

NADH对昆明小鼠辐照后造血系统的影响

刘发全 袁积仁 渊 第一军医大学珠江医院肿瘤科 袁 广东 广州 510282 冤

摘要 目的 探讨 NADH 对小鼠辐照后造血系统的影响 方法 昆明小鼠 60 只随机分为 3 组 每组 20 只 实验组和芋组分别为正常对照组 辐照前注入生理盐水组和辐照前注射 NADH 药物组 生理盐水和 NADH 药物均采用腹腔注射 2 次/d 辐照前 3 d 给药 辐照采用 6.0Gy ⁶⁰Co 一次性辐照 小鼠尾静脉采血计数连续观察辐射后不同时期对外周血白细胞总数的影响 辐照后 24 h 取股骨骨髓涂片 显微镜下计算骨髓有核细胞数和其分裂指数 通过 DNA 琼脂糖凝胶电泳观察昆明小鼠辐照后 24 和 48 h 骨髓细胞凋亡的改变 结果 NADH 能够抑制受照后小鼠外周血白细胞减小 增加骨髓有核细胞数及分裂指数 但不能抑制 DNA 凋亡片段形成 结论 NADH 能够明显抑制辐射诱导的造血系统损伤 但并不通过抑制骨髓细胞凋亡途径

关键词 NADH 造血系统 辐射 骨髓细胞 凋亡

中图分类号: R734.2 文献标识码 文章编号 000-2588(2003)04-0349-03

Protective effect of coenzyme 玉 on mouse hematopoietic system against radiation

LIU Fa-quan, ZHANG Ji-ren

Department of Oncology, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China

Abstract: Objective To study the protective effect of NADH on the hematopoietic system of mice against radiation. Methods Sixty mice were randomized into 3 groups (20/group), Group 玉 serving as normal control group. Three days before exposure to single-dose (6.0Gy) whole body ⁶⁰Co 射线 irradiation in the other 2 groups, the mice in Group 域 received injections with 0.9% NaCl and those in Group 芋 with intraperitoneal NADH (10mg/kg, twice daily). The peripheral white blood cells count was carried out in the blood samples from the mouse tail vein at different time after the exposure, and the bone marrow smears were prepared with routine staining to examine the number of the granulocytes and determine their mitotic index 24 h after radiation. DNA fragmentation in mouse bone marrow cells was detected by DNA electrophoresis 24 and 48 h after irradiation. Results The white blood cell count was significantly higher in mice with coenzyme 玉 treatment before exposure to the irradiation. NADH also increased the number of the granulocytes and their mitotic index without inhibiting DNA fragmentation in the bone marrow cells as observed 24 and 48 h after the irradiation. Conclusion NADH can markedly prevent the damages to the hematopoietic system in mice exposed to irradiation, but the mechanism does not involve the inhibition of bone marrow cell apoptosis.

Key words: NADH; hematopoiesis; irradiation; bone marrow cells; apoptosis

辅酶 玉 NADH 是一种重要的抗氧化剂 参与细胞氧化还原反应 经细胞学研究发现 NADH 能够抗化学药物 中毒和电离辐射等诱导的细胞凋亡 能够调节细胞膜和细胞浆受体的表达 目前 NADH 对电离辐射诱导的造血系统影响未见报道 本研究通过 NADH 对昆明小鼠经 ⁶⁰Co-射线照射后造血系统的影响 旨在探讨和研制一种新型的辐射损伤防护剂

动物中心提供 实验质量 18~22g 鼠龄 6~8 周 由奥地利 Graz 大学化学系和维也纳贝克曼研究所 Birkmayer 教授提供 纯度为 97% 的 Tris 碱 平衡酚和琼脂糖等购自美国 Sigma 公司 B 购自瑞士 Fluka 公司 琼脂糖 碱 酚和氯仿购自广州华美生物工程公司

1.2 实验分组

适应环境 1 周 0 只昆明小鼠随机分为 3 组 分别设正常对照组 辐照前注射生理盐水组 和辐照前给 NADH 组 每组 20 只昆明小鼠 雌雄各半 辐照采用华南工业大学辐照中心 ⁶⁰Co 源 一次性全身照射 照射剂量为 6.0 Gy 剂量率为 50 cGy/min 照射源距靶中心距离 30cm 遥 NADH 采用腹腔给药 0mg/kg 分别于照射前 3 d 给药 2 次/d 对照组采用生理盐水 照射前 3 d 给药 2 次/d

1.3 实验方法

1.3.1 外周血白细胞变化 采用小鼠尾静脉取血

1 材料与方 法

1.1 动物及试剂

健康昆明雌雄小鼠各 30 只 第一军医大学实验

收稿日期 002-12-03

基金项目 陆军野战卫生科基金 渊 1MA138 冤

Supported by Healthcare Research Foundation of the Tenth Five-year Plan of PLA 渊 1MA138 冤

作者简介 刘发全 渊 965- 冤 男 湖南祁阳人 主治医师 主要从事放射分子生物学研究 电话 020-61643202 电-mail: liufaquan@163.net

F-800自动计数仪动态检测小鼠 30 d 外周血白细胞变化

1.3.2 昆明小鼠骨髓涂片检测 照射后 24h 脱臼处死小鼠

1.3.3 DNA 凝胶电泳检测 NADH 对辐射后骨髓细胞凋亡的影响

辐照后 24h 脱臼处死小鼠 从股骨中冲出骨髓细胞

1.4 统计处理

统计分析采用 SPSS 10.0 统计软件包行方差分析

2 结果

2.1 NADH 对昆明小鼠受照后外周血白细胞的影响

在昆明小鼠辐照后第 1 天 5 天 10 天 20 天 30 天 检测外周血白细胞总数

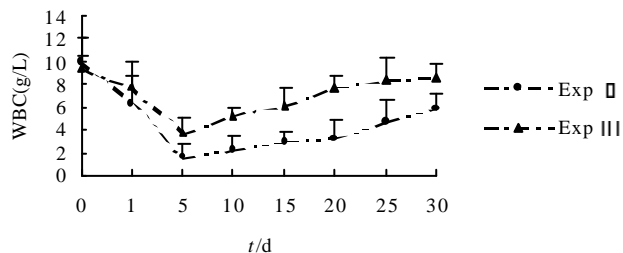


图 1 NADH 对辐照后昆明小鼠外周血白细胞变化的影响

2.2 NADH 对辐照后昆明小鼠骨髓象的影响

实验结果如表 1 所示 小鼠受到 6.0Gy 60Co- 辐照后 24h

表 1 NADH 对昆明小鼠辐照后骨髓细胞总数及其分裂指数的影响

Tab.1 Effects of coenzyme Y pretreatment on the total number and mitotic index of the bone marrow cells in mice with 60Co ray exposure

Table with 3 columns: Group, Total number (10^3), Mitotic index (%). Rows: Y, 域, 芋.

*P<0.05 vs group 域

2.3 NADH 对受照小鼠骨髓细胞程序性死亡形成的影响

为了研究 NADH 促进造血功能恢复是由于抑制受辐射小鼠骨髓细胞程序性死亡



图 2 骨髓细胞 DNA 凝胶电泳分析

3 讨论

外周血白细胞和血小板减小而引起的感染和出血等造血功能损伤是辐射后引起的主要病理变化之一

高白细胞效果不是很理想^①。本实验在 NADH 抗辐射诱导的外周血淋巴细胞凋亡基础上^②探讨 NADH 对昆明小鼠辐照后造血功能影响^③。结果表明 NADH 对外周血白细胞辐射损伤具有一定的防护作用^④。

小鼠骨髓有核细胞数及其有丝分裂指数是反映成年鼠造血功能状况的指标之一^⑤。骨髓组织细胞对辐射较敏感^⑥。当动物受到电离辐射后^⑦其骨髓有核细胞急剧减少^⑧。微血管系统扩张^⑨。造血细胞分裂被抑制^⑩。约 4 d 后才出现细胞分裂恢复趋势^⑪。造血细胞也不断增多^⑫。本实验结果表明 NADH 能够增加骨髓中有核细胞数和分裂指数^⑬。而辐射后 24 和 48 h 骨髓细胞凋亡无区别^⑭。表明 NADH 增加外周血白细胞机制一方面可能通过抑制白细胞辐射损伤^⑮。另一方面可能通过刺激残余骨髓造血干细胞增殖^⑯。分化^⑰。而不是通过抑制辐照后骨髓细胞程序性死亡^⑱。

NADH 是一种还原型辅酶^⑲。参与细胞能量代谢和呼吸链电子传递^⑳。抑制细胞内自由基产生和稳定线粒体膜电位^㉑。细胞内 NADH 含量在缺氧^㉒。中毒^㉓。辐射等因素作用下会发生变化^㉔。有研究报道 NADH 作为电子供体在一种称为醌类黄素酶即 NADH 辅酶氧化还原酶 1(NQO1)作用下催化醌双电子还原^㉕。使氧自由基的产生减少^㉖。抑制细胞坏死和凋亡^㉗。而阿尔茨海默病 NQO1 活性降低^㉘。清除自由基能力下降和 NADH 消耗增加^㉙。导致神经原细胞胞浆内过氧化作用增强^㉚。导致神经原变性坏死^㉛。Brian 报道采用光敏治疗^㉜。PDT 治疗纤维肉瘤^㉝。经体外细胞学和体内动物实验^㉞。采用共聚焦显微镜检测细胞内 NADH 含量变化^㉟。结果表明肿瘤组织和正常组织经 PDT 治疗后 NADH 荧光信号减弱^㊱。这种 NADH 含量减少与细胞内线粒体膜电位减小^㊲。活性氧增加有关^㊳。而导致细胞坏死^㊴。本实验辐射前腹腔注射 NADH^㊵。对外周血白细胞和骨髓有核细胞的辐射损伤具有一定的防护作用^㊶。可能与 NADH 抑制外周血白细胞损伤和刺激骨髓残余造血干细胞增殖^㊷。分化有关^㊸。但还需要进一步研究^㊹。

参考文献

① Zhang JR, Vrecko K, Nadlinger K, et al. The reduced coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) repairs DNA damage of

- PC12 cells induced by doxorubicin. *J Tumor Marker Oncol*, 1998, 13(4):5-17.
- ② 刘发全, 张积仁, 徐小平, 等. NADH 抗 X 射线诱导的 L02 肝细胞凋亡. *第一军医大学学报*, 2001, 21(8): 599-601.
- ③ Liu FQ, Zhang JR, Xu XP, et al. Effect of NADH on apoptosis during radiation injury of liver cell line L02. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2001, 21(8):599-601.
- ④ Birkmayer JGD. The new therapeutic approach for improving dementia of the Alzheimer type. *Ann Clin Lab Sci*, 1996, 26(2):1-9.
- ⑤ 邹丹, 乔海灵, 全宏勋, 等. 三七皂甙对辐射所致小鼠骨髓抑制的对抗作用. *中华放射医学与防护杂志*, 2000, 20(6):413-15.
- ⑥ Zou D, Qiao HL, Quan HX, et al. The antagonistic effect of Panax pseudoginseng wallsaponin on inhibition of normal mouse bone marrow. *Chin J Radiol Med Pro*, 2000, 20(6):413-15.
- ⑦ 蒋晓燕, 王晓雯, 王雪飞, 等. 肉苁蓉总苷对⁶⁰Co 射线照射小鼠造血系统损伤保护作用的研究. *中国药理学通报*, 2000, 16(3):332-5.
- ⑧ Jiang XY, Wang XW, Wang XF, et al. Protective effects of ginsenosides of cistanche on hematopoietic system of ⁶⁰Co ray irradiated mice. *Chin Pharmacol Bull*, 2000, 16(3):332-5.
- ⑨ 刘发全, 张积仁. 还原型辅酶 NADH 对辐射后小鼠外周血及脾组织学改变的影响. *免疫学杂志*, 2002, 6(s):23-5.
- ⑩ Liu FQ, Zhang JR. Effect of reduced coenzyme NADH on white blood cells in the peripheral blood and spleen histological changes in irradiated mice. *Immunol*, 2002, 6(s):23-5.
- ⑪ 曹明富. 茶多酚对小鼠辐射损伤的防护效应. *茶叶科学*, 1998, 12(2):139-44.
- ⑫ Cao MF. Protective effects of tea polyphenol on radiodamage of mouse [J]. *J Tea Sci*, 1998, 12(2):139-44.
- ⑬ Hashimoto M, Takeda Y, Sato T, Kawahara H, et al. Dynamic changes of NADH fluorescence images and NADH content during spreading depression in the cerebral cortex of gerbils. *Brain Res*, 2000, 872(1-2):294-300.
- ⑭ Obi-Tabot ET, Hanrhan LM, Cachecho R, et al. Change in hepatocyte NADH fluorescence during prolonged hypoxia. *J Surg Res*, 1993, 55:568-75.
- ⑮ 马秋兰, 陈彪, 邵明, 等. NAD(P)H 辅酶氧化还原酶基因多态性与阿尔茨海默病遗传易感性的关系. *中华老年医学杂志*, 2001, 20(2):93-5.
- ⑯ Ma QL, Chen B, Shao M. Association between the cDNA polymorphism of NA(P)H:quinone oxidoreductase and the genetic sensitivity of sporadic Alzheimer's disease. *Chin J Geriatr*, 2001, 20(2):93-5.
- ⑰ Brain A, Joseph L, Batya C, et al. In vivo NADH fluorescence monitoring as an assay for cellular damage in photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 2001, 74(6):817-21.