

四种核酸前体对小鼠小肠辐射损伤的恢复作用

曾桂英 谢学军 田芙蓉 周元恺

(第四军医大学防原医学教研室 西安 710032)

摘要 BALB/c 小鼠接受 1050cGy ^{60}Co γ 射线全身照射后 1h 内肌肉注射四种核酸前体(ATP、GMP、Adenine、Thymine)中的一种,可以提高十二指肠、空肠及回肠的肠腺存活率约 20%,小肠的大体观察也较为正常。综合本文及作者以前的实验结果,认为核酸及其前体可用于大剂量电离辐射照射后引起的肠道辐射损伤的综合治疗。

关键词 电离辐射,核酸前体,小肠,恢复作用

以前的实验证实,小鼠受大剂量 γ 射线腹部照射后,从不同途径注射核酸(DNA、RNA)及其前体,均能提高空肠的肠腺存活率^[1~5]。本文报道小鼠受 1050cGy γ 射线全身照射后,经肌肉注射三磷酸腺苷(ATP)、5'-鸟苷一磷酸(GMP)、腺嘌呤(Adenine)和胸腺嘧啶(Thymine)对十二指肠、空肠及回肠肠段辐射损伤的恢复作用。

1 材料与 方法

1.1 试剂

三磷酸腺苷:江苏新沂制药厂产品(针剂);5'-鸟苷一磷酸和腺嘌呤:中科院上海生物化学研究所产品;胸腺嘧啶:上海试剂二厂生产。实验当天用注射用生理盐水将上述试剂分别配成浓度为 $500\mu\text{g}/\text{ml}$ 的注射液。

1.2 动物

BALB/c 雌性小鼠,10~11 周龄,体重 $22\sim 24\text{g}$ 。按体重随机分组,每组 12 只。

1.3 照射

小鼠以 0.5%戊巴比妥钠(剂量为按体重 $40\text{mg}/\text{kg}$)腹腔注射麻醉后,固定于有机玻璃照射盒内。用 ^{60}Co γ 射线一次全身照射 1050cGy ,剂量率为 $104.4\sim 105.6\text{cGy}/\text{min}$,照射源至动物中心的距离为 1.7m。照射总时间的一半后将动物翻身照射,以求得照射剂量的均匀。

1.4 给药方式

小鼠在接受全身照射后 1h 内,在后肢肌肉内注射实验试剂或生理盐水。给药组每只小鼠只注射一种核酸前体注射液 0.2ml ($500\mu\text{g}/\text{ml}$);照射对照组小鼠仅注射生理盐水每只 0.2ml 。

1.5 肠段取材

照射后第 4d 用颈椎脱臼法活杀小鼠。剖腹后,在离幽门远端约 1cm 处取约 2cm 长的远端肠段,作为十二指肠标本;在离 Treitz 韧带远端约 3cm 处取约 2cm 长的远端肠段,作为空肠标本;在离回盲部近端约 4~5cm 处取约 2cm 长的近端肠段,作为回肠标本。用肉眼观察肠段大体情况后,以生理盐水冲净肠内容物,制作肠腺计数标本。

1.6 肠腺存活率的测定

取给药组和照射对照组小鼠的十二指肠、空肠和回肠段,在低倍镜下分别计数单位面积肠片

上的肠腺数和绒毛数,计算肠腺存活率^[6]。

肠腺存活率= $\frac{\text{照射肠片上的肠腺绒毛比}}{\text{正常肠片上的肠腺绒毛比}} \times 100\%$ 。

2 结 果

2.1 动物的一般情况

照射后第 1、2d,给药组和照射对照组均有进食减少,活动度和毛色与正常动物无显著差异。照射后第 3d,各给药组小鼠毛较光滑,有光泽,大便干。而照射对照组小鼠毛蓬乱,光泽差,大便稀。照射后 3.5d 动物开始死亡,第 4d 照射对照组尚存活 5 只,各给药组存活数分别为:ATP 7 只, GMP 6 只, Adenine 10 只, Thymine 8 只。

2.2 小肠标本的肉眼观察

照射后第 4d,将存活小鼠活杀,观察小肠大体情况。各给药组小鼠肠腔内充满食物,肠壁红润,个别动物肠壁有轻度水肿。照射对照组小鼠肠腔内充盈混有胆汁的积液,肠壁发白,水肿。

2.3 肠腺存活率的变化

在低倍镜下分别计数小肠粘膜单位面积上的肠腺数和绒毛数,求得肠腺数与绒毛数的比值,按肠腺存活率的计算公式求得肠腺存活百分率。结果见表 1。

Tab.1 Effect of four kinds of nucleic acid precursor on the crypt survival in mice after 1050cGy whole-body γ irradiation ($\bar{x}\pm s$, n=5~10)

Reagent	Duodenum	Jejunum	Ileum
ATP	76.61±1.85 ⁽¹⁾	70.75±2.69 ⁽¹⁾	53.55±3.73 ⁽¹⁾
GMP	64.64±3.13 ⁽¹⁾	68.66±3.19 ⁽¹⁾	52.18±4.45 ⁽¹⁾
Adenine	63.21±4.09 ⁽¹⁾	66.07±4.20 ⁽¹⁾	52.49±7.06 ⁽¹⁾
Thymine	69.71±7.52 ⁽¹⁾	67.46±6.77 ⁽¹⁾	43.28±3.38 ⁽²⁾
Saline	46.61±4.24	50.44±2.00	30.38±2.32

(1) $p<0.01$ (2) $p<0.05$

3 讨 论 与 小 结

实验结果表明,小鼠接受 1050cGy γ 射线一次全身照射后,可使 50%~70%的肠腺死亡,照射后 1h 内于肌肉内注射四种核酸前体(ATP、GMP、Adenine、Thymine)中的一种,可以提高十二指肠、空肠及回肠的肠腺存活率约 20%,大体观察小肠也较为正常。综合本实验及作者以前对小鼠的实验结果^[1~5],可以得出以下结论:

- (1) 小鼠接受大剂量 γ 射线腹部照射后,于局部空肠肠腔内注射核酸(DNA、RNA)或其前体(嘌呤、嘧啶类核苷酸、核苷或碱基)均可以提高小鼠空肠的肠腺存活率。
- (2) 采用不同途径(静脉、腹腔、肌肉、皮下)注射核酸及其前体,与肠腔注射一样也具有提高受照射小鼠肠腺存活率的作用。
- (3) 核酸及其前体不但可以提高腹部照射小鼠空肠的肠腺存活率,也可提高受全身照射小鼠十二指肠、空肠及回肠的肠腺存活率。
- (4) 核酸及其前体在小鼠接受照射后 6h 内 1 次注射即可生效。注射越早,效果越好。多次注射并不增加其效果。

(5) 从腹腔、肌肉、静脉等途径给小鼠注射核酸及其前体的合适剂量按体重为 $3.3 \sim 4.5 \text{ mg/kg}$ 。

大剂量电离辐射全身或腹部照射后,可引起消化道的辐射损伤,以小肠最为敏感。小肠肠腺内干细胞因照射而引起死亡,随着照射剂量的增加,肠腺内干细胞的死亡数目也增加。从理论上讲,当某个肠腺内干细胞的数目趋于零时,即可引起该肠腺的死亡。随着照射剂量的增加,肠腺死亡的数目也增加,动物的存活数随之减少^[6,7]。照射剂量较大时,可引起肠型放射病而死亡。目前对较重肠道辐射损伤的综合治疗方法为输液以矫正水、电解质平衡,给予抗菌素以控制感染,输血以促进造血恢复等对症措施。在机体受照射后的早期,若能设法使因受照射而行将死亡的某些肠腺得以存活(即在理论上说设法使受损而行将死亡的肠腺内至少有一个小肠干细胞能够被修复而存活),将会对受大剂量照射后肠道损伤的恢复产生有益的影响。故认为,核酸及其前体可促进肠腺内受损的小肠上皮干细胞和肠腺细胞得到修复存活,提高肠腺存活率,促进肠道损伤的恢复。因此,注射核酸及其前体似可作为大剂量电离辐射全身或腹部照射后引起的肠道损伤的综合治疗措施之一。

参 考 文 献

- 1 曾桂英,陈镇复,刘爱平等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1993, 11(1):53
- 2 刘爱平,曾桂英,周元恺. 生物化学与生物物理进展, 1993, 20(1):66
- 3 Zeng Guiying, Liu Aiping, Zhou Yuankai. China-Japan Medical Conference, Beijing, 1992, V:968
- 4 周元恺,刘爱平,曾桂英. 辐射研究与辐射工艺学报, 1994, 12(2):96
- 5 曾桂英,韩士臣,刘爱平等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1995, 13(4):233
- 6 周元恺,沈世仁. 生物化学与生物物理进展, 1979, (2):70
- 7 周元恺,胡琳. 生物化学与生物物理进展, 1982, (2):50

THE RESTORATIVE EFFECT OF FOUR KINDS OF NUCLEIC ACID PRECURSOR ON THE SMALL INTESTINE OF MICE AFTER WHOLE-BODY γ -IRRADIATION

Zeng Guiying Xie Xuejun Tian Furong Zhou Yuankai

(Department of Radiation Protection, Fourth of Millitary Medical University, Xi'an 710032)

ABSTRACT Four kinds of nucleic acid precursor (ATP, GMP, Adenine, Thymine) were injected intramuscularly into mice within 1h after 1050 cGy whole-body γ -irradiation. Four days later, the mice were sacrificed and about 2cm long segment of duodenum, jejunum and ileum were dissected respectively for crypt survival assay using the technique of crypt counting per unit area. The results indicated that about 20% increase in crypt survival has been observed at each intestinal segment of mice receiving the nucleic acid precursor injection as compared with that of irradiated control. Meanwhile, the gross appearance of the small intestine looks comparatively normal as well. From the results obtained both in this paper and in our previously published papers, which have been listed in detail in this paper, we propose that the nucleic acids (DNA, RNA) and its precursors (e.g. ATP, being used currently in clinical practice) can be used as one of the measures in the treatment of intestinal radiation damage induced by a large dose whole-body or abdominal irradiation.

KEYWORDS Ionizing radiation, Nucleic acid precursor, Small intestine, Restorative effect