

紫外线照射自体血回输对淋巴 细胞微核率影响的观察

黄进忠 刘锦文 王连知

(河北省放射卫生研究所, 石家庄)

高玉林 王维平 刘瑞春

(河北医学院第二附属医院, 石家庄)

摘要 本文报道了用外周血淋巴细胞微核测定技术, 对接受 UV 照射外周血自体回输的脑血管病人进行的细胞遗传学观察。结果表明, 微核率未见增高, 但受照淋巴细胞的增殖能力受到抑制。

关键词 自体血回输, 微核率, 紫外线照射

紫外线(UV)体外照射病人外周血液再自体回输疗法, 用以治疗感染性疾病, 临床疗效十分满意。该疗法早在本世纪 20 年代末期起源于美国^[1], 而且经过反复多次临床应用, 证明该方法是安全的, 未出现过任何并发症^[2]。抗菌素广泛应用后, 该方法被放弃。近几年来, 该方法又被重新启用, 并引起临床工作者的兴趣。治疗病种不断扩大, 而且能收到良好效果。目前许多医疗单位, 采用波长 253.7 nm 的 UV, 体外照射自身外周血液的再回输疗法, 治疗脑血管疾病和神经、免疫。系统的疾病, 疗效明显。为探讨受 UV 照射后再回输的血液, 对患者的血细胞有无致畸作用, 本文进行了淋巴细胞微核率的观察。

材 料 和 方 法

(1) 观察对象 均为河北医学院第二附属医院收治的病人共 9 名。其中脑血管梗塞 6 名, 男、女各 3 名, 最小年龄 45 岁, 最大年龄 74 岁, 平均 63 岁。脑出血 3 名, 男 1 名, 女 2 名, 最小年龄 34 岁, 最大年龄 56 岁, 平均 44 岁。

(2) 照射条件 用 X[-200 型血液辐射治疗仪(石家庄市华行医疗器械厂产)进行连续照射 10 min, 同时通入氧气。UV 光源是直径为 14 cm 的圆形同心环状汞灯。UV 波长为 253.7 nm, 距光源 10 mm 处, 平均照射量率为 5.68 J/s·cm²。盛血的石英玻璃瓶底部面积与汞灯面积一致, 为 153.9 cm²。受照血液与光源之间只隔石英玻璃瓶的厚度, 约 3 mm。石英玻璃的透过率为 0.8, 10 min 照射总能通量为 419.6 J。

(3) 照射方法 每次治疗取患者 150—200 ml 静脉血, 放入 20 ml 含 2.5% 枸橼酸钠的无菌石英瓶内, 将石英瓶直接放在自动摇晃的辐射仪上, 通入氧气并连续照射 10 min, 再单独通入氧气 5 min, 立即给该患者静脉回输。每次治疗间隔 48 h, 5 次为一个疗程。

(4) 微核测定 每次血液治疗时, 从照射前后的石英瓶内各取 0.6 ml 血置于试管内, 加入 0.6 ml, 0.5% 的甲基纤维素, 摇匀, 置 37℃ 培养箱内温育 30 min, 吸取上清液置于另一试管内, 1500 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 将沉淀物混匀, 涂片, 热风吹干。Wright-Giemsa 液染色,

油镜下观察。每个标本记数 2000 个完整的淋巴细胞,记录微核并绘图。结果以千分率表示。

结 果

观察结果列于表 1。第 2、3 次照射前后的微核率,是该患者接受 1 或 2 次自血疗法后的观察结果。在 36 个观察值中,只有 3 个高于相对应的第 1 次照射前后的自发微核率。3 次照射前后各 27 个样本的平均微核率分别为 0.33 和 0.30‰。

Tab 1. Frequency of lymphocyte micronuclei in nine patients(‰)

Code Patient	First time blood		Second time blood		Third time blood	
	Before radiation	After radiation	Before radiation	After radiation	Before radiation	After radiation
1	1.0	0	0	0	0	0.5
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0.5	0	0	0.5	1.0*
4	0.5	0	0	0	0	0
5	0.5	0	2.0*	1.5	1.5	1.5
6	1.0	0.5	0	0.5	0	0
7	0	0	0	0.5*	0	0
8	0.5	0	0.5	0	0	0.5
9	0	1.0	0	0	0	0.5

* The frequency of micronucleus is higher than autofrequency

讨 论

淋巴细胞微核率是近些年来新发展起来的一项检测物理、化学诱变因子的敏感指标。国内外的大量研究已经证明,用淋巴细胞微核率检测 X 射线或 γ 射线的致畸效应,是行之有效的,而且已经成为诊断辐射损伤的重要参考指标。UV 可杀灭细菌已众所周知,对哺乳动物细胞有致畸、致突作用,也已被大量的实验所证实^[3]。但本观察中接受自血疗法后的 36 个测定值中,只有 3 个高于相对应的第 1 次照射前后的观察值,且都在正常值(0—2‰)范围内^[4]。

淋巴细胞微核主要来源于未被纳入子细胞核的染色体断片^[5,6],以及纺锤丝功能障碍的整条染色体^[5,6],或者来源于细胞核膜损伤核质外溢^[7,8]。无论哪种来源,微核的形成都需要经历一定的时间。在培养条件下至少也得 1.5—2 h^[8,9]。本观察中每次照射前后的标本,在非培养条件下同时制作,从采血到制作一般需 4—6 h 才能完成。照射前后各 27 个样本的平均微核率分别为 0.33‰ 和 0.30‰,二者无统计学差异。说明外周血在体外受到 UV 照射后,在非培养条件下,微核细胞没有明显增加。所以,第 1 次照射前后的微核率可视为该患者的自发微核率。在接受自血疗法后的 36 个测定值中,只有 3 个高于相对应的自发微核率,且在正常值范围内。该结果可能与下述因素有关。其一,如果照射后回输的血液中有强诱变因子存在,造血系统一定会受到影响,微核率将会增高。检测结果没有超出正常微核率的范围,说明自身回输的受照射血液中无强诱变因子产生。其二,在作本实验的同时,曾做了平行的细胞培养,用以进行染色体畸变分析。照射前的血液培养 48—72 h,中期分裂相很多,而照射后的血液经同样条件的培养,中期分裂相

很少,以致不能进行有效的畸变分析,说明淋巴细胞经UV照射10 min,增殖能力受到抑制或丧失。由此推测,受照后的淋巴细胞自身回输后,或者因有丝分裂受阻,不能生成子细胞;或者因受损伤严重而濒临死亡,微核细胞均无从生成。依据上述两点分析,一方面,自身回输的受照血液,对体内淋巴细胞没有产生明显的致畸效应;另一方面,直接受到照射的绝大部分淋巴细胞,因增殖能力受到抑制,回输后能否形成微核细胞尚难肯定,即使有少量微核细胞形成,但由于受全身血液的稀释作用,在0—2%这样大的正常值范围的影响下,也难以显示出来。微核率在正常值范围内波动是可理解的。

从辐射损伤角度分析,该疗法的安全性,就在于患者的身体并未受到UV的直接照射,受到照射的只是少量的外周血液。所以,只要UV的照射能量,足以使绝大部分受照淋巴细胞的增殖能力受到抑制或丧失,而又能得到满意的临床疗效,那么这种疗法导致细胞遗传学危害的机率将很小。

UV照射可使淋巴细胞的有丝分裂受到抑制,说明UV照射该剂量,对细胞产生了明显的毒性作用。如果照射剂量不足,使受到照射而又处于血液循环过程中的干细胞^[4]发生稳定型畸变,同时又保存着增殖能力,这种血液回输后,发生细胞遗传学效应的机率可能会增加。有的学者在分析了大量实验结果后指出,低剂量UV照射,对人类会有更多的致突变危险^[3]。这一认识对完善该疗法可能有指导意义。另外,为达到最佳效果,开始治疗时UV的照射能量不要小于100 J^[11]。由此可见,疗效与照射剂量有关。细胞遗传学效应与照射剂量有无关系,尚有待进一步探讨。目前,国内使用该疗法的单位逐渐增多,治疗病种也在扩大,小儿科已开始应用该疗法。但有关细胞遗传学效应的研究尚未见报道。由于受照细胞培养后仍可见到分裂相(也许是UV耐受细胞),所以,对该疗法的远后效应,以及照射剂量与细胞遗传学效应的关系,仍需进行长期的观察研究。

本文得到肖佩新研究员的指导,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] E K. Knott, Am. J. Surg., 76(2), 165 (1948).
- [2] E W. Rebbeck Am. J. Surg., 54(3), 691 (1941).
- [3] 罗祖玉, 苏兆众, 国外医学放射医学分册, 1(8), 6(1984).
- [4] 杨家宽, 程文英, 蔡荣妹, 罗伟华, 徐 萍, 核防护, 3, 64(1980).
- [5] B. Hogsted and A. Karlsson, Mutat. Res., 156(3), 229(1985).
- [6] M. Pincu, Hannes Callisen and Amos norman, 47(4), 423(1985).
- [7] 黄进忠, 张冷梅, 中华放射医学与防护杂志, 1(1), 40(1981).
- [8] 薛开先, 季国芳, 孙玉洁, 周 平, 遗传学报, 5(13), 397(1986).
- [9] 史纪兰, 黄权光, 遗传, 2, 4(1981).
- [10] 朱启, 国外军事医学资料(放射医学), 1, 20(1980).
- [11] 王昆润, 国外医学输血及血液学分册, 2(11), 151(1988).

(稿件收到日期: 1990年3月1日)

下转第213页 (See p. 213)

- [4] 周建新等, 第三军医大学学报, 6, 217(1984).
[5] W. F. Marzluff, *Methods in cell biology.*, 19, 317(1978).
[6] H. Okayama and O. Hayaishi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 84, 755(1978).
[7] R. C. Benjamin and D. M. Gill, *J. Biol. Chem.*, 255, 10493(1980).
[8] R. C. Benjamin and D. M. Gill, *J. Biol. Chem.*, 255, 10502(1980).
[9] R. N. Zotova, S. R. Umanskii and V. I. Tokarskaia, *Radiobiologiya*, 23, 152(1988).
[10] P. A. Nelipovich, L. V. Nikonova and S. R. Umansky, *Int. J. Rad. Biol.*, 53, 749(1988).

(稿件收到日期: 1990年7月4日)

EFFECT OF ADP-RIBOSYLATION ON TRANSCRIPTION-AL ACTIVITY IN RAT SPLEET NUCLEI AND RESPONSE TO IRRADIATION

Xu Hui and Yi Lukang

(Third Military Medical University, Chongqin)

ABSTRACT The effect of ADP-ribosylation on transcriptional activity in isolated nuclei from spleen of adult male rats irradiated with 8 Gy gamma-rays was studied. The results showed the activities of RNA pol(I+III) were all inhibited by ADP-ribosylation and this inhibition was lost in the presence of 3-AB, a specific inhibitor of ADPRT. It confirmed the effect of ADP-ribosylation. The fact that ADP-RT activity decreased within 4 hours after irradiation and subsequently restored entirely after 18 hours showed irradiation of 8 Gy gamma ray inhibited the ADPRT activity and the effect of irradiation disappeared quickly.

KEYWORDS ADP-ribosylation, Transcription, Irradiation, RNA polymerases

上接第205页 (Continued from p 205)

THE OBSERVATION OF EFFECTS FOR FREQUENCY OF LYMPHOCYTE MICRONUCLEI ON AUTOHEMOTRANSFUSION AFTER UV RADIATION

Huang Jinzhong, Liu Jinwen, Wang Lianzhi

(Institute of Radiation-Hygiene of Hebei Province, Shijiazhuang)

Gao Yulin, Wang Weiping and Liu Ruichun

(Hebei Medical college 2nd Hospital, Shijiazhuang)

ABSTRACT This paper reports micronucleus test for studying cytogenetic effects. The patients were treated by autohemotransfusion, after UV radiation. The results showed that there is no significant increase in the frequencies of micronucleus in lymphocyte, whereas the lymphocytic ability of proliferation was inhibited.

KEYWORDS Autohemotransfusion, Frequency of micronucleus, UV radiation.