

简 报

软X射线对血液有形成分表面电荷的影响

2、淋巴细胞和血小板膜电荷的变化

胡天喜 钱 鹰· 夏嘉治

(华东师范大学)

摘要 软X射线不仅能引起红细胞表面电荷的变化,同时也能导致淋巴细胞和血小板表面电荷下降,表现为照射后它们的电泳率下降。低剂量范围内,这种电荷的变化是暂时性的,照后4小时降到最低点,24小时后恢复到对照的水平。细胞电泳率的下降与辐射剂量相关。淋巴细胞是一个复杂的细胞群,正常状态下,按细胞在电场中泳动速度的快慢,可分为两个组分:快峰为T细胞,慢峰为B细胞。软X射线照射以后,T和B细胞的电泳率皆减慢,频数分布峰值下降,离散度加大。血小板成分单一,电泳率较一致。

从照射浓集的血小板再加回自身血浆中电泳率的下降较照射血浆再加到血小板中的电泳率下降大得多;受照射的血小板在磷酸缓冲液中电泳率下降较在血浆悬液中严重得多,2000 rad 照后,悬浮于血浆中的血小板电泳率能恢复,而悬浮于磷酸缓冲液中则不能恢复,三个方面来看,血浆中可能存在抗辐射因子。超氧化物歧化酶能有效地预防血小板电泳率的下降,从而可阻止血小板的凝聚。

关键词 软X射线;淋巴细胞和血小板;膜电荷;细胞电泳;超氧化物歧化酶。

引 言

淋巴细胞是公认的对辐射最敏感的细胞之一。辐射引起转化的淋巴母细胞的染色体畸变,已被用来作为灵敏的生物剂量计。同样,淋巴细胞的膜对射线也很敏感,低剂量辐射线照射就可使淋巴细胞表面电荷下降。隋志仁等^[1]用X射线照射小鼠离体的脾淋巴细胞,观察到25 R的剂量已可引起膜电荷的变化;25-800 R范围内细胞电泳率的下降百分数,随照射剂量的加大而增加,呈现极好的线性关系。Sato等^[2]报道了500 RX射线照射大鼠离体的淋巴细胞,其电泳率随时间的延长而明显下降,植物血凝素(PHA)具有良好的保护作用。李素云等^[3]用非流动式细胞电泳装置测量了大鼠分离的淋巴细胞的电泳率,发现正常大鼠的淋巴细胞存在有二个峰,600 R射线照射后快峰减少,慢峰增大。谢国良等^[4]也测量过受 γ 射线照射的小鼠胸腺和骨髓淋巴细胞的表面电荷的变化,证明了这些细胞对射线很敏感,骨髓细胞尤为敏感。

血小板是止血和血栓形成的主要成分,辐射所致机体的血淤和出血,与血小板的失活密切相关。用细胞电泳法研究表明:红细胞和血小板表面电荷的下降,会使细胞间静电斥力下降,细胞间的聚集相对增加,从而导致血栓形成和缺血性血管病变^[5,6]。叶淑华等^[7]用400 rad γ 射线照射家兔,观察到照后第3天血小板的电泳率明显下降,而芪甲丹注射液则可明显地阻断这种变化。

软X射线能否引起离体的人血淋巴细胞和血小板膜电荷的变化,尚未有报道。本试验在上文^[8]指出的软X射线能引起人血红细胞膜电荷变化的基础上,进一步试验了软X射线对人血另二种有形成分——淋巴细胞和血小板膜电荷的影响,同时试验了血浆和超氧化物歧化酶(SOD)对表面膜的辐射防护作用。

材 料 和 方 法

1. 细胞悬液的制备

(1) 淋巴细胞 取肝素抗凝的新鲜人外周血(用生理盐水稀释一倍), 铺于 Ficoll 液(比重 1.077 ± 0.02)上, 2000 转/min 离心 10 min, 取出白细胞层, 用生理盐水稀释到适当浓度, 备用。

(2) 血小板 取肝素抗凝的人血, 500 转/min 离心 3 min, 取出富含血小板的血浆层供照射; 或取此血浆 2 ml 于离心管中, 3500 转/min 离心 25 min, 弃上清(约 1.8 ml), 再用 pH 7.2 的蔗糖-NaCl-磷酸缓冲液(0.201 M 蔗糖, 0.0059 M Na_2HPO_4 , 0.0108 M NaH_2PO_4 , 0.044 M NaCl) 稀释到 2 ml, 制成血小板悬液进行照射。

2. 照射

DGX-4 型钼靶软 X 射线机, 电压 25 KV, 电流 15 mA, 焦距 20 cm, 剂量率 11.797 rad/s, 取 0.5 ml 的淋巴细胞或血小板悬液装在 5 ml 的小烧杯中, 冰浴中进行照射。剂量由曝光时间控制。

3. 细胞电泳方法

参照梁子均等^[9]的方法。血小板每样品测定 40 个; 淋巴细胞每样品测定 300 个, 求出平均电泳率(EPM)。电泳率的单位是: 微米/秒/伏特/厘米($\mu\text{s/v/cm}$)。

结 果

1. 软 X 射线对淋巴细胞 EPM 的影响

(1) 照后淋巴细胞 EPM 变化的动力学 400 和 800 rad 软 X 射线照射后, 淋巴细胞表面电荷随即下降, 照后 4-6 小时降到最低点, 而后都能逐渐恢复, 至照后 24 小时, 基本上恢复到对照的水平。以下称 4-6 小时为“效应期”, 6-24 小时为“恢复期”。一般都在“效应期”测 EPM。

(2) 软 X 射线对淋巴细胞 EPM 的影响 正常淋巴细胞在电场中的 EPM 的倒数对细胞数作频数分布图, 可以看到有二个峰, 快峰由 T 细胞组成, 慢峰由 B 细胞组成, 整个分布图的绝大部

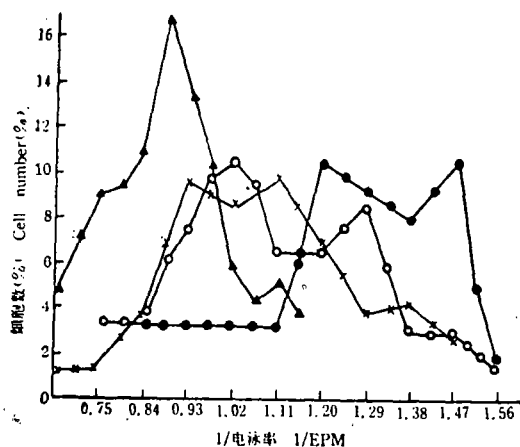


图 1 软 X 射线照射后淋巴细胞 EPM 的变化
Figure 1. The Change of lymphocyte EPM induced by soft x ray

—▲—▲—对照
Control
—×—×—400 rad
—●—●—800 rad(效应期)
800 rad(effect Phase)
—○—○—800 rad(恢复期)
800 rad(recovery Phase)

分为快峰所占据。软 X 射线照射以后, T 和 B 细胞 EPM 率下降, (或 $1/\text{EPM}$ 上升), 整个频数分布图右移, 峰高也下降, 离散度增大。随着照射剂量的增大, 右移更甚, 800 rad 照射与 400 rad

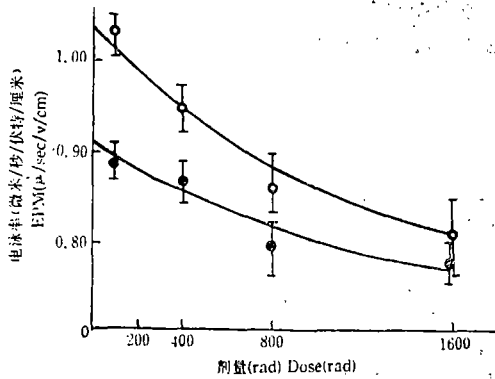


图2 血小板EPM变化的剂量效应曲线
Figure 2. Dose-response curve of Platelet EPM Change

—○—○—于磷酸盐缓冲液中 Phosphate buffer
—●—●—于自身血浆中 in their own Plasma

酸盐缓冲液为介质,还是以自身血浆为介质,血小板的EPM都随照射剂量的增大而减少,几乎呈线性关系(见图2)。磷酸盐缓冲液中血小板的EPM下降速率要比血浆中快一些。

3. 超氧化物歧化酶(SOD)的辐射防护作用

800 rad 软X射线照射以后,与不照射的对照组相比,血小板的EPM下降15.1%。如果照前往介质中加入100单位的SOD,那么EPM不仅不下降,照后4小时反而可上升23.7%。光加SOD,不照射,EPM上升得更高,(41.9%),有SOD时,照射组与对照组相比,EPM下降18.2%,表面上看来似乎并没有保护作用,然而从受照后血小板的EPM下降15.1%和有SOD上升23.7%的绝对值相加,EPM变化达38.8%来看,SOD确实有提高血小板的膜电荷,阻止辐射所致凝聚的作用。但是这种保护作用是短暂性的,照后8-10小时就可恢复(见图3)。

800 rad 软X射线照射浓集的血小板,而后加回自身血浆(照后立即加或是在电泳前加,两者的效果相同),血小板的EPM下降幅度较大;仅照射血浆,再加回到浓集的血小板中,EPM虽然也有所下降,但幅度较小(表1),可见,血浆中存在某些保护血小板免受辐射损伤的因子。

讨 论

如同前文^[8]报道的软X射线能引起红细胞膜表面电荷下降一样,它也能引起人血淋巴细胞和血小板表面膜电荷的下降,表现于EPM的下降。受照后4-6

照射有明显的差异。随着照后时间的推移,淋巴细胞表面电荷逐渐恢复,800 rad 照后“恢复期”,频数分布图的峰位明显左移(见图1)。

2. 软X射线对血小板EPM的影响

1. 软X射线照射后血小板EPM变化的动力学 以自身血浆为介质,400、800、2000 rad 软X射线照射以后,血小板的EPM都在照后4小时降到最低值,剂量越大,下降越甚;各种剂量照后24小时,EPM都可恢复到对照的水平,即使是2000 rad 也能恢复。然而,若将血小板悬浮于磷酸盐缓冲液中,2000 rad 照后,血小板的EPM却不能恢复。

2. 剂量与效应的关系 0、200、400、800、1600 rad 软X射线照射以后,不论是以蔗糖-磷

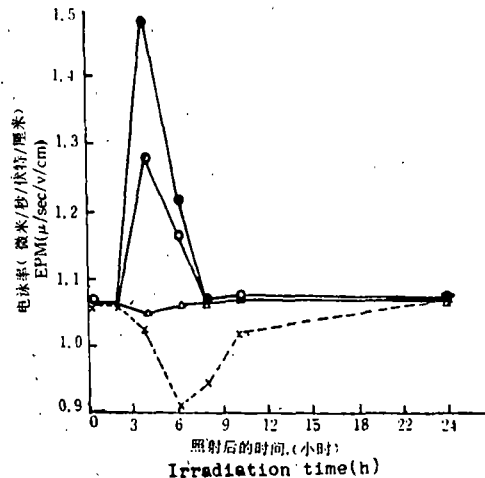


图3 SOD抗血小板EPM变化的作用
(血小板悬浮于磷酸盐缓冲液中)

Figure 3. Radioprotective effects of superoxide dismutase on platelet EPM change (The platelets were suspended in phosphate buffer)

—●—●—800 rad 照射 800 rad irradiation only
—○—○—SOD 100 单位 + 800 rad 100 units SOD + 800 rad irradiation
—×—×—单位 100 单位 SOD only 100 units SOD
—△—△—对照 control

表 1 血浆因子对受照血小板的保护作用
table 1. the effects of plasma factor on plateletes EPM

处理方式 Treatment	EPM	样品 Sample			EPM ($\bar{x} \pm SD$)	下降百分数
		1	2	3		
1*		0.92	0.92	0.92	0.92	0
2*		0.53	0.45	0.54	0.51 ± 0.05	36.6
3*		0.75	0.85	0.80	0.80 ± 0.07	8.7

1* 对照

2* 800 rad 照射血小板 + 自身血浆

3* 800 rad 照射血浆 + 血小板

1. Contral

2. 800 rad irradiated platelets + own plasma

3. 800 rad irradiated plasma + plateletes

小时 EPM 下降最大,一般在照后 24 小时都能恢复。血液有形成分 EPM 的下降与照射的剂量呈正比。

淋巴细胞是一组复杂的细胞群,各亚细胞群的 EPM 的离散度很大。前人^[11-13]已指出:淋巴细胞 EPM 有三个峰:快峰为 T_H 细胞,中等峰为 T_c 细胞,而慢峰为 B 细胞,其中 T 细胞占多数。我们的试验也表明存在 T 和 B 细胞的 EPM 峰, T 细胞约占总细胞数的 90%。软 X 射线照射以后,峰位右移。峰高降低, EPM 的离散度加大。800 rad 照后峰右移的程度比 400 rad 照射更大一些。随着照后时间的推移,膜电荷有所恢复,表现出峰左移。

血小板与红细胞一样,成分单一,颗粒大小较均匀,膜电荷也相接近,所以 EPM 的离散度较小。血小板对射线较为敏感,小剂量软 X 射线照射就可引起 EPM 变化。但是血小板的磷酸盐缓冲液悬液和血浆悬液的放射敏感性却有明显的差异,表现于:(a)由图 2 的剂量效应关系可见血小板对射线的反应在 PBS 中比在血浆中更敏感;(b)2000 rad 照射后在 PBS 中,血小板的 EPM 不能恢复,而在血浆中却能恢复;(c)直接照射血小板,再加回不照射的自身血浆中,其 EPM 下降率比照射血浆加回到未受照射的血小板中更大些。这些迹象表明,血浆中存在有某些辐射防护因子,保护血小板少受辐射损伤。这一结果与上文^[8]相一致。已知血浆中存在著名的抗放物质,例如半胱氨酸、胱胺、谷胱甘肽等巯基化合物和超氧化物阴离子的清除剂——超氧化物歧化酶、维生素 E 等,设想,这些物质就是血浆之所以能抗辐射的原因所在。

超氧化物歧化酶(SOD)能清除辐射所诱发的介质中的超氧化物自由基,从而减轻辐射所致膜上脂质的过氧化,本试验将 SOD 加到血小板悬液中,不仅可克服辐射所致血小板 EPM 下降,而且可以提高血小板的 EPM 来看, SOD 确实具有辐射防护作用。SOD 增高细胞膜表面电荷,可以防止血小板的聚集。就整体动物而言, SOD 也许可克服辐射所致血小板凝集和伴随的血栓,消除微循环障碍。

参 考 文 献

- [1] 隋志仁, 马世盐, 孙连仲, 于晓春, 张挂英, 白求恩医科大学学报 8 卷增刊: 257 (1982).
- [2] Sato, C, K., Kojima, K., Matsuzawa, T, Int. J. Radiat. Biol. 20:97 (1971).
- [3] 李素云, 张昇慧, 辐射防护 1:47(1982).
- [4] 谢国良, 郝春, 郝梅, 中华放射医学与防护杂志 3(6): 16(1983).
- [5] 施永德, 生物化学与生物物理学报 15(3): 215(1983)
- [6] 施永德, 生物化学与生物物理进展 4:49(1982)

- [7] 叶淑华, 王新力, 上海工业卫生研究所“活血化瘀治疗急性放射损伤”鉴定材料 1984
[8] 胡天喜, 辐射研究与辐射工艺学报 3(2):16(1985).
[9] 梁子均, 施永德, 章谷生, 陈启光, 陈网华, 生物化学与生物物理学报 11(3):199(1979).
[10] 施永德, 生物化学与生物物理进展 6:12(1983).
[11] Hanjan, S. N. S., J. Immunol., 118:235(1977).
[12] Kaplan, J. H., J. Immunol., 117:115(1976).
[13] Sabolovic, D., Scand. J. Immunol 6:1199(1977).

(收到日期 1985 年 9 月 6 日)

THE EFFECT OF SOFT X-RAY ON SURFACE ELECTRIC CHARGE OF FORMED ELEMENTS OF HUMAN BLOOD

II. CHANGE OF SURFACE CHARGE OF LYMPHOCYTES AND PLATELETS

Hu Tianxi Qian Ying Xia Jiazhi

(Department of Biology, East China Normal University)

ABSTRACT The change of cell membrane charge was induced by soft X-ray. This change was seen not only on the erythrocytes, but also on the lymphocytes and platelets. It was revealed by the drop of EPM (electrophoretic mobility). Within the low dose range, this change of the charge was temporary. At 4 hrs after irradiation, the EPM dropped to its minimum, 24 hrs later, it returned to its original level. The extent of EPM depended on irradiation dosage.

The lymphocytes are a group of complicate cells. According to the cell EPM, they could be divided into two subgroups: T cell and B cell. The EPM of normal T cells was faster than that of B cells. After T and B lymphocytes were irradiated by soft X-ray, the EPM of both subgroups became slower, the peak of frequency distribution lowered down and the peak width extended. The platelets are homogeneous particle population and their EPMs appeared to be identical.

When the concentrated samples of platelets after irradiation were suspended in unirradiated plasma, the drop of EPM was much faster than that of the unirradiated platelets suspended in the irradiated plasma. When the irradiated platelets were suspended in phosphate buffer, their EPM were much lower than that of the same platelets suspended in their own plasma. If the platelets were suspended in their own plasma and then irradiated with doses up to 2000 rads, their EPM drop could recover after irradiation, but the recovery was not seen in cases of irradiating the platelets suspended in phosphate buffer. Based on the above results, it can be considered that there are some factors in the plasma which protected the platelets from radiation damages and promoted the damaged platelets to recover, and besides, the drop of EPM can be prevented by SOD (superoxide dismutase).

KEY WORDS soft X-ray, lymphocytes and platelets, cell membrane charge, electrophoretic mobility (EPM), superoxide dismutase.