

小剂量γ线长期照射引起豚鼠和猕猴 红细胞生化的某些变化

杨福愉 黄芬*

(中国科学院生物物理研究所)

摘要:豚鼠和猕猴受小剂量⁶⁰Coγ线长期慢性照射后对血液生化的某些变化进行了研究。豚鼠受照射量为9.6伦/8小时,每周照射6天。先后共进行9批实验,最大积累照射量达900伦。猕猴照射量为2.55伦/6小时,每周照射6天,累积月照射量为63.7伦,年剂量为764伦,最大积累照射量为3090伦。在照射过程中先后曾对16个生化指标进行了测定。结果表明,豚鼠经9.6伦/8小时长期照射后,红细胞的谷草转氨酶活性发生明显变化。血中氧容量、血红蛋白氧化速率、谷胱甘肽以及碱性磷酸酯酶等四个指标也发生一定的变化。猕猴在小剂量长期慢性照射后的第3个月红细胞谷草转氨酶的活力开始显著升高,红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活力则显著下降,但整个照射过程中这些变化都呈波动性。

小剂量长期外照射对动物的影响,早在本世纪40年代就开始研究 Свидерская 等⁽¹⁾曾观察豚鼠和家兔经小剂量X线长期照射后血液中碱性磷酸酯酶和SH基的变化。Кейзер等⁽²⁾报道大鼠经γ线长期照射后,血中氧容量降低。Hawrylewicz等⁽³⁾探讨经小剂量照射后恒河猴血清和组织中乳酸脱氢酶的活力及其同工酶谱的变化。Dzhelieva等⁽⁴⁾曾报道恒河猴经⁶⁰Co小剂量长期照射后红细胞数量有减少现象。迄今为止经小剂量长期慢性照射后在血液中还找不到一个比较灵敏的生化指标。

一般认为,红细胞对电离辐射的敏感性较差。但在小剂量长期慢性照射条件下,如果红细胞的形成过程受到一定的影响,它们的变化就会逐渐在外周血液中表现出来。当然,很可能这些变化还是很轻微的,因而红细胞的量不一定发生明显变化,但其质很可能会表现出细微的变化。它们很可能与红细胞“老化”过程的变化相类似。此外,在小剂量长期慢性照射下也有可能引起动物外周血红细胞的平均“年龄”发生一定的变化。基于上述考虑,我

们选择了反映红细胞“年龄”的几个典型生化指标以及血液中某些组分共计16个指标,探讨在小剂量长期慢性照射下对豚鼠及猕猴红细胞的细微变化。结果表明,豚鼠每日经9.6伦的长期照射,红细胞的谷草转氨酶(GOT)活力发生明显变化,血液中氧容量、血红蛋白氧化速率、谷胱甘肽(GSH)以及碱性磷酸酯酶(AKP)等也发生一定变化。在此基础上选择了红细胞GOT,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)、血红蛋白氧化速率三个指标,观察猕猴经小剂量长期照射后上述指标变化情况,结果发现红细胞的GOT与G6PD活力均有一定改变。但整个实验过程中这些变化呈波动性。血红蛋白氧化速率并没有发现有明显的变化。

材料和方法

(一)实验动物及照射剂量

*参加本研究的单位及人员:杨福愉、黄芬、

黄育国 周德昌 李国祥 金元良 陈富源 曹慧芬 李为容
张克忠 孙洪恩 郭德成 李金照 李才珍 王占芳
陈福强 李广平 王世南 王 伟 陈永广 王 伟 陈永强
张 克 张淑芳 郭善如 王立平 李耀良 孙 超 文德斌
张淑英 倪宝谦 史宝生 袁燕华

1. 豚鼠: 体重为500~800克, 共234只, 分四批进行实验, 每批又分对照组与照射组。照射组每组豚鼠16只, 雌雄各半; 对照组每组豚鼠10只雌雄各半。照射源为 ^{60}Co , 中心源距离2.3米, 每日照射量为9.6伦(8小时), 星期日停照。照射量积累至100伦左右时开始进行实验。先后共进行9批实验, 最大积累照射量达900伦。

2. 猕猴: 雄性猕猴 (*Macaca mulatta*) 共12只, 年龄4岁左右, 体重约12公斤, 对照组和照射组各6只。照射源为 ^{60}Co γ线, 每日照射6小时, 每周照射6天, 每天照射量为2.55伦, 累积月照射量为63.7伦, 年照射量为764伦, 累积照射量达3080伦。

(二) 血液中白细胞计数

所用计数方法是常规的白细胞计数法。

(三) 血液中生化组成的测定

1. 红细胞悬液及红细胞溶血液制备: 豚鼠采用心脏穿刺, 猕猴用静脉取血, 抽血5~6毫升, 肝素抗凝。先用低速离心5分钟(1200转/分)除去血浆等物质。再用10毫升生理盐水(pH7.4)洗红细胞, 然后离心(1200转/分)5分钟。反复2次获得压紧红细胞, 然后加入3倍体积生理盐水稀释, 得到红细胞悬液。

红细胞溶血液制备: 取一定体积细胞悬液, 加入20倍体积重蒸馏水溶血, 离心除去红细胞膜, 取上清液即为红细胞溶血液。

2. 红细胞比容测定: 参考Danon等^[5]方法进行测定。

3. 血液中生化指标测定

(1) 红细胞中GOT活力测定: 取一定量溶血液, 按Reitman^[6]法测定。酶反应产物丙酮酸用2,4-二硝基苯肼显色。在530nm波长处测定。酶活力单位, 按每100毫升压紧红细胞形成的丙酮酸(微克分子)计算。血红蛋白按Fine^[7]法测定。

(2) 红细胞中G6PD测定: 取一定量溶血液按照Chung^[8]等方法进行, 酶的底物葡

萄糖-6-磷酸的脱氢使辅酶II形成还原辅酶II, 后者在340nm波长处测定。酶活力单位以每克血红蛋白每分钟在340nm波长处光密度变化来计算。

(3) 血红蛋白氧化速率测定: 先将红细胞在磷酸缓冲液中溶血(0.1毫升压紧红细胞加入9.9毫升M/60 pH6.9磷酸缓冲液), 半小时后离心制成溶血液, 然后按Metcalf^[9]法进行测定。反应系统内含2毫升稀释溶血液(1:100)和0.2毫升 NaNO_2 (最终浓度 $9.27 \times 10^{-4}\text{M}$)。血红蛋白氧化的动态变化于630nm波长处用自动记录分光光度计测定。氧化速率用半反应时间($T_{1/2}$ 秒)表示。

(4) 红细胞中其它酶活力的测定: 过氧化氢酶测定, 参考关口晃^[10]方法; 乙酰胆碱酯酶参考Hestrin^[11]方法测定; 乳酸脱氢酶的测定参考Birkbeck^[12]等方法; 丙酮酸激酶测定参考Solivanuk^[13]方法; 高铁血红蛋白还原酶测定按Scott^[14]方法; 醛缩酶测定参考Brans^[15]方法; 无机焦磷酸酶测定参考Rapoport^[16]方法。

(5) 血浆中AKP测定: 参考Ahler^[17]等方法。

(6) 血液中其它生化指标测定: 氧容量参考Кейзер^[2]方法; 红细胞密度分布曲线参考Danon^[5]方法; GSH测定参考Grimes^[18]方法; 2,3-二磷酸甘油酸参考Zipursky^[19]等方法。

实验结果

(一) 豚鼠受小剂量 ^{60}Co γ线长期慢性照射后白细胞数量和血液生化的变化

1. 白细胞数量变化

当照射量累积达200伦左右时, 照射组豚鼠白细胞出现一低值, 照射量从400~900伦, 照射组豚鼠白细胞均处于低的水平, 与对照组比较在统计上有显著差异。当照射量达到800伦时, 照射组动物的白细胞总数约为对照组的50%(图1)。

2. 豚鼠血液生化的变化

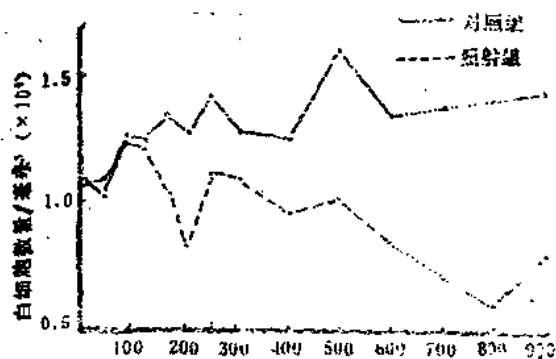


图1 长期小剂量 γ 线(^{60}Co)对豚鼠白细胞数量的影响

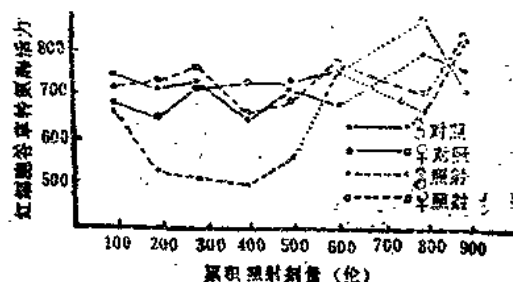


图2 长期小剂量 γ 线对豚鼠红细胞中谷草转氨酶的影响

红细胞谷草转氨酶活力=微克分子丙酮酸/100毫升压细胞

(1) 红细胞中 GOT 活力的变化: 当豚鼠接受辐射量为100~500伦时, 其中血液中红细胞GOT的活力均低于对照组, 并在统计上有显著差异。当照射量为500伦以上时, 对照组与照射组无明显差异(图2)。

(2) 血红蛋白氧化速率: 当豚鼠接受照射量为200伦、300伦、500伦时, 照射组雄性豚鼠血红蛋白氧化速率($T_{1/2}$ 秒)减少, 与对照组动物比较在统计上有显著差异。照射组雌性豚鼠血红蛋白氧化速率($T_{1/2}$ 秒)在照射量为200伦时增加, 与对照组比较在统计上有显著差异, 而其它照射量无明显变化(图3)。

(3) 氧容量、GSH、AKP 酶活力: 当豚鼠接受照射量分别为100伦、200伦、400伦时, 照射组动物血液中氧容量要比对照组动物低, 在统计上有显著差异。豚鼠接受照射量分别为200伦、400伦、800伦、900伦时, 照射组动物血液中GSH含量下降, 与对照组动物比较在

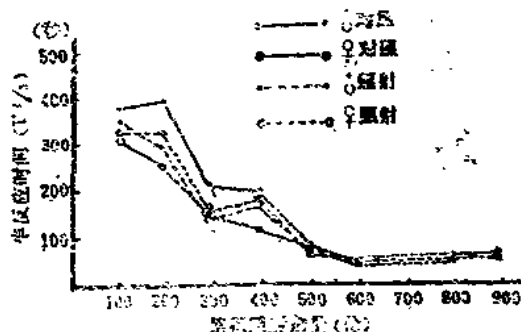


图3 长期小剂量 γ 线对豚鼠血红蛋白氧化速率($T_{1/2}$)的影响

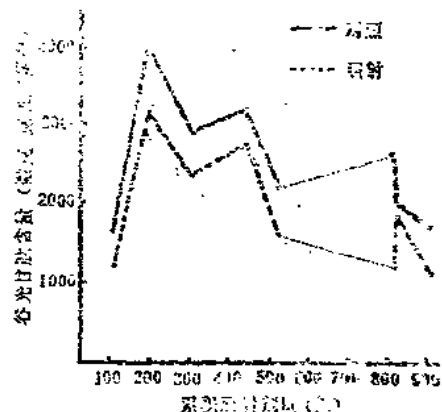


图4 长期小剂量 γ 线对豚鼠红细胞中谷胱甘肽含量的影响

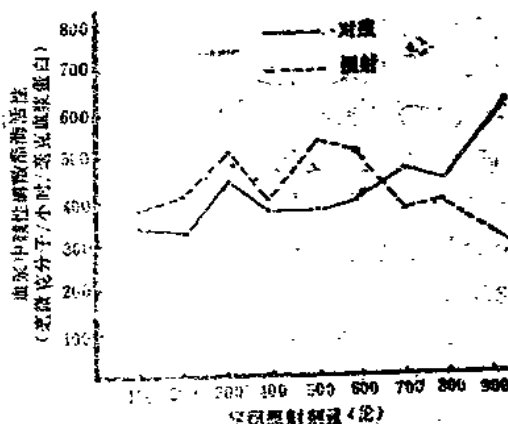


图5 长期小剂量 γ 线对豚鼠血浆中碱性磷酸酶的影响

统计上有显著差异(图4)。豚鼠接受照射量200伦, 照射组动物血浆中AKP活力上升, 当照射量达400伦, 血浆中AKP活力下降, 与对照组动物比较在统计上均有显著差异(图5)。

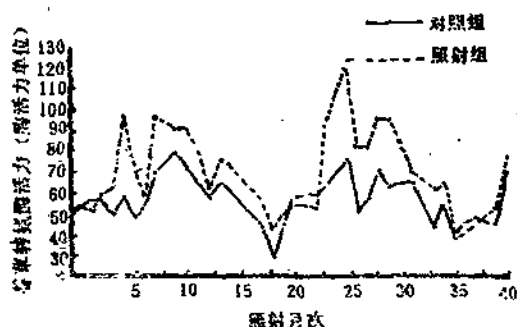


图6 猕猴受照射后红细胞谷草转氨酶活力的变化

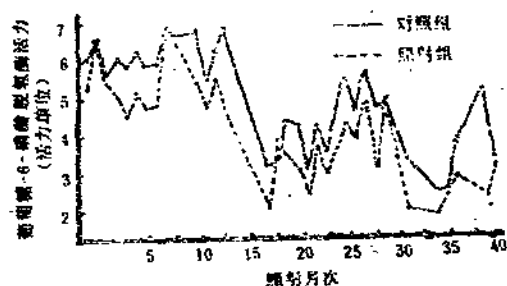


图7 猕猴受照射后红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活力的变化

豚鼠经照射后, 血液中过氧化氢酶, 乙酰胆碱酯酶, G6PD, 乳酸脱氢酶, 醛缩酶, 无机焦磷酸酶, 2, 3-二磷酸甘油酸含量, AKP, 高铁血红蛋白还原酶, 红细胞密度分布曲线, 血红蛋白等, 均未发现明显变化。

(二) 猕猴受小剂量 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线长期慢性照射后细胞生化的变化

在豚鼠实验的基础上, 我们选择了GOT, G6PD以及血红蛋白氧化速率进一步用猕猴进行实验。

1. 红细胞GOT: 实验结果如图6所示。从图6可见, 猕猴经小剂量 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线慢性照射后, 第3个月红细胞GOT活力与对照组比较有明显升高。在整个实验过程中, 照射组猕猴大多数酶活力都较对照组为高, 在统计上有显著差异。这种变化呈波动性, 而且变化程度与照射量的积累并无相关性。

2. 红细胞G6PD: 实验结果表明, 在照射过程中, 猕猴红细胞G6PD活力在大多数情

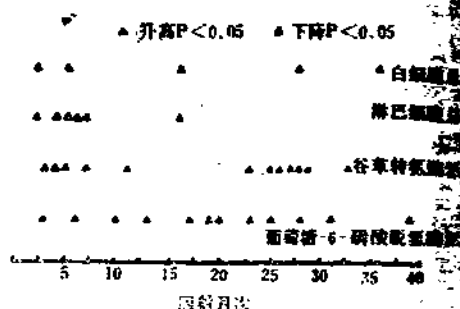


图8 猕猴受照射后生化指标变化与白细胞总数、淋巴细胞总数变化的比较

况下都比对照组低(图7)。这种变化在照射后第3个月已经开始出现, 但酶活力并不随照射量加大持续下降, 而是呈波动性。

3. 血红蛋白氧化速率: 在整个实验过程中, 照射组与对照组相比较, 血红蛋白氧化速率没有明显差异。

讨 论

(一) GOT和G6PD是红细胞代谢中具有比较重要作用的两个酶。它们的活性变化反映红细胞结构与功能的改变。从小剂量 γ 线对豚鼠与猕猴长期照射后红细胞中这两种酶活力变化来看, 可以认为红细胞对辐射的敏感性也不能说是很差的。如将这些变化与白细胞总数、淋巴细胞总数等变化相比较(图8), 就可以明显看出, 不仅红细胞出现损伤的时间较早, 而且在整个实验过程中它们的变化也是很频繁的。

(二) 在小剂量 γ 线长期慢性照射条件下, 红细胞几个生化指标(如GOT, G6PD)变化都不是持续的, 与照射量积累并不成比例, 而呈波动性。这与猕猴在整个照射过程中的整体观察和血象变化的情况基本相似。这反映猕猴在照射过程中的损伤、修复和代偿的相互矛盾, 相互抗衡而表现出来的动态变化。

(三) 红细胞中GOT与G6PD是反映红细胞“年龄”变化比较灵敏的两个指标。在小剂量 γ 线长期慢性照射下, 这两项指标的变化比较明显。但根据目前所获的实验结果与其它实

验结果加以综合考虑,尚难肯定外周血液中红细胞平均“年龄”是否因辐射作用而发生明显改变。因此,在小剂量 γ 线长期慢性照射下,红细胞看来发生类似而不是相同于“老化”的变化。

(四)红细胞GOT, G6PD及血红蛋白氧化速率等三个指标除对受照射的豚鼠、猕猴进行测试外,还对受内照射的大白鼠、急性镭中毒病人、“慢性放射性病人”等也进行一些观察与比较。结果见附表。从附表可以

附表 红细胞三个生化指标在小剂量 γ 线长期照射等条件下的变化

测试对象	照射剂量	照射率	红细胞谷草转氨酶活性	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性	血红蛋白氧化速率
猕猴	γ 线	2.55伦/6小时	↓照后3个月开始	↓照后3个月开始	阴性
豚鼠	γ 线	3.6伦/8小时	↓100~500伦	---	↓
病人2例	镭、铀	---	↓	↓	↓
大白鼠	Sr-90	---	↓6.3 μ Ci~23.4 μ Ci	---	---
慢性放射性病人4例	---	---	↓	---	阴性
肝炎病人40例	---	---	↓	---	---
兔	---	200~400伦	↓照后15天内	↓	---

看出,红细胞GOT活性对辐射是一个比较灵敏的指标。但受照射后酶活力变化情况并不一致,有的上升,有的下降。在小剂量慢性照射情况下,酶活性趋升高。在急性照射或照射剂量较大的情况下,则酶活性下降。因此酶活性的上升或下降可能与辐射后损伤程度有一定关系。从豚鼠与猕猴的实验结果也可发现类似现象。在内照射条件下,连续照射导致造血系统的损伤可能较严重,因而也出现GOT活力下降的变化。血清GOT是诊断肝炎病人的主要指标之一,为了鉴别诊断,我们对肝炎病人红细胞GOT活力也进行了测定,从40个病例的测定结果,他们的红细胞GOT活力也明显升高。但值得注意的是他们的血红蛋白氧化速率比对照组

低。这与猕猴受小剂量 γ 线长期慢性照射或“慢性放射病”病人的相应结果是有差别的。由此可以看出寻找综合指标的重要性。总之,综合豚鼠和猕猴的实验结果,可以看出,红细胞GOT和G6PD对小剂量 γ 线长期慢性照射还是两个比较灵敏的指标。根据我们对铀矿工人进行体检结果看,这两个指标也有一定的变化^[19]。国外也有类似的报道^[20]。因此,积累更多的资料对这两个指标进一步进行验证和研究是很有必要的。

参考文献

- [1] Сидерская ТА, Мед Радиол 10(12):51, 1965
- [2] Кейзер АС и др, Мед Радиол 9 (1):57, 1964
- [3] Hawrylewicz JE, Aerospace Med 38(1):30, 1967
- [4] Dzhelieva ZN et al, Med Radiol 12(4):86, 1967
- [5] Danon D et al, Clin Med 64(4):668, 1964
- [6] Reitman S et al, Am J Clin Pathol 28:56, 1967
- [7] Fine J, J Clin Pathol 14:581, 1961
- [8] Chung AE et al, J Biol Chem 238(7):2317, 1963
- [9] Metcalf WK, Nature 197:709, 1963
- [10] 关口晃, 日本生理学杂志 15:357, 1953
- [11] Hestrin S, J Biol Chem 180:249, 1949
- [12] Birkback J A et al, Can J Biochem Physiol 39:257, 1961
- [13] Solvanak PF et al, Can J Biochem Physiol 33:38, 1955
- [14] Scott EM, J Clin Invest 39:1176, 1957
- [15] Brans F, Biochemische Zeitsch 352:429, 1964
- [16] Rapoport S et al, Nature 186:967, 1960
- [17] Ahlert G et al, Deut. Gesundheitsw. 20:1319, 1965
- [18] Grimes AJ, Nature 205:94, 1965
- [19] 中国科学院生物物理研究所小剂量效应协作组, 中国科学(6):592, 1980
- [20] Vich Z et al, Radioisotope 11:1187, 1970

(1981年7月6日收稿)