$), and the MDA in brain in experimental control group increased markedly ($P<0.05$). Compared with that of the experimental control group, the SOD in brain in experimental-therapeutic group were climbing since 7 d later after irradiation, the MDA in brain significantly lower than those experimental control group ($P<0.05$). **Conclusions** $MgSO_4$ used in early stage can inhibit the lipid peroxidation after radiation-induced acute brain injuries and alleviate the damage induced by free radicals to brain tissue.

【Key words】 Brain injuries; Radiation effects; Magnesium sulfate; Lipid peroxidation; Rats, Sprague-Dawley

镁离子(Mg^{2+})对神经系统的保护作用近20年

来神经科学研究的热点之一。最近的研究证明,及时补充镁剂不仅能减轻创伤引起的脑组织损伤的程度,而且对急性缺血缺氧性脑病、急性代谢性脑功能障碍及一些锥体外系疾病(如Wilson病)等均起到明显的神经保护作用,可明显改善其预后^[1-4]。然

作者单位: 1. 215006, 苏州大学附属第一医院肿瘤放疗科(王利利、周菊英、俞志英、秦颂兵、徐晓婷、李莉); 2. 215123, 苏州大学放射医学与公共卫生学院放射卫生教研室(涂彧)

通讯作者: 王利利(E-mail: lyyz_wll@sina.com)

而,以往人们对 Mg^{2+} 在神经系统起保护作用的研究仅局限于脑外伤、急性缺血缺氧性脑病等方面,而有关 Mg^{2+} 对辐射引起的脑损伤的研究却鲜有报道。在我们过去的研究中已发现,硫酸镁($MgSO_4$)对大鼠急性放射性脑损伤后钙超载有抑制作用,并且可减轻脑水肿的程度^[9],这给我们以启示: Mg^{2+} 很有可能是一种较好的放射性脑损伤的保护剂。为此,进行了 $MgSO_4$ 对大鼠急性放射性脑损伤后脂质过氧化影响的研究,旨在探讨 $MgSO_4$ 对放射性脑组织损伤保护作用的机制。

1 材料和方法

1.1 动物及分组

成熟健康 Sprague-Dawley (SD)大鼠 60 只,由苏州大学动物实验中心提供,鼠重 $180g \pm 20g$,雌雄各半,于安静、温暖($22^\circ C$)、光线柔和的环境中饲养 48 h,随机分为空白对照组、实验对照组(只给予全脑照射)和实验用药组(给予全脑照射并加用 $MgSO_4$ 处理),每组 20 只,分别于照后的 1 d、7 d、14 d 和 30 d,每组取 5 只大鼠(死亡大鼠被排除实验之外)进行相关指标的检测。

1.2 照射方法及剂量的确认

将麻醉后的 SD 大鼠用西门子 KD-2 型直线加速器的 6 MeV 电子线作全脑垂直照射,剂量率为 200 cGy/min ,源皮距 100 cm,在 $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ 的限光筒特制的铅模中,照射野大小为 $2.0 \text{ cm} \times 2.0 \text{ cm}$,照射野中心轴深度剂量的 R_{100} 、 R_{50} 值分别为 12 mm 和 22 mm。照射前应用指型电离室(Farmer-FC23-C)在 $30 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ 的水模中水下 1cm 作吸收剂量的测量,剂量仪为 Scanditronix-Wellhofer 公司的 DOSE-1 型。于照射之前校正,保证大鼠脑部的吸收剂量为 20 Gy。

1.3 给药方式及时间

实验用药组大鼠分别于照射前 1 d、照射后即刻和照后连续 3 d 分别给予 10%的 $MgSO_4$ (无锡市第七制药厂,批号:0306813)缓慢腹腔注射,剂量为 300 mg/kg (体质量)。空白对照组和实验对照组给予同等量生理盐水。

1.4 脑组织匀浆的制备

各组按规定的时间点断头处死大鼠,迅速取出脑组织,去除包膜,称重,于 $4^\circ C$ 生理盐水中剪碎,洗净血液,用玻璃匀浆器制成 10%的匀浆。

采用高速冷冻离心机 $4^\circ C$ 、 $4000 \times g$ 离心 20 min,取上清液待测。

1.5 总蛋白相对浓度的测定

上清液用生理盐水稀释至 1%的匀浆,用考马斯亮蓝法按南京建成生物研究所提供的试剂盒说明书进行测定。用 722 型分光光度计(上海第二仪器厂)于 595 nm 处,1 cm 光程,蒸馏水调零,进行比色。

1.6 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力的测定

取上述 1%的脑组织匀浆用黄嘌呤氧化法,按南京建成生物研究所提供的试剂盒说明书进行测定。用 722 型分光光度计于 550 nm 处,1 cm 光程,蒸馏水调零,进行比色。

1.7 丙二醛(malonyldialdehyde, MDA)的测定

10%的脑组织匀浆上清液用硫代巴比妥酸法,按南京建成生物研究所提供的试剂盒说明书进行测定。用 722 型分光光度计于 532 nm 处,1 cm 光程,蒸馏水调零,进行比色。

1.8 数据的处理

全部数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,根据本实验数据资料,组间分析采用单因素方差分析,所用软件为 SPSS10.0, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

共有 60 只大鼠进入实验,其中实验对照组有 1 只在观察期间死亡,被排除实验之外,故实验对照组 30 d 时脑组织标本为 4 个。

2.1 脑组织总蛋白的变化

$MgSO_4$ 对 SD 大鼠受照后脑组织中总蛋白浓度的变化见表 1。由表 1 可见,在照射后 24 h 实验对照组和实验用药组总蛋白浓度即明显下降($P < 0.05$),其中在整个观察期间实验对照组总蛋白浓度一直较空白对照组明显降低($P < 0.05$);而实验用药组在照后 14 d 总蛋白浓度升高,与空白对照组相比无统计学意义,而与实验对照组相比明显升高($P < 0.05$)。

2.2 $MgSO_4$ 对 SD 大鼠受照后脑组织 SOD 活力的变化

从表 2 可以看到,辐射可在短时间内明显降低 SOD 的活力($P < 0.05$),随着照后观察时间的延长,SOD 活力值呈持续下降;实验用药组 SOD 活力虽然较空白对照组低,但是在照后 14 d 和 30 d 时与

实验对照组相比其活力显著升高($P<0.05$), 且与空白对照组的值越来越接近。

2.3 脑组织 MDA 浓度的变化

MgSO₄ 对 SD 大鼠受照后脑组织 MDA 浓度的变化情况见表 3。从中可见, 全脑受到照射后可导致脑内 MDA 浓度显著增加($P<0.05$), 在照后 7 d 到 30 d 一直维持在较高水平; 给予 MgSO₄ 者, 可观察到在照后 7 d 脑组织中 MDA 浓度虽然高于空白对照组, 但与实验对照组相比却明显降低($P<0.05$)。

3 讨论

SOD 作为机体组织内主要的清除自由基的抗氧化酶, 其活力的高低间接反映了机体清除自由基的能力。MDA 是脂质过氧化的主要产物, 是反映机体自由基水平和氧化应激水平的一项指标。因此, 观察机体受照射后组织中 SOD 的活力和 MDA 浓度, 可反映机体内脂质过氧化的程度, 间接反映细胞损伤的程度。

脑组织内富含大量的磷脂和不饱和脂肪酸, 易受自由基的攻击^[6]。本实验结果表明, 脑组织受到 20Gy 照射后 24 h 其匀浆中 SOD 的活力即明显下降, 而 MDA 浓度则显著升高, 并持续在整个观察期。当及时给予 MgSO₄ 后, 可明显提高脑组织匀浆中 SOD 的活力, 并能够降低 MDA 浓度, 说明 MgSO₄ 能有效地抑制脂质过氧化的程度。

Mg²⁺参与了体内 300 多种酶的生化过程, 是许多关键酶的辅助因子。Mg²⁺不足或丢失将对神经生化产生严重影响。当细胞外 Mg²⁺浓度下降时, 会降低依赖的花生四烯酸辅酶 A 合成酶的活性, 减少花生四烯酸嵌入到膜磷脂中的量, 激活磷脂酶 A2, 产生大量自由基。同时, Mg²⁺降低所致的细胞内 Ca²⁺增加也导致黄嘌呤氧化酶的大量产生, 并激活 ATP 酶致使 ATP 分解, 生成的次黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶作用下产生各种自由基反应, 导致脂质过氧化反应, 使膜结构和功能破坏。Regan 等^[7]用体外细胞研究了 Mg²⁺对神经元氧化损伤的治疗作用,

表 1 MgSO₄ 对 SD 大鼠受照后脑组织总蛋白质量浓度的变化 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 总蛋白质量浓度 (mg/L) | | | |
|-------|----------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| | 24 h | 7 d | 14 d | 30 d |
| 空白对照组 | 0.50 ± 0.06 | 0.49 ± 0.08 | 0.48 ± 0.07 | 0.50 ± 0.07 |
| 实验对照组 | 0.38 ± 0.03* | 0.36 ± 0.03* | 0.36 ± 0.04* | 0.34 ± 0.03* |
| 实验用药组 | 0.38 ± 0.05* | 0.40 ± 0.05* | 0.42 ± 0.09* [△] | 0.46 ± 0.03 [△] |
| F 值 | 11.37 | 6.83 | 3.90 | 9.81 |

*: 与空白对照组比较, $P<0.05$; [△]: 与实验对照组比较, $P<0.05$

表 2 MgSO₄ 对 SD 大鼠受照后脑组织 SOD 活力的变化 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | SOD 活力 (mU/g 蛋白) | | | |
|-------|------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|
| | 24 h | 7 d | 14 d | 30 d |
| 空白对照组 | 112.76 ± 15.80 | 109.82 ± 12.50 | 109.25 ± 17.10 | 110.49 ± 14.55 |
| 实验对照组 | 84.12 ± 9.29* | 83.28 ± 8.47* | 81.65 ± 7.57* | 79.56 ± 10.19* |
| 实验用药组 | 83.53 ± 9.53* | 88.39 ± 7.03* | 92.17 ± 5.85* [△] | 95.24 ± 6.27* [△] |
| F 值 | 9.80 | 10.37 | 7.58 | 8.92 |

*: 与空白对照组比较, $P<0.05$; [△]: 与实验对照组比较, $P<0.05$

表 3 MgSO₄ 对 SD 大鼠受照后脑组织 MDA 水平的变化 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | MDA 质量摩尔浓度 ($\mu\text{mol/g}$ 蛋白) | | | |
|-------|------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 24h | 7d | 14d | 30d |
| 空白对照组 | 3.99 ± 0.23 | 3.91 ± 0.29 | 4.05 ± 0.20 | 4.01 ± 0.29 |
| 实验对照组 | 5.96 ± 0.30* | 7.01 ± 0.19* | 7.10 ± 0.62* | 7.05 ± 0.76* |
| 实验用药组 | 5.84 ± 0.17* | 5.96 ± 1.04* [△] | 6.07 ± 0.98* [△] | 6.06 ± 0.72* [△] |
| F 值 | 109.74 | 31.15 | 26.14 | 29.55 |

*: 与空白对照组比较, $P<0.05$; [△]: 与实验对照组比较, $P<0.05$

的支持证据,例如在心脏受到较高剂量照射的放射治疗患者也存在这个现象。

9 精神疾患和心理学影响

切尔诺贝利核事故导致公众大规模的迁徙,造成经济状况不稳定,对健康的长期威胁甚至可能持续几代人。担忧和迷茫的感受不断扩散,生理和心理状态的异常现象普遍存在,在事故人群中不断出现严重的压抑、焦虑和一些医学上无法解释的综合征。

切尔诺贝利核事故对一般受影响公众造成了比较明显的精神健康方面的影响,但是这种影响表现在“亚临床水平”,并未出现可以察觉的临床检验指标异常。把受影响人群定义为“受害者”而不是“幸存者”,会导致出现一种无助的、无法控制自己未来的感觉。由此出现了对自己健康过度关注或者反之漠不关心,例如酗酒、吸烟,在仍然存有高水平放射性核素铯污染的地域采集蘑菇、浆果和进行野炊等。

~~~~~

(上接第 39 页)

发现  $Mg^{2+}$  可能通过竞争磷脂离子连接位点实现其抑制脂质过氧化。因此,脑组织受照后及时补充  $MgSO_4$  可有效地抑制辐射引起的脂质过氧化反应。

此外,脑组织蛋白浓度的变化是了解各种因素致脑损伤程度的有效手段<sup>[8]</sup>。照射后及时给予  $MgSO_4$  可显著减轻蛋白质浓度的降低,可能是因为  $Mg^{2+}$  具有稳定 RNA 和核糖体的作用,促进 mRNA 与 70S 核糖体的结合,调节 RNA 合成酶,从而促进了蛋白质的合成<sup>[9]</sup>。这可从另外一个方面说明  $MgSO_4$  的脑保护作用机制。

## 参 考 文 献

- 1 Pelletier H, Sawaya MR, Kumar A, et al. Structures of ternary complexes of rat DNA polymerase beta, a DNA template-primer, and ddCTP. *Science*, 1994, 264(5167): 1891-1903.
- 2 Maulik D, Qayyum I, Powell SR, et al. Post-hypoxic magnesium

## 10 生殖和遗传影响

对于受到低剂量照射的切尔诺贝利核事故影响的人群来说,没有发现其受孕、死胎、流产、难产一系列情况的异常,也没有线索提示将会发生异常。白俄罗斯受事故污染地区和无污染地区同时出现的先天性畸形似与辐射无关联。

## 参 考 文 献

- 1 United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. 2000 Report to the general assembly of UNSCEAR. New York: United Nations. 2000.
- 2 Burton B, Michael R, Zhanat C. Health effects of the Chernobyl accident and special health care programmers: report of the UN Chernobyl forum health expert group. Geneva: World Health Organization. 2006.
- 3 US National Academy of Science. Beir VII report (2006): Health risks from exposure to low levels of ionizing radiation. National Research Council, National Academy Press, Washington. 2006.
- 4 Cardis E, Howe G, Ron E. Cancer consequences of the Chernobyl accident: 20 years on. *J Radiol Prot*, 2006, 26(2): 127-140.

(收稿日期: 2006-06-12)

decreases nuclear oxidative damage in the fetal guinea pig brain. *Brain Res*, 2001, 890(1): 130-136.

- 3 Chollet D, Franken P, Raffin Y, et al. Blood and brain magnesium in inbred mice and their correlation with sleep quality. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 279(6): 2173-2178.
- 4 Esen F, Erdem T, Aktan D, et al. Effects of magnesium administration on brain edema and blood-brain barrier breakdown after experimental traumatic brain injury in rats. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2003, 15(2): 119-125.
- 5 涂彧, 周菊英, 王利利.  $MgSO_4$  对大鼠急性放射性脑损伤后钙超载的抑制作用. *中华放射医学与防护杂志*, 2005, 25(4): 339-341.
- 6 Anonymous. Guidelines for the management of severe head injury. *J Neurotrauma*, 1996, 13(11): 641-734.
- 7 Regan RF, Jasper E, Guo Y, et al. The effect of magnesium on oxidative neuronal injury in vitro. *J Neurochem*, 1998, 70(1): 77-85.
- 8 Abou-Seif MA, El-Naggar MM, El-Far M, et al. Amelioration of radiation-induced oxidative stress and biochemical alteration by SOD model compounds in pretreated gamma-irradiated rats. *Clin Chim Acta*, 2003, 337(1-2): 23-33.
- 9 金惠铭. 病理生理学. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 32-33.

(收稿日期: 2006-06-16)