

# $\alpha$ 辐射体诱发发育脑损伤的动物模型研究

古桂雄<sup>1</sup>, 朱寿彭<sup>2</sup>, 王六一<sup>2</sup>, 杨淑琴<sup>2</sup>, 朱玲俐<sup>1</sup>

(1. 苏州大学儿童医院, 江苏 苏州 215003; 2. 苏州大学放射医学研究所, 江苏 苏州 215007)

**摘要:** 目的 研究 $\alpha$ 辐射体诱发发育脑损伤的动物模型。方法 新生大鼠侧脑室注射 $2\mu\text{l}$ 浓缩铀溶液后, 多方位地观察不同浓度的 $^{235}\text{U}$ 对早期生长发育的影响, 放射自显影示踪术观察脑内放射性核素行径定位。结果 新生大鼠脑注入浓缩铀后, 放射性核素行径主要定位于细胞核中, 在细胞浆和细胞间隙中亦有呈现, 是发育脑损伤的基础。并可导致新生大鼠体质量和脑质量的增长减低, 以及神经行为的延迟。结论  $\alpha$ 辐射体浓缩铀的脑内照射可诱发新生大鼠发育脑损伤。

**关键词:**  $\alpha$ 辐射体; 新生大鼠; 模型; 脑损伤

中图分类号: R146 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)04-0197-03

## Studies on damage to the developing brain induced by $\alpha$ -radiation in an animal model

GU Gui-xiong<sup>1</sup>, ZHU Shou-peng<sup>2</sup>, WANG Liu-yi<sup>2</sup>, YANG Shu-qin<sup>2</sup>, ZHU Ling-li<sup>1</sup>

(1. Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215003, China; 2. Radiomedicine Institute of Soochow University, Suzhou 215007, China)

**Abstract: Objective** To establish an animal model of brain damage induced by  $\alpha$ -radiation. **Methods** Neonate rats were irradiated with a single injection of  $2\mu\text{l}$  enriched  $^{235}\text{U}$  into the lateral ventricle of the rat brain on the first day of life (less than 24 hours after birth) at doses of 0, 1, 5 and  $10\mu\text{g}$  of  $^{235}\text{U}$ , respectively. Effects of  $^{235}\text{U}$  at various doses on their early development and growth were observed. Location of radioactive nucleotide in the brain was traced with autoradiography. **Results** Radioactive nucleotide could be mainly traced in the cell nucleus and sometimes in the cytoplasm and intercellular space after injected with enriched  $^{235}\text{U}$  into the brain of neonate rats forming the basis for developing brain damage and possibly causing reduction of their body weight and brain weight in neonate rats and delay in neurobehavioral development. **Conclusions** Inner alpha-radiation to the brain with enriched uranium could induce developing brain damage in the neonate rats.

**Key words:** Alpha ( $\alpha$ )-radiation; Neonate rat; Model; Brain damage

辐射对中枢神经系统影响的研究已受到国内外学者的重视, 并成为 UNSCEAR 所关注的重要内容之一。正在进行分化的神经组织对损伤的敏感性随年龄不同而变化, 而其更换受损细胞的能力也是如此。脑正常发育的“组织”过程十分复杂, 从妊娠5个月直到出生后多年还在持续。此期正是脑组织受损的敏感时期<sup>[1]</sup>。随着核能和核科学技术的迅速发展, 放射性核素的应用越来越广泛,  $\alpha$ 粒子核素具有传能线密度(LET)高、射程短和生物毒性大的特点<sup>[2]</sup>, 研究这些放射性核素对机体组织和细胞作用及危害是放射毒理学的重要研究课题。因此, 建立 $\alpha$ 辐射体脑损伤模型, 对研究 $\alpha$ 辐射体对中枢神经系统的影响很有必要。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

浓缩铀 $^{235}\text{UO}_2\text{F}_2$ 原液, 丰度为18.9%, 浓度为60mg/ml, 由核工业总公司某厂提供。Wistar大鼠由苏州大学生命科学学院实验动物中心提供。

### 1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 按内照射核素 $^{235}\text{U}$ 的浓度划分: 对照组用0.9%生理盐水,  $2\mu\text{l}$ ; 研究组A:  $1\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ 浓缩铀; 研究组B:  $5\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ ; 研究组C:  $10\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ 。

1.2.2 内照射核素 $^{235}\text{U}$ 脑内照射模型建立 按窝取新生大鼠(仔鼠须出生不满24h, 每窝仔数8~10只), 称体质量后, 暴露大鼠颅骨, 参照大鼠脑立体定位图谱<sup>[3]</sup>及我们的报道<sup>[4]</sup>进行侧脑室穿刺, 其注射方法及部位如下: 选在冠状缝后1.0mm, 矢状缝旁开1.5mm的部位注射, 注入深度为1.5mm。而注射容积为含不同放射性浓度的浓缩铀 $^{235}\text{U}$ ,  $2\mu\text{l}$ 。

收稿日期: 2001-01-16; 修回日期: 2001-04-16

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(39470389)

作者简介: 古桂雄(1954-), 男, 广东省人, 医学博士, 主任医师。

主要从事发育脑保护的研究。

1.2.3 哺育方法 新生大鼠脑内核素照射后, 仍按原窝由母鼠哺育直至试验结束。

1.3 生长发育观察指标及方法

1.3.1 体质量 所有仔鼠分别在出生 24 小时 (第 0 天), 第 1, 3, 7 和 15 天的上午 9:30 测量体质量, 并记录体质量增长情况。

1.3.2 新生反射和行为发育 根据文献报道<sup>[5]</sup>测定平面翻正和游泳试验。

1.3.3 脑质量: 在仔鼠第 15 天龄时放血处死, 开颅取脑, 沿枕骨大孔内侧平面切断脊髓, 迅速用冰冷的生理盐水洗净血液, 滤纸吸干, 立即称质量, 以克为单位, 并计算全脑质量占体质量的比值。计算方法: 全脑质量/处死前体质量。

1.4 脑组织放射性核素细胞内定位观察

鼠脑称质量后, 立即置入冰箱内 (-30℃) 待切片。按本室先前方法<sup>[6]</sup>, 取全脑置于冰冻切片冷台上, 取剖面用羧甲基纤维素包埋, 放置到 BL-3 型半导体冰冻切片机 -20℃作冰冻脑切片, 其厚度为 12μm, 紧贴在玻片上, 随即用纯甲醇脱水。然后进行放射自显影定位观察。

放射自显影: 将已脱水的标本逐片浸入盛有 5% 的火棉胶液中, 立即迅速取出, 插入立式载玻片架中

使之干燥, 即得到 < 1μm 的火棉胶薄保护层。在暗室条件下, 40℃电热恒温水浴装置上溶化 N4 型液体核乳胶, 随即加入 10% 的稳定剂 6-硝基苯吡咪唑后, 再用重蒸馏水作 1:1 稀释并轻轻搅匀。用定量滴管抽取 15μl 已稀释的液体乳胶, 置于标本片的一端, 用特制玻璃棒均匀滑动涂匀。在 25℃恒温下阴干后, 收片装入曝光盒中, 在 -4℃干燥条件下进行曝光处理。待曝光完毕后, 取出标本作显影、停显、定影、水洗和甘油保护液浸泡处理。用改良的染色法染片。

1.5 统计分析 以上各种测定结果, 均建立数据库, 用 POMS 软件包在 IBM/PC 微机上分别进行方差齐性检验和 t 检验。

2 结果

2.1 不同浓度<sup>235</sup>U 脑内照射对新生大鼠体质量增加的影响 (见表 1)

本研究表明, 新生大鼠脑内照射不同浓度<sup>235</sup>U 15 天后, 可见外观瘦小, 各组体质量总增加与对照组相比均有显著下降, 其中脑内照射浓缩铀后的前 3 天, 对体质量增加的下降影响最为明显。

2.2 不同浓度<sup>235</sup>U 脑内照射对新生大鼠脑质量的影响 (见表 1)

表 1 不同浓度<sup>235</sup>U 脑内照射对新生大鼠生长的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of cerebrum exposure to different doses of <sup>235</sup>U on the growth (g) of neonatal rats ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组	研究组 A	研究组 B	研究组 C
<b>体质量增加</b>				
出生时	6 200±0 678 (7)	6 291±0 530 (11)	6 300±0 374 (12)	6 150±0 553 (8)
第 3d	4 725±1 139 (7)	3 112±0 735 * * (11)	2 834±0 895 * * (12)	2 142±0 708 * * (7)
第 7d	7 714±1 182 (7)	6 455±1 209 * (11)	5 740±2 175 * (9)	5 333±1 326 * * (6)
第 15d	15 927±1 213 (6)	12 613±2 871 * (8)	11 617±1 034 * * (6)	10 834±1 147 * * (6)
总增加	29 017±4 813 (6)	21 688±4 253 * (8)	20 850±4 914 * (6)	18 800±4 421 * * (6)
<b>脑质量增加</b>				
脑质量 (g)	1 600±0 403	1 158±0 264 *	1 123±0 169 * *	1 022±0 202 * *
脑质量/体质量比值(%)	4 495±0 444	4 119±0 309	4 125±0 238	4 078±0 277
<b>行为反射</b>				
平面翻正 (天)	5 714±0 488	6 364±0 505 *	7 000±0 775 * *	7 286±0 756 * *
游泳 (天)	11 167±0 753	12 250±0 707 *	13 000±0 894 * *	13 333±0 816 * *

注: ( ) 内为大鼠数。\* \* 与对照组相比 P<0.01; \* P<0.05。

本研究表明, 新生大鼠脑内照射 15 天后, 脑质量在不同浓度<sup>235</sup>U 照射下与对照组相比均有显著下降, 但是脑质量/体质量的比值却没有显著差异。

2.3 浓缩铀在脑组织中的行径定位观察

运用微观放射自显影术<sup>[6]</sup>观察浓缩铀脑内照射后在细胞水平上的转运和定位动态过程。脑内照射后

12h 放射自显影径迹主要聚集在脑细胞核内,而在胞浆中和细胞间隙处亦有放射自显影像呈现。

2.4 不同浓度浓缩铀脑内照射对新生大鼠生长发育的影响(见表1)

研究表明,新生大鼠脑内照射不同浓度浓缩铀后,新生反射如平面翻正和游泳试验等指标,研究组与对照组相比,均有显著性延迟。

### 3 讨论

$\alpha$  辐射体照射的脑损伤型建立: $^{235}\text{U}$  吸收入血液后,可迅速地分布到各器官组织。24h 后 25%~50% 到达器官,其中主要滞留在肾脏、骨骼、肝脏和脾脏,由于血脑屏障的作用在脑部分布甚少。本研究采用 $^{235}\text{U}$  侧脑室注射,不同浓度的 $^{235}\text{U}$  在 12h 后放射自显影示踪表明聚集在神经细胞间隙及细胞核内,是诱发神经细胞损伤的基础。

体质量是代表体格生长,尤其是营养状况的主要指标,也是反映生理行为如食欲及口渴、代谢与消化功能、感觉功能或运动协调等机理的重要指标<sup>[7]</sup>。本实验测定了新生大鼠脑内照射浓缩铀 $^{235}\text{U}$  后其体质量增长的情况,发现核素照射后的前 3 天 1 $\mu\text{g}$  以上浓度的体质量增长均有显著下降,且有浓度-反应关系,核素照射后的第 15 天,5 $\mu\text{g}$  以上浓度组的体质量增长有显著下降,15 天的体质量总增加在各种浓度组中均有显著下降。表明内照射核素照射新生大鼠后,体质量增长的下降以日龄越小越明显,与其吸吮、代谢、消化及内分泌系统等机体生理功能所受障碍有关。由于铀是重金属放射性元素,铀对机体的损伤效应可来自于辐射和化学两个方面<sup>[8]</sup>。而浓缩铀呈现对机体的辐射损伤效应,则随着摄入浓缩铀富集度的增高,对机体的辐射毒性作用也就愈来愈大,产生的辐射效应也愈严重。

某些具有神经毒性的物质对人体健康构成严重威胁,而神经行为功能检测对神经毒物导致的亚临床表现最为敏感<sup>[9]</sup>,故而神经行为功能检测已被国内外毒理学界广泛地重视。行为测试试验主要分两个种类:即生理发育和行为分析。这些测试可为评价辐射与脑损伤的研究提供简单的有效手段,在不同的关键时期可证实其神经生理学效应<sup>[1]</sup>。本研究通过生长发育、早期反射和感觉功能、运动协调功能和活动度等多项指标对新生大鼠脑内照射浓缩铀 $^{235}\text{U}$  所产生的行为影响进行较全面的研究。

化学物质对神经细胞的作用随神经系统组织区域和发育阶段不同而有很大差异。正常大脑中,有些部

位(如垂体、松果体、极后区和脉络丛等)缺少血脑屏障保护。幼年动物血脑屏障发育不完善,毒物可选择性地杀伤其大脑弓状核与视网膜部位的神经细胞<sup>[7]</sup>。中枢神经系统中大多数神经核团具有较为完善的屏障结构,因此免受某些毒物的损害。虽然这些屏障可以阻止许多化学物质进入脑组织,但是如果某些物质的结构与大脑内源性物质相似,也可以通过正常摄取途径进入脑组织。

无论何种原因使细胞受到损伤,一旦出现细胞减少就会随之出现代偿性增殖。辐射引起的细胞增殖性死亡不是在受照后出现,而是在下一个有丝分裂之前出现的,结果辐射损伤的代偿性增殖也被推迟。因此,辐射后表现出必然性效应的的时间取决于受照组织的动力学特征,即组织细胞生长、分化、老化、消失和更新的时相性规律,这些规律因组织的类别而异,这是不同组织辐射敏感性有所不同的重要原因<sup>[10]</sup>。

总之,本实验中新生大鼠脑内照射 $\alpha$  辐射体 $^{235}\text{U}$  导致体质量、脑质量下降,生理性反射均有延迟,并与浓度相关。表明此模型诱发了新生大鼠发育脑的损伤,可为研究 $\alpha$  电离辐射对脑细胞损伤的作用机理提供基本实验方法。

### 参考文献:

- [1] UNSCEAR. Sources and effects of ionizing radiation [Z]. United nation, 1993.
- [2] 朱寿彭. 内照射核素放射遗传毒理效应 [J]. 国外医学·放射医学与核医学分册, 1994, 18 (2): 49-53.
- [3] 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [4] 朱寿彭, 刘忠浩. 大鼠中脑导水管壁及周围灰质在针刺镇痛时的 H-5-羟色胺含量变化 [J]. 生理学报, 1985, 37 (5): 497-502.
- [5] Vorhees CV, Butcher RB, Bruner RL, et al. A developmental test battery for neurobehavioral toxicity in rats: A preliminary analysis using monosodium glutamate, calcium, carrageenan, and hydroxyurea [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1979, 50: 267-272.
- [6] 朱寿彭. 放射自显影示踪学 [M]. 北京: 原子能出版社, 1995, 30-120.
- [7] 张锐, 刘毓谷. 毒理学 [M]. 北京: 北京医大/中国协和出版社, 1997, 378-422.
- [8] 朱寿彭. 浓缩铀的放射毒理 [M]. 北京: 原子能出版社, 1998, 57-299.
- [9] Umegaki H, Yamada K, Naito M, et al. Protective effect of interleukin-6 against the death of PC12 cells caused by serum deprivation or by the addition of a calcium ionophore [J]. Biochem Pharmacol, 1996, 52 (6): 911-916.
- [10] 孙世荃. 人类辐射危害评价 [M]. 北京: 原子能出版社, 1996, 280-295.