

γ 线全身照射对小鼠血小板生成的影响

任永生 柳晓兰 张卿西

(北京放射医学研究所, 北京)

摘要 采用 ^{35}S 体内掺入骨髓巨核细胞的方法, 观察了小鼠经 2、4、6、8 和 10 Gy ^{60}Co γ 线照射后 2、4、6、8、10、14、18、24、30 和 40 d 血小板生成的动态变化。结果表明: 照后 2 d 除 10 Gy 组外, 各剂量组血小板生成有增强趋势; 血小板生成量开始下降时间、下降程度和恢复速度与照射剂量有一定相关, 但各剂量组下降斜率之间无显著差异, 而且大约都在 7-8 d 达到最低点; 8 Gy 以下照射后小鼠血小板生成量可自行恢复到正常水平, 在恢复期中, 2、4 和 6 Gy 组可出现一过性血小板生成超常; 外周血小板计数的变化模式与血小板生成量的变化模式大致相同, 但前者变化的波动范围较小。

关键词 辐射损伤, 血小板生成, ^{35}S 标记

引言

辐射对整体动物血小板的作用表现为外周血内血小板数目减少, 这是早已为人们熟知的事实。外周血小板数是反映机体内血小板生成的重要客观指标, 但不是直接指标, 进行分析时往往遇到一些困难。用 ^{35}S 体内掺入巨核细胞法测定照射后血小板生成量的变化, 国外报道不多, 主要是 2 Gy 照射后 30 d 观察和 8 Gy 以下照射后短期观察^[1-2], 国内还未看到这方面报道。本文用此法观察了不同剂量照射后小鼠血小板生成量的变化过程, 得到了一些与我们原先估计不完全相同的认识。

材料和方法

(1) 动物 本院繁殖纯系 LACA 雄性小鼠, 日龄 70—80 d, 体重 20—25 g。

(2) 照射条件 ^{60}Co γ 线全身一次均匀照射, 照射量率变化范围为 1.586—1.732 Gy/min。剂量为 2、4、6、8 和 10 Gy。

(3) 实验步骤 动物随机分组, 每组动物数 5—8 只。于照后 2、4、6、8、10、14、18、24、30、40、60 d 取血测定 ^{35}S 在全身血内血小板中的掺入量。取血前 42 h 给小鼠腹腔注射 $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ 溶液, $14.8 \times 10^4 \text{Bq/g}$ 体重。动物麻醉后摘去眼球取血。将样品以 115 g 离心 10 min, 得富含血小板血浆 (PRP)。将 PRP 分别用 1% 草酸铵溶液和生理盐水各洗一次, 然后使血小板均匀悬浮于生理盐水中。准确吸取 200 μl 血小板悬液溶解于 0.3 ml Hyamine 中, 1 h 后加 5 ml 闪烁液^[3], 室温下放置 15 h 后, 在 LKB 1215 型液体闪烁计数器上测量放射性, 按下式进行计算:

$$\frac{\text{全身血内血小板中 } ^{35}\text{S} \text{ 掺入量占注入量的百分比}}{\text{(样品的计数率/样品的血小板数)} \times \text{全身血内血小板总数}} \times 100\% \\ \text{注入 } ^{35}\text{S} \text{ 的计数率}$$

式中全身血内血小板总数的估计方法是 $\text{体重(g)} \times 0.07 \times \text{血小板计数} \times 10^{14}$ 。

结 果

1. 5 种剂量照射后小鼠血小板生成量的变化动态

图 1 示各组动物全身血内血小板中 ^{35}S 掺入量的变化动态。

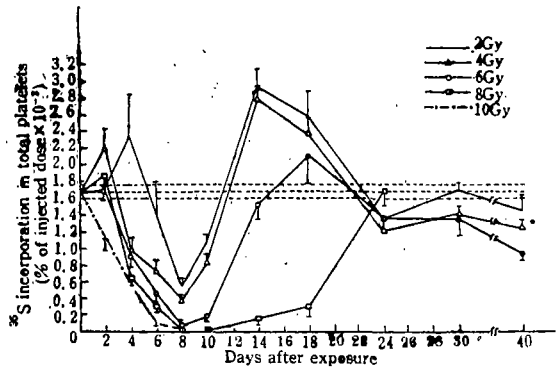


Fig 1. Dynamic change of thrombopoietic activity in mice after different doses of gamma rays
(Each point represents the mean of 5-8 animals $\pm$ SE)

Tab 1. Correlation coefficient and slope of postirradiation-thrombopoietic activity curve during declining stage

Dose (Gy)	Correlation coefficient		Slope	
	r	p	b	p
2	-0.603	>0.1	-0.123	>0.1
4	-0.874	<0.05	-0.204	<0.05
6	-0.971	<0.005	-0.221	<0.005
8	-0.932	<0.025	-0.245	<0.025
10	-0.976	<0.0025	-0.216	<0.0025

(1) 照后 2d, 2 Gy 组血小板生成有增强现象, 这与文献报道一致。此外还观察到 8 Gy 以下 γ 线对早期血小板生成功能都有刺激作用, 其中 4 Gy 组血小板生成增强具有统计学意义($P<0.05$)。剂量达到 10 Gy 时, 第一个测定点血小板生成量就降至正常值的 66% ($p<0.001$), 照后 4 d 除 2 Gy 组外, 各组血小板生成量都明显下降($P<0.001$), 2 Gy 组从照后 6 d 才明显下降($p<0.001$)。

(2) 下降阶段曲线斜率的变化规律和照射后白细胞的变化规律不同, 从图 1 可看出, 各剂量照射后曲线下降段的陡度十分接近; 计算结果(见表 1)除 2 Gy 组外, 各组 b 值均有意义, 能够代表各组血小板生成量的下降规律, 但组间 b 值相比, 差别均不显著, 表明剂量与斜率之间没有明显关系。此外, 尽管剂量不同, 但到达最低值的时间基本一致, 都是照后 7-8 d。

Tab 2. Correlation coefficient and slope of post irradiation time-thrombopoietic activity curve during recovery stage

Dose (Gy)	Correlation coefficient		Slope	
	r	p	b	p
2	0.992	<0.05	0.407	<0.05
4	0.989	<0.05	0.412	<0.05
6	0.979	<0.025	0.222	<0.025
8	0.891	<0.025	0.099	<0.025

(3) 除 8 和 10 Gy 组血小板生成量的最低值均为零外, 其它各组最低值之间亦有显著差异。最低值占正常值的百分比, 2、4 和 6 Gy 组分别为 33、22 和 4%。

(4) 各剂量组恢复段曲线的斜率变化规律与原先估计的大致相同, 剂量越大, 恢复越慢(表

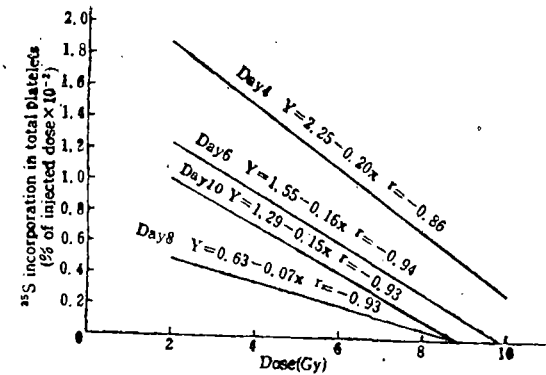


Fig 2. Regression curves for dose-thrombopoietic activity relationship at different intervals after exposure

Tab 5. Peripheral platelet count after different doses of gamma irradiation in mice

Days after exposure	Peripheral platelet count ($10^4/\text{mm}^3$)				
	(mean $\pm$ SE)				
	2 Gy	4 Gy	6 Gy	8 Gy	10 Gy
2	105 $\pm$ 5	100 $\pm$ 7	94 $\pm$ 4	90 $\pm$ 4	72 $\pm$ 5
4	120 $\pm$ 11	88 $\pm$ 6	60 $\pm$ 2	58 $\pm$ 6	59 $\pm$ 4
6	106 $\pm$ 5	63 $\pm$ 2	43 $\pm$ 2	29 $\pm$ 2	20 $\pm$ 2
8	55 $\pm$ 4	36 $\pm$ 3	14 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1
10	54 $\pm$ 3	36 $\pm$ 3	10 $\pm$ 4	5 $\pm$ 1	7 $\pm$ 2
14	100 $\pm$ 4	100 $\pm$ 4	56 $\pm$ 7	11 $\pm$ 2	
18	112 $\pm$ 9	130 $\pm$ 9	91 $\pm$ 5	12 $\pm$ 2	
24	94 $\pm$ 8	81 $\pm$ 12	80 $\pm$ 5	88 $\pm$ 4	
30	83 $\pm$ 4	75 $\pm$ 5	59 $\pm$ 6		
40	90 $\pm$ 7	78 $\pm$ 4	74 $\pm$ 3		
60			92 $\pm$ 7		

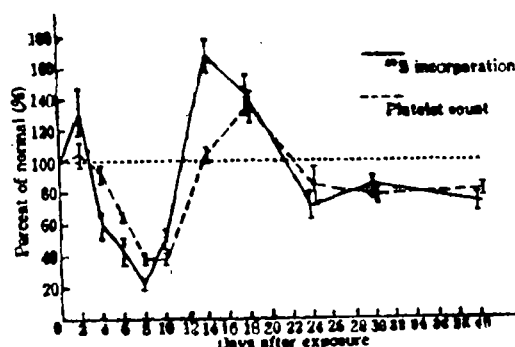
Normal value, $96 \pm 4 \times 10^4/\text{mm}^3$ 

Fig 3. Dynamic change of thrombopoietic activity and platelet count after 4 Gy irradiation

(Each point represents the mean of 5-8 animals $\pm$ SE)

2)。除 2 Gy 4 Gy 组之间斜率无显著差异外, 各组之间差别均显著。值得注意的是 8 Gy 照射后, 小鼠血小板生成功能也能恢复到正常水平。照后 14-18 d, 2 和 4 Gy 组血小板生成量明显超过正常水平, 其最高值分别为正常值的 178% ($p < 0.001$) 和 167% ($p < 0.001$)。照后 20-40 d, 2、4 和 6 Gy 组血小板生成量基本上在正常值以下波动。其中 6 Gy 组约在照后 60 d 回到正常水平。分析了照后各天血小板生成量和剂量的关系, 结果表明, 照后 4-10 天两者密切相关, 回归方程和曲线见图 2。

2. 外周血小板计数和血小生成量之间的关系

外周血小板计数简便、易行, 弄清外周血小板计数和生成量之间的关系, 从而由血小板计数间接推测血小板生成量的大致情况, 具有实际意义。表 3 是 5 种剂量照射小鼠外周血小板计数的变化情况。总的看来与上述血小板生成量的变化模式大致相同, 以 4 Gy 照射组为例(图 3), 可以看出。(1) 外周血小板计数的波动范围较生成量的波动范围小。血小板生成量在照后 2 d 明显增高, 而外周血小板计数仅稍有增加; 生成量最低值为正常值的 22%, 而血小板计数为正常值的 38%; 恢复期血小板生成量可达到正常值的 167%, 而血小板计数仅为正常值的 135%。(2) 曲线下降段单个血小板平均放射性较低, 恢复段较高, 提示在这两个阶段中被标记血小板所占的比例是不同的。

讨 论

1984 年 Tanum^[2]报道了 2 Gy 照射后大鼠血小板生成量的变化与我们对 2 Gy 照射的小鼠研究结果大致相同。我们对 2、4、6、8 和 10 Gy 5 种剂量进行研究, 目的在于探讨 γ 线一次全

身照射后血小板生成变化的一般规律及特点。总的看来,照射后血小板生成改变的规律与其它生理功能照射后改变的一般规律是一致的。小剂量可出现毒性刺激现象,大剂量则以抑制为主;其改变的一般动态过程是刺激→抑制→恢复→超常→负反馈,并继续调整至正常水平。当然具体情况是复杂的,血小板生成受许多生理机制调节,外周血中血小板又受许多因素影响。

传统的观点认为,成熟的巨核细胞具有较强的抗辐射能力^[5,6]。从我们的实验结果看来,当剂量达到 10 Gy 时,对成熟的巨核细胞也能在其功能上产生不良影响。剂量在 8 Gy 以下者,早期小鼠巨核细胞形成和释放血小板的过程则可因射线刺激而增强。照射后恢复期出现一过性的血小板生成超常,说明照射后机体内仍存在调节机制,这种生成超常主要出现在低剂量组,说明受到照射剂量的制约。

照射后血小板生成量的变化曲线与外周血小板计数的变化曲线大致相同。由于外周血小板计数还直接地受到分布、消耗和血容量等许多因素与机制的调节,其变化的波动范围较小。另外从血小板平均放射性可知,在下降期和恢复期,尽管外周血小板计数有时相近,但新生成血小板在循环血中所占的比例不同,在极期前后尤其是这样。

参 考 文 献

- [1] M. Sadilkova, et al., Sb. Lek., 83, 113 (1981) 转引自 INIS Atom index 12, 641227 (1981).
- [2] G. Tanum, Blood, 63, 917 (1984).
- [3] T. P. McDonald, Am. J. Physiol., 210, 807 (1966).
- [4] T. P. McDonald, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 144, 1006 (1973).
- [5] T. T. 小奥德尔, 辐射血液学手册, 原子能出版社, 78-83 1975.
- [6] S. M. Simpson, Int. J. Biol., 2, 181 (1959).

(稿件收到日期: 1988 年 4 月 25 日)

EFFECT OF γ -RAY TBI ON THROMBOPOIESIS IN MICE

Ren Yongsheng, Liu Xiaolan and Zhang Qingxi

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing,)

ABSTRACT Thrombopoiesis after a single dose of 2, 4, 6, 8 and 10 Gy gamma-ray total body irradiation was studied by means of ^{35}S incorporation technique in mice. It was found that the post irradiation change of thrombopoietic activity ran a polyphasic course. The thrombopoiesis was stimulated 2 days after irradiation except in the 10 Gy group. The time of onset of declination, the nadir and the speed of recovery of thrombopoiesis were correlated with the dose of irradiation. Meanwhile, the slope of declination was independent of the dose, and the nadir was reached around the 8th post irradiation day in all dose groups. Thrombopoiesis could recover to normal level spontaneously within the dose range up to 8 Gy. An overstimulation of thrombopoiesis was seen in the recovery phase after 2-6 Gy irradiation, followed by a depressive phase. The peripheral platelet count followed a similar course as the thrombopoietic activity, with a smaller range of variation. The relationship between thrombopoiesis and peripheral platelet count and the characteristics of the change of thrombopoiesis following different doses of irradiation are discussed.

KEY WORDS Radiation injury, Thrombopoiesis, ^{35}S incorporation.