

· 研究简报 ·

## 电子束及紫外线对动物红血细胞膜损伤的研究

陈舜华 赵小奎

(生物学系)

朱永亮 赵资智

(物理学系)

### 摘 要

电子静电加速器所产生的电子束及紫外线对豚鼠及黄鳝红血细胞膜的损伤程度是随照射剂量的增加而加大,在相同的剂量下,豚鼠红血细胞对射线的损伤效应比黄鳝敏感。电子束辐照红血细胞后加以短时间的紫外线照射,加剧了细胞膜的损伤。

应用一定浓度的广辐-1号保护剂对两种动物的红血细胞进行预处理,对于一定剂量的电子束和紫外线的照射均能起明显的辐射保护作用。本实验还证明保护剂广辐-1号与红血细胞膜的透性无关,它不能促进 $^{32}\text{P}$ 掺入细胞内。

**关键词** 电子束,紫外线,辐射保护作用,豚鼠,黄鳝,血红蛋白

应用电子束对水稻、小麦、大麦等种子进行辐射诱变效应的研究已有一些报导<sup>[1-3]</sup>,但电子束对动物血细胞的生物学效应研究尚少见报导。本文以电子束和紫外线照射作对比,对黄鳝红血细胞进行辐射研究,并与哺乳动物红血细胞的辐射效应作比较,旨在了解鱼类和哺乳动物红血细胞对辐射的生物学效应所表现的特征,并进一步探讨保护剂对动物红血细胞的辐射损伤的作用。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 动物材料和设备

1.1.1 动物红血细胞的分离和洗涤:选取健康成熟的豚鼠,雌雄兼用,心脏穿刺抗凝取血,离心去血浆和白细胞,用0.9%生理盐水洗涤两次并稀释至所需倍数。黄鳝红血细胞是从体长约25cm的鱼体尾血管抗凝取血,操作步骤同上(生理盐水为0.7%)。

1.1.2 试剂:柠檬酸钠(Sodium citrate 3.8% w/v),氯化钠(Sodium chloride 0.7%, 0.9% w/v),叠氮钠(Azide  $\text{NaN}_3$  2mM),葡萄糖(Glucose 0.1% w/v),广辐-1号(Gungfu-1),氨水  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 。

1.1.3 设备:30瓦紫外灯, JJ-2型电子静电加速器(能量2MeV,束流150mA),72型分光光度计, FJ-2100液体闪烁计数器

## 1.2 红血细胞的处理和辐照

1.2.1 红血细胞的处理。将已稀释的红血细胞悬浮液分装在直径为 5cm 的小烧杯中，每个样品为 8ml，样品的厚度不超过 8mm，样品组合分为：①对照组：不照射；②溶血组：加入氨水：水(3:1)3滴使溶血；③加药组：照射前分别加入叠氮钠 $10\mu\text{l}$  (含 2mM)、叠氮钠+0.1%葡萄糖<sup>[4]</sup>及保护剂广辐-1号(分别配成与生理盐水近似等渗)并使这两种红血细胞的最终稀释度各为 200 倍，各种药物均于照射前 30 分钟~1 小时内加入红血细胞悬浮液中。

1.2.2 红血细胞的辐照。紫外线辐照时样品置于紫外线灯下 36.5cm 处；电子束辐照时各剂量组的样品置于辐照平台上，在照射窗口下移动，辐照剂量单位为 Gy(戈雷)，样品的吸收剂量经 Fricke 剂量计和重铬酸钾/银剂量计标定；以上照射时温度为 26—27℃ 及 14—18℃。红血细胞存放根据 Kollmann 方法<sup>[5]</sup>稍加修改，4℃ 冰箱中冷贮 20 小时。

血红蛋白释出的检测用 72 型分光光度计，在 420nm 上测定 O.D 值，以溶血组或不加药组测出的 O.D 值为 100%，计算其他各组血红蛋白的相对比率。

$\text{NaH}_2^{32}\text{PO}_4$  的掺入实验及切伦科夫计数按加入广辐-1 号的预处理方法，半小时后于对照组和试验组各加入  $\text{NaH}_2^{32}\text{PO}_4$  ( $0.8\mu\text{Ci}/\text{ml}$  血液样品) 37℃ 温育 3 小时，每个样品为 1 ml (各 3 个平行样品) 并用生理盐水洗涤细胞去除表面粘污，按陈舜华<sup>[6]</sup> 等人的方法用切伦科夫计数测定样品之计数率。

## 2 实验结果

2.1 紫外线对两种动物红血细胞的辐射效应 在相同条件下，紫外线照射这两种不同动物之离体红血细胞，其血红蛋白释出的相对含量随照射剂量的增加而增多，结果列于表 1。

表 1 紫外线不同时间照射后血红蛋白释出的相对含量 (%)  
Tab. 1 Relative content (%) of Hb that released after different time's Uv irradiated

动物名称(红血细胞)		紫外线照射时间(分钟)					
		0	5	10	20	30	40
豚	鼠	26.27	26	29.96	45.06	53.46	53.61
		$\pm 7.15$	$\pm 5.64$	$\pm 7.31$	$\pm 5.87$	$\pm 7.87$	$\pm 4.34$
黄	鳊	18.69	21.16	20.64	33.36	44.63	45.40
		$\pm 4.60$	$\pm 5.26$	$\pm 6.42$	$\pm 6.48$	$\pm 12.03$	$\pm 8.0$

豚鼠的红血细胞受紫外线照射的效应比黄鳊敏感，受紫外线照射 20 分钟，其血红蛋白释出的相对含量为全溶血组的 45.2%，黄鳊红血细胞为全溶血的 33.36%。

2.2 电子束对两种动物红血细胞的辐射效应 电子束对动物红血细胞的辐射效应显示血红蛋白释出量也随剂量的增高而增多，豚鼠的红血细胞受电子束照射也比黄鳊敏感，当照射剂量为 500Gy 时，血红蛋白释出量为全溶血的 96.8%，黄鳊只有 35% 左右，要使黄鳊红血细胞血红蛋白释出量接近溶血时，照射剂量需增加一倍左右(图 1)。

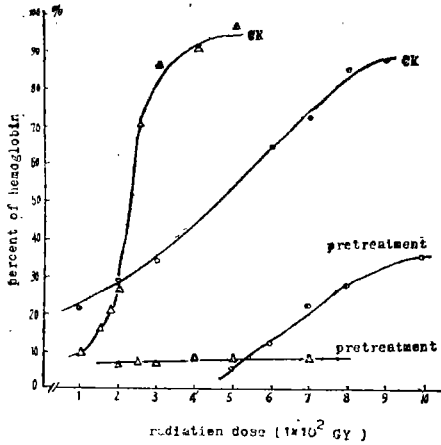


图1 豚鼠和黄鳝红血细胞受电子束不同剂量照射与释出血红蛋白量的关系及广辐-1号预处理的作用

Fig. 1 Relations between amount of Hb that released from erythrocytes of *Cavia porcellia* and *Monopterus albus* with different doses of irradiation of electron beam and the influence of pretreatment with Guangfu-1  
*Cavia porcellia*  $\Delta$ - $\Delta$ ,  
*Monopterus albus* o-o

2.3 辐射保护作用及<sup>32</sup>P掺入实验

2.3.1 广辐-1号的保护作用。用一定浓度的广辐-1号溶液对这两种动物的红血细胞进行预处理,豚鼠红血细胞受紫外线照射30秒钟后,血红蛋白释出量为对照组的70%,黄鳝为对照组的38%;在电子束的照射下,保护剂对这两种动物的红血细胞的保护作用更为显著,当剂量为250—500Gy时,照射前受保护剂处理的各组,豚鼠红血细胞血红蛋白的相对含量为溶血组的6.67—8.89%,甚至当剂量高达700Gy时,血红蛋白释出的相对含量仍保持这个水平。保护剂对黄鳝红血细胞受电子束照射的保护作用也很显著,当剂量高达100Gy时,其血红蛋白释出相对含量仅为全溶血的1/3左右。叠氮钠及叠氮钠+0.1%葡萄糖对红血细胞预处理,加剧了细胞的损伤(表2)。

表2 药物处理豚鼠和黄鳝红血细胞受紫外线和电子束照射的影响(%)

Tab.2 Influence by the irradiation of Uv and electron beam upon erythrocytes of *Cavia pocelia* and *Monopterus albus* which were pretreated with medicine

动物名称 (红血细胞)	紫 外 线*			电 子 束**		
	对 照 组 (紫外线照 射30分钟)	叠氮钠	叠氮钠 葡萄糖	对 照 组 (电子束照 射)	叠氮钠	叠氮钠 葡萄糖
豚 鼠	100	99	93	100	112	113
黄 鳝	100	85	76	100	225	216

- 紫外线及电子束照射前30分钟加入药物
- 电子束照射剂量豚鼠为300Gy,黄鳝为500Gy.

2.3.2 电子束与紫外线相加的效应。用300Gy及500Gy分别照射豚鼠和黄鳝红血细胞,照后10分钟内再加以紫外线照射5分钟,血红蛋白释出保持与对照组相同水平或比对照组增加一倍,表明紫外线对电子束所造成的红血细胞膜的损伤不能起恢复作用。

2.3.3 广辐-1号对 $^{32}\text{P}$ 掺入量的影响。实验结果表明不论是豚鼠还是黄鳝红血细胞,对于经广辐-1号预处理的试验组及对照组, $^{32}\text{P}$ 掺入量(cpm值)均未发现明显的变化。

### 3 讨论

本实验所设计的一定剂量范围内的电子束流对动物红血细胞所产生的生物学效应类似 $\gamma$ 或 $x$ 射线的规律,与马寿祥<sup>[7]</sup>所报导的红血细胞悬浮液经 $\gamma$ 射线及紫外线照射后血红蛋白释出量与照射剂量成正比关系的结果相似。细胞膜受射线照射而损伤,在较高剂量下,甚至出现溶血现象,产生这些效应是由于细胞膜的组分—磷脂双分子层和蛋白质或其他复合物的结构产生变化,另一方面,射线使水产生自由基,使膜上的蛋白质、肽键等断裂或使一些键氧化或还原而使膜的功能丧失以及膜的脂质过氧化和-SH基的丧失<sup>[4,8]</sup>。有些作者曾报导电子束能抑制小麦等作物的生长<sup>[2,3]</sup>。抑制的程度随剂量的增加而增加,电子束辐射损伤的程度较 $\gamma$ 射线轻。我们的实验中电子束照射造成豚鼠红血细胞的损伤至溶血的剂量与已报导的 $\gamma$ 射线对大鼠红血细胞的损害<sup>[7]</sup>差异不大,这可能是动物红血细胞膜容易受电子束流照射而损伤。而植物细胞具有细胞壁,对射线的效应不同,穿透力强的射线比穿透力弱的射线损伤要大。电子束对黄鳝红血细胞溶血剂量比豚鼠高3倍左右,这是由于动物分类系统不同,对射线的敏感程度不同的缘故。

保护剂的作用机理已有许多的报导<sup>[4]</sup>。Mery<sup>[4]</sup>从他们的实验中阐述了谷胱甘肽的氧化作用能消耗掉细胞所吸收的辐射能量的大部份,因此若预先消除红细胞的巯基,这样就能增加红血细胞对射线的敏感作用。陈去恶<sup>[9]</sup>也提出保护剂可能是保护细胞巯基的作用,Mery等还进一步证实这种能产生效应的巯基存在细胞膜内。我们的实验初步证明广辐-1号与这两种动物的红血细胞膜的透性无关,它不能促进 $^{32}\text{P}$ 进入细胞内,看来保护剂广辐-1号进入细胞膜后,主要是保护巯基不被破坏而起辐射保护作用的。

我们的实验还表明,鱼类中有丰富血量的黄鳝,其红血细胞可作为辐射损伤实验研究的材料,取血方便,价格较哺乳动物低廉,是一种很好的实验材料。

### 参 考 文 献

- [1] 郭宝江等,遗传学报,9(1982),6,461—467
- [2] 徐方忱等,原子能农业应用,1983,4,44—50
- [3] 沈卫国等,辐射研究与辐射工艺学报,3(1985),4,53—56
- [4] Myers D K et al., *Radiat. Res.*, 27(1966), 250—263
- [5] Kollmann G et al., *ibid.*, 37(1969), 3, 551—556
- [6] 陈舜华等,中山大学学报(自然科学版),1980,4,84—88
- [7] 马寿祥等,动物学研究,3(1982),1,95—100
- [8] 朱壬葆等主编,辐射生物学,科学出版社,1987, P.148—181
- [9] 陈去恶等,实验生物学报,12(1979),3,257—261

## Studies on the Damages Caused by Electron Beam and Ultraviolet Light to Cell Membrane of Erythrocytes

Chen Shunhua\*    Zhao Xiaokui  
Zhu Yongliang    Zhao Zizhi

### Abstract

The damages caused by electron beam (produced by electrostatic accelerator) and Ultraviolet light to the cell membrane of erythrocytes of *Cavia porcellia* and *Monopterus albus* as well as the radioprotective actions were studied.

Under the experimental conditions the degree of damages the cell membrane of erythrocytes increased as the doses increased. Cell membrane of erythrocytes of *Cavia porcellia* was more sensitive to the damage effect of radiation than that of *Monopterus albus* when treated with the same dose.

The experiment showed that after being exposed to electron beam a short time of irradiation of Ultraviolet light could increase the damage of cell membrane. It also showed that there was an obvious radioprotective action under certain dose of irradiation of electron beam and ultraviolet light when the erythrocytes were pretreated with certain concentration of the protector GUANGFU-1.

The experiment proved that the protector GUANGFU-1 had no thing to do with the penetrativity of cell membrane of erythrocytes. It could not promote the incorporation of  $^{32}\text{P}$  into cells.

**Keywords** electron beam, ultraviolet light, radioprotection, *Cavia porcellia*, *Monopterus albus*, hemoglobin

• Department of Biology