DOI:10.16016/j.1000-5404.1981.04.004

^{60}Co-γ线照射对大鼠组织环腺苷酸含量的影响

生化教研室　肖卢媛　周长保　杨文学　苏礼民

摘　要

大鼠全身经^{60}Co-γ线800rad一次照射后24小时，测定血浆、肝、脾和小肠粘膜中cAMP含量，结果表明：照射组和对照组两组血浆cAMP含量(43.82±7.68，41.26±6.71Pmol/ml血浆，P>0.05)和肝中cAMP含量(7.80±1.14，8.05±2.08Pmol/mg蛋白质，P>0.05)都无明显改变，脾cAMP含量照射组较对照组有显著增高(41.28±8.06，28.95±12.67Pmol/mg蛋白质，P<0.05)，而小肠粘膜cAMP含量照射组较对照组则显著降低(4.89±2.53，7.87±2.02Pmol/mg蛋白质，P<0.01)。

3'，5'-环腺苷酸(cAMP)是激素的第二信使，在调节细胞代谢、细胞生化和生理等过程中有重要的作用。组织中环腺苷酸水平受内源和外源很多因素的影响，如激素、神经、免疫、物理、化学、电离辐射等因素所影响，电离辐射损伤会影响到组织细胞中cAMP含量和cAMP生成与分解的酶活性[1][2]。近年来有报导动物γ-线一次全身照射后，肝、脾中cAMp含量有变化，一般认为肝是辐射较不敏感的组织，脾是辐射敏感组织。动物经照射后肝中cAMP含量变化不大，而脾则增高[1]。但也有报导肝、脾中cAMP含量都增高[3]。对于肠粘膜中cAMP含量变化报导甚少，但肠也是辐射敏感组织。因此，我们观察了大鼠经^{60}Co-γ线照射后，血浆、肝、脾、小肠粘膜等组织中cAMP含量的变化，以积累这方面的资料。

材料与方法

大鼠体重200—250克，全部为雌性，分为两组：正常对照和照射组。照射组经^{60}Co-γ线800 rad一次全身照射，24小时后用乙醚麻醉，开胸腔心脏抽血致死，血液用EDTA抗凝，肝、脾、小肠粘膜置水浴中，加入1 N过氯酸溶液磨成匀浆。对照组除不照射外，其余处理与照射组相同。

组织提取液的制备[4]：称取肝、脾、肠粘膜约250mg，加入冷冻的1 N过氯酸液少量，用组织匀浆器磨成匀浆，再用1 NPCA稀释至5毫升，吸取1 ml组织匀浆，离心，取上清液用20%KOH中和，离心除去过氯酸沉淀，上清液在水浴上(70℃以下)蒸干，加入0.2—0.5 ml Tris缓冲液溶解，离心，上清液即组织提取液。

血液和组织cAMP测定：按竞争性蛋白结合分析法[4]，所用^{3}H-cAMP、标准cAMP、蛋白激酶、活性炭、血清白蛋白等试剂都采用国产cAMP测定药箱(北京原子能研究所制)所供给的，所加试剂量较原法减少。标准cAMP(或样品)50μl，^{3}H-cAMP 30μl、蛋白激酶50μl，空白管(B)不加标准或样品，也不加激酶，而以100μlTris缓冲液代替，加完激酶后，0—2℃温育2小时，然后加吸附剂50μl，总体积为180μl，加吸附剂后5分钟，离心4

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

分钟（3000转/分），吸取上清液120μl，加入5 ml PPO和POPOP闪烁液中，放置过夜，次日用国产FJ353G液体闪烁探测仪（西安262厂制）测量。总计数管(Ct)只加150μl Tris缓冲液和^3H-cAMP30μl，混合后，吸取120μl，计数。各管计数率减去空白计数率，求得Co/Cx值，以Co/Cx对Pmol（标准cAMP）作标准曲线，求得样品中cAMP的含量。

组织蛋白质测定：按微量凯氏定氮法[5]，将剩余的1N PCA组织匀浆4 ml全部进行定氮测定，测出每ml匀浆中含蛋白质mg数。

结果与讨论

两组大鼠血浆、肝、脾、小肠粘膜等组织中cAMP含量如下表：

两组大鼠血浆和组织中cAMP的含量

	血浆 (Pmol/ml)	肝 (Pmol/mg蛋白质)	脾 (Pmol/mg蛋白质)	小肠粘膜 (Pmol/mg蛋白质)
照射组M±S(N)	43.82±7.68(14)	7.80±1.14(12)	41.28±8.06(9)	4.89±2.53(10)
对照组M±S(N)	41.26±6.71(15)	8.05±2.08(10)	28.95±12.67(7)	7.87±2.02(10)
t	0.947	0.340	2.245	2.913
p	>0.05	>0.05	<0.05	<0.01

上述结果表明两组大鼠血浆和肝脏cAMP含量相比较差别不显著（$P>0.05$），而两组脾脏cAMP含量相比较照射组显著增高（$P<0.05$），两组小肠粘膜cAMP含量相比较，照射组cAMP含量降低非常显著（$P<0.01$）。

我们所测得的正常对照组大鼠血浆cAMP含量为41.26±6.71Pmol/ml，与中国医学科学院基础组等[4]所测得的大鼠血浆cAMP35—45Pmol/ml，基本一致。但与Patterson等[6]所测得的正常大鼠血浆cAMP含量37±2.3（7）Pmol/ml相比较，则我们的结果略高于他们的结果。照射组与对照组血浆cAMP含量无明显变化，说明在电离辐射情况下，组织虽有cAMP含量变化，但未能反映至血中。

正常对照组肝cAMP含量为8.05±2.08Pmol/mg蛋白质。Hiroshi Kimura等[7]用乙醚麻醉大鼠后取出肝脏和大鼠断头后立即取出肝测定cAMP的含量。用乙醚麻醉测得肝cAMP含量为7.34±0.67Pmol/mg蛋白质，而大鼠断头测得肝cAMP含量为5.98±0.98Pmol/mg蛋白质。因此，活杀大鼠的方法不同对肝cAMP含量会有影响。我们在活杀大鼠时也采用了乙醚麻醉，故所得结果与Hiroshi Kimura等采用乙醚麻醉的结果基本相近，对照组和照射组的肝cAMP含量相比较无明显改变，说明肝是电离辐射较不敏感的组织，这种不敏感性可能由于肝细胞膜上的腺苷酸环化酶对辐射不敏感，国内有报导小鼠全身经$^{60}Co-\gamma$线照射后，对于辐射不敏感的肝脏，其中腺苷酸环化酶活性变化不明显[8]。

正常对照组脾脏cAMP含量为28.95±12.67Pmol/mg蛋白质，此结果与Tsang等[9]所测得正常大鼠脾cAMP含量为2.9Pmol/mg湿重相比较，我们的结果如以每mg湿重表示则为3.3 Pmol，略微偏高，基本上相近。照射组脾cAMP含量(41.28±8.06Pmol/mg蛋白质)较之对照组有显著增高，Kavrakirova等[3]报导大鼠经900 radX-线照射后24小时，脾的重量和DAN含量明显降低，而cAMP水平则可增高6倍，并保持此水平持续到第三天。我们的实验结果

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

照射后脾cAMP增高尚不到1倍，这可能与照射剂量（800 rad)比较小有关。Trocha等[1]报告大鼠经γ-线1000 rad全身照射后3—6小时脾脏cAMP和cGMP的水平增高，脾脏系辐射敏感组织，脾组织细胞膜上的腺苷酸环化酶，受照射后其活性增高[8]，因而cAMP的水平也增高。

正常对照组小肠粘膜cAMP含量为7.87±2.02Pmol/mg蛋白质，Steiner等[10]报道正常大鼠小肠粘膜cAMP含量为830—970Pmol/mg湿重，而我们的结果如以每克湿重表示则为1600—3600Pmol/mg湿重。故比Steiner等的结果要高约2—4倍，这可能与活杀大鼠时使用了乙醚麻醉有关。

照射组与对照组小肠粘膜cAMP含量相比较，照射组含量(4.86±2.53Pmol/mg蛋白质)降低非常显著。Lehnert报道小鼠在照射后用甲基黄嘌呤、咖啡因、茶碱、甲基异丁基黄嘌呤等cAMP磷酸二酯酶抑制剂腹腔注射，有保护小鼠肠对抗辐射的作用[11]。这些cAMP磷酸二酯抑制剂给小鼠注射后，可使空肠中cAMP的含量增加，同时也可小肠隐窝干细胞活存数增加，这表明动物经射线照射后小肠中cAMP含量降低，cAMP磷酸二酯酶活性增高，我们的结果：肠粘膜cAMP含量明显降低，可能与肠中cAMP磷酸二酯酶活性增高有关。因此，肠为辐射敏感组织。

小　结

大鼠经^{60}Co-γ线800rad一次全身照射后，血浆和肝脏中cAMP水平无明显变化，而脾脏中cAMP含量较对照组明显增高，肠粘膜中的cAMP含量则非常显著地降低。实验表明肝为辐射较不敏感的组织，而脾、肠粘膜为辐射敏感组织，脾中cAMP含量增高可能系因腺苷酸环化酶活性增高所致，而肠粘膜cAMP含量降低，则可能因cAMP磷酸二酯酶活性增高所致。

参 考 文 献

1. Trocha PJ & Catravas GN: Variation in cyclic nucleotide levels & lysosomal enzyme activities in irradiated rat. Radiat Res 83(3)658,1980

2. Köteles GJ: New Asects of cell membrane radiobiology. Atomic Energy Rev 17(1) 3, 1979

3. Kavrakirova S, Khadzhishi L & Popov P: cAMP in rat spleen, kidney & liver after total x-irradiation. CA 92:176598 q, 1980

4. 放射免疫分析及其它放射体外测定方法 p.228,原子能出版社，1975

5. Hawk's Physiological Chemistry p. 1219, 14th ed. 1965

6. Patterson WD, Hardman JG & Sutherland EW: A Comparison of cyclic nucleotide levels in plasma & cell of rat & Human blood. Endocrin 95(1), 325,1974

7. Hiroshi Kimura, Ellijabeth Thomas & Eerid Murad: Effects of decapitation, ether & pentobarbital on cGMP & cAMP levels in rat tissue. Biochem Bioph Acta 343, 519, 1971

8 顿业敏、郭海年、周克伦：^{60}Co-γ线照射对小鼠脾脏和肝脏腺苷酸环化酶活性的影响。军事医学科学院院刊，2期，133，1980

9. Tsang RW, Lehotay DC & Murphy BE: Competitive Binding Assay of cAMP employing a bovine adrenal protein application to urine, plasma & tissue. J Clin Endocrinol Meta 35, 809, 1972

10. Steiner AL, Pagliara AS, Chase LR & Kipnis AS: Radioimmunoassay for cyclic nucleotides cAMP & cGMP in mammalian tissue & body fluids. JBC 247, 1114, 1972

11. Lehnert S: Radioprctection of mouse intestine by inhibitors of cyclic AMP Phosphodiesterase. CA, 93(1), 285w, 1980

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