

10 Gy X-线照射大鼠头部后 脑内单胺类介质与神经肽的变化

尉 军 冀致敏 刘树铮

(白求恩医科大学放射医学研究所, 长春)

摘要 本研究工作采用放射免疫分析、荧光检测及高效液相色谱分析等技术, 测定了大鼠经 10 Gy X射线头部照射后, 脑内单胺类化合物与某些神经肽含量的变化。结果表明: 头部照射后第 2 d, 下丘脑中 irL-Enk 和垂体 irM-Enk 明显减少; 而下丘脑 NE、E 和 DA, 间脑中 5-HIAA 及其与 5-HT 的比值明显增高。其它脑中的单胺类化合物变化不显著。提示下丘脑具有较高的辐射敏感性, 并且下丘脑所发生的上述变化将对神经与内分泌系统的机能活动产生重要影响。

关键词 头部电离辐射, 单胺类介质, 神经肽, 下丘脑

大剂量全身照射所引起的内分泌学变化主要与下丘脑机能活动的改变有关^[1]。早在 50 年代就有人报道, 脑组织的放射性损伤具有“选择性效应”^[2,3], 即脑组织是一个复杂的非均质性器官, 不同的脑区对辐射敏感性不同。然而, 过去所报道的资料多数是形态学方面的观察, 而对神经介质及其代谢方面的研究甚少。本研究工作采用较灵敏的放免分析、荧光分光光度法和高效液相色谱分析等技术, 测定了大鼠经 10 Gy X射线头部照射后脑内单胺类神经介质及某些神经肽, 并以下丘脑为重点, 讨论了各种神经介质与神经肽之间变化的相互关系。

材 料 和 方 法

1. 动物分组与照射

实验用本校动物部提供的雄性健康 Wistar 大鼠, 体重为 250 ± 30 g, 随机分为两组, 即头照组(H-Ir)和对照组(Ctl)。头部照射系在清醒状态下进行, 方法同参考文献[4]。

2. 下丘脑与垂体中脑啡肽和血管紧张素 II 的测定

(1) 样品制备 大鼠断头后立即取脑和垂体, 在沸生理盐水中煮 2—3 min, 以灭活肽酶, 然后分离下丘脑。垂体与下丘脑分别称重后, 用 0.1 mol/L 的盐酸匀浆, 然后经 1.0 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 7.6, 并加入 20% 体积的 PELH 溶液(100 ml 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液中含 0.11 g EDTA 钠盐、1.0 mg 溶菌酶和 200 mg 洗泌泰)。经 $3000 \times g$ 离心 30 min, 取上清并贮存在 -20°C 冰箱中。

(2) 样品测定 采用上海内分泌研究所提供的亮氨酸脑啡肽(L-Enk)、甲硫氨酸脑啡肽(M-Enk)和血管紧张素 II (A II) 药盒, 测定样品。

3. 脑组织中吲哚胺的荧光测定

(1) 样品制备 参照文献方法^[5], 大鼠断头后立即取脑, 在冰浴玻璃板上分离脑区, 称重后加入 10 倍体积的预冷酸性正丁醇, 脑组织不足 300 mg 时, 用重蒸去离子水补足。匀浆后, 经 $3000 \times g$ 离心 5 min, 取 2.5 ml 上清, 加 1.0 ml 0.1 mol/L 盐酸和 5.0 ml 正庚烷, 振荡 5 min,

再以 $3000 \times g$ 离心 5 min。取 6.0 ml 有机相, 加入 1.6 ml 0.5 mol/L 的磷酸缓冲液 (pH 7.0), 振荡 10 min 后, 离心去有机相, 取 1.0 ml 水相测定 5-羟吲哚乙酸 (5-HIAA), 其余提取液混合后取 1.0 ml 做空白对照。上述盐酸水相用水饱和乙醚 (5 ml) 洗后, 取 0.5 ml 测定 5-羟色胺 (5-HT), 其余液体混合后取同样体积做空白对照。

(2) 样品测定及含量换算 5-HIAA 测定: 1.0 ml 水相中加入 0.1 ml 1.0% 半胱氨酸溶液, 2.3 ml 0.008% 邻苯二甲醛溶液, 0.1 ml 0.02% 过碘酸钠溶液。在沸水中加热 10 min, 迅速冷却后, 用 365 nm 的激发光和 480 nm 的发射光波长测定。5-HT 测定: 0.5 ml 水相中加入 0.1 ml 0.5% 半胱氨酸溶液, 3.0 ml 0.006% 邻苯二甲醛溶液, 0.1 ml 0.02% 过碘酸钠溶液。在沸水中加热 10 min 后, 迅速冷却, 并以上述同样波长测定。以内标法进行含量换算, 并以毫克组织含量 (ng/mg) 表示。

4. 脑组织中儿茶酚胺 (CA) 的高效液相色谱分析

(1) 样品制备 大鼠断头后立即取材, 分离脑区并称重。用 10 倍体积的 0.1 mol/L 高氯酸溶液 (含 20 mmol/L NaHSO_3) 制成匀浆, $10,000 \times g$ 离心 30 min, 取上清待测。

(2) 样品测定 检测条件: 国产色谱柱 YWG- C_{18} (250 $\times$ 4 mm), 流动相为 40% 甲醇水溶液, 含 0.015% 的 SDS、0.03% 的硫酸及 0.0028% 的 EDTA。流速为 1.0 ml/min, 柱温 50°C, 荧光检测激发光波长 282 nm, 发射光波长 315 nm, 最小可测量为 0.5 ng/50 μl 。用外标法进行含量换算。

实验结果

1. 下丘脑与垂体中的神经肽变化

大鼠头部照后第 2 d, 下丘脑 irL-Enk 明显下降 ($P < 0.05$), 而 irM-Enk 仅有下降趋势 (见图 1); 垂体中的 irM-Enk 在照后第 2 d 明显减少 ($P < 0.05$), 但 irL-Enk 变化不明显 (见图 2); 下丘脑中的 irA II 在照后最初两天变化不明显 (见图 1), 但照后 5 d 明显减少 ($P < 0.05$)。

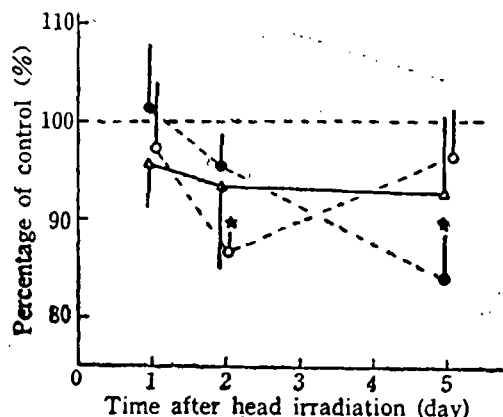


Fig 1. Changes of hypothalamic irEnk and irA II contents after head irradiation with 10 Gy X-rays
Each point is the mean $\pm$ S. E. from 6-8 rats. * $p < 0.05$.
($\circ - \circ$) irL-Enk, ($\triangle - \triangle$) irM-Enk, ($\bullet - \bullet$) irA II

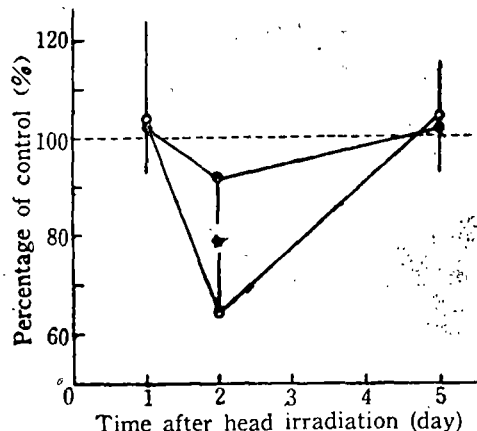


Fig 2. Changes of pituitary irEnk content after head irradiation with 10 Gy X-rays
Each point is the mean $\pm$ S. E. from 6-8 rats. * $p < 0.05$.
($\bullet - \bullet$) irL-Enk
($\circ - \circ$) irM-Enk

2. 脑内 5-HT 和 5-HIAA 的变化

大鼠头部受照后, 下丘脑中 5-HT、5-HIAA 及两者之间的比值均未发生明显改变(见表 1)。头部照射后 48 h, 端脑(TE)和脑干(BS)中的 5-HT、5-HIAA 及其比值无明显改变, 而间脑(DE)中的 5-HIAA 的含量增高($P<0.05$), 且与 5-HT 的比值增大($P<0.05$); 说明脑内的 5-HT 更新率加快(见表 2)。

Tab 1. Changes of 5-HT and 5-HIAA in the rats hypothalamus after head irradiation with 10 Gy X-rays

Time	Group	5-HIAA(ng/mg)	5-HT(ng/mg)	5-HIAA/5-HT
24 h	H-Ir	1.71 ± 0.16	2.42 ± 0.17	0.689 ± 0.061
	Ctl	1.80 ± 0.24	2.11 ± 0.08	0.828 ± 0.102
48 h	H-Ir	1.71 ± 0.16	2.08 ± 0.18	0.867 ± 0.169
	Ctl	1.77 ± 0.12	2.04 ± 0.11	0.863 ± 0.047
5 d	H-Ir	1.63 ± 0.09	2.20 ± 0.14	0.773 ± 0.072
	Ctl	1.89 ± 0.15	2.18 ± 0.10	0.895 ± 0.104

$\bar{X} \pm S. E.$, $n=8$ H-Ir: Head Irradiation, Ctl: Control

Tab 2. Changes of 5-HT and 5-HIAA in TE, DE and BS 48h after head irradiation with 10 Gy X-rays in rats

Brain area	Group	5-HIAA(ng/mg)	5-HT(ng/mg)	5-HIAA/5-HT
TE	H-Ir	0.525 ± 0.041	0.628 ± 0.043	0.862 ± 0.045
	Ctl	0.528 ± 0.037	0.626 ± 0.044	0.850 ± 0.039
DE	H-Ir	$0.998 \pm 0.031^*$	1.045 ± 0.056	$1.001 \pm 0.038^*$
	Ctl	0.886 ± 0.040	1.058 ± 0.050	0.844 ± 0.042
BS	H-Ir	0.879 ± 0.032	0.862 ± 0.060	1.021 ± 0.060
	Ctl	0.801 ± 0.026	0.872 ± 0.055	1.009 ± 0.060

$\bar{X} \pm S. E.$, $n=8-9$, $*p<0.05$

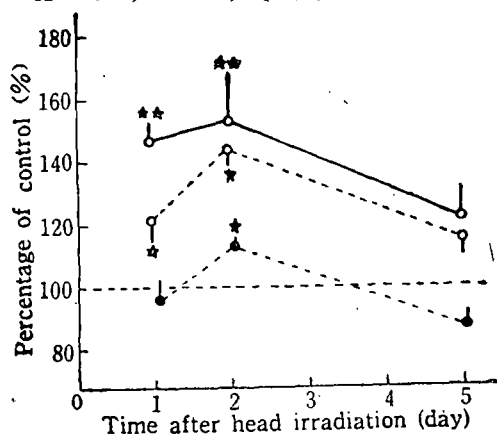


Fig 3. Changes of hypothalamic NE, E and DA contents after head irradiation with 10 Gy X-rays
Each point is the mean $\pm S. E.$ from 6-7 rats. $*p<0.05$, $**p<0.01$.
($\circ-\circ$) NE, ($\bullet-\bullet$) DA, ($\square-\square$) E

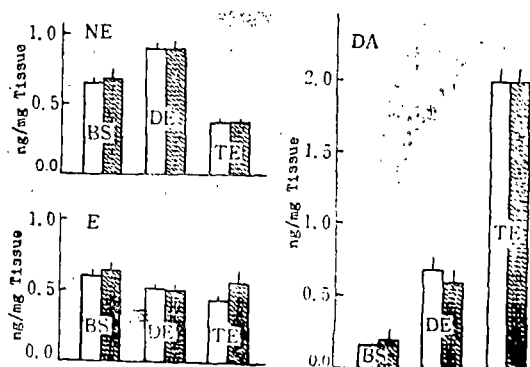


Fig 4. Changes of CA contents in TE, DE and BS 48h after head irradiation with 10 Gy X-rays
Each point is the mean $\pm S. E.$ from 6-8 rats.
($\square$) Control, ($\blacksquare$) Irradiation

3. 脑内儿茶酚胺含量的变化

大鼠头部受照射后 24 h, 下丘脑中去甲肾上腺素(NE)和肾上腺素(E)的含量明显升高, 48 h 达最高峰。与此同时, 多巴胺(DA)含量亦明显增高(见图 3)。然而, 在 TE、DE 和 BS 三个脑区中的三种儿茶酚胺介质均未见有明显改变(见图 4)。

讨 论

本研究结果表明, 大鼠头部受 10 Gy X射线照射后, 脑内单胺类神经介质发生了某些变化。其中, 以下丘脑内 CA 含量的变化最为明显, 提示下丘脑是一个辐射敏感性较高的脑区。下丘脑内 Enk 含量下降与 CA 含量增高有一定的内在联系。一般认为, 内源性鸦片肽通过突触前调节机制, 影响 CA 能神经末梢介质的释放与再摄取。Bicknell 于 1985 年综述了有关内源性鸦片肽在下丘脑对 CA 能神经的调节作用^[6], 指出 Enk 可通过受体机制抑制肾上腺素能神经末梢释放 NE 和 E。就本实验结果而言, 下丘脑中的 Enk 含量下降, 可能是由于合成减少所致。因为垂体中的 Enk 含量变化与下丘脑的变化平行。由于这种变化导致 Enk 对 CA 能神经元的抑制作用减弱, CA 能神经介质不仅更新率加快, 而且增加了合成, 使其在组织中的总含量增高。头部照射后, 下丘脑内的 5-HT 含量与代谢率均未出现明显变化。但在整个间脑, 5-HT 能神经的机能活动明显增强。这种效应的生物学意义尚不清楚, 或许会对高级神经的机能活动及植物性神经机能产生重要影响。在端脑, 各种单胺类介质均未发生明显变化, 说明端脑具有较高的辐射抗性。脑干是单胺类神经核团主要聚集的部位, 由此发出的神经纤维可分布于脑干以外的诸多脑区, 以调节它们的各种机能活动。因此, 在头部照射后, 尽管脑干本身未出现介质含量与代谢方面的变化, 但根据其它脑区中介质的变化可间接说明脑干中的某些核团也具有较高的辐射敏感性。

综上所述, 下丘脑是一个辐射敏感性较高的脑区。其神经介质与神经肽的变化将影响到整个神经与内分泌系统乃至其它系统的机能活动。对此进行深入系统的研究, 将能进一步阐明其生物学意义。

参 考 文 献

- [1] 刘树铮, 医用放射生物学, 原子能出版社, 1986年, 第107—118页。
- [2] A. Arnold, J. Clin. Endocrinol. Metab., 14, 859 (1954).
- [3] 王德文等, 国外军事医学资料, 4, 115 (1984).
- [4] 尉 军、刘树铮, 中国病理生理杂志, 5(2), 98 (1989).
- [5] G. Curzon and A. R. Green, Brit. J. Pharmacol., 39, 653 (1970).
- [6] R. J. Bicknell, J. Endocrinol., 107, 437 (1985).

(稿件收到日期: 1989 年 10 月 17 日)

CHANGES OF NEUROPEPTIDES AND MONOAMINE NEUROTRANSMITTERS IN THE BRAIN AFTER HEAD IRRADIATION WITH 10 Gy X-RAYS IN RATS

Wei Jun, Ji Zhimin and Liu Shuzheng

(Institute of Radiation Medicine, Norman Bethune
University of Medical Sciences, Changchun)

ABSTRACT In the present study radioimmunoassay, fluorimetry and high performance liquid chromatography were used to determine neuropeptides and monoamine neurotransmitters in the rat brain after head irradiation with 10 Gy X-rays. The results showed that the immunoreactive (ir) L-Enk in the hypothalamus and irM-Enk in the pituitary decreased markedly, while the contents of NE, E and DA in the hypothalamus, 5-HIAA in the diencephalon and the 5-HIAA to 5-HT ratio increased significantly. The monoamines in the other cerebral area showed no significant changes. These results suggest that the hypothalamus is comparatively radiosensitive and neurochemical changes in it may have profound influence on the functions of the nervous and endocrine system.

KEY WORDS Head irradiation, Monoamine neurotransmitters, Neuropeptides, Hypothalamus

(上接第 253 页)

A STUDY ON THE EFFECT OF QUALITY OF HIDE BY RADIATION OF $^{60}\gamma$ RAYS

Xu Shaoqin

(Environment Monitoring Center of Liaoning Province)

Wang Gongeng

(Academy of Military Medical Science of The Chinese People's Liberation Army)

Zhang Yulin

(Research Institute of Military Medical Science under The
Rear-service Department of Shenyang Military Area)

Nie Guang hong

(Science Research Institute of Supply and Marketing Cooperative
Society in Liaoning Province)

ABSTRACT has already proved that radiation with ^{60}Co γ rays with a dose less than 20 kGy possesses a good effect of pesticide and disinfectant. Tensile strength, rate of elongation, strength of break-up, tearing strength and number of folding break-off etc have been taken as the targets for inspecting the quality of hides after being radiated. The inspection proves that within a certain limit of dosage, radiation would not influence obviously the quality of the hides. Besides, it proves that in case a dosage of disinfectant or pesticide is used, the radiation would be able to kill reddish fur vermin.

KEY WORDS Hide, γ radiation