

如上图总结的,大量DNA损伤对多聚(ADP-核糖)聚合酶的激活实际上是一种自杀性反应。由于它能引起NAD和ATP的迅速消耗,从而在DNA损伤修复前导致细胞死亡。这种自杀机理限制着严重受损细胞试图修复以

高度突变频率存活的可能性。DNA损伤对多聚(ADP-核糖)聚合酶的激活可能提供一个安全机制,依赖这个安全机制,将严重损伤细胞去除,从而减少活存细胞具有高度突变表现型的可能。
〔周度金节译 张进 麦智广审校〕

由DNA结合 ^3H 产生的细胞核内吸收剂量的估算

Saito M et al, Health Phys 48(4): 465,1985(英文)

评价 ^3H 掺入哺乳动物(含人)细胞内的遗传和躯体效应的主要方法之一是估计经胎盘或经口掺入到胚胎或幼动物细胞内的 ^3H 所产生的生物学危害程度。无论是细胞增殖活动强的胚胎或幼动物还是断奶之后细胞增殖已显著减慢的年青动物,掺入到器官或组织中的 ^3H 都有很强的滞留,而且由于DNA结合 ^3H ,使 ^3H 的滞留具有器官特异性,因而累积剂量也具有高度的器官特异性。

欲知DNA结合 ^3H 的剂量效应关系,需测定由DNA结合 ^3H 在细胞内沉积所产生的核内吸收剂量。假定 ^3H β 射线的能量全部被细胞核所吸收,吸收剂量则易于计算,而实际上,由于 ^3H β 射线的平均射程(0.8~1.0 μ)短于细胞直径(5~10 μ),使相当一部分能量逸出细胞核,损失在细胞浆中,这种效应叫“边缘效应(edge effect)”。

本研究目的在于估计由于边缘效应使剂量降低的程度、测定吸收剂量和考虑累积剂量的修正因子,如细胞核的形状、容积、DNA含量和DNA的比活性。

材料与方法

让母鼠在孕期摄入含 ^3H -胸腺嘧啶的饮水(188.5kBq/ml),分娩后,新生鼠由未摄入 ^3H -胸腺嘧啶的“无放射性母鼠”喂养,同时在出生后第0、1、2和4周测定各器官内DNA的比活性。

细胞核的形状和容积测定;常规的组织固

定程序会使细胞脱水、核皱缩,难以测定核的准确容积。现采用经温和处理后获得的细胞核悬液,用DNA特异性荧光染料(DAPI)在等渗溶液中进行细胞染色,可获得完好的细胞核,然后在Nikon荧光显微镜下观察并拍摄细胞核照片,假定细胞核为球形,即可从照片上测得细胞的长轴和短轴的长度,将二个轴的平均值作为核的平均直径,从而计算出容积。

细胞核平均DNA含量测定:用荧光计测定各器官的DNA含量,首先要获得纯化的各器官的细胞核悬液,然后用Schneider法测定单细胞核悬液中的DNA总量,用血球计数器在荧光显微镜下计数被DAPI染色的细胞核总数,从而获得各器官细胞核的平均DNA含量。

剂量计算:每次衰变产生的平均吸收剂量用点源公式计算,模拟细胞核的剂量率用蒙特-卡罗法作理论计算并从二点讨论:1.对DNA结合 ^3H ,分析累积剂量对细胞核直径的依赖性;2.对长短轴之比各不相同的细胞核,通过计算理论吸收剂量来估计形状因子对吸收剂量的影响程度。

在给定时间内,每个核内的总衰变数等于核内DNA含量乘DNA比活性的积分,因此,从 t_1 到 t_2 时间内的累积剂量 D_c 可由下式计算:

$$D_c = \int_{t_1}^{t_2} D'(t) dt$$

式中 $D'(t)$ 是 t 时刻的剂量率,如 t 取 t_1 、 t_2 、 t_3 …… t_n ,相应地 $D'(t)$ 为 $D'(t_1)$ 、 $D'(t_2)$ 、 $D'(t_3)$ …… $D'(t_n)$,从而可用下式近似地计

$$2X_1 + 3X_2 + 2X_4)$$

算D_c:

$$D_c = \sum_{i=1}^{n-1} [(1/2)(D'(t_i) + D'(t_{i+1})) (t_{i+1} - t_i)] \dots \dots \quad (1)$$

D'(t)(单位时间内的戈瑞)用下式计算:

$$D'(t) = \frac{\Lambda(t_i) \cdot E \cdot K}{10,000}$$

$$\text{或} = 9.13 \times 10^{-13} \Lambda(t_i) \dots \dots \dots (2)$$

式中A(t_i)为单位时间内每克组织的衰变数, E为³H β射线能量的平均值 (5.7 × 10⁻³ MeV), 10,000为尔格/克转化为戈瑞的转换系数, K = 1.602 × 10⁻⁸ (ergs/MeV)。将式(2)代入式(1), t_i用周作单位, D_c(Gy)表示为:

$$D_c = \sum_{i=1}^{n-1} 4.56 \times 10^{-13} [\Lambda(t_i) + \Lambda(t_{i+1})] \times (t_{i+1} - t_i)$$

$$\text{或} = \sum_{i=1}^{n-1} 4.60 \times 10^{-9} [\Lambda'(t_i) + \Lambda'(t_{i+1})] (t_{i+1} - t_i)$$

式中A'(t_i)为在 t_i时刻的dpm/g(组织)。本式适于计算假定DNA结合³H为均匀分布时的吸收剂量。

如将DNA比活性在出生后 0、1、2 和4周分别记为X₀、X₁、X₂、X₄ (dpm/gDNA), 相应地, 假定在以上时间内DNA含量不变, 每个细胞核的DNA含量记为Y(pg/核), 总衰变数N可近似地计算:

$$N = 1.008 \times 10^4 \times [(1/2)(X_0 + X_1) + (1/2) \times (X_1 + X_2) + (X_2 + X_4)] \times \Lambda$$

式中1.008 × 10⁴为dpm/核转化为 每核每周衰变数的转换常数, Λ为dpm/mgDNA 转换为dpm/核的转换常数(Y × 10³), 因此N表达为:

$$N = 5.04 \times Y \times (X_0 + 2X_1 + 3X_2 + 2X_4) (\text{衰变数/核})$$

在球形细胞核中, 核内每次衰变的平均吸收剂量有赖于核的直径(d), 并记为 $\overline{D}(d)$ (Gy), 那么, 某器官细胞核内平均累积剂量D_A(Gy)为:

$$D_A = N \times \overline{D}(d) \quad \text{或} \quad 5.04 \times Y \times \overline{D}(d) (X_0 +$$

结 果

在荧光显微镜拍摄的被DAPI染色的细胞核照片上, 可见细胞核的形状差异, 表明是由不同类型的细胞组成, 大多数呈椭圆形, 另可见核内DNA的不均匀分布。

假定细胞为球形并含有等量的DNA结合³H, 以长短轴的平均直径作为细胞核直径, 所计算的核内吸收剂量如图所示, 曲线右侧数字为细胞核的直径, 图示表明, 如³H在核内衰变数相同, 累积剂量的主要决定因素是细胞核的平均直径。

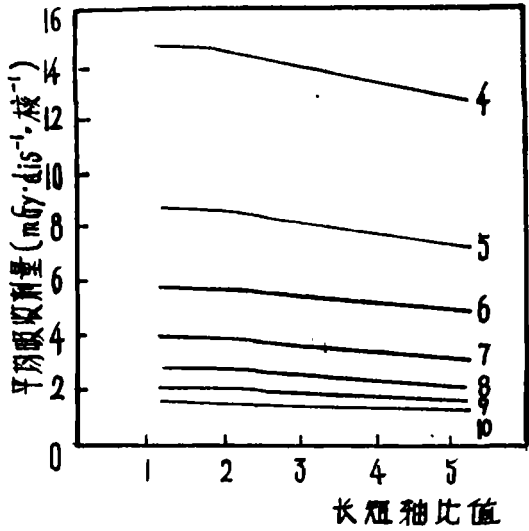


图 在不同几何因子的模拟细胞核中每衰变的平均吸收剂量 (假定细胞核为球形)

表 1 列出了五个器官的细胞核平均直径, 其变化范围为5.6~8.7μm。

表1 鼠不同器官内细胞核的平均直径和DNA含量

器官	平均直径 (μ)	平均DNA含量 (pg/核)
脾	5.6 ± 0.8	9.4 ± 1.5
肾	6.8 ± 1.3	6.0 ± 0.3
脑	8.5 ± 2.2	7.0 ± 1.3
肠	8.7 ± 1.1	(7.0)
肝	8.1 ± 1.4	11.9 ± 2.1
心	(8.0)	(7.0)
肺	(8.0)	(7.0)

括号内数值为定性讨论而假设的

DNA结合³H在细胞核内每次衰变的吸收剂量随核的平均直径的降低而增加,但在假定细胞核结合³H在核内均匀分布时,核内吸收剂量则随细胞核直径的降低而降低。这是因为核的直径越小,³H的能量在胞浆中的损失越多。

对脾和肠细胞核,由于边缘效应所致的核内吸收剂量的降低程度分别为30%和20%。

新生鼠细胞核内的累积剂量结果见表2。为对比起见,同时列出了假定DNA结合³H在组织中均匀分布的累计剂量。

表2 孕期摄入³H-胸腺嘧啶的母鼠所产新生鼠的细胞核内累积剂量

器官	平均吸收剂量 (mGy·dis ⁻¹ ·核 ⁻¹)	平均总衰变数 (dis·mgDNA ⁻¹)	出生后四周累积剂量(mGy)		局限化因子 ^b
			DNA结合	均匀分布 ^a	
脾	6.07	31.2	1.78	0.55	3.2
肾	3.64	39.8	0.87	0.29	3.0
脑	1.98	48.9	0.68	0.11	6.2
肠	1.86	39.8	0.52 ^c	0.34	1.5 ^c
肝	2.26	43.8	1.18	0.23	5.1
心	2.33 ^c	109.9	1.79 ^c	0.44	4.9 ^c
肺	2.33 ^c	67.5	1.10 ^c	0.58	1.9

- a.假定DNA结合³H在整个器官内均匀分布
b.DNA结合³H与均匀分布³H的累积剂量之间的比值
c.利用表1输出的细胞核平均直径或DNA平均含量的计算结果

讨 论

研究结果提示,在DNA含量相同的不同细胞核内,由DNA结合³H产生的吸收剂量的差别主要是由于核的平均直径不同引起,核的形状影响极小。因此,对大多数细胞类型来说,核内吸收剂量的决定因素是细胞核的容积、DNA含量和DNA的比活性。

表2列出的总平均衰变数在30~110dis/ng之间,每个核的衰变数大约是0.3~0.8,意味着³H衰变在各器官内的分布是不均匀的,因此假定为均匀分布的累积剂量应看作整个器官的平均剂量。

脑细胞核内的平均总衰变数大约是脾细胞核内的1.6倍,而累积剂量却为脾细胞核的1/5左右,表示DNA在脾组织中的平均密度比脑内高5倍以上。另外,心脏细胞核内每ngDNA的总衰变数大约是脾的4倍,而核内累积剂量仅为脾的80%左右,这种倒转关系可用细胞核平均直径和核内DNA含量之间的差别来解释,反映累积剂量的器官特异性。

细胞水平的³H剂量估算的最终目的之一是

揭示生物学效应与剂量之间的关系,应进一步研究细胞核的器官平均剂量能否作为生物学效应器官特异性的测定手段,为发现诸如致癌作用、寿命缩短等生物效应与剂量的相互关系,需长期地测定累积剂量。由于DNA结合³H的生物半减期有明显的器官特异性,因此若以相当于实验动物寿命那样长时间地测定累积剂量,则DNA结合³H累积剂量的器官特异性会更显著。

ICRP指出应考虑到³H在组织内的局部不均匀分布,但在30号出版物中未提出有机结合³H的年摄入量极限值(ALI),它建议³H-胸腺嘧啶的ALI应是THO的1/4~1/5,经口摄入的ALI应为THO的1/10。修正因子包括³H在细胞核内的局限化、³H的衰变效应和³Hβ射线对缓慢增殖或静止的细胞极为严重的损伤的可能性。曾推荐局限化因子为10,本实验支持这一数值并发现该因子有器官特异性(指DNA结合³H),在新生鼠各器官的变化范围大约是2~6。

【敬 华节译 史元明校】