DOI:10.16016/j.1000-5404.1983.02.001

^{60}Co-r线照射对大鼠血清及小肠粘膜碱性磷酸酶及5′-核苷酸酶活性的影响

肖卢媛 彭高生

（生化教研室）

摘 要

经^{60}Co-r线800rad一次全身照射大鼠24小时后，小肠粘膜AKP和5'-N活性降低均非常显著（$P<0.001$），血清AKP活性改变不明显。血清5'-N活性则显著增高（$P<0.05$）。肠粘膜AKP与5'-N都是质膜上外酶，在对辐射敏感性上表现出相似的敏感性。射线致使肠粘膜AKP活性降低，可能作用于AKP活性中心上的-SH使之氧化，也可能抑制酶的合成。辐射致使肠粘膜AKP和5'-N活性降低，可能影响肠道对营养物质的吸收，以及可能引起腺苷酸环化酶的激活受阻。

目前认为动物经射线照射后，从分子水平观察其损伤机理，射线至少作用于两种靶子，一是DNA分子，二是生物膜上的大分子化合物[1][2]。碱性磷酸酶（AKP, EC3.1, 3.1）和5′-核苷酸酶（5′-N, EC3.1, 3.5）是质膜的标志酶。这两种酶对营养物质的吸收，以及生成腺苷激活质膜上的腺苷酸环化酶等作用上都可能起作用。肠是辐射敏感的器官，有文献报导以不同剂量的r-线局部照射大鼠小肠部位，可引起肠隐窝数目减少和粘膜中转化酶、AKP等活性降低[3]。另有报导用组织化学方法检测小鼠、大鼠及豚鼠肠微绒毛刷状缘上AKP，发现照射后AKP活性降低[4]。动物受照射后肠粘膜5′-N活性有无变化尚未见报导。由于5′-N与AKP都是贯穿质膜的外酶（Ectoenzyme），它们在放射敏感性上是否有一致性，是一个可探索的问题，因此我们测定了大鼠照射后血清及小肠粘膜AKP、5′-N活性，观察其变化，以积累这方面的资料，可能为肠型放射病病理提供某些线索。

材 料 与 方 法

大鼠体重150—220克，雌性，分为两组，照射组经^{60}Co-γ线800rad全身照射，24小时后断头取血，并取小肠粘膜约250mg，加Tris-HCl缓冲液，pH7.7，磨成匀浆（1:10稀释），分别测定血清及小肠粘膜中AKP和5′-N的活性以及粘膜匀浆的蛋白质含量，对照组除不照射外，其余处理皆同照射组。

AKP测定按King等方法[5]，以苯基磷酸二钠为底物，在pH10的碳酸钠缓冲液中加入样品0.1ml，底物水解释出磷酸和酚，酚与氨基安替比林作用，经高铁氰化钾氧化成红色醌类化合物，用721分光光度计（四川分析仪器厂产品）在520nm处比色，测得光密度，根据标准曲线算出100ml样品中的金氏单位数。1个金氏单位为在pH10溶液中37℃下保温15分钟，释出1mg酚。

5′-N测定按Wootton的方法[6]，以5′-AMP为底物在pH7.5的巴比妥缓冲液中加入样品

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

0.2ml，保温，底物水解释出无机磷，最后测定无机磷，用721分光光度计在680nm 处比色。为除去由血清或组织中非特异的AKP催化所生成的无机磷，实验同时作测定管与测定空白管，前者不加氯化镍，后者则加入氯化镍以抑制5′-N的活性，根据两管光密度之差即可算出5′-N的活性。5′-N的单位数以毫国际单位/ml/分表示，1个毫国际单位为1分钟释出1nM无机磷。

蛋白质测定按Lowry等方法[7]，以Folin-酚试剂显色，在500nm处用721分光光度计比色。

结 果 与 讨 论

照射与对照两组的血清、小肠粘膜中AKP和5′-N的活性列表于下：

两组大鼠血清及小肠粘膜中AKP、5′-N的活性

	血清		小肠粘膜	
	AKP (金氏单位/100ml)	5'-N (毫国际单位/ml/分)	AKP (金氏单位/mg蛋白)	5'-N (毫国际单位/mg蛋白/分)
照射组	45.23±5.85(26)	36.19± 9.89(26)	6.70± 4.04(25)	16.21± 5.59(24)
对照组	47.27±8.81(26)	25.22±10.32(24)	65.46±25.13(30)	36.57±12.05(25)
t	0.98	2.71	8.52	5.37
p	>0.05	<0.05	<0.001	<0.001

照射组血清AKP活性为45.23±5.85金氏单位/100ml，对照组为47.27±8.81 金氏单位/100ml，两组相比较差别不显著(P>0.05)。血清5'-N活性照射组为36.19±9.89毫国际单位/ml/分，对照组为25.22±10.32毫国际单位/ml/分，两组相比较，照射组增高显著(P<0.05)，照射组小肠粘膜AKP活性为6.70±4.04金氏单位/mg蛋白质，对照组为65.46±25.13金氏单位/mg蛋白质，两组相比较，照射组小肠粘膜AKP活性降低非常显著（P<0.001）。照射组小肠粘膜5'-N活性为16.21±5.59毫国际单位/mg蛋白/分，对照组5'-N活性为36.57±12.05毫国际单位/mg蛋白质/分，两组比较，照射组降低非常显著（P<0.001）。

大鼠受照射后，小肠粘膜AKP活性降低与 Kudryavtsev[3]以及 Surinov[8]所报导的结果基本一致，Kudryavtsev报导大鼠小肠局部以1000、1400rad照射后，第一天即引起小肠隐窝数目减少。小肠粘膜转化酶和AKP活性在第三天明显降低，20天后仍存活的大鼠则完全恢复正常活性[3]，Surinov报导大鼠受1000 rad γ-线全身照射后，第三天明显出现小肠粘膜AKP同工酶活性减少，血清同工酶也减少[8]。动物受照射后小肠粘膜AKP活性降低与应用组织化学的检测方法所观察到的结果也是一致的。有文献报导用组织化学方法观察，经照射后的小鼠、大鼠和豚鼠，第一天即出现小肠微绒毛刷状缘上AKP活性降低[4]。

受照射大鼠小肠粘膜AKP活性降低的原因，可能有二：一是酶分子中的-SH受到破坏，根据小牛肠AKP受苯基乙二醛 (Phenylglyoxal) 及碘乙酰胺 (Iodoacetamide) 的抑制，表明AKP的活性中心可能含有精氨酸残基和-SH[9]。另外，狗经3戈瑞 (Gy) 照射后血清AKP活性降低，而给予半胱胺则有保护作用，可使AKP活性不致降低[10]。说明射线对 AKP 的抑制作用，很可能系氧化-SH；二是，AKP的酶量减少，由于酶的合成量减少，这可能与大鼠照射后肠隐窝数目减少有关。

大鼠受照射后小肠粘膜5'-N活性降低未见报导，不过这两种酶都是质膜酶，又都是外

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酶，所谓外酶必须是质膜中的整合蛋白质，同时酶的活性中心又必须位于细胞外表面[11]。还有它们又都是磷酸酯酶。它们在对放射敏感性上可能有一致性，我们的结果正表明：小肠粘膜中的AKP和5'-N在放射敏感性上，表现出相似的性质。

在小肠粘膜上的AKP和5'-N这两种质膜外酶，其生理功能可能与营养物质的吸收有关，如对Ca^{+}、Na^{+}以及核苷等的吸收起作用。此外，5'-N水解核苷酸生成的核苷，如腺苷有扩张血管的作用，以及有调节腺苷酸环化酶活性的作用[11]。最近认为腺苷是腺苷酸环化酶的潜在活化剂，它可使腺苷酸环化酶激活，从而促进cAMP的生成[12]。因此受照射的动物肠粘膜中AKP和5'-N活性降低，可能与肠型放射病的消化道功能紊乱有某些联系，如营养物质吸收障碍、小肠粘膜中cAMP含量降低等。我们曾报导大鼠经800 rad ^{60}Co-γ线全身照射后24小时，小肠粘膜中cAMP降低[13]。肠粘膜中cAMP降低一方面可能由于cAMP-磷酸二酯酶活性增强所致，另一方面也可能由于腺苷酸环化酶受到抑制。本实验肠粘膜5'-N活性降低，似可说明腺苷生成减少，可致腺苷酸环化酶的激活受到抑制。

受照射大鼠24小时后血清AKP活性比对照组稍有降低，但统计处理两组无明显差别（$P>0.05$），这与Stepan报告的结果不一致。Stepan报导大鼠经X-线100－800R一次全身照射，24小时后血清AKP活性及血清肠型AKP同工酶活性均降低，故认为系由肠释放入血的AKP减少所致[14]。我们的结果血清AKP降低不明显，可能由于其他组织器官如肝、肾释放入血的酶量增多。照射组大鼠血清5'-N活性增高，也可能由于其它组织器官释放入血的5'-N增多的原故。

参 考 文 献

（1）Khare S, et al: Radiation Effects on Membranes 1. Cellular Permeability and cell survival. Rad Res 90:233, 1982

（2）沈文梅、陈能乾：生物膜与辐射损伤。国外军事医学资料第二分册，1，1979

（3）Kudryavtsev VD: Peculiarities of postradiation recovery of small intestine mucosa depending on radiation dose. Radiobiologiya (Russ) 19(6):916,1979

（4）Kurt l Altman, et al: Rad Biochem 2:90, 1970, Academic Press New York and London.

（5）Richard J Henry, et al: Clinical Chemistry principles and Technics, 2nd ed, p924, 1974

（6）Lynch, et al: Medical Lab and Clin Path, 2nd ed, p314,1969

（7）Lowry OH, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. JBC 193, 265, 1951

（8）Surinov BP: Effect of varying doses of γ-rays on the content of isoenzyme of AKP in the blood serum and Small intestine mucosa of rats. Radiobiologiya 15 (4): 599, 1975

（9）Abdolrazaghi Ziaedin, et al: Reactive groups in mammalian AKP: Loss of enzyme activity after reaction with Phenylglyoxal and Iodoacetamide. Biochem Soc Trans 8(5):645,1980

(10) Krizala J, et al: Influence of radioprotective agents on the activities of isoenzyme of blood serum ALP in irradiated dogs. CA 93 (9): 88746 b, 1980

(11) Stanley KK, et al: What do ectoenzymes do ?TIBS 7(4): 145, 1982

(12) D Schulster, et al: Cellular receptors for Hormones and Neurotransmitters. p65, 1980

(13) 肖卢凌、周长保、杨文学、苏礼民：^{60}Co-r线照射对大鼠组织环腺苷酸含量的影响。第二军医大学学报 3(4):16, 1981

(14) Stepan J, et al: Serum AKP as indicators of radiation damage in rats. Rad Res 70(2): 406, 1977

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net