

静脉注入机体¹⁶⁹Yb-柠檬酸盐对组织中 cAMP 和 cGMP 含量的影响

朱寿彭 王崇道 曹根法 李尹民

(苏 州 医 学 院)

在核动力装置运转的过程以及在核爆炸早期混合裂变产物中的¹⁶⁹Yb 是一种污染物。本文研究了静脉注入不同剂量的¹⁶⁹Yb-柠檬酸盐对大白鼠骨、肝和肺组织内 cAMP 和 cGMP 含量的影响。

实验方法

实验选用雄性大白鼠,体重为 $134 \pm (S.D)$ 14 克,共用 30 只,分对照和实验高、低剂量组。实验组大白鼠静脉注入放射纯和化学纯的¹⁶⁹Yb-柠檬酸盐剂量分别为 20 微居里/公斤(4 微居里/毫升)和 400 微居里/公斤(80 微居里/毫升),容量均为 0.5 毫升。分别在¹⁶⁹Yb-柠檬酸盐注入后的 24 小时和 3 天,测定组织中 cAMP 和 cGMP 的含量。

一、组织样品处理

实验大白鼠由颈动脉放血处死后,迅速剖取出肝、肺和股骨,立即放置到固态二氧化碳中保持低温冰冻状态,以防止磷酸二酯酶破坏 cAMP 或 cGMP。随即在低温冰冻条件下用扭力天平称取被测组织样本各 100 毫克,然后将其迅速转入到预先加入 1N HClO₄ 1 毫升及 1% 的 0.5 M pH 7.5 的 EDTA 液的匀浆器中,用 25 瓦电动搅拌机以 3000 转/分的转速研磨 1 分钟。由于 EDTA 能破坏磷酸二酯酶,所以其后就不必再保持低温条件。将已制备好的组织匀浆自匀浆器转移到离心管中,再取 1N HClO₄ 1 毫升洗涤匀浆器后,也倒入离心管中,用 3500 转速离心 30 分钟,

使蛋白质沉淀。取其上清液直接倒至刻度离心管中,缓慢加入 20% 的 KOH 溶液中和至 pH 7.4 左右,使蛋白质充分沉淀。再经同样离心步骤,倾出透明上清液,放置于井型短测量管中,置于管架上,最后连同管架一并放入真空干燥箱内经 4 小时蒸干,再加入 1 毫升 TE 缓冲液(0.05 M Tris 加 0.004 M EDTA)溶解之。吸取上清液 40 微升,供作测定 cAMP 用。另吸取 100 微升作测定 cGMP 使用。

二、测定方法

测定 cAMP 采用竞争性蛋白结合法。测定试剂选用中国科学院原子能研究所提供的 cAMP 药盒。操作步骤如下:

1. 加样 先取不同浓度的标准 cAMP 或已处理的待测样品 50 微升,编号列于管架上,放入塑料冰浴中,内加适量水份,然后投入冰块,使保持温度在 1—2℃。再加入比度为 27.8 居里/毫摩尔的 ³H-cAMP 30 微升及蛋白激酶 40 微升;

2. 培育 摇匀,反应 3 小时。到时按次序取出反应管,加入预先冷却至 2℃、pH 6 的缓冲液淋洗管壁,以终止其反应;

3. 分离 滴至孔径为 0.2—0.3 微米的微孔滤膜上减压抽滤,然后再加入 10 毫升 pH 6 的冷缓冲液淋洗管壁,并冲洗膜片;

4. 烘干 用虹膜镊夹膜片放入不锈钢盘中,置 80℃ 烘箱中经 30 分钟烘干;

5. 测试 取出冷却后,即可投入含有

4% PPO 和 0.1% POPOP 的甲苯闪烁液 8 毫升的闪烁杯中,用镊子将膜片轻轻压在闪烁杯底部铺平,置于双道液体闪烁计数器中测定放射性强度,并换算至 1 克组织中 cAMP 含量的微微摩尔数。

测定 cGMP 采用放射免疫法。药盒由中国科学院原子能研究所提供。 ^3H -cGMP 的比度为 20 居里/毫摩尔。我们先取不同浓度的标准 cGMP 或已处理的待测样品 100 微升,放入塑料冰浴中加入适量水份,然后投入冰块,保持在 1—2℃。随后加入 ^3H -cGMP 20 微升,最后加抗血清 100 微升,轻轻摇匀。随后的培育、分离、烘干和测试步骤同测定 ^3H -cAMP 的操作过程。

实 验 结 果

一、比较 ^{169}Yb -柠檬酸盐对肝、肺和骨组织中的 cAMP 含量影响

从表 1 可见,对照组肝组织中的 cAMP 含量平均为 577.5 微微摩尔/克组织,肺组织中为 845 微微摩尔/克,而骨组织中则达 150 微微摩尔/克。当大白鼠静脉注入 ^{169}Yb -柠檬

酸盐 20 微居里/公斤后 24 小时,发现在各观察组织中的 cAMP 含量比对照组显著增高,此时肝组织中 cAMP 含量增高到 1127.5 微微摩尔/克,肺组织中增至 1440 微微摩尔/克,在骨组织中显著增高达 302.5 微微摩尔/克。当大白鼠静脉注入 ^{169}Yb -柠檬酸盐的剂量增大至 400 微居里/公斤后 24 小时,则可观察到上述组织中的 cAMP 水平更进一步呈显著增高。可是,无论机体接受低剂量或高剂量的 ^{169}Yb -柠檬酸盐后,经过 3 天的观察表明,在上述各组织中的 cAMP 含量与对照组已不呈现统计学上的差异。

二、比较 ^{169}Yb -柠檬酸盐对肝、肺或骨组织中 cGMP 含量的影响

由表 2 所示,正常大白鼠肝组织中 cGMP 的含量为 20.1 微微摩尔/克组织,肺组织为 18.2 微微摩尔/克,而在骨组织中则为 20.9 微微摩尔/克。在大白鼠静脉注入低剂量的 ^{169}Yb -柠檬酸盐 20 微居里/公斤后 24 小时,可见到在上述观察组织中的 cGMP 含量比对照组显著增高;肝中的 cGMP 含量升高到 40.4 微微摩尔/克,肺组织中达 41.8 微微摩

表 1 ^{169}Yb -柠檬酸盐对大白鼠肝、肺和骨组织中 cAMP 含量的影响

剂 量 ($\mu\text{Ci}/\text{kg}$)	静脉注射 后时间	每组动物数 (只)	cAMP 含量 (pmol/g), $\bar{M} \pm S.D$		
			肝	肺	骨
对照	—	5	577.5 $\pm$ 79.2	845.0 $\pm$ 266.5	150.0 $\pm$ 42.4
20	24h	5	1127.5 $\pm$ 97.4**	1440.0 $\pm$ 607.6*	320.6 $\pm$ 62.2**
400	24h	5	1360.0 $\pm$ 507.6**	2842.5 $\pm$ 1514.0*	482.5 $\pm$ 64.1**
20	3d	5	520.0 $\pm$ 100.2	667.5 $\pm$ 79.4	100.0 $\pm$ 53.7
400	3d	5	855.0 $\pm$ 439.3	607.5 $\pm$ 293.2	294.9 $\pm$ 181.9

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$.

表 2 ^{169}Yb -柠檬酸盐对大白鼠肝、肺和骨组织中 cGMP 的含量影响

剂 量 ($\mu\text{Ci}/\text{kg}$)	静脉注入 后时间	每组动物数 (只)	cGMP 含量 (pmol/g), $\bar{M} \pm S.D$		
			肝	肺	骨
对照	—	5	20.1 $\pm$ 13.9	18.2 $\pm$ 5.9	20.9 $\pm$ 13.5
20	24h	5	40.4 $\pm$ 11.3*	41.8 $\pm$ 17.9*	101.0 $\pm$ 23.8**
400	24h	5	94.0 $\pm$ 46.6**	68.8 $\pm$ 43.6*	130.0 $\pm$ 58.2**
400	3d	5	29.8 $\pm$ 14.2	27.6 $\pm$ 12.7	44.0 $\pm$ 33.4

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$.

尔/克,而骨中则增高至 101 微微摩尔/克的水平,而当大白鼠静脉注入高剂量(400 微居里/公斤) ^{169}Yb -柠檬酸盐 24 小时后,在这些组织中的 cGMP 含量则显著增高。当观察延续到 3 天时,肝、肺或骨组织中的 cGMP 含量都已回复到正常水平范围。

讨论和结论

环核苷酸 cAMP 和 cGMP 是具有重要生物活性的物质,它们广泛存在于机体各组织内,在机体的各种生理过程和物质代谢中起着重要的调节作用。我们的实验观察表明,正常机体内各观察组织中 cGMP 的含量仅只有 cAMP 的 1/10 到 1/50 之间,这个相应的比值与 Greengard 所报道的很近似^[3]。

Sheppard^[4]曾观察到,细胞的生长取决于细胞内 cAMP 含量水平。在其含量下降时,细胞就不断增殖;而当其含量升高时,细胞的增殖就受到抑制。在转化的细胞内,cAMP 的含量也低于正常水平。从目前的实验结果来看,发现在引入机体不同剂量的 ^{169}Yb -柠檬酸盐后,由于 ^{169}Yb 在体内呈现的电离辐射效应,可以引起细胞的增殖功能受到暂时的抑

制,影响组织细胞的转化,从而肝、肺和骨骼等观察组织内 cAMP 短时间内明显增高,增高的程度也随着引入 ^{169}Yb -柠檬酸盐放射量的增高而增加,这是因为 ^{169}Yb 的剂量增高时,可使电离辐射效应增高,使细胞的增殖受到更多的抑制所致。

值得指出的是,由于在实验过程中 ^3H -cAMP 与蛋白激酶或 ^3H -cGMP 与抗血清都是呈高度特异性结合的,而 ^{169}Yb 却不能与蛋白激酶或抗血清结合,所以 ^{169}Yb 几乎全部被洗脱,而在微孔滤膜上用液闪法对 ^{169}Yb 的放射性强度测定是呈本底水平的。因此,在本实验中注入机体而引起体内辐射效应的 ^{169}Yb ,不会干扰对于 ^3H -cAMP 或 ^3H -cGMP 的放射性强度的测定。

参 考 文 献

- [1] 朱寿彭、江骥,中国药理学报,2(1),64(1981).
- [2] Sheppard, J. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **68**(6),1316(1971).
- [3] Greengard, P., *Advances in Cyclic Nucleotide Research*, Vol. 3, p. 156, Acad. Press, London, 1973.
- [4] Кудряшов, Ю. Б. и Соболев, А. С., *Радиобиология*, **17**(5), 687 (1977).

对雷达天线周围树木的观察

陈国璋 汪行华

孙文轩

(浙江医科大学微波研究室) (杭州空军某医院)

电磁波作为评价环境质量的的一个的物理因素,已为世界各国所重视。许多国家都对此制订了职业暴露的安全辐射标准和居民卫生标准。我国也制订了部颁安全辐射的职业暴露标准^[1,2],居民卫生标准正在积极制订之中。电磁波的生物效应,在动物和人方面已有大量研究^[3,4,5],通过这些研究,人们对电磁波作用于生物体所产生的致热效应方面已取得

基本一致的意见。但对电磁波,特别是弱电磁波除了致热效应以外,还有所谓“非热效应”(nonthermal effects)^[6],无论在理论上还是在实验上都远未统一^[7]。这方面已有不少研究工作^[8-10],都集中在动物和人体方面,而在植物方面的工作还未见到。本文报道平均功率密度为 50—250 微瓦/厘米²(脉冲功率密度约为 20.8—194.7 毫瓦/厘米²)的超高频电磁场