

电离辐射对动物机体几个主要酶系作用的研究(二)

——电离辐射对小白鼠肝脏黄嘌呤氧化酶的影响

黄大有 陶其敏 刘庚年 周永莹

1. 对于催化组成核酸的碱基之一——腺嘌呤降解代谢的黄嘌呤氧化酶活力在照射后的变化进行了研究。实验资料证明小白鼠经LD₅₀(400伦)外照射后,在不同的时间内表现了肝脏黄嘌呤氧化酶活力的增强,此与罗斯在大白鼠肝进行的实验结果基本相符。

2. 对黄嘌呤氧化酶活力增强的机制及意义方面进行了初步的讨论。

有关电离辐射对核酸代谢方面的影响,目前已进行了多方面的研究,多数工作指出了射线不论对于在生物机体内的核酸,抑或离体后提纯的核酸均有显著的影响,主要为抑制核酸的合成以及促进核酸的解聚^[1,2]。这些研究成果不独提供了电离辐射在生物效应方面重要作用的线索,同时也初步解释了体内最富有核酸(核蛋白)的组织器官或核分裂最活跃的细胞(如骨髓及某些恶性肿瘤细胞)对电离辐射最为敏感的机理。

在组成核酸的碱性含氮物中,不论是戊糖核酸(PNA)或脱氧戊糖核酸,其嘌呤碱皆含有鸟嘌呤(Guanine)及腺嘌呤(Adenine)^[3]。此二者均可间接地通过黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase)的催化生成尿酸。因此,黄嘌呤氧化酶对于核酸组成物——嘌呤碱的降解代谢起着重要的作用。

本工作旨在探讨动物机体经外照射后其肝脏黄嘌呤氧化酶活力的改变,从而为进一步研究电离辐射的生物效应及其机制提供实验依据。

一、材料及方法

1. 实验材料及准备工作

以体重为20—30克的正常雄性小白鼠为实验对象。全部实验动物分为正常对照组及照射组。在实验前皆饲以混合实验食¹⁾。在进行肝脏黄嘌呤氧化酶活力测定前12小时以内除水分外均行禁食。照射组动物皆用全身外照射方式,以X射线400伦(LD₅₀)对每只小白鼠进行全量一次照射,照射条件与前同(见本文第一部分)。于照射后第2, 4, 6, 9, 10, 11及15日分别测定各组动物肝匀浆黄嘌呤氧化酶活力。对照组动物则不经照射而直接测定肝匀浆之酶活力。

2. 测定方法

测定肝匀浆黄嘌呤氧化酶活力系按伯耳(Ball)^[4]及埃洛德(Axelrod)等^[5]的氧吸收法以瓦尔堡(Warburg)呼吸器进行。测定时的pH条件则按登格特(Dhungat)法^[6]用0.15 M 焦磷酸缓冲液(pH为8.6)。测定时以击头法杀死动物,立即取出肝脏放入冰冷之生理盐水内,称取一定重量的肝组织以4倍量的冷蒸馏水制成20%肝匀浆备用。同时称取一定量之肝组织测其

1) 混合食的成份与本文第一部分相同。

干重。取瓦尔堡呼吸瓶，向主室内加入焦磷酸缓冲液 0.8 毫升，20% 肝匀浆 1.0 毫升，向中心杯内放入滤纸捲，并注加 10% NaOH 0.2 毫升，最后向支管内加入 0.03 M 黄嘌呤钠 0.2 毫升。如此每个反应瓶内液体的总容积为 2.2 毫升。空白对照瓶除向支管内注加蒸馏水 0.2 毫升以代替废物外，其余均与实验瓶相同。各瓶按次序与测压管连好后，在 37℃ 条件下，测各瓶的氧吸收量。实验结束时，以 60 分钟期间实验瓶的氧吸收总量(微升)减去空白对照瓶的氧吸收总量(微升)即为实际酶作用的氧吸收。最后再算出每 1.0 毫克干重肝组织在 60 分钟期间的氧吸收量(Q_{O_2} 值)。

二、实验结果

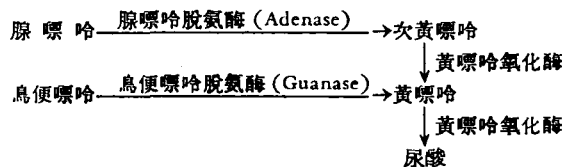
肝脏黄嘌呤氧化酶于照射后的变化:正常对照组 24 只小白鼠肝组织黄嘌呤氧化酶的活力(Q_{O_2}) 范围在 1.58—2.80 之间,平均为 2.07。照射后第 2 日酶活力范围在 1.80—2.71 之间,平均为 2.25, 比较之正常对照组的酶活力稍有增高(增加 7.3%)。照射后第 4 日酶活力范围在 1.52—2.48 之间,平均为 2.07。照射后第 6 日范围在 1.76—3.64 之间,平均为 2.65, 较正常对照增高 24.6%。照射后第 9 日范围在 1.95—3.74 之间,平均 2.62, 与照射后第 6 日的结果相近。照射后第 10—11 日酶活力范围在 2.16—3.01 之间,平均为 2.60。至照射后第 15 日,酶活力范围在 3.04—4.62 之间,平均为 3.82, 较正常对照增加 81.9% (全部实验结果参阅表 1 及图 1)。

表 1 X 射线(^{137}Cs) 全身外照射小白鼠(瑞士种)对肝匀浆黄嘌呤氧化酶活力的影响

照射后日数	黄嘌呤氧化酶活力 [Q_{O_2}]				t 值	机率 (P)
	动物数	均数 (M)	标准差 (S.D.)	标准误 (S.E.)		
正常对照	24	2.07	±0.43	±0.08		
2 天	7	2.25	±0.35	±0.14	1.13	>0.05
4 天	9	2.07	±0.35	±1.12	0	>0.50
6 天	8	2.65	±0.71	±0.25	2.26	<0.05
9 天	10	2.62	±0.49	±0.14	2.07	<0.05
10—11 天	5	2.60	±0.49	±0.22	2.26	<0.05
15 天	5	3.82	±0.28	±0.28	6.03	<0.01

三、讨论

黄嘌呤氧化酶在一般哺乳动物中主要存在于肝脏及乳汁内,在人类仅在肝脏含有此酶。此酶的底物专一性不强,除可催化黄嘌呤 (Xanthine) 及次黄嘌呤 (Hypoxanthine) 外,甲醛及其他醛类亦可为其作用之底物^[7,8]。此外,此酶尚有氧化还原型辅酶 I(OPNH) 的作用^[4]。但对动物机体来说,黄嘌呤氧化酶的主要作用底物乃属次黄嘌呤及黄嘌呤,其催化的反应如下:



由上反应可知,黄嘌呤氧化酶在嘌呤碱的降解代谢中,可使次黄嘌呤变为黄嘌呤,并将此黄嘌呤以及来自鸟嘌呤的黄嘌呤进一步变为尿酸。尿酸则为人类及灵长类动物的嘌呤碱降解代谢的最终产物。在其他哺乳类动物体中由于尚有尿酸酶 (Uricase) 存在,故可将尿酸进一

步变为尿囊素(Allantoin)排出体外。

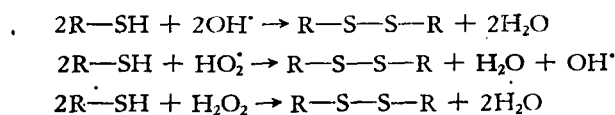
黄嘌呤氧化酶属黄酶类,其辅基有黄素(FAD)以及少量的铁和钼。

饲养膳食中缺乏蛋白质可导致大白鼠肝脏黄嘌呤氧化酶活力之降低,陈善明等曾报告缺乏蛋白质 18 天的大鼠,其肝脏完全没有黄嘌呤氧化酶的活力^[9]。罗斯(Roth)等^[10]研究用 600 伦剂量照射大白鼠,发现其肝脏黄嘌呤氧化酶的活力自照射后第 2 日开始逐渐上升,至照射后第 12 日其活力最高,本文的实验结果与罗斯等的实验结果基本相符(见图 1 及图 2)。

关于鼠肝黄嘌呤氧化酶的活力在照射一定时间后逐渐有所激活,这种现象发生的机制如何以及其对生物机体的辐射反应来说有何意义等问题,目前尚无系统的解释。

当电离辐射照射活的机体时,能使机体的整个组织、细胞和有机溶液中首先产生活泼的 OH· 自由基及 H· 基,但在溶液中有 O₂ 存在时,则可减少有还原作用的 H· 基,而增加有氧化作用的 OH· 基及 HO₂· 基,这是由于辐射对机体内的 H₂O 发生作用的结果。对 X 射线,γ 及 β 射线还可增加机体内的 H₂O₂,结果大大加强氧化能力,而可使一切有机化合物遭受破坏。

在电离辐射对酶的作用中,在机体内有些酶可受到抑制,有些则被激活。发生抑制的原因,据巴隆指出,可通过改变酶的辅基或破坏酶蛋白的结构,使酶蛋白发生变性改变。以 -SH 基为辅基的酶遭受抑制这一现象,则可由 -SH 基被水的自由基所氧化来加以解释^[11]。同时不少实验证明,含有一-SH 基的化合物(如半胱氨酸、谷胱甘肽 GSH 或 BAL 等)在一定程度上分别显示有“保护”某些 -SH 酶免遭或减少遭受射线的抑制作用,复活或部分复活某些已受抑制的酶类,或减轻机体辐射生物反应的作用。据巴隆^[12,13]推论,这主要可能也是通过 -SH 化合物减少了受辐射后机体内具有强力氧化作用的 OH· 基、HO₂· 基及 H₂O₂ 所致:



机体内某些酶在受到电离辐射后发生激活,可能由于在正常情况下细胞内的酶与底物不能自由接触,而经辐射后,其间的屏障遭受破坏,因而增加了酶的活力。

无论如何,机体内酶活力在电离辐射后有的受到抑制,有的被激活,有的无大改变,其形成

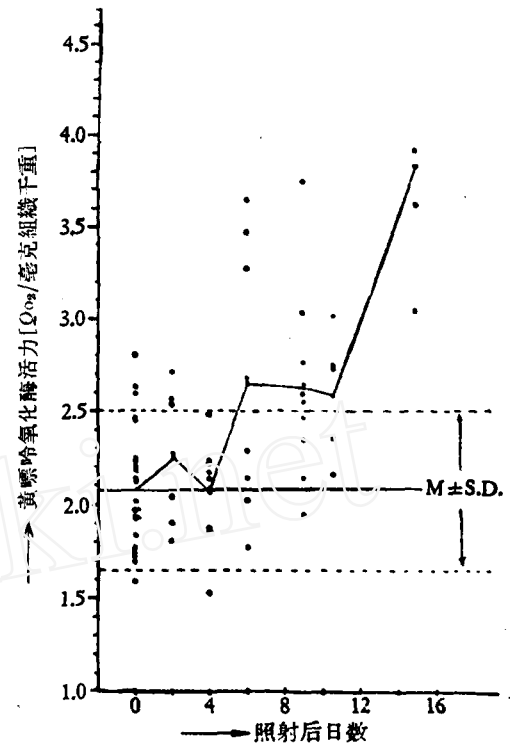


图 1 X 射线(LD₅₀)全身外照射小白鼠,在照射后不同时间肝脏黄嘌呤氧化酶活力的变化
●—● 酶活力变化 · 个体动物的酶活力

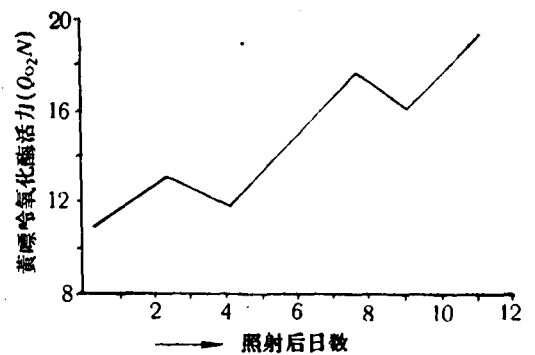


图 2 罗斯(Roth)氏^[10]实验以 600 伦照射大白鼠后,其肝脏黄嘌呤氧化酶活力之变化

的原因是非常复杂的,目前都还是在深入研究的阶段。

黄嘌呤氧化酶在体内经照射后于一定的时间内表现有所激活,其机制究属如何? 尚难肯定。

业经证明,人体在遭受照射后,由于引起蛋白质的降解代谢增加,其尿中的胱氨酸、门冬氨酸及谷氨酸的含量增加^[14],这说明在机体内首先出现了上述氨基酸的增加,欧森(Olson)与丁因(Dinning)^[15]发现胱氨酸对黄嘌呤氧化酶的形成有刺激作用。陈善明等^[16]发现过量甲硫氨酸对缺乏蛋白质膳食大白鼠肝的黄嘌呤氧化酶活力有特殊的恢复力。并指出甲硫氨酸与胱氨酸均为含硫氨基酸,而甲硫氨酸在动物体内可转变为胱氨酸。机体经电离辐射照射后,其自身的半胱氨酸(含-SH)如与OH·基、HO₂·基及H₂O₂作用,可转变为胱氨酸。因此经照射后体内的胱氨酸增多是否为黄嘌呤氧化酶激活的部分原因?是值得考虑的。

许多实验发现,在放射病的征象发展期,尿中尿酸、尿素、肌酸及肌酸酐的排出量均有增加^[15]。尿酸为嘌呤碱的降解代谢产物,因此尿酸增加这一现象反映了机体内嘌呤碱的降解代谢有所增强,但这是否为黄嘌呤氧化酶激活的结果(即根据照射后加强了酶与底物之间的接触性这一推论)尚难以肯定。但无疑地由于黄嘌呤氧化酶在照射后一定时间内表现激活,势必会促进体内次黄嘌呤与黄嘌呤转变为尿酸这一反应,从而可使体内尿酸及由尿排出的尿酸增加。至于此酶的激活对于核酸的解聚现象可能并无直接关系,因提纯后的核酸溶液经照射后即可发生解聚。但对核酸降解代谢过程的一个环节来说,还是会有一定影响的。

刘玉贞、李新富、杜静华等曾对本工作给予技术协助,于此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Кузин, А. М., 放射生物学概论(苏少泉等译),第1版,44页,科学出版社,1958。
- [2] 苏联科学院科学情报研究所,放射生物学(华光等译),第1版,57页,科学出版社,1958。
- [3] 王德宝,核酸的生物合成,科学通报(7):198,1957。
- [4] Ball, E. G., *J. Biol. Chem.*, **128**: 51, 1939。
- [5] Axelrod, A. E., & Elvehjem, C. A., *J. Biol. Chem.*, **140**: 725, 1941。
- [6] Dhungat, S. B., et al., *J. Biol. Chem.*, **208**: 845, 1954。
- [7] Schardinger, F., *Chem-Ztg.*, **28**: 1113, 1908。
- [8] Rullmann, W., *Biochem. Z.*, **32**: 446, 1911。
- [9] 陈善明等,生化学报,1:35,1958。
- [10] Roth, J. S., et al., *Arch. Biochim. Biophys.*, **48**: 149, 1953。
- [11] Barron, E. S. G. & Johnson, P., *Arch. Biochim. Biophys.*, **48**: 149, 1954。
- [12] Barron, E. S. G., *J. Gen. Physiol.*, **27**: 69, 1943。
- [13] Barron, E. S. G. & Finkelstein, R., *Arch. Biochim. Biophys.*, **41**: 20, 1952。
- [14] 内部参考资料。
- [15] Olson, R. E. & Dinning, J. S. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **57**: 889, 1954。
- [16] 陈善明等,生化学报,1:120,1958。