

淋巴细胞及其亚群的辐射敏感性

苏州医学院 张学光综述

袁智广* 茅子均** 殷志伟** 审

近年来,随着放射生物学和免疫学研究的不断深入,业经发现淋巴细胞不仅是高辐射敏感性的细胞群,且其亚群各具不同的辐射敏感性,任何一个亚群对电离辐射的反应必将会影响到其它群体的功能,从而涉及到整个免疫系统。因此,对淋巴细胞及其亚群辐射敏感性的研究以及对影响辐射敏感性因素和机理的探讨,将对研究辐射损伤效应、寻找辐射损伤的诊断指标、选择辐射损伤治疗和防护措施等等提供理论依据和实验手段^[1,2]。对淋巴细胞及其亚群的辐射敏感性的研究已成为放射生物学和免疫学中的一个重要课题,国内起步较晚而国外许多学者已做了大量工作,现择要概述如下。

一、T、B细胞辐射敏感性的概述

T、B细胞是参予机体免疫反应的主要成份,也是细胞免疫和体液免疫的物质基础。这两群细胞不仅在功能上各不相同,而且对辐射的反应性也有显著差异。电离辐射可引起T、B细胞的数量和形态的改变以及免疫功能的损伤,因此,评价T、B细胞的辐射敏感性也主要从这二个方面进行探讨。

1. 照射后T、B细胞数量和形态的变化

遭受电离辐射后,T、B细胞的数量可发生显著的改变,但损伤程度不一。Anderson等^[3]给10周龄CBA/J小鼠全身照射,于照

射后不同时间分别观察脾脏、淋巴结和外周血T、B细胞的存活数,在低剂量(50拉德)照射后,B细胞的存活数明显下降,而T细胞的存活数在500拉德照射后才有显著下降。有作者^[4]报告,小鼠全身照射800拉德后第一天,脾脏B细胞存活数只有正常的1/200,而淋巴细胞总数仅下降了1/10。Durum等^[4]以不同剂量 γ 线照射小鼠后第6天,发现50拉德照射即可使脾脏的B细胞存活数显著减少,而100拉德照射尚没有引起T细胞存活数明显下降。

电离辐射可引起淋巴细胞的混浊肿胀、变性坏死和核固缩等形态及超微结构的改变,遭辐射后的B细胞的形态学改变较同样剂量照射后的T细胞为严重。Olson等^[6]对健康人外周血体外照射0~500拉德后,发现在各个剂量组的B细胞形态改变均比T细胞明显。Anderson等^[8]报告小鼠全身照射后,脾脏和淋巴结的B细胞依赖区的细胞坏死和组织结构改变均比T细胞依赖区的变化为严重。他们还比较了BALB/C小鼠照射后,用扫描电镜观察T、B细胞超微结构的损伤程度,证实照射可引起淋巴细胞膜表面粗糙、凹凸不平、膜破碎等改变,B细胞的变化比T细胞严重^[8]。

2. 照射后T、B细胞免疫功能的改变

淋巴细胞的辐射敏感性和辐射对细胞功能的影响密切相关,而且辐射后的细胞功能改变早于和大于形态、数量的变化。因此有的学

(上接第36页)

36. Добропорова НН и др: Радиобиол 21 (4):595, 1981.

37. Makidono A: 医学研究 (日) 50 (6):33, 1980.

38. Pospisil J et al: CA92 (13):106577, 1980.

39. Богущ НА и др: РЖ-Рад Биол 1980 (9):970, 166.

40. Rotkowska D et al: Strahlentherapie 157 (10):677, 1981.

者^[4]强调,评价T、B细胞的辐射敏感性必需比较T、B细胞免疫功能损伤的差别。

电离辐射可引起细胞膜结构和功能的改变,而这种改变直接影响到淋巴细胞的功能,所以辐射对膜结构和功能损伤程度也反映了该细胞功能受损的严重性^[7,8]。Durum等^[4]用淋巴细胞“帽状”反应试验,研究了小鼠照射后,脾脏存活的淋巴细胞功能受损程度,结果表明,600伦照射后第3天,存活的B细胞丧失了正常“帽状”反应能力,而存活的T细胞的“帽状”反应能力仍为正常。Prosser^[9]用E花环和EAC花环试验比较T、B细胞的辐射敏感性,观察到人外周血经25拉德照射后,B细胞迅速减小,T细胞数的下降较B细胞缓慢。

电离辐射对淋巴细胞转化能力有明显的影 响。茅子均等^[10]报告,小鼠接受25拉德照射后,对其脾脏的T、B细胞转化反应均有抑制,但B细胞的抑制程度较T细胞明显,400拉德照射后,两者有显著差别。Herva等^[11]以不同剂量X线照射人淋巴细胞,然后加入T细胞丝裂原植物凝集素(PHA)和B细胞丝裂原结核菌衍生纯蛋白(PPD),经测定³H-TdR掺入量,发现500拉德照射后,T细胞掺入量降至对照组掺入量的70%,而B细胞掺入量降至对照组掺入量的25%。随照射剂量的增加,T细胞掺入量总是大于B细胞。

T、B细胞在免疫反应过程中需密切配合和协作,电离辐射对这种协同功能有损伤效应^[12,13]。Durum等^[4]用 γ 线全身照射C₃B₁F₁小鼠,在照射后3天,取其脾脏中存活的T细胞与未照射的B细胞,或取其脾脏中存活的B细胞与未照射的T细胞分别体外培养,再用SRBC致敏,观察溶血空斑形成反应(PFC),从而比较辐射对T、B细胞在体外抗体生成反应中的协同功能受损效应。B细胞接受100伦照射后,即丧失了正常的功能,使PFC形成率迅速下降到对照组的最低值。而T细胞接受300伦照射后,PFC形成率未降到最低值。结果显示,B细胞的免疫功能受损较T

细胞明显。

有的学者^[14]还观察了辐射对迟发型超敏反应和抗体生成的影响,比较参予这些免疫反应的T、B细胞在特异性免疫反应中的辐射敏感性。Nomoto等^[15]报道,小鼠接受鸡红细胞免疫后3小时,接受600伦照射,测得抗体滴度比正常低50%,但在同样剂量照射下,同系小鼠的脚掌迟发型超敏反应与对照组无明显差异。

正常的T、B细胞具有回巢(homing)、转运(traffic)和迁移(migration)的能力,电离辐射后T、B细胞的正常回巢、转运和迁移功能受损。Anderson^[6]在体外照射BALB/C小鼠的淋巴细胞,用⁵¹Cr标记后转移到同系受体,观察到照射后的T、B细胞失去正常回巢和转运功能,异常地积聚在脾脏,B细胞受损程度较T细胞为明显。他们还用同样的方法观察了小鼠T、B细胞在照射后迁移能力的改变,大剂量(5000拉德)照射后,B细胞的初次迁移(Primary migration)能力受到严重损伤,而T细胞仍保持正常功能,100拉德照射后,B细胞丧失了再次迁移(Secondary migration)能力,T细胞需接受500拉德照射才丧失再次迁移功能^[16]。

上述结果显示,电离辐射对B细胞的损伤效应,不论在形态和数量上,还是在免疫功能方面,均比T细胞的损伤效应严重,故一般认为B细胞的辐射敏感性比T细胞高。

但也有学者在实验中所得结果与此不同。Facchini^[17]报告,人外周血淋巴细胞离体照射25~2500拉德,T细胞与SRBC形成E花环为能力在照射后2小时就受到抑制,并随剂量增加和时间延长而抑制不断加深,但B细胞的FC受体结合力则在照射后24或36小时才呈剂量相关性的下降。作者用电镜观察到,照射后T细胞的超微结构改变(线粒体肿胀,核固缩)较同样剂量照射后的B细胞严重。Birkeland等^[18]也观察到人外周血淋巴细胞接受500拉德照射后,T细胞与SRBC形成E花环能力受到抑制,B细胞与A型人红细胞-抗体-补

体复合物形成HEAC花环能力需接受50,000拉德照射后才受到影响。Stjernswärd等⁽¹⁰⁾观察到34名乳腺癌患者放射治疗后T细胞明显减少, B细胞百分数相对升高。放疗后1年, T细胞由50%降至45%, B细胞由32%增加到52%。

3. 影响T、B细胞辐射敏感性的因素

关于T、B细胞辐射敏感性的不同实验结果, 有些学者认为可能由于下列几个因素所致:

(1) 所采用的实验方法不同。照射的环境、剂量、剂量率和照射部位对实验结果影响较大, 尤其体外实验的组织培养方法可以扩大放射损伤效应, 造成体外实验结果的差异。而整体照射后则可改变淋巴细胞回巢能力和在体内的分布, 往往引起体内实验结果的紊乱。Anderson等⁽³⁾证实小鼠全身照射后, 淋巴结T细胞的恢复, 部分是由其它淋巴组织的T细胞通过转运到达淋巴结所致。

(2) 淋巴细胞亚群的辐射敏感性不同。T、B细胞为不均一的细胞群, 而各个亚群的辐射敏感性也不相同。采用不同的方法可能主要涉及各个亚群的数量不相同, 所表达的辐射敏感性也有差异。Szczylik等⁽²⁰⁾用E花环(E)和活性花环(AE)作为T细胞标志, 红细胞-抗体-补体花环(EAC)和小鼠红细胞花环(ME)作为B细胞标志, 观察到人外周血淋巴细胞体外X线照射后不同时间的辐射敏感性排列如下: $AE > ME = EAC > E$ 。这表明就受体的辐射敏感性而言, 总的T细胞的辐射敏感性没有B细胞高, 但T细胞中个别亚群(AE)的辐射敏感性比B细胞高。

(3) 受照射的细胞所处细胞周期不同, 对辐射的反应性也就不相同。有学者⁽²¹⁾报告, 淋巴细胞在丝裂原或抗原刺激后, 由静息状态进入细胞周期, 因而获得较高的辐射抗性。而激活的淋巴细胞由于所处的细胞间期不同, 对辐射的反应性也存在差别。Vanghan-Smith等⁽²²⁾在实验中证实, 猪淋巴细胞在照射后30分钟给予Con A刺激, 可获得较高的辐

射抗性。而延迟到照射后24小时加入Con A, 辐射敏感性就增加。

二. T细胞亚群的辐射敏感性

T细胞是由几个功能不相同的亚群所组成。这些亚群对辐射的反应性存在显著的差别, 尤其是抑制性T细胞的辐射敏感性远比辅助性T细胞高, 引起人们的极大重视, 并认为这是成辐射对T细胞损伤效应复杂性的因素之一。

1. 剂量-效应曲线的异质性

剂量-效应曲线反映剂量与生物效应之间存在一定的关系, 在某种范围内, 可以判断受照射细胞的辐射敏感性。一些作者观察到, T细胞的剂量-效应曲线呈双相性反应, 表明存在辐射敏感性不同的亚群^(23, 24)。Anderson等⁽²⁵⁾在实验中证实, 小鼠接受50拉德照射后就引起循环性T细胞减少, 效应曲线迅速下降, 但随剂量增加下降速度减慢, 曲线呈较为平坦。作者认为T细胞至少有两种辐射敏感性不同的亚群, 其中辐射敏感的亚群接受50拉德照射即可终止其正常循环, 而另一个亚群恰能耐较大剂量的照射。Kwan等⁽²⁶⁾研究了人外周血淋巴细胞接受γ线照射后, 形成活性花环(AE)的辐射效应, 证实AE细胞的存活曲线呈双相性反应, 推测由两个亚群所组成, 其中大约有30%为辐射敏感性细胞, D_0 值为50拉德, 70%为辐射抗性细胞, D_0 值为550拉德。张学光等⁽²⁷⁾采用E花环试验、非特异性酯酶(ANAE)染色作为检测T细胞的方法, 观察到正常人外周血淋巴细胞经不同剂量(25~800拉德)γ线照射后2、18小时, E花环形成率(ERFC%)和ANAE阳性率(ANAE%)的剂量-效应曲线呈双相性反应, 在25~100拉德照射后, 曲线迅速下降, 但随剂量增加, 下降幅度减慢。通过直线回归方程分别求得辐射敏感性和抗性细胞的 D_0 值。照射后2、18小时, ERFC和ANAE中辐射敏感细胞的 D_0 值分别为954和301拉德, 抗性细胞的 D_0 值平均为3271及2884拉德。

2. Tr、Tu细胞的辐射敏感性

根据人类T细胞表面有无免疫球蛋白IgG或IgM的Fc受体,可将T细胞分为不同亚群。Gupta等^[26]用EAG和EAM花环法观察了人外周血T细胞在体外经 γ 线照射后,这两群细胞的辐射敏感性。500伦照射后,EAG花环形成率明显下降,而EAM花环形成率在2000伦照射后,才有显著性下降。张学光等^[27]报告,人外周血T细胞在体外经不同剂量 γ 线照射后24小时,EAG花环形成率在400拉德照射后即有非常显著性下降,而EAM花环在接受1600拉德照射后才有非常显著性下降,它们的 D_0 值分别为1378和2542拉德;照射后48小时,EAG花环形成率在200拉德照射后有非常显著性下降,EAM花环形成率在400拉德照射后有显著性下降, D_0 值分别为1361和2171拉德。由此表明,Tr细胞的辐射敏感性高于Tu细胞。

3. 抑制性T细胞和辅助性T细胞的辐射敏感性

一些作者对抑制性T细胞的辐射敏感性进行了研究,证实这两群细胞的辐射敏感性存在显著差别。Fauci等^[28]在超薄层琼脂溶血空斑实验中证实,T细胞受到低剂量(25~100拉德)体外照射后,丧失了正常抑制空斑形成的功能,使空斑形成率增加,而接受2000拉德照射后,T细胞的辅助功能仍为正常,促进空斑形成率增加。由此作者认为,空斑形成率的增加,主要是由于辐射对抑制性T细胞损伤而辅助性T细胞功能相对增强所致,照射对抑制性T细胞有“选择性”的抑制效应。Warner等^[29]把体外接受400拉德照射后的小鼠胸腺细胞与脾脏细胞一起转移到同系受体,测得转移的脾脏细胞产生抗体的量高于胸腺细胞未照射的对照组。表明胸腺细胞中的抑制性细胞接受照射后,失去抑制脾脏细胞产生抗体的功能,而辅助性T细胞能耐受电离辐射,从而促进抗体产生。Callard等^[31]将E花环形成细胞(E^+)经不同剂量照射后,与 X_{31} 病毒及同种淋巴细胞一起培养,观察抗 X_{31} 病毒抗体的产生,发现 E^+ 细胞接受1500拉德照射后,抗体的滴度

高于对照组,而接受2500~5000拉德照射后,抗体的滴度下降,表明1500拉德照射可抑制 E^+ 细胞中的抑制性T细胞,而辅助性T细胞能耐受较大剂量的照射。

抑制性T细胞具有高度的辐射敏感性已在许多实验中得到证实,但关于辅助性T细胞的辐射敏感性,在不同实验条件下所得结果并不相同。有学者^[1]报告,在初次抗体形成反应中,辅助性T细胞的辅助功能对辐射相当敏感。Anderson等^[3]认为在体外实验时辅助性T细胞活性具有辐射抗性,但将其转移到同系动物后,通常表现中等程度的辐射敏感性。

关于抑制性T细胞和辅助性T细胞辐射敏感性不同的机理目前尚无满意的解释。一般认为,抑制性T细胞所以对辐射敏感,主要原因是抑制性T细胞不能免于间期死亡。Anderson等^[1]指出抑制性T细胞可能是唯一遭受间期死亡的T细胞亚群。有的作者^[29]认为辅助性T细胞不一定经过分裂就能发挥其功能,这样在发生增殖期死亡前仍起辅助作用。还可能由于抑制性T细胞和辅助性T细胞的分化阶段、代谢活性和功能的不同,因而对辐射的反应性不一。

三. B细胞亚群的辐射敏感性

在研究B细胞辐射效应时观察到,B细胞也存在辐射敏感性不同的亚群。Kwan等^[24]观察了离体照射后培养4天的B细胞存活数,其剂量-效应曲线也呈双相性反应。经计算,辐射敏感性亚群的 D_0 值为50拉德,辐射抗性亚群的 D_0 值为500拉德,各占细胞总数的50%。杨文礼等^[32]在实验中也证实,人外周血淋巴细胞离体照射后24小时,B细胞与小鼠红细胞形成花环能力受到抑制,剂量-效应曲线呈双相性反应,辐射敏感亚群的 D_0 值为274伦,抗性亚群的 D_0 值为926伦。虞介昌等^[33]观察了电离辐射对B细胞和小鼠红细胞形成花环(ME),及与酵母多糖-补体形成酵母多糖-补体花环(Zc_3)的效应,经 γ 线(25~800拉德)照射后24、48、72小时,它们的剂

量-效应曲线都呈双相性,并分别求得辐射敏感性和抗性细胞的 D_0 值。照射后不同时间, Zc_3 中辐射敏感性细胞的 D_0 值平均为180拉德,抗性细胞的 D_0 值为1467拉德;ME中辐射敏感性细胞的 D_0 值平均为146拉德,抗性细胞为970拉德。

辐射对抗体形成细胞即B细胞在抗体反应各个阶段的影响也存在差异。有作者^[34]报道,在抗体致敏和诱导阶段,B细胞的辐射敏感性相当高, D_0 值为75拉德, D_{q10} 拉德,外推值 n 等于零, D_{50} 为60~150拉德;抗体生成阶段的辐射性逐步增加,19S抗体生成细胞的 D_0 值为6200拉德, D_{q10} 为800拉德, n 等于1.62。Kataoka等^[34]用免疫荧光法观察了 C_3Hf/He 小鼠脾脏中产生IgG抗体的前体细胞——“Br细胞”和产生IgM抗体的前体细胞——“Bu细胞”的辐射敏感性,证实“Br细胞”的辐射敏感性比“Bu细胞”高。“Bu细胞”在照射后一周就开始再生,与此同时,“Br细胞”仍不能再生。Bendel等^[35]在全淋巴照射后也观察到,从照射后第二月开始产生IgM抗体,在照射后第七个月才产生IgG抗体,表明产生IgM抗体的细胞比产生IgG抗体的细胞在辐射后的再生和修复能力强。Fox等^[36]证实,受照射小鼠产生IgG和IgE的B细胞对辐射的反应性不同,产生IgG的B细胞不论在激活后还是激活前照射,其辐射敏感性均比相应产生IgE的B细胞高。

四. 小 结

综上所述,淋巴细胞不仅是辐射敏感性高的细胞群,而且其辐射效应也极为复杂,主要是由于淋巴细胞各个亚群的辐射敏感性不同所致。一般以为,B细胞的辐射敏感性比T细胞高;T细胞中具有不同辐射敏感性的亚群,抑制性T细胞的辐射敏感性高于辅助性T细胞;B细胞中也存在辐射敏感性不同的亚群。

造成淋巴细胞辐射敏感性差异的主要原因是由辐射引起淋巴细胞各亚群遭受间期死亡的速率、比例不同、淋巴细胞各亚群继辐射后的

修复、再生功能不同所致,也可能与淋巴细胞各亚群的功能以及与此有关的代谢活性不同有关,这些因素值得进一步的深入研究。

参 考 文 献

1. Anderson RE et al: Adv Immunol 24:215, 1976.
2. Sprent J et al: Eur J Immunol 4:204, 1974.
3. Anderson RE et al: J Immunol 118:1191, 1977.
4. Durum SK et al: Int J Radiat Biol 34:1, 1978.
5. Olson GB et al: Human Pathol 10:179, 1979.
6. Anderson RE et al: Cell Immunol 33:45, 1977.
7. Koteles GJ: Atomic Energy Rev 17:3, 1979.
8. 官宜彬: 国外医学放射医学分册 1:1, 1978.
9. Prosser JS: Int J Radiat Biol 30:459, 1976.
10. 茅子均等: 中华放射医学和防护杂志 233, 1982.
11. Herve E et al: Strahlentherapie 140:504, 1975.
12. Anderson RE et al: J EXP Med 135:711, 1972.
13. Janeway CA: J Immunol 114:1402, 1975.
14. Kettman J et al: J Immunol 115:606, 1975.
15. Nomoto K et al: Immunology 34:517, 1978.
16. Anderson RE et al: Eur J Immunol 4:199, 1974.
17. Facchini A et al: Radiat Res 68:339, 1976.
18. Birkeland SA: Int Arch Allergy Appl Immunol 57:425, 1978.
19. Stjernsward J et al: J Immunol 118:642, 1977.
20. Szczylik C et al: Int J Radiat Biol 39:253, 1981.
21. Dewey WC et al: Int J Radiat Biol 30:229, 1976.
22. Vanghan-Smith S et al: Int J Radiat Biol 25:73, 1974.
23. Hedges MJ et al: Int J Radiat Biol 33:291, 1978.
24. Kataoka Y et al: Immunology 29:121, 1975.
25. Anderson RE et al: Amer J Pathol 89:

- 367, 1977.
26. Kwan KD et al: Radiat Res 69:143, 1977.
27. 张学光等: 第二届全国辐射研究学术会议 论文摘要汇编, №065, 1982.
28. Gupta S et al: Cell Immunol 34:10, 1977.
29. Fauci AS et al: Immunology 35:715, 1978.
30. Warner NL et al: Nature 254:604, 1975.
31. Callard RE et al: Eur J Immunol 11:206,

- 1981.
32. 杨文礼等: 全国放射医学和防护学会第一次学术报告会论文文摘, 1980.
33. 虞介昌等: 第二届全国辐射研究学术会议 论文摘要汇编 №064, 1982.
34. 陈家佩等: 国外军事医学资料 3:1, 1978.
35. Bendel V et al: Strahlentherapie 157:744, 1981.
36. Fox DA et al: J Immunol 117:1622, 1976.

关于复合伤的研究

——复合伤全身照射后血凝的活性和抑制——

Wustrow Th等: Strahlentherapie 158(4): 242~249, 1982(德文)

把雌雄两种家兔45只分成5组, 对其中一组进行模拟照射, 造成自身血肿作为创伤组, 用500伦进行全身照射和照射与自身血肿复合, 或者皮肤损伤。24小时以后, 激活的部分凝血致活酶时间由于照射而明显延长。照射后24小时在所有照射组里X因子和纤维蛋白原浓度都有提高。在照射和皮肤损伤的复合伤组, 这种提高在24小时后同单独照射相比明显地高。用色素源基质测量的抗凝血酶Ⅲ和抗纤维蛋白溶酶活性照射及复合伤组均有提高。尽管纤维蛋白原含量升高, 我们还可以在复合伤后24小时用升高了的血浆凝血系统活性和抑制来确定凝血不足。

照射事故之后确定接受的剂量是特别困难的。Gorizontov根据凝血的变化, 把出血症群分成各个不同的重度, I度时〔约200拉德(2戈瑞)〕凝血时间改变并证明有血小板减少症, II度时〔约350拉德(3.5戈瑞)〕有不明显的粘膜出血, III度时〔约500拉德(5戈瑞)〕有严重的视网膜出血, 并有全身范围出血, IV度时〔约600拉德(6戈瑞)〕大量内出血, 导致生命垂危状态。

在照射和核爆炸事故中, 不仅要考虑照射的负荷大, 而且还要考虑到伴随的伤势(如致伤和烧伤), 在治疗恶性疾病时放疗和外科手术可一起进行, 凝血障碍在复合照射伤中具有特别的利害关系。Boegelein等在他们的实验中使NMRI-小鼠造成开放性皮肤损伤, 并以300伦和500伦进行全身照射, 头几天里就能确定血栓弹性描记上的凝血过高和纤维蛋白溶解时间延长。所以我们在动物实验中研究了经致死量全身照射后24小时的血浆凝血系统状况, 凝血如何因连带创

伤的复合伤而受到影响。为了区别因受伤而引起的变化, 就用大家熟知的损伤来加以说明, 如按照 Erhardt 等的意见在呼吸困难症状上, 自身血肿导致了明显的肺部形态和功能障碍。

材料和方法

动物: 45只体重2.3~3.1kg(平均2.74kg), 3~4个月龄的无病理雌雄杂种兔, 关在栏内给予饲料和水。

照射: 用MG300型X光机进行照射, 焦距为60cm, 电压250kV, 12mA。滤片0.77mm铜片。管的自身滤清为6mm铝片, 放射线的半价层(半值厚度)为1.9mm铜, 剂量平均为47伦/分。在模拟照射时, 为了持续照射, 把未经照射的动物放在未接通的X线管下。在栏内所有的动物在照射或模拟照射时都处于清醒状态。照射时, 用布赖斯高弗拉埃堡物理技术工场的双重剂量仪连续测量。照射动物得到的总剂量为500伦。

麻醉和手术: 剃除毛发后, 所有动物在照射或模拟照射后2小时用Eponal作短时麻醉(30mg/kg体重, 静脉注射), 把一根0.8mm厚的聚氯乙烯导管通过颈静脉的外上方推进到肝上静脉腔下部。所有动物在30秒内采10ml/kg体重的血, 即25~28ml血。大约相当于12.5%的循环血容量。

动物被分成5组(表1)。在第3组和第5组里动物在取血后立即直接往右大腿中间骨膜和肌肉内注射血液作为自身血肿。使第5组的动物在无菌条件下在左大腿上部造成直径为2.5cm的皮肤伤至肌膜。伤口用