

125I-超氧化物歧化酶在小鼠体内的代谢

吴德林、强美玉、张丽民、孙 结、陈 杞 (第二军医大学基础同位素室, 上海 200433)

提要 小鼠 im 或 iv 猪 rbc 125I-超氧化物歧化酶(125I-SOD-1)之后, 吸收快, 3 min 血中放射性就达峰值。排泄亦快, iv 较 im 快, 生物半排出期(t_{1/2})分别为 1.5 h 和 3.6 h。im 的生物利用度为 68.7%。3 min 血中原形物电泳分析分解产物, im 为 22±4%; 而 iv 为 25±12%。各组织 125I-SOD-1 分布以肾脏最多, 其次为肺和肾上腺。

关键词 125I-含铜锌超氧化物歧化酶; 生物利用度; 组织分布

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)广泛分布于生物界。McCord 等⁽¹⁾从牛 rbc 中提取并纯化了含铜锌 SOD(称 SOD-1)。近年来, 已成为新型的酶制剂应用于临床, 对防治炎症、辐射损伤、肿瘤治疗、抗衰老等都有一定的疗效。国内已制备了猪 rbc SOD-1^(2,3), 为观察外源性 SOD-1 在动物体内的代谢状况, 除了做放射免疫测定外, 本文做了 125I 标记 SOD-1(125I-SOD-1) 在小鼠体内代谢, 以便探讨 SOD-1 对辐射防护作用机理, 以及为临床应用猪 SOD-1 防治疾病时提供实验依据。

材 料 与 方 法

ICR♂小鼠体重 21±SD 2 g, 30 只均分为 im 和 iv 两组。im 组注于左侧大腿屈侧肌群内, iv 组于尾静脉注入, 给药量均为 0.48 μg SOD-1(80.5 kBq/0.25 ml 生理盐水溶液)。

125I-SOD-1 以纯化猪 rbc SOD-1 为原料, 用氯胺-T 法微量标记, 标记产品的放射性比度为 166.5 kBq/μg, 放化纯度大于 99%, 放射性碘化产率 4.5%, 蛋白回收率 75%, 经放射免疫测定, 其对兔抗猪 SOD-1 血清的特异结合反应大于 50%。

样品与测量 给药后两组均按 3, 15, 30, 60, 180 和 360 min 6 个时间点, 将小鼠断头放血, 肝素抗凝, 分离血浆和血球, 量体积后直接测量, 然后解剖取有关组织器官, 吸干血迹称重后, 分别用 FJ-2008 γ 免疫仪进行放射性测量。将血浆样品用 SCR-4 型国产高压电泳仪进行电泳分析代谢产物。

结 果

全血中的放射性 从图 1 可见, 小鼠 im 及 iv 125I-SOD-1 后, 3 min 放射性达最高值, 分别为 114 502±33 132 及 655 098±60 149 cpm/ml。以每 ml 全血放射性占注入量的 % 计算, im 组和 iv 组分别为 3.6±1.0 和 20.5±1.9%。3 min 之后, im 组全血放射性逐渐下降, 30 和 60 min 时分别略有回升, 但至 6 h 时仅为 3 min 的 24% 左右, t_{1/2} 为 3.6 h。3 min 之后, iv 组全血放射性很快下降, 15 min 和 30 min 的放射性与 3 min 相比呈明显下降(p<0.05), 而 1, 3-6 h 与 3 min 相比呈非常明显的下降(p<0.01), 至 6 h 有 95% 的放射性被排出体外, t_{1/2} 为 1.5 h。

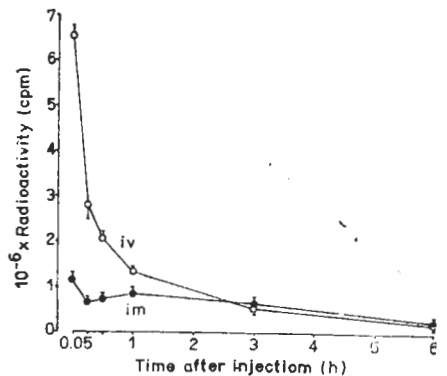


Fig 1. Radioactivity in blood after im or iv 125I-SOD-1. 3 mice/group. $\bar{x} \pm SD$

血浆与血球中的放射性 血浆的放射性占全血的放射性比血球多, 分别为74.6%和26.6%。但im组和iv组的水浆与血球中的放射性变化趋势基本与全血一致, 均以药后3 min最高, 以后逐渐下降, 经统计处理im组下降不如iv组下降明显。而且, 血球放射性变化不如血浆放射性变化明显, 各时间点与3 min相比, 血浆差别非常明显($p < 0.01$), 而血球差别不明显($p > 0.05$), 如图2所示。

血浆中放射性代谢产物分析 im和iv后

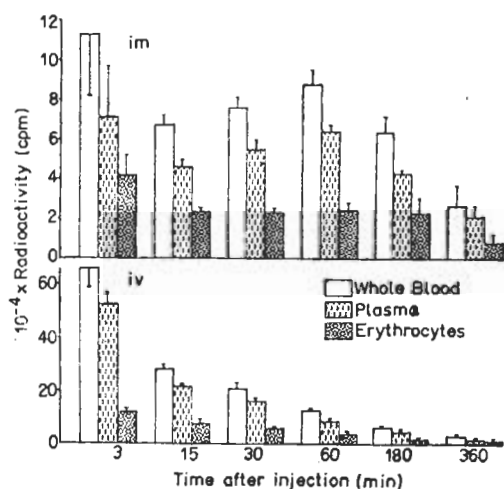


Fig 2. Tissue distribution of radioactivity after im or iv $^{125}\text{I-SOD-1}$. 3 mice/group. $\bar{x} \pm \text{SD}$.

Tab 1. Tissue distribution of radioactivity after iv and im $^{125}\text{I-SOD-1}$ to mice. cpm/100 mg wet weight. 3 mice/group. $\bar{x} \pm \text{SD}$.

	Time after iv (min)						Time after im (min)						
	3	15	30	60	180	360	3	15	30	60	180	360	
Kidney	$\bar{x} \pm$	222253	261129	199992	106099	29300	10828	11144	19980	40839	56806	34608	10790
	SD	19800	11219	14283	6703	4610	6152	5047	8312	7367	11007	9475	1448
Lung	$\bar{x} \pm$	31005	17913	14124	7150	3323	1596	6708	4625	5193	6671	4117	1672
	SD	5195	2112	1857	516	613	403	1442	215	826	965	896	510
Heart	$\bar{x} \pm$	19873	10585	7227	6002	1654	832	4172	3020	3127	3812	2639	1042
	SD	1087	942	1521	1392	151	190	1219	193	317	490	201	274
Adrenal gland	$\bar{x} \pm$	14895	13473	9435	6425	2556	648	7132	3481	5518	5701	3560	1150
	SD	2887	2631	1212	278	388	166	3219	764	727	216	636	175
Liver	$\bar{x} \pm$	13071	7144	6229	4178	1361	1191	2939	1827	2148	2979	1884	901
	SD	1161	1111	894	337	162	610	509	114	200	402	221	286
Spleen	$\bar{x} \pm$	11000	8522	6310	4480	1500	799	2525	2695	2927	3374	2463	984
	SD	789	2540	733	301	253	296	565	175	252	211	351	318
Stomach	$\bar{x} \pm$	9098	17029	23325	27451	4936	2394	4068	6970	9506	18552	10356	4339
	SD	853	2358	552	2683	622	908	1583	793	1810	10061	2547	1546
Small intestine	$\bar{x} \pm$	7589	7867	8505	5631	2233	1076	2702	2750	3249	5026	3398	1599
	SD	793	582	696	92	781	585	689	78	363	1189	563	847

3 min, 血浆电泳分析其原形物分别占 $78 \pm 4\%$ ($n = 2$)和 $75 \pm 12\%$ ($n = 3$), 两者相差不多; 而im后1 h, 血浆中原形物只有 35% ($n = 1$), 即大部份分解了。

im组生物利用度 用梯形法计算了im后血药浓度曲线下的总面积, 再与同剂量iv后血药浓度曲线下的总面积相比较, 即 $57(\text{im})/82(\text{iv}) = 69\%$

$^{125}\text{I-SOD-1}$ 在组织中分布 小鼠以相同剂量的 $^{125}\text{I-SOD-1}$ im和iv后3 min, 所取的同样组织器官的放射性均以iv组高于im组, 见表1, 肾上腺、肠和胃高出2-3倍; 肺、肝、脾和心高出5倍; 肾脏高出20倍。iv组大多数脏器均在药后3 min达高峰, 而肾、肠和胃分别于15, 30和60 min达高峰; im组3 min达高峰的有肾上腺、肺、心和肝; 其余脏器为1 h达高峰。同时看到在3 min时各脏器放射性分布顺序, iv组为肾>肺>心>肾上腺>肝>脾>胃>肠; im组为肾>肾上腺>肺>心>胃>肝>肠>脾。

讨论

测定内源性或外源性SOD-1可用专一性的抗血清进行放射免疫测定。本文是用通常 γ

线放射性测量法, 观察 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 在小鼠体内代谢。从上述结果看, $^{125}\text{I-SOD-1}$ 在小鼠体内代谢较快, $t_{\frac{1}{2}}$ 为 1.5-3.6 h。有关 SOD 在动物体内 $t_{\frac{1}{2}}$, Veronese 等⁽⁴⁾ 用 McCord 的酶学方法⁽¹⁾, 测得大鼠对牛 SOD 的 $t_{\frac{1}{2}}$ 为 5 min。有关 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 的药代没有查到直接的文献报道, 但有报告⁽⁶⁾ 指出, 小鼠尾 iv 牛 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 之后 30 min, 血清放射性就减少, 至 6 h 时有 90% 被排出体外, 这与我们的结果基本一致。SOD-1 被 ^{125}I 标记后是否也会延长在动物体内的 $t_{\frac{1}{2}}$ 。文献报告牛 SOD-1 连接聚乙二醇(PEG), 聚多糖或右旋糖苷, 都能延长其 $t_{\frac{1}{2}}$, 例如, 同量牛 SOD-1 酶蛋白若连接活化的 PEG 数量越多, 则 $t_{\frac{1}{2}}$ 越长⁽⁴⁾ (长者可达 21 h)。

从我们的结果看, $^{125}\text{I-SOD-1}$ 进入血液后, 大部份在血浆中, 一部份在 rbc 中或 wbc 中, 这也和文献报告的结果相似, 外源性 SOD-1 能穿透 rbc 膜而进入胞浆, 同时用柱层析证明其中有少量 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 结合于内源性的 SOD-1 上, 外源性 SOD-1 参与辐射防护是否与此有关, 有待探讨。

$^{125}\text{I-SOD-1}$ 在小鼠体内分布结果表明, 不论是 im 或 iv, 其主要分布在肾和肺。这与文献报道⁽⁷⁾ 牛的 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 分布结果一致, 肾脏分布多是否与该酶从肾脏排泄有关, 究竟是以原形物或以分解产物排泄呢? Kelly 等⁽⁷⁾ 给小

鼠 iv 牛 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 1 h 后血清中分解产物为 28-37%, 而肾脏的分解产物只有 2-25%, 而我们 iv 后 3 min, 血浆中 $^{125}\text{I-SOD-1}$ 分解产物达 $25 \pm 12\%$, 分解产物的数值相近, 但本文时相较他们为早。

参 考 文 献

- 1 McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte. *J Biol Chem* 1969; 244 : 6049
- 2 吴德林、孙 结、张丽民、强美玉、陈 杞、宁廷选. 超氧歧化酶的抗血清制备及放射免疫测定. *第二军医大学学报* 1986; 7 : 215
- 3 张丽民、孙 结、吴德林、强美玉、陈 杞. 超氧化物歧化酶的放射性碘标记. *核技术* 1987 (待发表)
- 4 Veronese FM, Bocce E, Schiavon O, et al. Anti-inflammatory and pharmacokinetic properties of superoxide dismutase derivatized with polyethylene glycol via active esters. *J Pharm Pharmacol* 1983; 35 : 757
- 5 Petkau A, Kell K, Chelack WS, Pleskach SD, Barefoot C, Meeker BE. Radioprotection of bone marrow stem cells by superoxide dismutase. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 67: 1167
- 6 Petkau A, Kelly K, Chelack WS, Barefoot C. Protective effect of superoxide dismutase on erythrocytes of X-irradiated mice. *Ibid* 1976; 70 : 452
- 7 Kelly K, Barefoot C, Sehon A, Petkau A. Bovine superoxide dismutase: a radioimmunoassay. *Arch Biochem Biophys* 1978; 190 : 531

Acta Pharmacologica Sinica 1987 May, 8 (3) : 281-284

Metabolism of ^{125}I -superoxide dismutase in mice

WU De-Lin, JIANG Mei-Yu, ZHANG Li-Min, SUN Jie, CHEN Qi
(Basic Laboratory of Isotopes, Second Military Medical College, Shanghai 200433)

ABSTRACT Mice were injected iv or im with ^{125}I -cuprozinc superoxide dismutase ($^{125}\text{I-SOD-1}$). Radioactive counting of $^{125}\text{I-SOD-1}$ in blood was highest at 3 min. The

absorption and elimination in iv group were faster than in im group. The biological $t_{\frac{1}{2}}$ were 1.5 and 3.6 h after iv and im, respectively. The bioavailability in the im

group was 68.7%. ^{125}I -SOD-1 in plasma was subjected to electrophoresis 3 min after injection, with the amount of degradation in im and iv being 22 ± 4 and $25 \pm 12\%$, respectively. The tissue distribution of radioactivities were as follows: kidney >

lung > adrenal gland.

KEY WORDS ^{125}I -cuprozinc superoxide dismutase; biological availability; tissue distribution

* * * * *