

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.46.012 [http://www.crter.org]

王敏, 潘晓婧, 刘斌, 张红. 核磁共振氢谱代谢组学方法确定X射线对小鼠辐射的损伤[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(46):8049-8055.

核磁共振氢谱代谢组学方法确定X射线对小鼠辐射的损伤****☆

王敏¹, 潘晓婧¹, 刘斌^{1,2}, 张红² (1兰州大学, 甘肃省兰州市 730000; 2中国科学院近代物理研究所, 甘肃省兰州市 730000)

文章亮点:

1 代谢组学为生物信息组学的终末研究阶段, 也是继基因组学和蛋白组学之后对生物信息解读的又一重要手段。本研究借助代谢组的方法研究X射线辐射损伤对体内小分子代谢物的影响, 国内尚未见类似文献报道。

2 辐射损伤是一种多靶点、多器官功能的损害, 具有延时性和交互性的特点, 单独的时间点血液生物标志物难以准确描述损伤特性, 借助于尿液在体内的蓄积和终末小分子代谢物的改变可以较为准确反映辐射对机体损伤的特点。

3 实验以头部局部辐射为研究方法, 模拟临床头颈部肿瘤的放射治疗, 相对于动物全身辐射模型更加合理, 更有利于进行更深层次的临床实验研究。

关键词:

组织构建; 组织构建细胞学实验; 代谢组学; X射线; 核磁共振氢谱; 辐射损伤; 碱性磷酸酶; 超氧化物歧化酶; 生物标志物; 国家自然科学基金

主题词:

代谢组; 磁共振波谱学; 辐射损伤; 碱性磷酸酶; 超氧化物歧化酶

基金资助:

国家重点基础研究发展计划资助(2010CB834202)*; 国家自然科学基金重点项目(10835011)*; 国家自然科学基金面上项目(30770639)*; 兰州大学中央高校基本科研费2012年面上项目(lzujbky-2012-154)*; 兰州大学口腔医学院扶持基金项目(120653)*

摘要

背景: 单一的血液学分析仅能针对辐射损伤后某个时间点机体的损伤情况, 并不能反映机体辐射损伤后的较长期的累积状况。

目的: 采用基于核磁共振氢谱的代谢组学研究方法确定X射线对小鼠的辐射损伤后尿液和血液中辐射损伤标志物。

方法: 取小鼠48只随机分为4组, 分别接受0(假辐射), 3, 9, 27 Gy X射线头部辐射, 分别于辐射后24 h和5 d后采血检测。另取小鼠36只随机分为3组, 分别接受0(假辐射), 9, 27 Gy X射线头部辐射, 分别于辐射前2 d和辐射后第5天收集24 h尿液检测。采集的血液及尿液进行¹H-NMR分析。

结果与结论: 接受不同剂量X射线辐射后, 血清中天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶含量没有显著变化, 碱性磷酸酶在9 Gy X射线辐射后有显著性升高, 表明低剂量头部辐射可能引起肝脏或者骨骼中辐射损伤修复增加; 血清中总超氧化物歧化酶在辐射后第5天出现显著降低, 表明小鼠经头部辐射后引起了全身氧化应激效应。尿液中N-乙酰甘氨酸和-胸苷在接受各剂量X射线辐射后均显著升高, 可以作为头部辐射后尿液中的辐射损伤标志物。尿液中3-羟基-2-甲基苯甲酸-3-氧硫酸盐在接受9 Gy X射线辐射后升高了2.5倍, 可以作为中低剂量辐射损伤的特异标志物; 尿液牛磺酸在27 Gy X射线辐射后升高20%, 可以作为高剂量辐射损伤的特异标志物。

Radiation metabolomics of minimally invasive urine biomarkers for X-ray radiation exposure in mice

Wang Min¹, Pan Xiao-jing¹, Liu Bin^{1,2}, Zhang Hong² (1Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Science, Lanzhou 730050, Gansu Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Single hematology analysis can only reflect the body injury at a certain time point after radiation damage, but cannot reflect the longer-term cumulative status after radiation damage.

OBJECTIVE: To identify the biomarkers in blood and urine in mice after radiation damage with metabolomics method based on nuclear magnetic resonance hydrogen spectrum.

METHODS: Forty-eight mice were randomly divided into four groups and received 0 (sham radiation), 3, 9 and 27 Gy radiation. The blood samples were collected at 24 hours and 5 days after radiation. Another 36 mice were collected and divided into three groups and received 0 (sham radiation), 9 and 27 Gy radiation, then the urine samples were collected at 2 days before radiation and 5 days after radiation for 24 hours. The blood and urine

王敏☆, 男, 1978年生, 甘肃省天水市人, 汉族, 副教授, 2011年四川大学生物治疗国家重点实验室毕业, 博士, 主要从事辐射生物学效应和药物临床前安全性评价研究。
wangmin@lzu.edu.cn

通讯作者: 刘斌, 教授, 兰州大学口腔医学院及中国科学院X射线束辐射生物医学重点实验室, 甘肃省兰州市 730000
liubkq@lzu.edu.cn

并列通讯作者: 张红, 研究员, 中国科学院近代物理研究所及X射线束辐射生物医学重点实验室, 甘肃省兰州市 730000
zhangh@impcas.ac.cn

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344
(2013)46-08049-07

修回日期: 2013-08-12
(201305109/W · C)

Wang Min☆, M.D., Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
wangmin@lzu.edu.cn

Corresponding author: Liu Bin, Professor, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Science, Lanzhou 730050, Gansu Province, China
liubkq@lzu.edu.cn

Corresponding author: Zhang Hong, Researcher, Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Science, Lanzhou 730050, Gansu Province, China
zhangh@impcas.ac.cn

Accepted: 2013-08-12

samples were analyzed with proton nuclear magnetic resonance spectroscopy.

RESULTS AND CONCLUSION: The content of aspartic aminotransferase and alanine aminotransferase in blood plasma maintained a stable level after 3- or 9-Gy X-ray radiation, but the level of alkaline phosphatase in blood plasma was increased significantly after 9-Gy radiation, which indicating that low-dose head radiation may cause increased radiation damage and repair. The level of total superoxide dismutase in blood plasma was significantly decreased at 5 days after radiation which indicating that head radiation in mice could cause systemic oxidative stress. Meanwhile, the N-hexamolglycine and -thymidine level in the urine samples was significantly increased after different doses X-ray radiation, which can be used as the radiation damage markers in urine samples after head radiation. The 3-hydroxy-2-methylbenzoic acid 3-O-sulfate level in urine samples was increased by 2.5 times after received 9-Gy radiation, which can be used as the specific markers of middle- and low-dose radiation damage; the level of taurine in the urine samples was increased by 20% after 27-Gy radiation, which can be used as the specific markers of high-dose radiation damage.

Subject headings: metabolome; magnetic resonance spectroscopy; radiation injuries; alkaline phosphatase; superoxide dismutase

Funding: Major State Basic Research Development Program of China, No. 2010CB834202*; Key Program of National Natural Science Foundation of China, No. 10835011*; General Project of National Natural Science Foundation of China, No. 30770639*; Fundamental Research Funds for the Central Universities, Lanzhou University, No. lzujbky-2012-154*; Support Fund Project of Lanzhou University School of Stomatology, No.120653*

Wang M, Pan XJ, Liu B, Zhang H. Radiation metabolomics of minimally invasive urine biomarkers for X-ray radiation exposure in mice. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(46):8049-8055.

0 引言 Introduction

对于离子辐射损伤标志物的研究已经延续了数十年,对于血细胞和血清中的损伤标志物研究较多,诸如DNA损伤修复^[1]、染色体异常及DNA蛋白交联等^[2-5]。然而,单一的血液学分析仅能针对辐射损伤后某个时间点机体损伤情况,并不能反映机体辐射损伤后的较长期的累积状况。另一方面,大量的对于辐射损伤生物标志物的检测均基于辐射引起的氧化应激、神经递质释放和引发炎症,如5-羟吲哚乙酸、硫酸吲哚酚等^[6-8],这使得检测具有一定的针对性和偏向性,而对于辐射引起细胞反应的更多信息并未解读。

基于核磁共振氢谱的代谢组学检测为辐射损伤的研究提供了新的思路和方法。首先,代谢组学以核磁共振氢谱为检测手段,解决了对大量生物信息的解读问题,可以对样本中小分子量的代谢产物进行准确检测,同时具备高通量和高灵敏的特点;其次,对于样本的检测不基于任何已有的或假设的辐射损伤理论,从而使得到的检测结果不具有偏向性;再次,尿液在体内有积聚的过程,这样可以使辐射损伤后细胞的代谢产物不断累积,相对于单一时间点的血液学检测更加准确和合理;最后,以尿液为样本的无创性检测可以减轻痛苦,增加患者的依从性,为临床应用奠定良好的基础。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 单一样本观察。

时间及地点: 实验于2012年2至12月在甘肃省肿瘤医院放射中心及兰州大学甘肃省新药临床前研究重点实验室完成。

材料:

实验动物: 清洁级雄性C57 BL/6小鼠84只,体质量(20±2)g,由兰州大学医学实验中心提供,饲养于清洁级动物房。

X射线对小鼠辐射损伤的核磁共振氢谱代谢组学实验所用仪器:

仪器	来源
小鼠代谢笼	北京佳源兴业公司
Bruker DRX600 核磁共振仪	瑞士-布鲁克公司
GL-16B 高速冷冻离心机	上海安亭科学仪器厂
医用 6MV 直线加速器	北京医疗器械厂
7080 型全自动生化分析仪	日本,日立公司

实验方法:

X射线辐射后血液生化指标检测: 将小鼠按照随机分配原则分为4组,接受不同剂量X射线头部辐射,吸收剂量分别为0(假辐射),3, 9, 27 Gy, 每组12只,组间动物体质量差异无显著性意义。

小鼠腹腔注射20 g/L戊巴比妥钠麻醉,麻醉后接受X射线辐射,辐射剂量3 Gy/min,辐射时小鼠头部对准辐射束窗口,其他部位没有采取防护措施,假辐射组同样麻醉。

辐射结束后分别在24 h后和5 d后分批处理动物, 用戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉采血进行血液生化检测。

X射线辐射后尿液¹H-NMR检测: 将小鼠按照随机分配原则分为3组, 接受不同剂量X射线头部辐射, 吸收剂量分别为0(假辐射), 9, 27 Gy, 每组12只, 组间动物体质量差异无显著性意义。辐射前小鼠在代谢笼中予适应3次, 每次24 h, 间隔24 h, 假辐射组采用同等条件处理。

小鼠腹腔注射20 g/L戊巴比妥钠麻醉, 麻醉后接受X射线辐射, 辐射剂量3 Gy/min, 辐射时小鼠头部对准辐射束流窗口, 其他部位没有采取防护措施, 假辐射组同样麻醉。小鼠在接受辐射前2 d和辐射后的第5天分别用代谢笼收集24 h的尿液检测。代谢笼内加0.1%的叠氮化钠防腐并置于冰上, 收集尿液, 低温离心处理(3 000 r/min, 10 min; 4 °C), 然后用移液枪采集上清液放入EP管内, 放入-80 °C保存备用。取保存的尿液上清液400 μL加入200 μL缓冲液(0.2 mol/L Na₂HPO₄/NaH₂O₄, pH=7.4), 放置10 min, 4 °C, 3 000×g离心10 min。取上清液500 μL, 添加50 μL的1 g/L的TSP(1 g/L)/D₂O, 混匀, 转入5 mm核磁管中进行测试。

在600 MHz核磁共振谱仪上调用NOESY脉冲序列, satfrq和TOF都设置在水峰的位置, FID信号经32k傅立叶变换转为NMR谱图, 在VNMR中调用宏指令将需要分析的一组数据集变成数组的1D数据, 以TSP为化学位移参考峰的位置(0 ppm), 调用NMR中的程序将¹H谱按默认值进行分段并积分。分析之前把水峰、脲素类活性氢所在的位移4.6–6.2 ppm去除。将积分数据归一化后以Excel文件贮存, 用于主成分分析。根据辐射后小鼠尿液NMR谱图和PCA/PLS DA结果, 将各辐射组和对照组尿液成分进行分析。

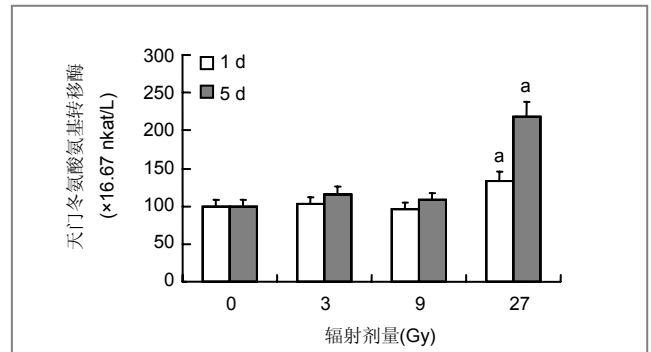
主要观察指标: ①小鼠头部辐射引起部分血液生化指标改变。②小鼠头部辐射后尿液检测出辐射损伤标志物。

统计学分析: 由第二作者应用SPSS 13.0统计软件处理, 小鼠头部辐射后血液生化指标及尿液中辐射损伤标志物采用ANOVA 方差分析, 最小显著差LSD法检验, 显著性水平为0.05。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用小鼠84只, 分为7组, 实验过程无脱失, 均进入结果分析。

2.2 小鼠头部辐射引起部分血液生化指标改变 接受3 Gy和9 Gy X射线辐射后, 在不同时间检测血清中天门冬氨酸氨基转移酶和丙氨酸氨基转移酶的含量没有显著变化, 见图1, 图2。

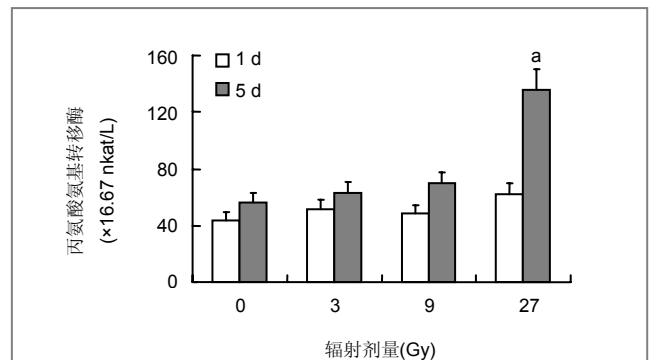


分别与1 d, 5 d 0 Gy相应剂量相比, ^aP < 0.05。

注: 接受3 Gy和9 Gy X射线辐射后, 在不同时间检测血清中天门冬氨酸氨基转移酶含量没有显著变化; 但接受27 Gy辐射后显著升高, 说明27 Gy辐射对小鼠肝功能有显著损伤。

图1 X射线辐射后小鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶变化(n=4)

Figure 1 Change of aspartic aminotransferase content in mouse blood plasma after X-ray radiation (n=4)



与5 d 0 Gy剂量相比, ^aP < 0.05。

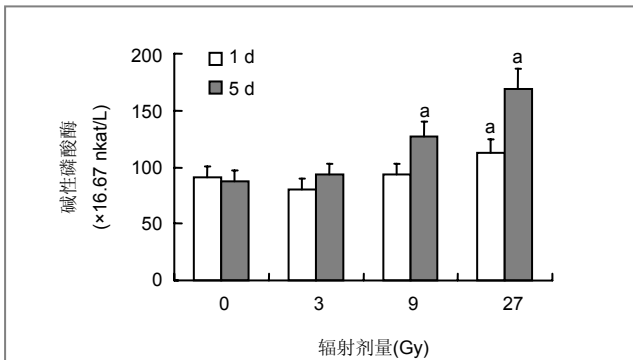
注: 接受3 Gy和9 Gy X射线辐射后, 在不同时间检测血清中丙氨酸氨基转移酶的含量没有显著变化; 但接受27 Gy辐射第5天显著升高, 说明27 Gy辐射5 d对小鼠肝功能有显著损伤。

图2 X射线辐射后血清丙氨酸氨基转移酶变化(n=4)

Figure 2 Change of alanine aminotransferase level in mouse blood plasma after X-ray radiation (n=4)

碱性磷酸酶在9 Gy辐射后显著升高, 表明低剂量头部辐射虽未引起肝脏功能显著损伤, 但可能引起肝脏或者骨骼中辐射损伤修复增加, 见图3。血清中总超氧化物歧化酶在辐射后24 h没有显著改变, 见图4, 但在第5天超氧化物歧化酶显著降低。血清内过氧化脂质含量显著升高, 见图5, 表明虽然小鼠仅接受头部辐射, 但引起了全身过氧化物增多和氧化应激效应。血清中肌酸磷酸激酶和尿素氮水平没有显著变化, 见图6, 表明局部低剂量辐射并未造成心脏和肾脏功能的显著损伤。但小鼠在接受头部辐射27 Gy剂量后, 各项生化指标均发生显著改变, 小鼠自发活动减少, 毛色枯槁, 尿量减少,

表明该辐射剂量对小鼠的存活产生严重影响, 但9 Gy和27 Gy辐射剂量之间的详细变化需要进一步研究证实。

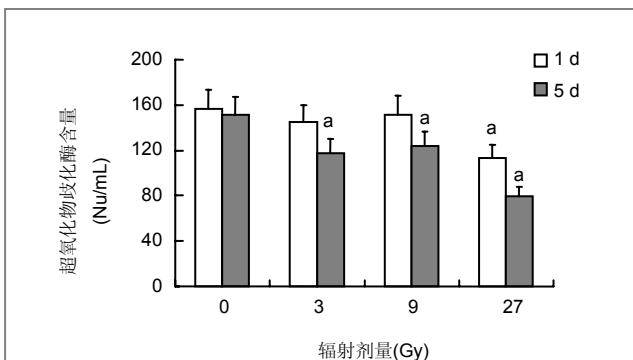


分别与 1 d, 5 d 相应 0 Gy 剂量相比, $^aP < 0.05$ 。

注: 碱性磷酸酶在 9 Gy 辐射 5 d 后有显著性升高, 表明低剂量头部辐射虽未引起肝脏功能显著损伤, 但可能引起肝脏或者骨骼中辐射损伤修复增加。

图 3 X 射线辐射后小鼠血清碱性磷酸酶变化($n=4$)

Figure 3 Change of alkaline phosphatase level in mouse blood plasma after X-ray radiation ($n=4$)



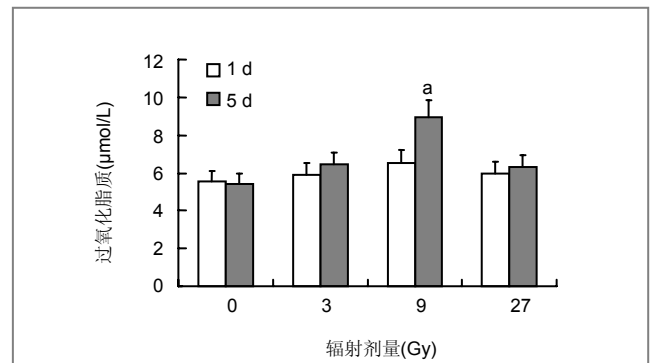
分别与 1 d, 5 d 相应 0 Gy 剂量相比, $^aP < 0.05$ 。

注: 血清中总超氧化物歧化酶在接受辐射 1 d 后略有降低, 但在最高剂量差异有显著性意义, 第 5 天各剂量均显著降低, 差异有显著性意义。

图 4 X 射线辐射后小鼠血清超氧化物歧化酶含量变化($n=4$)

Figure 4 Change of superoxide dismutase level in mouse blood plasma after X-ray radiation ($n=4$)

2.3 小鼠头部辐射后尿液检测出辐射损伤标志物 小鼠经9 Gy X射线辐射或假辐射后收集0-24 h尿液, 辐射组收集尿液减少, 但与假辐射组比较没有统计学差异。将NMR谱图数据归一化后用主成分分析, 非监督的PCA法并不能将辐射组和假辐射组数据进行有效区分, 所以运用监督的OPLS分析方法, 将数据分为辐射组和假辐射组, 图7展示了9 Gy X射线辐射或假辐射后OPLS得分。9 Gy X射线辐射后有3个明确的标志物, 分别是3-羟基-2-甲基苯甲酸-3-氧硫酸盐, N-乙酰甘氨酸和 β -胸苷。

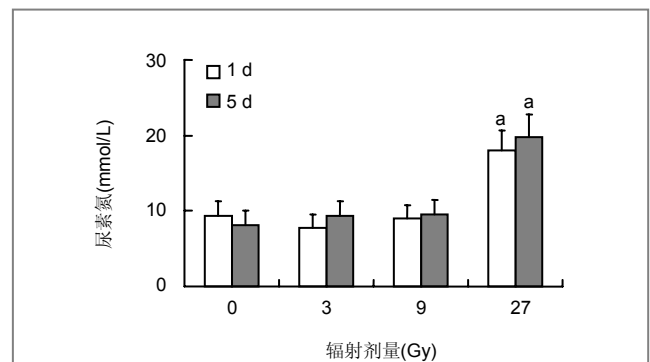


分别与 1 d, 5 d 相应 0 Gy 剂量相比, $^aP < 0.05$ 。

注: 接受 9 Gy 辐射第 5 天血清内过氧化脂质含量显著升高。

图 5 X 射线辐射后小鼠血清过氧化脂质浓度变化($n=4$)

Figure 5 Change of lipid peroxidation level in mouse blood plasma after X-ray radiation ($n=4$)



分别与 1 d, 5 d 相应 0 Gy 剂量相比, $^aP < 0.05$ 。

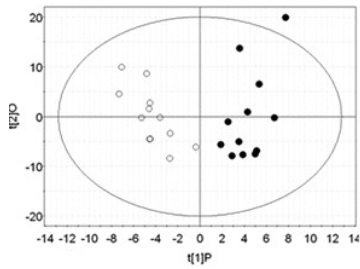
注: 接受 3, 9 Gy 辐射后血清中尿素氮水平没有显著变化; 但接受 27 Gy 辐射后显著升高, 说明 27 Gy 辐射对小鼠肾脏功能有显著损伤。

图 6 X 射线辐射后小鼠血清尿素氮水平变化($n=4$)

Figure 6 Change of serum urea nitrogen after X-ray radiation in mice ($n=4$)

小鼠经27 Gy X射线辐射或假辐射后收集0-24 h尿液, 辐射组收集尿液减少, 但与假辐射组比较没有统计学差异。依然运用监督的OPLS分析方法, 将数据分为辐射组和假辐射组, 图8展示了27Gy X射线辐射或假辐射后OPLS得分柱状图。辐射后有3个明确的标志物, 分别是N-乙酰甘氨酸, 牛磺酸和 β -胸苷。

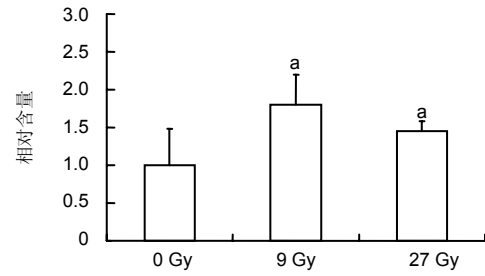
尿液中3-羟基-2-甲基苯甲酸-3-氧硫酸盐在接受9 Gy X射线辐射后升高了2.5倍, 但27Gy X射线辐射后并未变化, 见图9; N-乙酰甘氨酸在接受9 Gy和27Gy X射线辐射后升高了40%-80%, 见图10; β -胸苷在接受9 Gy和27 Gy X射线辐射后升高了六七倍, 见图11, 尿液牛磺酸仅在27 Gy X射线辐射后升高20%, 见图12。



注: (○)为假辐射组尿液样本, (●)为接受 9 Gy 辐射后尿液样本。横坐标为一维得分贡献率, 直观表示了基于辐射状态的聚类分离。

图 7 小鼠经 9 Gy X 射线辐射头部后 OPLS 得分图和荷载点状图

Figure 7 OPLS score plot and the loading point chart after 9-Gy radiation in mice

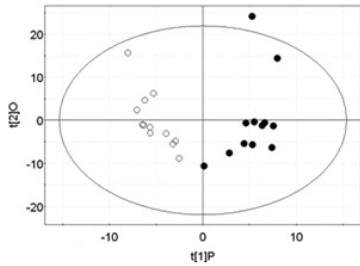


与 0 Gy 剂量组相比, $^aP < 0.05$ 。

注: N-乙酰甘氨酸在接受 9 Gy 和 27 Gy X 射线辐射后升高了 40%-80%, 可作为头部辐射后尿液中的辐射损伤标准物。

图 10 X 射线辐射头部后小鼠尿液中 N-乙酰甘氨酸相对含量变化

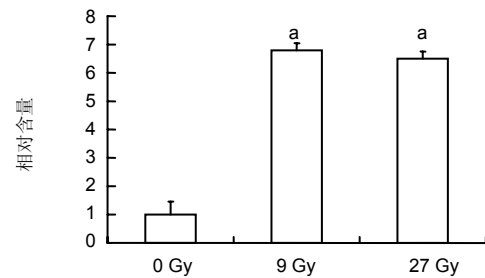
Figure 10 Change of N-hexamolglycine level after X-ray radiation in mice



注: (○)为假辐射组尿液样本, (●)为接受 27 Gy 辐射后尿液样本。横坐标为一维得分贡献率, 直观表示了基于辐射状态的聚类分离。

图 8 小鼠经 27 Gy X 射线辐射头部后 OPLS 得分图和荷载点状图

Figure 8 OPLS score plot and the loading point chart after 27-Gy radiation in mice

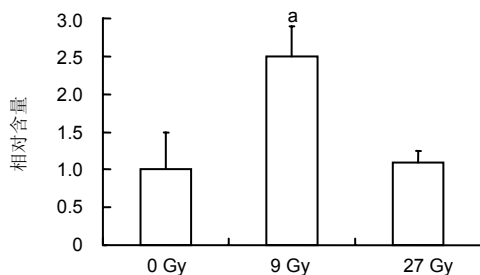


与 0 Gy 剂量组相比, $^aP < 0.05$ 。

注: β -胸苷在接受 9 Gy 和 27 Gy X 射线辐射后升高了六七倍, 可作为头部辐射后尿液中的辐射损伤标准物。

图 11 X 射线辐射头部后小鼠尿液中 β -胸苷相对含量变化

Figure 11 Change of β -thymidine level after X-ray radiation in mice

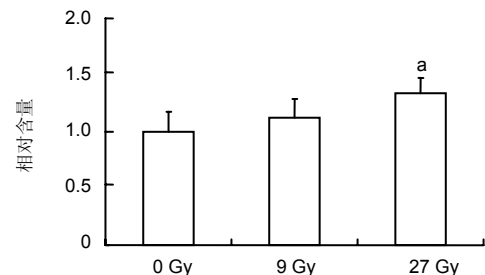


与 0 Gy 剂量组相比, $^aP < 0.05$ 。

注: 尿液中 3-羟基-2-甲基苯甲酸-3-氧硫酸盐在接受 9 Gy X 射线辐射后升高了 2.5 倍, 但 27 Gy X 射线辐射后并没有显著变化; 可作为中低剂量辐射损伤标志物。

图 9 X 射线辐射头部后小鼠尿液中 3-羟基-2-甲基苯甲酸-3-氧硫酸盐相对含量变化

Figure 9 Change of 3-hydroxy-2-methylbenzoic acid 3-O-sulfate level after X-ray radiation in mice



与 0 Gy 剂量组相比, $^aP < 0.05$ 。

注: 尿液牛磺酸仅在 27 Gy X 射线辐射后升高 20%, 可作为高剂量辐射损伤的特异标准物。

图 12 X 射线辐射头部后小鼠尿液牛磺酸相对含量变化

Figure 12 Change of taurine level after X-ray radiation in mice

3 讨论 Discussion

随着现代科学技术的发展, 人类越来越多的面临着暴露在离子辐射中的危险。除了人们所熟知的太空中的宇宙射线外, 各种人造的放射源也不可避免的对人类产生危害。同时, 对于长期接触离子辐射的人群, 如医护人员、放疗患者等, 需要尽早发现辐射损伤的部位及程度, 以便及早采取应对措施。所以寻找能够用于高通量监测辐射损伤的生物标记物显得尤为迫切, 高通量的筛选方法可以在应对紧急状况时做到对伤员迅速筛选和确定后续治疗方案。

基于核磁共振的代谢组学研究方法为辐射损伤的早期筛选和发现提供了良好的途径, 借助于高灵敏度的核磁共振氢谱、液相色谱-质谱联用等先进仪器可以实现高精度、大样本、快速的分析^[9-13]。辐射-代谢组学研究兴起于近5年, 但因其借助于高灵敏度的检测仪器, 使得其发展非常迅速, 而且波及到医药学研究的诸多领域^[14], 如国内外学者研究四物汤对辐射所致血虚模型的代谢组学研究^[15-18], 并取得了良好的研究成果。然而国内尚未见利用代谢组学方法研究辐射损伤的相关报道。

实验通过基于¹H-NMR 的代谢组学研究方法对X射线辐射小鼠头部模拟正常头颈部肿瘤的放射治疗^[19], 有文献研究动物全身接受X射线辐射后代谢组学变化, 本研究采用头部局部辐射研究代谢物变化, 相对于动物全身辐射模型更加接近合理的临床应用^[20]。小鼠头部接受辐射后分析血液生化指标的改变和尿液代谢物, 结果表明X射线辐射会导致血清部分生化指标的改变, 如碱性磷酸酶升高、过氧化脂质升高、超氧化物歧化酶降低, 表明头部辐射引起机体辐射损伤修复增加和氧化应激效应, 所以通过血液生化指标的改变可以预测辐射损伤部位及程度^[21-26]。尿液代谢物检测分析表明不同辐射剂量产生了不同的辐射损伤标志物, 甲基苯甲酸是许多芳香类物质代谢的终末产物, 但甲基苯甲酸母核属于多靶点配体药物, 对于肿瘤细胞有多重功能^[27], 小鼠经头部中剂量X射线辐射后尿液中3-羟基-2-甲基苯甲酸-3-氧硫酸盐升高, 可以作为X射线中度辐射损伤标志物^[24,28]。牛磺酸是体内含硫氨基酸的终末代谢产物, 在大脑发育过程中具有神经营养因子和神经保护性因子作用, 也可以通过增强脑组织超氧化物歧化酶活性, 提高清除氧自由基能力, 改善学习记忆^[29-31], 且作为一种抑制性神经递质, 拮抗兴奋性氨基酸的神经毒性^[32]。本项目中小鼠接受大剂量X射线辐射后尿液中牛磺酸含量升高, 表明头部X射线辐射引发氧化应激反应, 进而诱导牛磺酸大量生成而保护机体免受损伤, 所以牛磺酸可以作为X射线重度辐射损伤标志物。而N-乙酰甘氨酸和β-胸苷在接受中、高剂量X射线辐射后均有显著升高, N-乙酰甘

氨酸的增加可能与改善细胞有氧代谢, 有效降低辐射损伤效应有关^[33-34]。但是在血液生化指标检测和尿液代谢物检测中未发现同一的辐射损伤标志物, 可能缘于不同的检测靶标, 血液生化检测主要以功能性蛋白质为主要靶标, 而尿液代谢物检测靶标主要为小分子产物, 二者是否具有同一性需要进一步深入研究。

作者贡献: 设计、实施、评估者为本文作者, 均受过专业培训。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 代谢组学-通过组群指标分析, 进行高通量检测和数据处理, 研究生物体整体或组织细胞系统的动态代谢变化, 特别是对内源代谢、遗传变异、环境变化乃至各种物质进入代谢系统的特征和影响的学科。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Garaj-Vrhovac, V, Kopjar N. The alkaline comet assay as biomarker in assessment of DNA damage in medical personnel occupationally exposed to ionizing radiation. *Mutagenesis*.2003; 18:265-271.
- [2] Blakely WF, Prasanna PG, Grace MB, et al. Miller. Radiation exposure assessment using cytological and molecular biomarkers. *Radiation Protection Dosimetry*.2001;97: 17-23.
- [3] Budhwar R, Bihari VN, Mathur A, et al. DNA-protein cross links as a biomarker of exposure to solar radiation: a preliminary study in brick-kiln workers. *Biomarkers*.2003;8: 162-166.
- [4] Porciani S, Lanini A, Balzi M, et al. Polyamines as biochemical indicators of radiation injury. *Phys*. 2001;17 : (Suppl. 1) 187-188.
- [5] Menard C, Johann D, Lowenthal MT, et al. Discovering clinical biomarkers of ionizing radiation exposure with serum proteomic analysis. *Cancer Res*.2006;66:1844-1850.
- [6] Arun S, Laila MP, Thekkelnaycke MR, et al. Metabolic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature*. 2009;457(7231):910-914.
- [7] Wolfram, RM., Budinsky AC, Palumbo B, et al. Radioiodine therapy induces dose-dependent in vivo oxidation injury: evidence by increased isoprostane 8-epi-PGF. *Nucl Med*. 2002;43:1254-1258.
- [8] Wang LF, Hu XJ, Peng RY, et al. Application of ¹H-NMR-based metabolomics for detecting injury induced by long-term microwave exposure in Wistar rats' urine. *Anal Bioanal Chem*. 2012; 404(1):69-78.

- [9] John BT, Andrew DP, Kristopher WK, et al. Radiation metabolomics:1. Identification of minimally invasive urine biomarkers for gamma-radiation exposure in mice. *Radiation Research*.2008;170(1):1-14.
- [10] John BT, Andrew DP, Kristopher WK, et al. Radiation metabolomics:2. Dose- and time-dependent urinary excretion of deaminated purines and pyrimidines after sublethal gamma-radiation exposure in mice. *Radiat Res*.2009; 172(1):42-57.
- [11] Christian L, Andrew DP, Josef S, et al. Radiation Metabolomics:3. Biomarker discovery in the urine of gamma-irradiated rats using a simplified metabolomics protocol of gas chromatography-mass spectrometry combined with random forests machine learning algorithm. *Radiation Research*.2009;172(2):198-212.
- [12] Johnson CH,Patterson AD,Krausz KW,et al.Radiation metabolomics.4. UPLC-ESI-QTOFMS-Based metabolomics for urinary biomarker discovery in gamma-irradiated rats. *Radiation Research*. 2011;175(4):473-484.
- [13] Johnson CH, Patterson AD, Krausz KW, et al. Radiation metabolomics. 5. Identification of urinary biomarkers of ionizing radiation exposure in nonhuman primates by mass spectrometry-based metabolomics. *Radiat Res*. 2012;178(4): 328-340.
- [14] Coy SL, Cheema AK, Tyburski JB, et al. Radiation metabolomics and its potential in biodosimetry. *Int J Radiat Biol*.2011;87(8):802-823.
- [15] Ma Z, Huo C, Zhou S, et al. Metabonomic study on siwu tang in radiation-induced blood deficient mice. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*.2012;37(9):1289-1295.
- [16] 霍超,王穆,马增春,等.辐射损伤所致血虚证小鼠模型及四物汤反证的代谢组学研究[J]. *天津中医药*,2010,27(3):233-235
- [17] Wang M, Rang W, Zhang Q, et al. NMR-spectroscopy-based metabonomic approach to analysis of Siwutang, a novel prescription, treated blood deficiency in mice. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*.2010;35(5):630-634.
- [18] Huo C, Ma Z, Wang M, et al. NMR-spectroscopy-based metabonomic study on mouse model of blood deficiency syndrome induced by compound method of bleeding, starved feeding and exhausting and effect of siwu tang. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2010;35(23):3194-3198.
- [19] Chen C, Brenner DJ, Brown TR. Identification of urinary biomarkers from X-irradiated mice using NMR spectroscopy. *Radiat Res*. 2011;175(5):622-630.
- [20] Neerathilingam M, Volk DE, Sarkar S, et al. ¹H NMR-based metabonomic investigation of tributyl phosphate exposure in rats. *Toxicol Lett*.2010;199(1):10-16.
- [21] Schoedl K,Schuhmacher R, Forneck A.Correlating physiological parameters with biomarkers for UV-B stress indicators in leaves of grapevine cultivars Pinot noir and Riesling. *Journal of Agriculture Science*.2013;151(2):189-200.
- [22] Lake JA, Field KJ, Davey MP, et al. Metabolomic and physiological responses reveal multi-phasic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to chronic UV radiation. *Plant Cell Environ*. 2009;32(10):1377-1389.
- [23] Kim S, Yun EJ, Hossain MA, et al. Global profiling of ultraviolet-induced metabolic disruption in *Melissa officinalis* by using gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*.2012;404(2):553-562.
- [24] Smutná M, Beňová K, Dvořák P, et al. Protein carbonyls and traditional biomarkers in pigs exposed to low-dose gamma-radiation. *Research in Veterinary Science*.2013, 94(2):214-218.
- [25] Liu H, Wang Z, Zhang X, et al. Selection of candidate radiation biomarkers in the serum of rats exposed to gamma-rays by GC/TOFMS-based metabolomics. *Radiat Prot Dosimetry*.2013;154(1):9-17.
- [26] Gruber F, Bicker W, Oskolkova OV, et al. A simplified procedure for semi-targeted lipidomic analysis of oxidized phosphatidylcholines induced by UVA irradiation. *J Lipid Res*. 2012;53(6):1232-1342.
- [27] 赵娟,朱一婧,曾露,等.作用于FTase和Raf-1激酶的新型抗肿瘤药物的设计[J]. *药学学报*, 2011, 46(2): 170-178.
- [28] Bott R, Dublineau I, Gourmelon P, et al. The metabolomic approach identifies a biological signature of low-dose chronic exposure to cesium 137. *J Radiat Res*. 2012; 53(1):33-43.
- [29] 张芳玲,邵蔚.牛磺酸对NMDA诱导的视网膜神经节细胞损伤的保护作用[J]. *江苏医药*,2013,39(3):263-265.
- [30] 陆彩玲,宋凌勇,唐深,等.牛磺酸改善染锰大鼠学习记忆能力的海马蛋白质组学研究[J]. *营养学报*,2012,34(6):553-557.
- [31] 杨曦,陆彩玲,郭松超,等.牛磺酸对锰中毒大鼠学习记忆的影响[J]. *中国药物与临床*,2010,10(2):128-130.
- [32] 成兰云,门秀丽,张连元,等.内质网应激诱导的细胞凋亡在大鼠肢体缺血再灌注后肺损伤中的作用及牛磺酸的影响[J].*中国病理生理杂志*,2010,26(9): 1776-1780.
- [33] 李腾,彭靖,吕尚军,等.甘氨酸对烧伤大鼠心肌细胞能量代谢的影响[J].*重庆医学*,2012,41(33):3476-3478.
- [34] Manna SK, Krausz KW, Bonzo JA, et al. Metabolomics Reveals Aging-associated Attenuation of Noninvasive Radiation Biomarkers in Mice: Potential Role of Polyamine Catabolism and Incoherent DNA Damage-repair. *J Proteome Res*. 2013;12(5):2269-2281.