

细菌 SOD 对小鼠辐射敏感组织的防护效应研究

曹汉民 胡天喜 华 燕 季玲妹

(华东师范大学, 上海)

摘要 小鼠的小肠上皮和睾丸组织对辐照反应较为敏感, 7.5Gy⁶⁰Co γ 射线即有严重杀伤作用, 使睾丸曲细精管和小肠上皮的显微与亚显微结构出现明显的损伤, 而辐照前和辐照后注射细菌 SOD, 则具有显著的防护作用。

关键词 细菌 SOD, 小肠, 睾丸, 辐射防护效应

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, 简称 SOD)是有效的自由基O₂⁻的清除剂, 其抗辐射效应曾有较多报道。然而过去人们所用的 SOD 大都来自真核生物, 从原核生物中提取的 SOD 的抗辐射作用尚少见报道, 且从真核生物中提取 SOD 还存在材料来源困难和效益较低等缺点。本实验目的是观察海洋发光细菌的 SOD 对受辐射小肠和睾丸的防护效果。

材 料 和 方 法

1. 实验动物和 SOD 来源

小白鼠为雄性昆明种, 体重 20 g 左右, 购自上海生物制品研究所。

细菌 SOD 系从海洋发光细菌(*photobacterium phosphoreum*)518 菌株中提取, 分子量约为 3 万道尔顿, 带有铁的辅基。

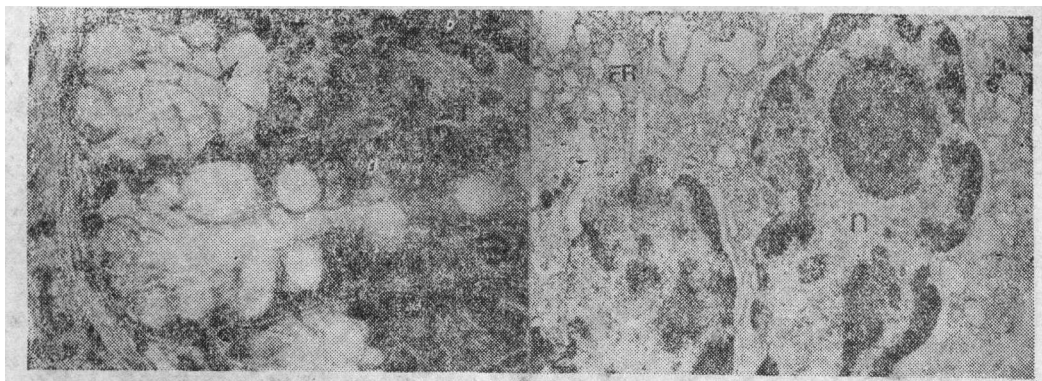


Fig 1. Small intestinal crypt cells of irradiated mice (3 days after irradiation), the arrow points to disintegrated cell. $\times 128$

Fig 2. Small intestinal crypt cells of irradiated mice, showing the dilated nuclear membrane and ER. $\times 12000$

2. 实验分组

照射组: 小鼠 42 只, ⁶⁰Co γ 射线照射, 总剂量 7.5 Gy, 剂量率 0.85 Gy/min。

照射前注射 SOD 组(简称照前组): 小鼠 40 只, 照前 1~2 h 从小鼠尾静脉注入 100 活力单位/0.2 毫升的细菌 SOD。

照射后注射 SOD 组(简称照后组): 小鼠 30 只, 照后 0.5 h 注射 SOD, 剂量和方法同照前组。

对照组: 小鼠 40 只, 照射前 1-2 h 注射等量生理盐水, 但不进行辐照。

各组小鼠在辐照后 1、3、5、7、10 和 15 天分别取样, 制成石蜡切片和超薄切片。

结 果

1. 小肠粘膜上皮显微与亚显微结构改变

(1) 隐窝上皮细胞 照射组小鼠的隐窝上皮在照后 1~3 天, 即出现退变坏死细胞(见图1)。电镜下未坏死的隐窝细胞(图 2), 可见到较多核呈不规则的细胞, 核周池扩张, 核内染色质块增多凝聚, 在部分细胞的胞浆内可见线粒体嵴缺失、内质网扩张和溶酶体增多等特点。照后第 7 天, 隐窝上皮未见明显坏死细胞, 但细胞超微结构仍明显异于对照组, 在有些区域, 细胞间的连接松散、出现较大的间隙。



Fig 3. Epithelium of intestinal villus of irradiated mice (7 days after irradiation), showing nuclear membrane dilatation (arrow) and mitochondria with disintegrating cristae. $\times 24800$

Fig 4. Epithelium of intestinal villus in mice which were injected with SOD before irradiation (7 days after irradiation), showing normal structure. $\times 3400$

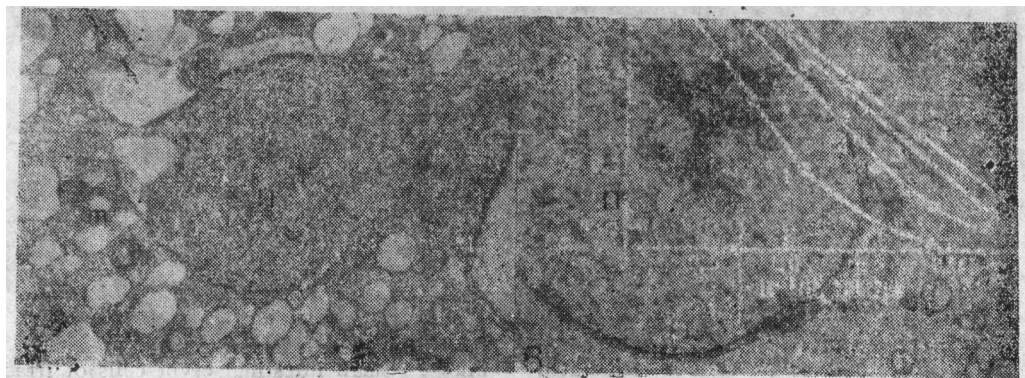


Fig 5. Spermatid of irradiated mice (7 days after irradiation). $\times 8600$

Fig 6. Spermatid in mice which were treated with SOD before irradiation (7 days after irradiation), showing normal structure. $\times 8600$

而照前和照后注射 SOD 的小鼠, 经 ^{60}Co γ 射线辐照后 1—3 天, 光镜下未见退变坏死细胞, 电镜下观察细胞结构, 可见不规则核形、核周池扩张等现象。但照后第 7 天起, 细胞结构即逐渐恢复, 与对照组已无明显区别。

(2) 绒毛上皮细胞 照射组小鼠小肠绒毛上皮, 在照后第 3 天, 绒毛显著缩短且互相粘连。

肠腔则相应增大; 电镜观察照后第7天的绒毛上皮细胞, 可见不规则核形、核周池呈不同程度的扩张、胞浆内多空泡和线粒体嵴缺失等特征(见图3), 同时细胞表面的微绒毛变疏, 部分细胞外衣消失。

而照前后注射细菌 SOD 的小鼠, 其绒毛上皮结构与对照组近似, 绒毛形态齐密、呈细叶状, 绒毛长度大于照射组小鼠; 电镜观察细胞结构, 发现从照后第7天起, 上皮吸收细胞的超微结构已与对照组相近(见图4), 细胞核位近细胞基部、形态规则, 细胞浆结构致密, 内质网和线粒体等细胞器结构正常, 细胞表面微绒毛浓密、并覆盖有细胞外衣。

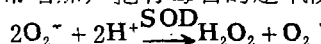
2. 睾丸曲细精管的显微与亚显微结构改变

照射组小鼠睾丸在照后1—3天就有1/3左右的曲细精管出现不同程度的空虚, 部分基膜破裂。随着时间的推移, 其损伤程度逐渐严重。高倍镜下可见精子细胞及精子减少、精原细胞损伤图象。精原细胞内呈现核浓缩、变形, 细胞器受损, 胞膜部分溶解等形变; 精子细胞(见图5)和精子也有类似损伤; 相对而言, 初级和次级精母细胞对辐射的响应稍为迟缓, 但也能见到胞核的形变; 而间质细胞和支持细胞有较高的抗辐射性。这表明同一组织不同发育阶段的细胞具有不同的辐射敏感性。

照前和照后给药组小鼠睾丸, 在照后最初几天内, SOD 酶的抗辐射作用就已显示, 但不甚明显。精子细胞和精子减少, 精原细胞和精子细胞胞质多呈空泡, 胞核形变, 胞膜也有局部溶解。与对照组相比, 照后7—15天, 各种生殖细胞数已回升, 由电镜观察可见精子细胞(见图6)、精原细胞、初级和次级精母细胞的超微结构多已修复, 明显地显示出 SOD 酶的辐射防护作用。

讨 论

(1) 由于辐射使动物体内产生大量的脂质过氧化物, 这些过氧化物通过一系列链式反应而产生的超氧自由基可对 DNA、蛋白酶等生物大分子起破坏作用。而超氧化物歧化酶(SOD)则能有效地清除辐射引起的自由基的异常增加, 把有毒害的超氧阴离子歧化成过氧化氢和分子氧:



H_2O_2 随后易被体内过氧化氢酶分解, 从而使细胞结构免受损伤。本实验证实, 从细菌中提取的含铁辅基的 SOD 具有较好的抗辐射作用。

(2) 小肠上皮是电离辐射的敏感器官之一, 在本实验剂量范围内, 隐窝细胞首先受到损害, 可见细胞退变坏死、细胞分裂受抑, 核物质浓缩, 核周池扩张和内质网膨胀等亚显微病变结构; 绒毛上皮细胞亦出现核异形性、细胞器损伤、微绒毛稀疏、细胞外衣缺失等现象。

由于肠粘膜上皮自隐窝至绒毛上皮细胞存在增殖、成熟、衰亡的代谢过程, 当辐射导致隐窝细胞损伤、分裂增殖受抑时, 将使绒毛上皮细胞缺少后源而使吸收功能受损; 吸收细胞的微绒毛损伤亦将直接影响细胞的吸收和防御功能, 最终将引起消化功能失调或感染致死。

而照前组和照后组, 由于注射了细菌 SOD, 细胞结构的损伤程度明显减轻。虽然照后1—3天, 细胞结构与正常组对比有损伤变化, 但未见退变坏死细胞。从辐照后7天起即趋恢复正常, 这表明细菌 SOD 能有效地清除自由基而使机体得到保护, 提高了小鼠的存活率。

(3) 睾丸曲细精管的显微结构观察表明, 同一器官的不同细胞有不同的辐射敏感性, 其中精原细胞受损较重, 其次是精子细胞和精子, 这种对辐射敏感性的差异很可能与细胞内核酸含量的多少有关。

蒋海燕、吴苏玉同志参加部分工作, 朱文杰同志提供细菌 SOD, 谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] J. Leshner and S. Leshner, Radiat. Res., 57, 148 (1974).
- [2] A. Petkau and MS. Chelack, Int. J. Radiat. Biol., 29(3), 297(1976)
- [3] L. Poulakas and J. W. Osborne, Radiat. Res., 53, 402 (1973).
- [4] S. Tsubouchi and T. Matsuzawa, Radiat. Res., 56, 345 (1973).
- [5] 毛秉志, 陈德政, 朱新华, 董 波, 中华放射医学与防护杂志, 5 (1), 26 (1985).
- [6] 王德文, 刘雪桐, 中华放射医学与防护杂志, (6), 1 (1984).
- [7] 朱文杰, 全国首届 SOD 会议论文摘要, 14 (1987).
- [8] 李健健, 郭 鹞, 中华放射医学与防护杂志, 6, 96 (1986).

(稿件收到日期 1988 年 5 月 26 日)

PROTECTIVE EFFECTS OF BACTERIAL SUPEROXIDE DISMUTASE ON RADIATION SENSITIVE ORGANIZE OF IRRADIATED MICE

Cao Hanmin, Hu Tianxi, Hua Yan and Ji Lingmei

(Department of Biology, East China Normal University, Shanghai)

ABSTRACT Small intestinal epithelium and testis are radiation sensitive organize. Microscopic structure and ultrastructure of small intestine and testis suffer serious damages after 7.5 Gy of ^{60}Co γ -rays irradiation. However, bacterial superoxide dismutase displays obvious effects of radio-protectant on irradiated mice.

KEY WORDS Bacterial superoxide dismutase, Small intestine, Testis, Effect of radio-protectant