

CK 同功酶电泳显色或荧光检测均有非特异性显色及荧光。本法主要受 ATP 酶分解 ATP 释出无机磷的干扰。光密度计检测时必须从样本值中减去空白对照数值。以下示兔脑 CK、兔心肌 CK 及空白对照的光密度曲线 (图 3 及图 4)。

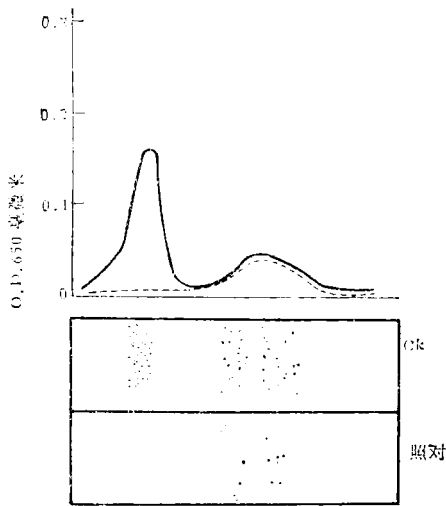


图 3 兔脑 CK-BB
—— CK, --- 对照

在定量检测时要注意显色温度,一般以 25℃ 为宜。时间 30 分钟为宜。因为随时间推移,区带着色程度可加深,底板于数小时后逐渐呈浅蓝色,乃至较深的蓝色。且区带渐渐扩散。

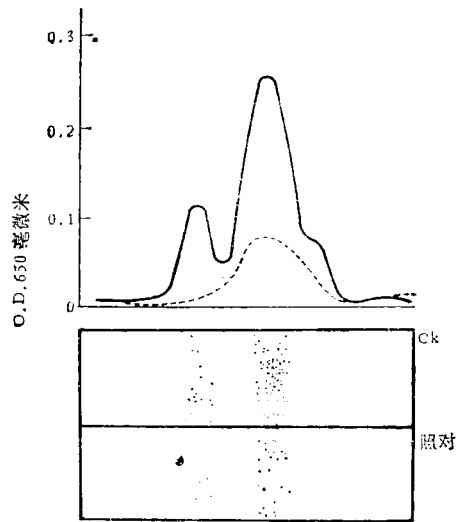


图 4 兔心肌 CK-MM 及 CK-MB
—— CK, --- 对照

我们曾用本法检测急性心肌梗塞患者血清 CK 同功酶。1 例患者于发病后 24 小时取血,经电泳检出 CK-MM 及 CK-MB 同功酶。

本方法也可用于其它能在酶促反应中产生无机磷的一些酶或同功酶的检测。

主要参考文献

- [1] Armstrong, J. B. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 3105, 1977.
- [2] Morin, L. G. et al.: *Clin. Chem.*, **23**, 646, 1977.
- [3] Van der Veen, K. J. & Willebrands, A. F.: *Clin. Chim. Acta*, **13**, 312, 1966.

[本文于 1979 年 2 月 15 日收到]

电离辐射对小鼠某些脏器铁蛋白浓度的早期影响*

李 建 武

(北京大学生物医学系)

铁蛋白 (Ferritin) 含铁 17—23%, 主要分布于肝、脾和骨髓中, 肾肠和胎盘等脏器中亦有少量铁蛋白。它是某些高等动物机体内铁的重要和优先的储备形式, 其数量占总储铁量的 65%, 其中的铁极易为机体所动用。它也有血管加压和抗利尿等作用。

从 1940 年起, 许多研究者对其在动物体内的分布、贮备、某些理化性质和生理功能等曾进行过大量的工作。Michalis, L. (1947), Mazur, A. (1955) 曾先后全面地总结了这些研究

* 本工作完成于 1964 年。

成果。此后, Horst, W. 等(1957) 提供了机体内不同形式铁(血红蛋白铁、转运铁及储备铁)相互转换及时相关关系的线索。Quimby, E. H. (1958) 和 Moore, C. V. (1962) 等也曾对铁代谢进行了详尽而又系统地描述, 但到目前为止, 尚乏有关电离辐射对铁蛋白浓度影响及其与造血系统辐射损伤过程与机制可能联系的报道。

本工作目的在于以简便方法探索电离辐射对小家鼠某些脏器铁蛋白浓度影响及其变化的时相关系。为了说明储备铁变化的可能原因, 我们也注意积累外周血血红蛋白浓度相应变化的资料, 为探讨造血功能的辐射损伤和恢复机制问题提供某些可能线索。

材 料 和 方 法

实验动物为“中国一号”品系、雄性小家鼠, 年龄五个月, 多数动物体重为 25—29 克/只。食块由白面、玉米面、豆饼、麸皮、鱼粉及食盐按一定比例调配烘制。动物预先在实验室饲养一周。

照射组动物在转动照射木盒中受到一次均一的 720r 剂量 X-射线照射 (Siemens 深部治疗机, 185KV、14mA、100r/分钟和皮肤焦点距离 54 厘米, 未加滤板)。

于照射后一定时间间隔, 取动物尾血, 测血红蛋白浓度, 迅即以中断脊髓法杀死动物, 立即剖腹取肝、脾和后腿股骨骨髓样品。血红蛋白浓度以 Sahli 氏血色素计测定, 以克/100ml 表示。

将称取的肝、脾组织块 (10—20 毫克), 置清洁玻片上, 以滴管加 2 滴 10% 硫酸镉液, 加盖片, 紧压至组织面积不再扩展时为止。骨髓除以后腿股骨为单位计算铁蛋白浓度外, 其它方法均与肝、脾压片同。静置半小时以后, 即有特征性的、棕色铁蛋白晶体出现。

借助机械移片器有规律地前、后、左、右移动玻片, 力求避免观察视野重叠。在显微镜低倍镜头下, 计数每张玻片上铁蛋白晶体总数。肝和脾铁蛋白浓度以铁蛋白晶体个数/毫克, 新鲜组织表明。骨髓铁蛋白浓度以铁蛋白晶体个数/股骨表明。

结 果

铁蛋白晶体分布于组织压片各处, 而在与组织邻近的无组织(但有硫酸镉液)空间中分布密度较大(图 1 见封 3)。

照射前后, 动物各脏器铁蛋白晶状大小、颜色和形状, 在显微镜下尚无可以分辨的特别变化。

照射后, 动物肝铁蛋白晶体浓度迅速增高。照射后 3 小时竟为对照组的 197%。此后下降, 照射后 12 小时, 甚至低于对照组, 照后 24 小时又回升, 总之照射后基本上是增高趋势 (表 1)。

铁蛋白晶体在肝脏不同部位浓度分布似不一致。我们所挑选的四个部位 (腹面观, 左上、右上、右下和左下四叶肝尖分别名之为部位 I、II、III 和 IV) 中, 部位 I、II 和 III 肝铁蛋白晶

表 1 照射后不同时间小家鼠肝铁蛋白晶体浓度变化

处 理		动物数 (只)	样品数 (个)	铁蛋白晶体浓度平均数 (个/毫克新鲜肝组织)	统 计 学 处 理		
					t 值	置 信 限	说 明
对 照 组		14	88	89.91			
照 射 组	3 小时	15	91	177.11	6.464	177.11±26.44	极显著
	6	10	80	141.66	3.704	141.66±27.38	极显著
	12	15	63	59.05	2.911	59.05±20.78	极显著
	24	10	50	98.93	1.438	98.93±25.42	不显著

注: $t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{(S.E_1)^2 + (S.E_2)^2}}$, 置信限: $\bar{X} \pm t \cdot S.E.$ ($t_{0.05} = 1.960$, $t_{0.01} = 2.576$)

表 2 照射后不同时间小鼠肝不同部位铁蛋白晶体浓度变化的比较

处 理		动物数 (只)	样品数 (个)	肝不同部位铁蛋白晶体浓度平均数 (个/mg 新鲜肝组织)			
				I	II	III	IV
对 照 组		10	20	69.35	67.01	79.30	153.13
照 射 组	3 小时	10	20	154.09**	169.41**	144.36**	276.02**
	6 小时	10	20	73.17	106.95	164.10**	222.61*
	12 小时	5	10	27.21*	58.22	55.74	128.50
	24 小时	5	10	61.89	60.26	90.19	192.39

注: *及**示统计学处理后差异显著及不显著。

体间统计学差异不显著,而部位 IV 竟为前三者数值的两倍。四个部位各自铁蛋白晶体浓度辐射效应的时相变化,亦与上述总的变化趋势一致(表 2)。

照射后,小鼠脾脏铁蛋白晶体浓度变化与肝脏变化相反,趋于减少,变化迅速且较猛烈。照射后 3 小时数值仅为对照组的 66.5%,照射后 12 小时,似又有回升,但仍低于对照组

(表 3)。

照射后,小鼠铁蛋白晶体浓度在左、右后腿股骨骨髓中的变化不尽相同,但均呈降低趋势,且比脾中下降快,幅度也较大。照射后 3 小时,骨髓中铁蛋白晶体浓度仅为对照组的 39%。照射后 12 小时,虽有回升,但只有对照组的 64%(表 4)。

为了相互比较,以对照组动物各种脏器中

表 3 照射后不同时间小鼠脾铁蛋白晶体浓度变化

处 理		动物数 (只)	样品数 (个)	铁蛋白晶体浓度平均数 (个/毫克新鲜脾组织)	统 计 学 处 理		
					t 值	置 信 限	说 明
对 照 组		51	146	116.15			
照 射 组	3 小时	14	40	76.84	2.810	76.84±27.42	极显著
	6 小时	15	39	49.03	7.408	49.03±17.76	极显著
	12 小时	10	30	86.01	2.083	86.01±28.36	显 著
	24 小时	10	30	47.64	6.962	47.64±19.29	极显著

注: $t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{(S.E_1)^2 + (S.E_2)^2}}$ 置信限: $\bar{X} \pm t \cdot S.E.$ ($t_{0.05} = 1.960, t_{0.01} = 2.576$)

表 4 照射后不同时间小鼠骨髓铁蛋白晶体浓度变化

处 理		动物数(只)	样品数(个)	铁蛋白晶体 浓度平均数 (个/股骨)	统 计 学 处 理
对 照 组		23	45	203.44	
照 射 组	3 小时	10	20	80.40	$1.806 < t_{0.05}$, 不显著
	6 小时	10	20	32.85	$3.782 > t_{0.01}$, 极显著
	12 小时	10	20	64.25	$2.817 > t_{0.01}$, 极显著
	24 小时	10	20	41.15	$3.551 > t_{0.01}$, 极显著

注: $t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{(S.E_1)^2 + (S.E_2)^2}}$ $t_{0.05} = 2.000, t_{0.01} = 2.660$

表 5 照射后不同时间小鼠肝、脾和骨髓铁蛋白晶体浓度变化的比较

处 理		铁 蛋 白 晶 体 浓 度 平 均 数					
		肝 (个/毫克新鲜肝组织)		脾 (个/毫克新鲜脾组织)		骨髓(个/股骨)	
对 照 组		89.91	100%	116.15	100%	203.44	100%
照 射 组	3 小时	177.11	+196.99	76.84	-66.16	80.40	-39.52
	6 小时	141.66	+157.56	49.03	-42.21	32.85	-16.15
	12 小时	59.05	- 65.68	86.01	-74.05	64.25	-31.58
	24 小时	98.93	+110.03	47.64	-41.02	41.15	-20.23

注：所列数字系铁蛋白晶体浓度平均数，及以对照组动物数值为 100%，计算取得的照射组动物各种情况下的相应百分率。数字前“+”表示“增加到”，“-”号表示“减少到”。

铁蛋白晶体浓度为 100%，将照射组各数值换算成对照组动物数值的百分率，得表 5 及图 2。

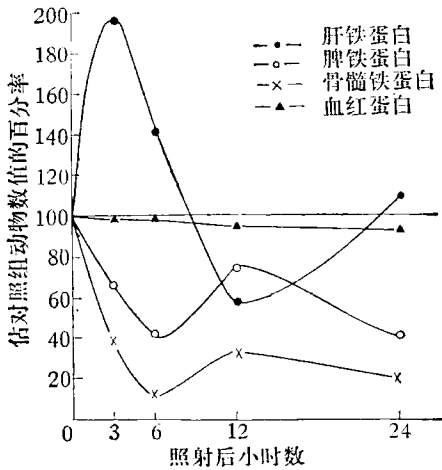


图 2 照射后不同时间小鼠肝、脾和骨髓铁蛋白晶体和外周血血红蛋白浓度变化的比较
(以对照组动物数值为 100%)

铁蛋白晶体浓度辐射效应早期变化与动物体重间必然的比例关系尚未发现。

讨 论

1. 早在 1943 年 Granick 和 Michalis 就报道了有关铁蛋白的制备方法。此后 Mazur 等 (1948) 曾在此法基础上提出改进。这种方法较烦琐，容易导致铁蛋白的损失和变性。我们采用的方法避免了铁蛋白的损失和变性，方法简便。用这种方法所找到的小家鼠肝、脾和骨髓铁蛋白浓度相对变化与 Michaelis, L. (1947)

报道的结果相合，说明这种方法尚能切实地反映客观实际。同时它还有能确定铁蛋白在组织中相对位置的优点。为避免压片厚薄不匀，实验力求组织新鲜，重量适度，压片尽可能薄，且均匀一致，其它条件亦力求基本一致，动物数、样品数应够大，以消除动物个体和实验技术上所引起的偏异。

这种方法所得数据，经过统计学处理，尽管不能获得铁蛋白的绝对数量，但能反映浓度相对变化的趋势。这种趋势与 Belcher, E. H. (1956) 450rX-射线照射，皮下注射 Fe^{59} 后大鼠肝、脾及骨髓铁代谢变化趋势一致。

2. 有关正常状态下，人及动物铁的动力学问题，Quimby, E. H. (1958), Pollycove, M. (1958) 等人曾进行过详尽的描述，但有关辐射条件下的情况，尚无系统报道。

我们的实验初步揭发了 X-射线致死剂量一次照射后，肝铁蛋白量迅速大幅度增长；反之，脾和骨髓中铁蛋白量却迅速减少，为了了解这中间有何必然联系，我们抓住了占身体铁 60—70% 的血红蛋白一环。实验期间，外周血血红蛋白浓度基本上处于动态平衡，血红蛋白(铁)浓度直接影响肝、脾及骨髓铁蛋白变化的可能性并不太大(表 6)。

以铁为特征的造红血球功能的辐射损伤的途径和机制究竟如何呢？从我们工作结果，参考前人有关造红血球功能和铁代谢途径和可能机制的解释，进行某些推理，却是十分可能(图 3)。

表 6 照射后不同时间小鼠外周血血红蛋白浓度变化

处 理		动物数 (只)	样品数 (个)	血红蛋白浓度平均数 (毫克/100 毫升血)		统 计 学 处 理		
						t 值	置 信 限	说 明
对 照 组		51	51	11.01	100%			
照 射 组	3 小时	14	14	10.91	99.09	0.556	10.91±0.36	不显著
	6 小时	15	15	10.82	98.26	1.035	10.82±0.37	不显著
	12 小时	10	10	10.35	94.00	4.800	10.35±0.28	极显著
	24 小时	10	10	10.40	94.45	4.611	10.40±0.26	极显著

注： $t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{(S.E._1)^2 + (S.E._2)^2}}$ 置信限： $\bar{X} \pm t \cdot S.E.$ ($t_{0.05} = 2.000$, $t_{0.01} = 2.660$)

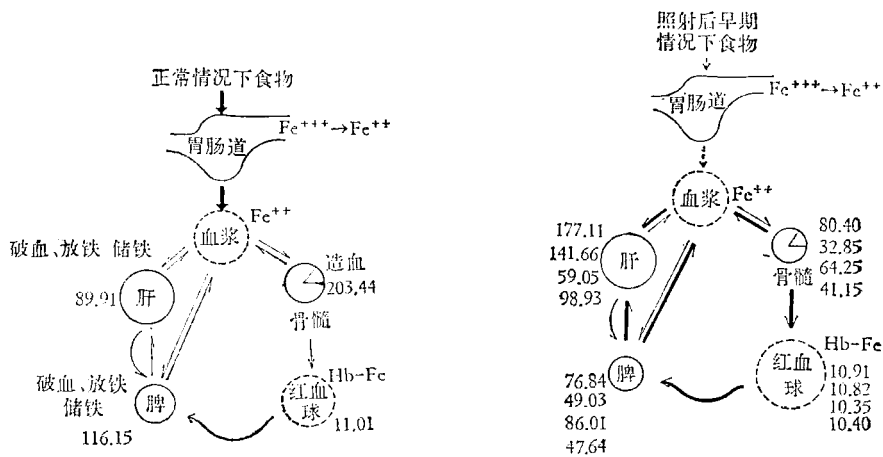


图 3 正常和辐射条件下铁代谢途径示意图

图中所列数值分别指正常和照后不同时间小鼠肝、脾和骨髓铁蛋白及外周血血红蛋白浓度

致死剂量照射后早期小鼠骨髓不再需要外界铁供应，而且还把自身备用的储备铁通过血浆铁途径转移到储铁库(主要在肝中)中去。照射后，尽管有大量网织红血球和红血球自骨髓中释放出来，但实验结果表明，外周血血红蛋白浓度变化不大，很可能在大量网织红血球和红血球进入血液的同时，有相当的、甚至略多些的红血球离开血液进入网状内皮系统(特别是脾)中；在这些组织中，红血球受到了破坏。铁自血红蛋白中释放出来，以铁蛋白形式储备起来；或以血浆形式转运至其它储铁库(如肝)以铁蛋白形式再储备起来；这可能是肝铁蛋白浓度增长的原因。由此，可认为致死剂量照射后早期小鼠造红血球功能受到抑制或破坏，破血功能加强，铁储备增多。

3. 我们实验结果的置信范围较宽，造成这

种情况的可能原因有：方法学上的局限性；动物个体间、脏器不同部位间存在差异性。

参 考 文 献

[1] Belcher, E. H. et al.: Progress in Radiobiology, 303—309, 1956.
[2] Chanutin, A. et al.: Amer. J. Physiol., 166, 380—383, 1951.
[3] Chanutin, A. et al.: Amer. J. Physiol., 166, 384—386, 1951.
[4] Mazur, A.: Essays in Biochemistry (ed. Graff, S.) 198—215, 1956.
[5] Michaelis, L.: Advances in Protein Chemistry, 3, 53—66, 1947.
[6] Moore, C. V. et al.: Iron Mineral Metabolism, An Advanced Treatise (ed. Comar, C. L. et al.) Vol. II, 287—348, 1962.
[7] Quimby, E. H. et al.: Radioactive Isotopes in Clinical Practice, 359—364, 1958.
[8] Wallerstein, R. O. et al.: Iron in Clinical Medicine, Univ. of California Press, 1958.

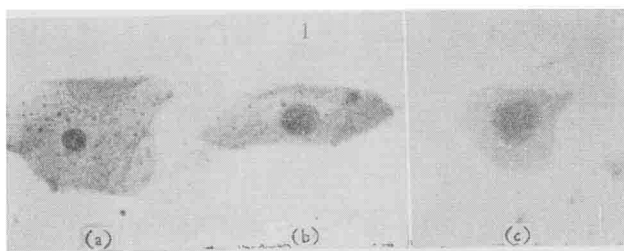


图 1 食管上皮表浅(a)、中(b)、深(c)层正常细胞照片

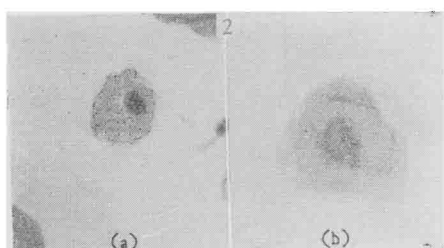


图 2 被误判为不正常细胞的中(a)、深(b)层正常细胞

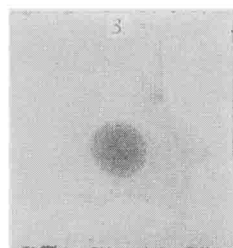


图 3 被误判的 40 号细胞

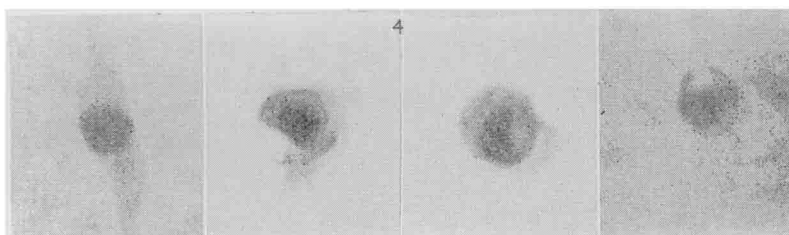


图 4 误判细胞的几种特殊形态

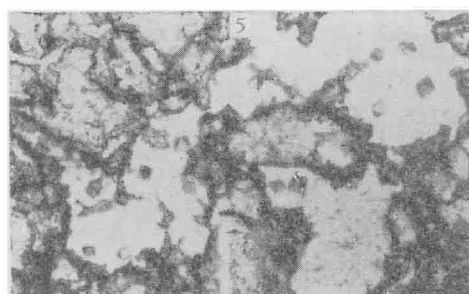


图 1 组织铁蛋白晶体示例(肝)