

X 射线全身照射对大鼠血清氨基转移酶活性和肝脏结构的影响

曲保忠¹, 王新成², 孙丹丹¹, 徐俊杰³, 吕士杰³

摘要: [目的] 观察不同剂量 X 射线全身照射对大鼠血清氨基转移酶活性及肝脏结构的影响。[方法] Wistar 大鼠 40 只, 随机分为 4 组: 对照组、2 Gy 组、4 Gy 组、6 Gy 组。除对照组外, 其余 3 组大鼠按处理剂量行 X 射线全身单次照射。照射后第 2 天, 经腹主动脉取血、分离血清, 测量谷氨酸氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST); 取肝脏组织制作病理切片, 观察肝脏的光学显微镜、电子显微镜结构。[结果] 4 Gy、6 Gy 组 ALT 水平升高, 与对照组相比, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 各照射组 AST 值与对照组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。光镜结果显示, 各照射组未见明显异常; 电镜结果显示, 6 Gy 组细胞器的改变多见于内质网, 其结构松散, 出现大量空泡。[结论] 4 Gy、6 Gy X 射线全身照射可对大鼠血清氨基转移酶活性造成影响, 6 Gy X 射线照射可对肝脏结构造成损害。

关键词: X 射线; 血清氨基转移酶; 超微结构; 大鼠

Effects of Whole Body X-Ray Irradiation on Serum Transaminase Activity and Liver Structure in Rats
QU Bao-zhong¹, WANG Xin-cheng², SUN Dan-dan¹, XU Jun-jie³, LÜ Shi-jie³ (1.Department of Stomatology and Medical Imaging; 2.Affiliated Hospital; 3.Department of Biochemistry, Jilin Medical College, Jilin, Jilin 132013, China) · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To study the effects of whole body X-ray irradiation on serum transaminase indices and structure of liver in rats. [Methods] Forty Wistar rats were randomly divided into four groups as blank control and other groups exposed to varied doses of X-ray (2 Gy, 4 Gy, and 6 Gy). Except those in the control group, the other 3 groups of rats were exposed to a single X-ray irradiation to the whole body with the designed doses. On the second day after irradiation, the serum alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) were assayed by sampling blood from abdominal aorta. The structure of liver was observed under optical microscope and electron microscope. [Results] Compared with the control group, the ALT levels of the 4 Gy and 6 Gy groups were significantly elevated ($P < 0.01$). There was no significant differences in the AST levels between the control group and the irradiation groups ($P > 0.05$). No apparent changes in hepatic structure were found under the optical microscope. However, vacuolated endocytosplasmic reticulum was identified in the 6 Gy group under electron microscope. [Conclusion] The serum transaminase indices of rats are changed after X-rays irradiation at 4 Gy and 6 Gy, and 6 Gy irradiation could damage hepatic structure.

Key Words: X-rays; serum transaminase; ultra structure; rats

放射线治疗 (简称放疗) 是目前肝癌治疗的主要手段之一^[1-2], 但放疗的同时正常肝组织也不可避免地受到 X 射线的照射。目前证实正常肝脏是放射敏感器官, 其放射敏感性仅次于骨髓、淋巴组织和肾^[3-4]。为观察 X 线照射对正常肝脏损伤的特点, 本研究拟以 Wistar 大鼠为对象, 研究不同剂量 X 线照射对大鼠血清氨基转移酶活性的影响及肝脏病理结构的变化, 为明确 X 线照射对正常肝脏的损伤特点和剂量规律提供实验基础, 并进一步为防护药物的开发提供理论依据。

[基金项目] 吉林省教育厅十五科学技术研究重点资助项目 (编号: 吉教科合字 [2010] 第 250 号)

[作者简介] 曲保忠 (1965—), 男, 硕士, 副主任技师; 研究方向: 放射治疗与防护; E-mail: qubaozhong1753@163.com

[作者单位] 1. 吉林医药学院口腔影像系, 吉林 吉林 132013; 2. 吉林医药学院附属医院, 吉林 吉林 132013; 3. 吉林医药学院生化教研室, 吉林 吉林 132013

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 Wistar 大鼠共 40 只, 雄性, 鼠龄 7 周, 体重 (200 ± 20) g, 购于吉林大学实验动物中心, 合格证号: SCXK-(吉)2008-0005。

1.1.2 仪器与试剂 仪器: 国产 XHA1400 计算机控制系统直线加速器 (山东新华医疗器材股份有限公司), Sysmex CHEMIX-180 全自动生化分析仪 (日本希森美康株式会社), 离心机 (Signal-14, 德国赛多利斯集团), 光学显微镜 (日本奥林巴斯公司), JEM-100SX 透射电子显微镜 (日本电子公司)。大鼠血清谷氨酸氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST) 试剂盒 (北京中生北控生物科技股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 动物适应性饲养 1 周后, 按体重随机分为

4 组: 对照组、2 Gy 组、4 Gy 组、6 Gy 组, 每组 10 只。

1.2.2 辐照条件 由 XHA1400 计算机控制系统直线加速器提供辐射源。除对照组外, 其余 3 组大鼠, 按照剂量 2、4、6 Gy 行 X 射线全身单次照射。于自制固定装置固定大鼠, 采用照射野门 Y₁-10.8、Y₂10.8、X₁-18.1、X₂18.1; 源皮距 100 cm; 剂量率 180 cGy/min。

1.2.3 大鼠血清氨基转移酶活性的测定 大鼠于照射后第 2 天, 用 5% 水合氯醛溶液, 按 0.3 mL/100 g 腹腔注射进行麻醉, 腹主动脉插管取血, 分离血清, 按试剂盒说明进行操作, 检测血清 ALT、AST 含量。

1.2.4 大鼠肝脏组织光镜结构 将大鼠麻醉处死, 迅速摘取肝脏, 剪取肝组织, 用生理盐水清洗后, 立即投入 10% 中性甲醛固定液中, 固定 30~50 min。肝组织经固定后, 流水冲洗数小时。依次经 70%、80%、90% 乙醇溶液脱水, 各 30 min, 再放入 95%、100% 乙醇溶液各 2 次, 每次 20 min。进入 100% 酒精、二甲苯等量混合液 15 min, 二甲苯 I 15 min、II 15 min(至透明为止)。在半苯半蜡浸蜡 40 min, 再放入石蜡 I、石蜡 II 透蜡各 50~60 min, 包埋成蜡块, 切片厚 6 μm, 贴片温度 38℃ 贴片, 恒温箱 40℃ 烤片 4 d。常规脱蜡复水, 采用苏木精染色、分色、漂洗蓝化, 用 0.5% 伊红乙醇液对比染色, 95% 酒精洗去多余的红色, 切片放入二甲苯 I、II 中各 3~5 min 透明、中性树胶封存。采用奥林巴斯光学显微镜苏木精-伊红(HE)染色法观察各组肝脏组织结构。

1.2.5 大鼠肝脏组织电镜结构 将大鼠麻醉处死, 迅速摘取肝脏, 用锋利剃须双面刀片切成大小为 1 mm³ 的肝组织, 用 2.5% 戊二醛 4℃ 固定, 经脱水、浸透、包埋、聚合, 制成电镜切片, 采用 JEM-100SX 透射电子显微镜电子染色法观察各组肝脏组织超微结构。

1.2.6 统计分析 采用 SPSS 14.0 统计软件对数据进行单因素方差分析, 所测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠血清氨基转移酶活性

4 Gy 组和 6 Gy 组 ALT 水平升高, 与对照组相比, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$); 与对照组相比, 各照射组 AST 值的变化无统计学意义 ($P>0.05$) (表 1)。

表 1 不同剂量 X 射线照射后大鼠血清 ALT、AST 值比较 ($\bar{x} \pm s$, U/L)

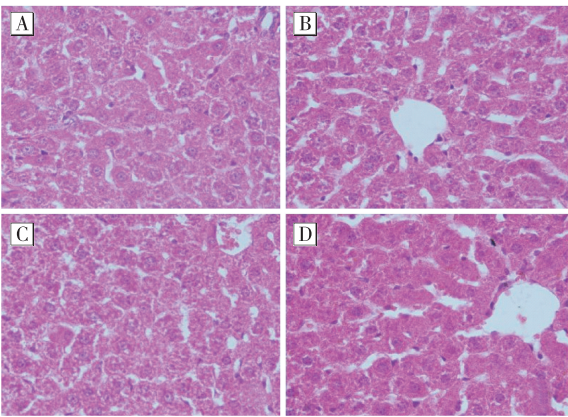
组别	ALT	AST
对照组	52.60 ± 4.86	53.40 ± 7.09
2 Gy 组	53.10 ± 5.13	61.20 ± 8.78
4 Gy 组	78.20 ± 6.58*	56.80 ± 3.52
6 Gy 组	80.10 ± 2.51*	59.90 ± 6.08

[注]*: 与对照组比较, $P<0.01$ 。

2.2 病理结果

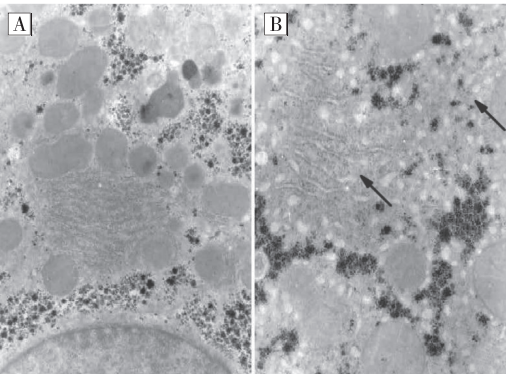
2.2.1 光镜观察 光镜下观察各组大鼠肝脏组织结构, 肝小叶结构正常, 肝小叶与门管区结构清楚, 肝细胞条索围绕中央静脉呈放射状排列, 肝血窦未见明显瘀血现象, 汇管区小叶间动、

静脉和小叶间胆管未见异常, 肝细胞呈多边形, 核居中, 胞浆红染(图 1)。



[注] A: 对照组; B: 2 Gy 组; C: 4 Gy 组; D: 6 Gy 组。
图 1 各组大鼠肝脏光镜结果(HE 染色, ×400)

2.1.2 电镜观察 电镜下观察对照组大鼠肝细胞结构完整。肝细胞核为圆形、居中。核内常染色质多, 无异染色质, 核膜完整。线粒体体积较大, 数量多, 嵴密集, 排列有序。内质网排列有序, 未见空泡和肿胀现象。存在少量糖原颗粒和脂滴(图 2)。2 Gy、4 Gy 组大鼠肝脏超微结构与对照组相比未见明显变化。而 6 Gy 组大鼠结构变化明显, 细胞器的改变多见于内质网, 内质网结构松散, 出现大量空泡。部分线粒体出现变性, 体积肿胀, 嵴排列紊乱(图 2)。



[注] A: 对照组; B: 6 Gy 组。
图 2 对照组及 6 Gy 组大鼠肝脏电镜结果(×10 000)

3 讨论

肝脏具有重要的生理、生化及免疫功能, 它是体内联系各种组织、器官最密切, 参与物质代谢最广泛的器官。肝脏结构和功能的变化必将影响到机体物质代谢、能量代谢, 影响到整个机体的状态。ALT 与 AST 是两种主要分布在肝细胞内的氨基转移酶, 当肝细胞受损坏死时 ALT 和 AST 就会随之受到影响, ALT 反映急性肝细胞损伤最为敏感, 而 AST 反映其损伤程度最为敏感。当肝细胞坏死时会引起血清氨基转移酶迅速升高, 氨基转移酶高说明肝脏有损伤。ALT 存在于肝细胞胞浆内, 当肝细胞受损时, ALT 可升高, 但 ALT 活性变化与肝脏病理组织的改变缺乏一致性, 严重肝细胞损伤患者 ALT 并不一定升高。

AST也是氨基转移酶中比较重要的一种,其存在于肝细胞线粒体中,AST偏高说明肝细胞损伤更为严重。氨基转移酶增高可降低肝脏的代谢能力和解毒能力,所以ALT和AST被世界卫生组织推荐为肝功能损害最敏感的检测指标。电离辐射可引起肝功能及肝酶学的一系列变化,从而引起肝脏物质代谢的改变,并产生放射性肝炎甚至肝纤维化,损伤程度存在着量效关系,其发生机制尚未完全阐明^[4],但由于所采用的动物种类、照射部位及辐照条件各异,结果也不尽相同^[4,5-8]。

本实验结果显示,经X线全身单次照射,大鼠血清ALT在4Gy、6Gy组升高,AST值变化不明显。该结果提示,本实验剂量下X线照射引起肝细胞损伤较轻微,改变了细胞膜的通透性,其渗透压改变,导致肝脏胞浆酶的异常流出。AST的敏感性不如ALT的原因在于:ALT大部分分布于胞浆中,而肝脏80%的AST存在于线粒体内,肝脏损伤轻微时,肝细胞虽损伤但线粒体仍保持完整,释放入血的就只有存在于肝细胞浆内的ALT,此时,ALT升高明显,但AST并不发生明显改变^[9]。电镜观察结果显示,6Gy组部分线粒体出现变性,体积肿胀,嵴排列紊乱,但并未发生线粒体明显破裂或坏死。

1895年伦琴发现了X射线,从而揭开人类利用电离辐射的序幕。相对其他辐射源,关于X线辐射影响的研究较少,主要集中在对免疫、造血及消化系统等方面的研究。本研究以Wistar大鼠为对象,研究X线辐射对大鼠血清氨基转移酶活性的影响及肝脏病理结构的变化,可为全面研究放射治疗对患者的损伤提供参考依据,为放射防护提供基础资料。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 马中山,马云玲,冯力.放疗在原发性肝癌非手术治疗中的地位与作用[J].中华放射医学与防护杂志,2010,30(1):102-104.
- [2] KRISHNAN S, DAWSON LA, SEONG J, et al. Radiotherapy for hepatocellular carcinoma: an overview[J]. Ann Surg Oncol, 2008, 15(4): 1015-1024.
- [3] 彭海波,吴大可.体外放疗在肝癌治疗中的应用进展[J].现代肿瘤医学,2011,19(7):1463-1465.
- [4] 傅尚志.电离辐射对肝脏的损伤[J].国外医学·放射医学核医学分册,1997,21(4):188-191.
- [5] 李晓琴,阿依肯,刘春玲.大鼠急性放射性肝损伤模型的建立[J].医学信息(下旬刊),2011,24(7):8-9.
- [6] NAKAMURA N, KUSUNOKI Y, AKIYAMA M. Radiosensitivity of CD4 or CD8 positive human T-lymphocyte by an *in vitro* colony formation assay[J]. Radiat Res, 1990, 123(2): 224-227.
- [7] SUN SP, JIN YN, YANG HP, et al. Serum transforming growth factor-beta1 level reflects disease status in patients with esophageal carcinoma after radiotherapy[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(39): 5267-5272.
- [8] 杨帆,孙鹏飞,黄鹤,等.X射线低剂量多次照射对大鼠血清氧化指标的影响[J].吉林医药学院学报,2010,31(5):265-267.
- [9] 孙荣武,王鸿利.临床实验诊断学[M].上海:上海科学技术出版社,2001:193-196.

(收稿日期:2012-03-12)

(英文编审:金克峙;编辑:张晶;校对:徐新春)

(上接第683页)

通,建立大陆引水管理协调机构,减少或控制水源地主要污染源的排放,同时排查和清理舟山本岛蓄水库上游污染源;二是加强水源的监测工作,增加监测频次,掌握水源本身化学类、藻类、微生物污染的变化规律;三是建立阶段性重污染源及输水线受到海水侵蚀破坏等突发事件应对机制,增强应急处置能力;四是强化物理、化学、生物等方法有机结合的综合水处理技术及常规处理工艺改造,扩大深度水处理技术范围,把水污染危害降到最低程度,确保饮用水安全。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 朱玲,莫耀,王晨.海水淡化及海岛城市多水源综合利用的规划研究[J].水利科技与经济,2011,17(9):19-21.

- [2] 张永利,倪惠君,陈阿苟,等.海水淡化对环境及人体健康影响的研究进展[J].环境与职业医学,2010,27(5):317-318.
- [3] 邹士洋,陶永华,曹佳,等.船舶反渗透海水淡化水的水质检测及卫生学分析[J].中国卫生检验杂志,2011,21(10):2511-2513.
- [4] World Health Organization. WHO guidelines for drinking-water quality, third edition[M]. Geneva: WHO Publications Centre USA, 2008: 186.
- [5] 张永利,姜智海,袁东,等.嵊泗县海岛海水淡化饮用水水质监测分析[J].中国公共卫生,2008,24(10):1160.
- [6] 陈显民,程炽晔.舟山大陆引水工程跨海输水管道设计[J].水运工程,2009(z1):101-107,114.

(收稿日期:2012-06-27)

(英文编审:金克峙;编辑:徐新春;校对:郭薇薇)