

# 血清的超弱发光与疾病诊断

胡 天 喜

(华东师范大学生物系, 上海)

## 提 要

血清或血浆中存在着与脂质新陈代谢相关联的超弱发光的现象。机体病变时, 血清的超弱发光会发生相依的变化。因此, 血清超弱发光的变化可以作为疾病的辅助诊断之用。本文简要地介绍了血清的发光机理、探测方法、影响因素及在某些疾病诊断中的应用。

1961 年苏联生物物理学家塔鲁索夫 (Та-  
русов) 等<sup>[1]</sup> 发现鼠肝和脑存在超弱发光的现象, 嗣后 1967 年柴刚略姆 (Закарян)<sup>[2]</sup> 发现血清(或血浆)也有发光现象。这一现象引起了医学界的重视, 对血浆的发光机理及其临床应用的研究已发表了大量的论文<sup>[3,4,5]</sup>。苏联还出版了两本有关血清超弱发光与疾病诊断的专著<sup>[6,7]</sup>。经过近二十年的研究, 已经基本上搞清了血清发光的本质, 并发现许多疾病与血清发光的变化有相依的关系。现在已将血清超弱发光作为一项灵敏、快速、简易的生物物理指标, 用来诊断肿瘤、心血管疾病及其它疾病, 分析药物的药理作用。本文就“血清发光与疾病诊断”作一扼要地介绍。

## 血清的发光现象

生物的细胞、组织和体液中, 普遍存在着与新陈代谢相关联的发光现象, 它们发射 360—800nm 的极微弱的光, 称为超弱的化学发光 (Ultra-weak chemiluminescence) 或称为自发的化学发光 (Spontaneous chemiluminescence, SCL)。一般认为它由脂质过氧化所引起。血液中存在有能量的基质——脂类化合物, 溶解有大量的氧气, 不断地进行着脂质过氧化反应。这种反应一启动, 就会成为链锁反应。如果血液中缺少抗氧化剂, 那么脂质过氧化反应就会加速, 造成血液中酮、醛、有机过氧化物及各种

自由基等毒物的积累。血清的 SCL 灵敏地反映了血液中脂质氧化和抗氧化的自由基反应的信息。

血清(或血浆)的 SCL 过于微弱, 其发光强度只有  $10-10^2$  光子/厘米<sup>2</sup>/秒, 或  $10^{-13}-10^{-15}$  w。信号很易被噪声所淹没, 低灵敏度、高噪声的光子计数器, 很难测出其信号。为了提高信噪比, 需要外界供给能量, 激发或诱发血清加速过氧化, 增强发光强度。由物理和化学因子诱发增强的发光, 称为诱发的生物化学发光 (Induced biochemiluminescence, ICL)。物理性的诱发因子有: 紫外线、x 和  $\gamma$  射线、直流电和交流电、超声、热、摩擦等等。化学性的诱发因子有:  $H_2O_2$ 、鲁米诺、 $Fe^{++}$  和  $Co^{++}$ 、NaOH、肾上腺素、 $KMnO_4$ 、钨-四环素等等, 其中用得最普遍的是电化学法和  $H_2O_2$  诱发法。

电化学发光 (Electrical chemiluminescence, ECL)<sup>[7]</sup>: 既用直流电, 也用交流电, 其中直流电用得更多一些, 一般需要特制电极和测量杯, 称为电化学发光篮, 形状见图 1。所用的血清或血浆量为 1—2ml, 所通的电流强度以不引起血清起泡为宜, 约 1.5mA。交流电用 10Hz、16mA。通直流电或交流电改变极性的一瞬间, 都可引起闪光。以闪光峰的峰值计量结果。

$H_2O_2$  诱发血清的 CL<sup>[7]</sup>: 向测量杯中加入适量的血清(或血浆), 先测 SCL, 而后从外部注入  $H_2O_2$ , 启动血浆的 CL, 记录 ICL 的动力

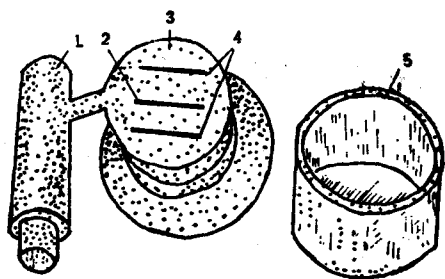


图1 电化学发光皿

1——电缆接头 2——中央电极 3——反射体和电极载体 4——侧电极 5——石英杯

学变化(图2)。测定下列七个动力学参数: 快闪光( $I_1$ )和慢闪光( $I_2$ )的振幅, 诱发慢闪光所需要的时间( $t$ ), 加  $H_2O_2$  到计数杯后5分钟的总光强( $\sum I_2$ )以及相应于a、b、c反应阶段的速度常数  $k_1$ 、 $k_2$ 、 $k_3$ 。

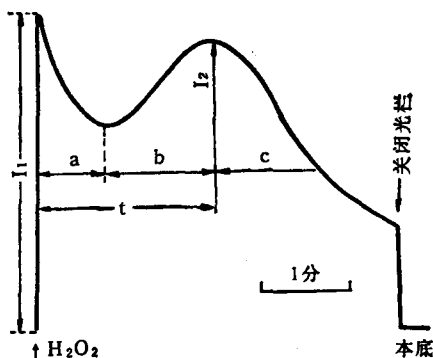


图2 过氧化氢诱发大鼠血浆化学发光的动力学变化

动力学参数的变化与温度、pH、血浆的浓度及  $H_2O_2$  的浓度有关, 要通过试验, 选出最佳的测量条件。一般选用  $37^\circ \pm 0.5^\circ C$ , pH7.2, 装的血浆量为1—2mL,  $H_2O_2$  的浓度视测量仪器的灵敏度而定, 在0.01—1.00%左右。

## 探 测 仪 器

探测血清(或血浆)的SCL和ICL, 要求具有高灵敏度、低噪声的光子计数器或超弱光检测仪。国外的有XJM1H-01(苏联)、LKB 1251型(瑞典)、Packard picolite 6100, 6200型(美国)、Biolumat LB 9505型(西德)等发光光度计<sup>[6,8,9]</sup>。我国中科院生物物理研究所已

研制出测超微弱发光的单光子计数器(能测光谱), 上海计量局实验工厂已生产高灵敏的生物化学发光检测仪。这些仪器的特点是: 高灵敏、低噪声; 样品室可以恒温, 从外部注入启动化学发光的试剂, 并能搅拌; 配有 $^{14}C$ 标准光源; 微电脑作操作的程序控制和数据处理, 数码显示和打印记录结果和图像。

装有非符合相加电路的液体闪烁计数器, 也可以作为单光子计数器使用<sup>[10]</sup>, 但是有噪声高、无控温、注液、搅拌装置等缺点。

## 血清超弱发光与医学诊断

### (一) 肿瘤诊断

#### 1. 肿瘤发生过程中血清的CL的变化<sup>[7]</sup>

(1) 肿瘤移植 植上肿瘤的大鼠, 其血清的SCL有明显的变化。不同肿瘤的SCL变化并不相同。曾对四种恶性肿瘤患鼠的血清SCL的变化作过比较, 其中三种肿瘤导致血清SCL增高, 一种使血清的SCL下降(图3)。共同的特点是肿瘤激烈生长期, 血清的SCL偏离正常值最大。

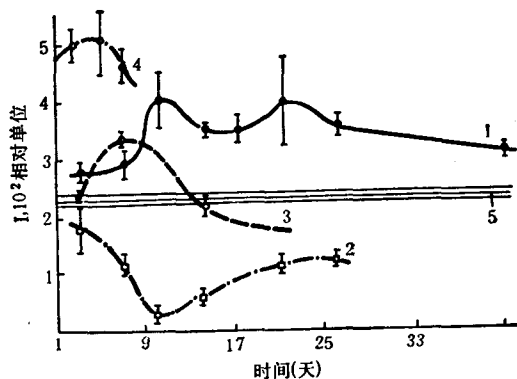


图3 植上肿瘤的大鼠血清的自发的化学发光的动态变化

1——格林癌 2——肉瘤45 3——柏里茨淋巴肉瘤  
4——雪弗茨红骨髓增生 5——健康的大鼠

例如植上格林癌后24天的大鼠, 其血清的SCL ( $319 \pm 130$ ) 明显地高于对照鼠 ( $173 \pm 23$ ), 植过肿瘤而未被植上的大鼠血清的SCL比对照鼠还要低 ( $129 \pm 40$ )。

(2) 化学致癌 虽然化学致癌诱发的时间较长, 诱发几率较低, 但是可看到细胞恶变和肿

瘤原基形成的早期过程,易用血清的 SCL 指标来诊断早期的癌症。曾用二乙基硝基亚胺诱发大鼠患肝癌。随着大鼠年龄的增长(2—15个月),对照组血清的 SCL 呈规律性地下降,而患肝癌鼠的血清的 SCL 则呈规律性地上升。注药后14个月,试验组大鼠血清的 SCL 比对照组高5、6倍。也曾用多环芳香烃7,12-二甲苯蒽诱发大鼠乳腺癌。伴随大鼠乳腺癌的生长,血清的 SCL 呈进行性地下降,注药后三个月(此时已可摸到肿块)最明显。患乳腺癌大鼠血清的 SCL 比同龄对照鼠低10多倍;未被诱发出乳腺癌的大鼠,其血清的 SCL 也比对照组低一倍。另外,多环芳香烃致癌剂——3,4-苯芘诱发大鼠患肺癌时,也有类似的现象。

(3) 病毒致癌 曾用摩罗尼(moloney)肉瘤病毒诱发小鼠患瘤。发现肿瘤发生的过程中(4—10天),血清的 SCL 逐渐下降;肿瘤退行性阶段,随着肿瘤直径的缩小,血清的 SCL 随之升高。17天内,带瘤小鼠的 SCL 均值只有  $30 \pm 7$ ,而对照组则达  $108 \pm 12$ 。

## 2. 检查治疗的效果<sup>[7]</sup>

放射治疗  $H_2O_2$  诱发淋巴肉芽肿瘤病人血浆的 CL,其动力学曲线的形状与健康人并无差异,但是  $\Sigma I_1$  和  $I_1$  发生了明显地变化,分别比正常人高2和4倍。经过一个疗程放疗以后,病人血清的 ICL 动力学曲线接近于健康人,但是出现了放射治疗所特有的  $I_2$  峰(图4)。

已知患格林癌的大鼠血清 SCL 增高,而患肉瘤45的大鼠 SCL 下降。一次总剂量8Gy和分次剂量50Gy照射后,血清的 SCL 呈波动性变化,总的趋向是患格林癌者下降,而患肉瘤45者上升,治疗3—4周以后,两种大鼠血清的 SCL 都趋向于正常化。

化学治疗 各种抗癌药物注射给患癌大鼠以后,其血清的 SCL 皆受到抑制。所以血清的 SCL 可以作为抗癌药物疗效的指标。

## 3. 炎症和癌症的鉴别诊断

曾对肺结核和肺癌病人血清的 SCL 作过对比研究,结果发现:与健康人( $SCL = 18 \pm 3$  脉冲/秒)相比,肺结核病人血清的 SCL(=

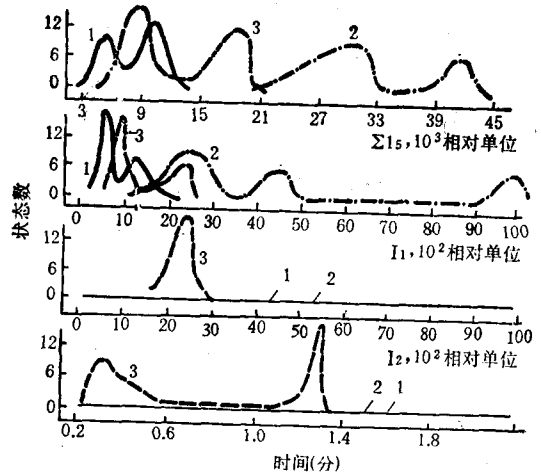


图4 淋巴肉芽肿瘤病人血浆的过氧化氢诱发发光动力学参数的变化

1——健康人 2——治疗前的病人  
3——一个疗程治疗后的病人

$27 \pm 8$  脉冲/秒)普遍升高,而肺癌病人的 SCL ( $= 11 \pm 2$  脉冲/秒)则普遍下降,三者有明显的差别<sup>[3]</sup>。人为地给兔子接种肺结核菌和移植恶性肿瘤,引起肺结核和肺癌,同样也观察到血清 SCL 的上述的相类似的变化<sup>[3]</sup>。

大鼠发炎时,血清的 SCL 升高,尤其是急性期,患格林癌的大鼠, SCL 也趋向于升高,所以单用血清的 SCL 很难将两种病患区分开来。用10mA, 16Hz的交流电去诱发血清的 ECL,则可见到癌症病人这一指标比正常人高,而 SCL 则比正常人低;炎症病人的 ECL 与正常人相似,但 SCL 则比正常人高。若对同一份血清样品既测 ECL,又测 SCL,求出大量样品 ECL 和 SCL 的均值,按下列公式求出系数( $\epsilon$ ),并以  $\epsilon$  为指标,就可清楚地区分出是炎症还是癌症。 $\epsilon$  指标是鉴别诊断的一项较可信赖的指标<sup>[7]</sup>。

$$\epsilon = \left( \frac{SCL_{\text{正常}}}{ECL_{\text{正常}}} - \frac{SCL_{\text{病人}}}{ECL_{\text{病人}}} \right) \cdot ECL_{\text{病人}}$$

表1的结果表明:癌症患者  $\epsilon$  为正值,而炎症患者  $\epsilon$  为负值,正常人为零,三者区别十分明显。

## (二) 胰腺炎的诊断

古里柯夫等<sup>[7]</sup>测量了胰腺炎患者血清的 SCL 和紫外线诱发的 CL(UV-CL)。发现胰腺

表 1 发病人和癌症病人的 SCL、ECL 及  $\epsilon$  值

| 病 患     | SCL |                  | ECL |                  | $\epsilon$         |
|---------|-----|------------------|-----|------------------|--------------------|
|         | n   | $\bar{x} \pm SD$ | n   | $\bar{x} \pm SD$ |                    |
| 正常人     | 130 | 315 $\pm$ 19     | 45  | 189 $\pm$ 16     | 0                  |
| 贲门和食道癌  | 193 | 301 $\pm$ 13     | 60  | 389 $\pm$ 18     | 3.5 $\times 10^2$  |
| 子宫颈癌    | 24  | 274 $\pm$ 24     | 11  | 405 $\pm$ 37     | 4.0 $\times 10^2$  |
| 肺癌      | 49  | 212 $\pm$ 17     | 24  | 298 $\pm$ 21     | 2.8 $\times 10^2$  |
| 消化道慢性炎症 | 22  | 391 $\pm$ 19     | 19  | 138 $\pm$ 20     | -1.6 $\times 10^2$ |
| 肺部慢性炎症  | 17  | 367 $\pm$ 20     | 15  | 192 $\pm$ 26     | -4.8 $\times 10^1$ |
| 急性消化道炎症 | 8   | 580 $\pm$ 68     | 8   | 186 $\pm$ 17     | -2.7 $\times 10^2$ |
| 急性肺炎    | 7   | 632 $\pm$ 75     | 7   | 198 $\pm$ 22     | -3.1 $\times 10^2$ |
| 烧伤人     | 22  | 106 $\pm$ 36     | 22  | 102 $\pm$ 18     | -2.4 $\times 10^2$ |

炎患者血清的 SCL 和 UV-CL 都比正常人高,尤其是 UV-CL。急性胰腺炎患者血清的发光比慢性胰腺炎患者高出一倍左右(表 2)。

表 2 胰腺炎患者血清的 SCL 和 UV-CL

| 研究的对象   | 人数  | 发光强度, 相对单位     |                |
|---------|-----|----------------|----------------|
|         |     | SCL            | UV-CL          |
| 慢性胰腺炎患者 | 145 | 8.3 $\pm$ 1.6  | 33.2 $\pm$ 2.2 |
| 急性胰腺炎患者 | 24  | 17.1 $\pm$ 1.1 | 55.4 $\pm$ 1.3 |
| 健康人     | 15  | 2.5 $\pm$ 0.5  | 3.5 $\pm$ 0.7  |

用抗原诱发血清 CL 的方法可以快速地(10—12 分钟)诊断出胰腺炎病情,它比 SCL 更明显。抗原从胰腺炎患者尸体的胰腺和健康人的胰腺中提取,按 1:5 的比例加到血清中,混合后测量 CL。来自病人的抗原可刺激血清的 CL 增强,而来自健康人的抗原则不能。如果抗原诱发健康人的血清发光为 2—3 相对单位的话,那么中度胰腺炎患者为 11—13,重度胰腺炎患者为 30—35<sup>[5]</sup>。

药物治疗以后,胰腺炎病情缓解,相应的 SCL 和 UV-CL 也就下降,几乎接近于正常人<sup>[5]</sup>。

### (三) 检测病人对药物的变态反应

治疗结核病,常用抗结核菌制剂,这类药会引起病人的变态反应:皮肤瘙痒和斑疹,血液有形成份的变化(嗜中性白细胞增多症、粒细胞减少症),以至过敏性休克。临床上常用病史、皮试、血清学及细菌学的方法来检查变态反应,

这些方法不是信息量不足,就是太费时或手续麻烦。

曾用血清的 SCL 来检验肺结核病人对药物的过敏反应<sup>[5]</sup>。发现有变态反应的病人血清,其 SCL 都比健康人高,其中以不耐药病人的血清更明显(表 3)。

表 3 健康人、耐药和不耐药的肺结核病人对结核菌素的反应

| 药 物    | 血清的 SCL, 相对单位   |               |               |
|--------|-----------------|---------------|---------------|
|        | 不耐药组<br>(113 人) | 耐药组<br>(40 人) | 健康人<br>(15 人) |
| 未加药    | 9.3 $\pm$ 2.5   | 9.4 $\pm$ 1.7 | 2.7 $\pm$ 0.7 |
| 链霉素    | 20.7 $\pm$ 6.7  | 9.7 $\pm$ 1.5 | 2.6 $\pm$ 1.0 |
| 异烟肼    | 16.3 $\pm$ 2.8  | 9.7 $\pm$ 1.5 | 2.7 $\pm$ 0.9 |
| 对氨基水杨酸 | 16.0 $\pm$ 3.2  | 8.9 $\pm$ 1.8 | 2.5 $\pm$ 0.8 |

用血清 SCL 法测病人对药物的变态反应是一项快速的(15—20 分钟)、灵敏的、无损伤的检测方法。

### (四) 心血管病人血浆的 SCL

用大剂量的胆固醇喂兔子,诱发成年兔产生动脉粥样硬化。诱发后病变初期,兔血清的 SCL 升高到 6.6 $\pm$ 1.1 脉冲/秒,而对照组只有 2.2 $\pm$ 0.3 脉冲/秒。用大剂量胆固醇喂幼兔则未见血清的 SCL 有变化<sup>[6]</sup>。

还发现动脉粥样硬化等病人,其血浆的 SCL 普遍地比健康人低。

### (五) 吸烟者血清的 SCL

Binkon yod 等最近报道<sup>[11]</sup>,吸烟者血清的

SCL 比戒烟者和从未吸烟者高出一倍,其 SCL 分别为  $125 \pm 36.9$  计数/10 秒、 $55.7 \pm 12.5$  计数/10 秒及  $53.5 \pm 14.2$  计数/10 秒。他们认为,吸烟会诱发血浆中物质的氧化,产生单线态氧和其它一些活性氧,从而增高血浆的 SCL。这些活性氧正是致癌的因子之一。

迄今报道的血清(血浆)发光变化与机体各种病变相关性的文章甚多,本文所介绍的只是其中的一小部分。从中已不难看出,血清(血浆)的超弱发光在医学诊断中是一项很有价值的、有广阔应用前景的生物物理指标。

### 参 考 文 献

- [1] Тарусов, Б. Н. и др. *Биофизика*, 1961, **6**, 490.
- [2] Закарян, А. Е. и др. *Биофизика*, 1967, **7**, 567.
- [3] Тарусов, Б. Н. и др. В "сверхслабые свечения в биологии", М. Наука, 1972, стр. 168—172.
- [4] Тарусов, Б. Н. и др. В "сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве", МГУ, 1974.

- [5] Куликова, Л. А. и др. В "биохемилюминесценция". (редактор, Журавлев, А. И. и др.), М. Наука, 1983.
- [6] Журавлев, А. И. и др. В "сверхслабое свечение сыворотки крови и его значение в комплексной диагностике", Медицина, 1975, стр. 69.
- [7] Серкиз, Я. И. и др. В "хемилюминесценция крови в экспериментальной и клинической онкологии", Наукова Думка, 1984, стр. 36—42, 48—50, 95—110, 116, 133, 156—160.
- [8] Dyke, K. V. et al.: In "bioluminescence and chemiluminescence instrument and application" 1985, I 85—128. CRC press.
- [9] Stanley, P. E.: In "clinical and biochemical luminescence" (Kricka L. J. and Carter T. J. N. eds), Marcel Dekker, Inc, New York, 1982, 220—258.
- [10] Berthold, F.: In "international conference on advances in scintillation counting" (McQuarrie S. A. et al eds), University of Alberta press, Edmonton, 1983, 230—247.
- [11] Binkon Yoda et al.: *Archives of Environmental Health* 1985, **40**, 148.

[本文于 1987 年 3 月 3 日收到]

### 会议简讯

## 全国《生物膜与疾病》专题讨论会在京召开

1987 年 11 月 14 日至 15 日,中国生物物理学会在北京召开了全国第一次《生物膜与疾病》专题讨论会。来自全国 30 多个单位的 40 余名代表参加了会议。会上主要就“红细胞膜与疾病”、“线粒体膜与疾病”和“膜与肿瘤”等为中心内容进行了交流与讨论。从不同程度上涉及了多种疾病的研究,如“克山病”、PNH 血红蛋白尿病、原发性高血压病、高脂血症、进行性肌营养不良症、慢性肾功能衰竭、紫绀类先天性心脏病、动脉粥样硬化以及线粒体膜异常变化有关的“大骨节病”和肝癌等。与会者对膜与“克山病”和“大骨节病”的研究成果进行了较深入的讨论。各单位从形态、生物化学和生物物理学等方面的变化用多指标深入研究了这两种地方病,取得了较系统的实验结果,这对诊断和防治这两种疾病具有一定的参考价值。与会者对“克山病”是一种心肌线粒体病的观点很感兴趣。

这次会议虽然仅用短暂的两天时间,却开得很成功、令人满意,正如总结会上不少代表所说,确实获益匪浅。这次会议的主要经验可概括为“小、好、新”三字,即会议的规模小,会上采取每一议题由中心发言人发言后,与会者结合自己的实验工作围绕中心议题敞开思想进行讨论,发言不拘形式、不计次数,但力求简明扼要,会议开得很生动活泼。在全体与会者的共同努力下,基本上收到了预期的效果。

[生物物理研究所 黄有国]