

文章编号: 1007-4627(2011)02-0225-05

重离子束辐照对荷颊囊癌金黄地鼠 血清微量元素的影响*

张宝平¹, 张红^{2,3,4}, 张晓文⁵, 张格祥¹, 王小虎⁵, 刘阳^{2,3,4}, 刘斌^{1,2,3,4,#}

(1 兰州大学口腔医学院, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

3 中国科学院重离子束辐射生物学重点实验室, 甘肃 兰州 730000;

4 甘肃省重离子束辐射医学应用基础重点实验室, 甘肃 兰州 730000;

5 甘肃省肿瘤医院, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 探讨了重离子束辐照后荷颊囊癌金黄地鼠血清中微量元素含量的变化趋势。采用 0, 4, 6, 8 和 12 Gy 剂量的¹²C⁶⁺ 离子束对荷颊囊癌金黄地鼠辐照治疗后 28 d 取血, 应用原子吸收光谱仪火焰法测定血清中 Fe, Cu, Zn, Mg 和 Ca 5 种微量元素的含量。金黄地鼠成瘤后, 血清中微量 Cu, Zn, Ca 和 Mg 元素含量下降, 均明显低于正常组 ($P < 0.05$); 不同剂量的重离子束辐照后 28 d, 血清中 5 种微量元素在低剂量时均呈现继续下降趋势, 在 6 或 8 Gy 时恢复到正常组水平, 到 12 Gy 再呈降低的趋势, 存在一定的剂量-反应关系。重离子束辐照影响荷颊囊癌金黄地鼠血清微量元素的含量, 具有一定的临床意义。

关键词: 重离子束; 颊囊癌; 微量元素; 电离辐射

中图分类号: Q691; R146; R739 **文献标识码:** A

1 引言

放射治疗是临床治疗恶性肿瘤的重要手段之一。常规放射治疗采用的 X 射线和电子束进入人体后产生的剂量随深度的增加而呈指数衰减, 对肿瘤及前后的正常组织都有一定的杀伤作用。重离子由于剂量分布具有 Bragg 峰, 能使高吸收剂量区集中于肿瘤部位, 从而有效地保护周围的健康组织, 且照射具有相对生物效应高和肿瘤分子修复效率低等特点, 是一种理想的放射治疗手段^[1-3]。

微量元素在人体中的含量尽管极其微少, 但对机体的健康起着非常重要的作用。正常情况下, 微量元素的摄入与代谢在机体内保持一种平衡, 维持机体的正常生理功能^[4-5]。外部因素的改变有可能

打破机体内的这种平衡关系, 影响微量元素在体内作用的正常发挥, 使机体的生理功能调节失衡发生紊乱, 从而导致疾病发生。

放射治疗是一种明显的外部因素, 在一定程度上能够影响血清微量元素的含量和平衡关系, 也有可能引起机体免疫和组织的损伤^[6]。微量元素的监测非常简单和方便, 每次可取食指血约 0.2 ml, 患者非常容易接受, 可作为辐照剂量和损伤的早期观测指标, 有利于进行动态观察和常规检测。因此, 为了探讨重离子束在治疗过程中对机体微量元素的影响及其剂量与微量元素的变化关系, 本研究采用原子吸收光谱火焰法检测颊囊癌金黄地鼠受重离子辐照后血清微量元素含量, 为重离子肿瘤治疗和空间辐射危险评估提供实验依据。

* 收稿日期: 2010-10-19; 修改日期: 2010-11-25

* 基金项目: 国家重点基础研究发展计划资助(2010CB834202); 国家自然科学基金重点项目(10835011); 国家自然科学基金面上项目(30770639); 甘肃省重大科技专项项目(O702NKDA045, 0801NKDA001); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(lzujbky-2009-96)

作者简介: 张宝平(1982-), 男(汉族), 甘肃秦安人, 硕士研究生, 从事辐射生物学效应研究; E-mail: wuzhh@impcas.ac.cn

通讯联系人: 刘斌, E-mail: liubkq@lzu.edu.cn

2 材料与方法

2.1 检测仪器

BH5100 型多通道原子吸收光谱仪(北京博辉创新光电技术股份有限公司)。

2.2 动物模型制备及分组处理

(1) 动物的选择和分组

叙利亚金黄地鼠(由兰州生物制品研究所提供) 48 只, 普通级, 42—56 d 龄, 体重 80—100 g, 雌雄各半, 饲养于(24±2) °C 的室温, 12 h 光暗循环条件下。随机分为 5 组, 每组为 6 只动物。

(2) 实验动物模型的建立

按照 Salley^[7] 的传统方法配制 0.5% 的二甲基苯并蒽(DMBA)的丙酮液, 将其涂布于金黄地鼠右侧颊囊粘膜处, 由同一人每周一, 三, 五固定时间固定部位涂药, 连续 84 d, 即可诱导形成鳞癌。实验前切取右侧颊囊标本常规 HE 染色作病理组织学分级判定(判定标准为 WHO(1996)对口腔癌前病变判定标准, 并参照 Banoczy 等^[8]病理分级标准)。

2.3 重离子辐照

重离子照射在中国科学院近代物理研究所兰州重离子研究装置(HIRFL)深层治癌终端进行。束流为¹²C⁶⁺离子束, 能量为 235 MeV/u。束流经真空窗、电离室、空气、降能片和脊形过滤器后到达受照动物部位。辐照剂量分别为 4, 6, 8 和 12 Gy, 各组均实施一次性照射, 吸收剂量率为 1 Gy/min, 用空气电离室监测剂量。对照组为未照射组。

2.4 微量元素检测

各组动物均于照射后 28 d 后眼眶取血约 0.5 ml, 将血收集于加入含有检测试剂的锥形试管内, 低温静置, 析出血清。采用多通道原子吸收光谱仪测定血清中 Fe, Cu, Zn, Mg 和 Ca 的含量。

2.5 统计学处理

采用 SPSS 15.0 统计软件包对数据进行分析, 两组间均数比较用 *t* 检验。

3 结果

3.1 重离子辐照后颊囊癌金地鼠血清 Zn 元素含量的变化

成瘤后金地鼠血清中 Zn 元素含量降低。重离

子辐照后 Zn 元素在低剂量 4 Gy 时与对照组相比有明显降低($P < 0.01$), 但辐照剂量达到 6 Gy 时血清中 Zn 元素含量明显升高至正常范围。随着剂量的增加, 血清中 Zn 元素含量开始逐渐降低, 与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$)(见图 1)。

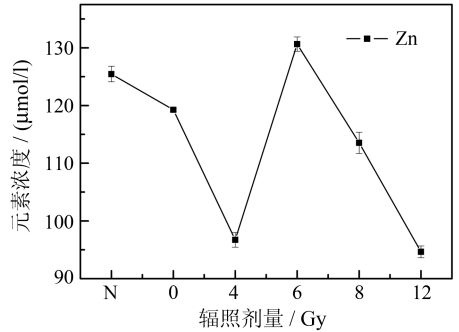


图 1 重离子束辐照颊囊癌金地鼠后血清 Zn 元素含量的变化(N 为未成瘤鼠)

3.2 重离子辐照颊囊癌金地鼠血清 Cu 和 Fe 元素含量的变化

成瘤后金地鼠血清中 Fe 元素含量变化不大, 变化趋势基本与 Zn 元素含量变化一致。成瘤后金地鼠血清中 Cu 元素含量下降, 在低剂量 4 Gy 时与对照组相比降低($P < 0.01$), 随剂量的增加, 血清中 Cu 元素含量逐渐升高, 在 8 Gy 时 Cu 元素含量超过正常值, 具有统计学意义($P < 0.05$)。当剂量增加到 12 Gy 时, 血清中 Cu 元素含量降低到最低, 与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$)(见图 2)。

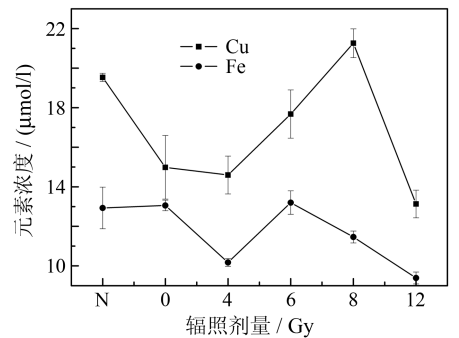


图 2 重离子辐照颊囊癌金地鼠血清 Cu 和 Fe 元素含量变化

3.3 重离子辐照颊囊癌金地鼠血清 Ca 和 Mg 元素含量的变化

成瘤后金地鼠血清中 Ca 元素含量明显降低, 重离子辐照使颊囊癌金地鼠血清中 Ca 元素含量随着剂量的增加逐渐升高, 在 8 Gy 时 Ca 元素含量超

过正常值,具有统计学意义($P < 0.05$);当剂量增加到 12 Gy 时,血清中 Ca 元素含量又降低到最低,与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$)。Mg 元素含量的变化趋势基本与图 1 中 Zn 元素含量变化一致(见图 3)。

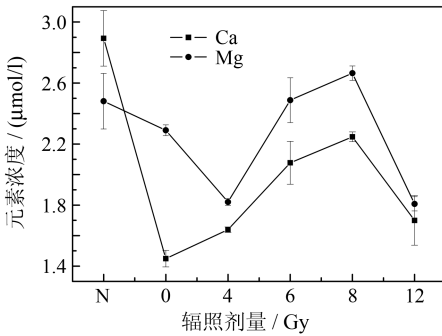


图 3 重离子辐照颊囊癌金地鼠血清 Ca 和 Mg 元素含量的变化

4 讨论

微量元素是人体必需元素,与人类的生长发育和疾病的发生发展有密切关系。Zn 被称为“生命之花”,是构成人体多种酶和辅酶的必需元素,具有促进糖代谢、抗体 IgG 生成的作用,可增强人体免疫力,有助于创伤和溃疡的愈合。Zn 还能促进人体的生长发育,是儿童大脑发育必不可少的元素,可通过维持性激素水平,促进男性第二性征的出现,有助于精子的形成。Fe 是血红蛋白的重要组成部分,它不仅参与肌红蛋白、细胞色素氧化酶和过氧化物酶的合成,还与许多酶的活化有关,影响氧气的运输和储存、二氧化碳的运输和释放以及氧化还原等许多代谢过程。Cu 构成许多含铜酶(如乙酰辅酶 A 脱氢酶、酪氨酸氧化酶)和含 Cu 的生物活性蛋白质(如血浆铜蓝蛋白、血铜蛋白)等。含 Cu 酶参与儿茶酚胺类激素的代谢、黑色素的生成及神经递质的代谢,因而对中枢神经系统的功能、智力、精神状态、防御功能和内分泌功能等均有重要影响。Ca 除构成骨骼和牙齿外,还能维持人体神经肌肉的兴奋性,参与凝血过程,促进止血等。Mg 也是组成骨的主要成分,Mg 在骨的矿质代谢中有关键的调节作用,与 Ca 调激素也有关系。Mg 代谢与糖代谢相互影响,血糖浓度往往与血 Mg 浓度呈负相关^[9]。当以上微量元素处于失衡状态时,使机体的生理功能调节失衡发生紊乱而致病^[10]。

多方面的研究表明,电离辐射会对生物体内的

微量元素含量产生影响,高永^[11]报道电离辐射对降低小鼠血清微量元素 Zn, Mn, Se 和 Pb 等的含量。罗文海等^[12]研究 γ 射线对小鼠血清微量元素含量时发现 Cu 变化明显,存在剂量-反应关系,Fe 的含量变化在辐照后 24 h 升高,7 d 后又降低,且与不同的辐照剂量有关。邓春富等^[13]发现⁶⁰Co- γ 射线照射犬下颌骨后 Zn, Ca, Mn 和 Se 的含量明显降低,Cu 和 Mg 的含量却升高。Maksimova 等^[14]研究发现在辐照后荷瘤雌鼠体内不同器官(主要包括肺、肝、肾、脾和脑半球器官)中 Al, Cu, Fe, Mg, Mn, S, Pb 和 Zn 等 12 种微量元素的含量均减低,并指出机体生理功能的障碍与微量元素相关的分子分离及器官调节系统的功能相关。王潇等^[15]在肿瘤鼠检测出 15 种微量元素,几乎所有的元素在正常鼠中的含量均比肿瘤鼠的高。方允中等^[16]报告:照射后由于 Cu 和 Zn 与酶蛋白的结合变得松散,而导致清除超氧化物自由基的超氧化物歧化酶活力下降。Shkala^[17]动态观察了乳腺癌病人放疗后体内微量元素含量的变化,指出微量元素可作为肿瘤病人放射治疗反应和治疗效果的评价指标。因此,从微量元素入手来探究辐射治疗的效果和辐射损伤的早期诊断可能是一种新的研究线索或途径。

重离子束是一种理想的放射治疗手段,在肿瘤的临床治疗试验中已取得了很好的疗效,但对于辐照后微量元素的研究才刚刚开始。侯玮玮等^[18]报道了重离子束辐照正常小鼠后,微量元素 Cu, Zn 和 Fe 的含量与对照组相比较变化明显,0.5 Gy 明显下降,1.5 Gy 均开始明显回升,至 3 Gy 时恢复正常水平,Ca 和 Mg 变化不明显。本研究采用了金黄地鼠,进行肿瘤建模,与正常组比较发现金黄地鼠荷瘤后 Zn, Cu, Ca 和 Mg 元素都呈下降状态。这种现象比较容易解释,建模后的金黄地鼠,由于荷瘤本身因素,肿瘤的“消耗性”的增长,使机体微量元素的摄入不足,导致元素含量都发生降低。

大多数研究认为,常规放射对生物体内的微量元素含量存在剂量-反应关系,一般呈下降趋势。但是,当荷瘤的金黄地鼠受到重离子束辐照后,呈现出不同的变化趋势,Zn, Cu, Fe 和 Mg 4 种元素在 4 Gy 时呈现下降状态,而在 6 或 8 Gy 时却恢复到正常组水平,再加大剂量时,又呈下降状态。根据实验现象和他人研究结果,可以认为重离子辐照后微量元素参与的修复存在 3 个阶段,最初是由于

重离子束辐照使得机体受到一定的应激损伤, 细胞修复需大量的微量元素直接参与酶的合成, 短时间内机体不能启动自身修复代偿系统, 而外源性的供给又无法及时补充, 表现为血清中微量元素 Fe, Cu, Zn, Mg 和 Ca 的含量继续降低。这一时期持续时间较短, 之后机体需要做出调整才能启动下一阶段修复。一定的刺激, 如低剂量可能诱发适应性反应(adaptive response), 产生第二阶段, 与微量元素相关的酶活性或量发生异常, 导致激活机体的修复代偿机制, 机体需要从其他组织器官转移所需微量元素到靶器官募集, 而使血清中微量元素含量又得以回升, 以维持其机体的平衡关系, 这有利于机体的修复。这一阶段修复幅度很大, 存在过修复, 使某些元素含量超过正常水平。这种损伤以及修复代偿是一个过程, 存在一个阈界限, 超过这个界限机体必然受到无法逆转的损害^[19-20], 也就发生了第三个阶段。由于剂量的增加, 破坏了机体代偿系统, 细胞的不可逆损伤出现, 导致所测微量元素的全部降低。

这些实验结果和假设对于临床放射治疗提出了一些新的思路, 如初次放射治疗剂量的低剂量选择, 初次与第二次治疗剂量之比和合理间隔时间的应用等, 都需要考虑到机体的适应性反应。大多数患者在临床放射治疗中往往在第二次或第三次治疗后出现最大的放射不良反应, 是否与以上第三阶段有关, 尚需进一步的探索研究。

重离子束辐照治疗金黄地鼠颊囊癌实验(另外文章研究)结果显示一次照射最佳剂量是 6 Gy, 这个剂量在本实验中正是微量元素代偿系统启动的剂量。这时血清中的微量元素恢复到正常或略超过正常水平, 有助于机体对辐照损伤的修复或者增强机体抵抗辐射的能力, 这有利于取得辐照治疗的最佳效果, 对机体的损伤最小。刘金环研究认为正常含量或者适量增加的 Zn 和 Cu 能够诱导金属硫蛋白(MT)合成, MT 可抗辐射损伤, 对机体起保护作用, 这与本实验结果一致。如何利用重离子辐照后第二阶段的修复, 这是临床应该重点考虑的一个方面。但是微量元素含量的变化过程是复杂的, 对于评价重离子治癌的效果以及辐射对机体损伤的影响, 我们还须考虑肿瘤机体的个体差异和不同的辐照剂量以及生活环境等其他因素, 综合分析作出判断。再者, 对于重离子辐照后血清中某些微量元素

发生改变的机理仍有许多不明之处^[21-22], 有待于更深入的研究。

参考文献 (References):

- [1] Xiao Guoqing, Zhang Hong, Li Qiang, *et al.* Nuclear Physics Review, 2007, **24**(2): 85(in Chinese).
(肖国青, 张红, 李强, 等. 原子核物理评论, 2007, **24**(2): 85.)
- [2] Luo Guanghui, Li Wenjian, Su Xinghui. Guangdong Medical Journal, 2007, **28**(1): 159(in Chinese).
(罗光辉, 李文建, 苏兴桂. 广东医学, 2007, **28**(1): 159.)
- [3] Zhong Nanbao, Cheng Huihua. Journal of Fuzhou General Hospital, 2006, **13**(2): 116(in Chinese).
(钟南保, 程惠华. 福州总医院学报, 2006, **13**(2): 116.)
- [4] Huang Qiuchan, Wei youhuan, Shi Jingfang. Studies of Trace Elements and Health, 2009, **26**(1): 69(in Chinese).
(黄秋婵, 韦友欢, 石景芳. 微量元素与健康研究. 2009, **26**(1): 69.)
- [5] Lu Yanqi. Journal of Henan Education Institute (Natural Science Edition), 2002, **11**(4): 36(in Chinese).
(陆艳琦. 河南教育学院学报(自然科学版). 2002, **11**(4): 36.)
- [6] Wu Mingjiang, Zhang Junwei, Jiang Zhaohui. Studies of Trace Elements and Health, 2006, **23**(2): 51(in Chinese).
(伍明江, 张俊巍, 蒋朝晖. 微量元素与健康研究, 2006, **23**(2): 51.)
- [7] Salley J J. J Dent Res, 1954, **33**(3): 153.
- [8] Banoczy J, Suga L. Oral Pathol, 1972, **1**(6): 265.
- [9] Shan zhenfen. Studies of Trace Elements and Health, 2006, **23**(3): 66(in Chinese).
(单振芬. 微量元素与健康研究, 2006, **23**(3): 66.)
- [10] Piotr K, Nataliya K, Mariusz K, *et al.* Arch Environ Contam Toxicol, 2009, **56**(2): 325.
- [11] Gao Yong. Chinese Journal of Public Health, 1996, **15**(2): 94 (in Chinese).
(高永. 中国公共卫生学报, 1996, **15**(2): 94.)
- [12] Luo Wenhai, Gao Yong, Wan Qiaoyun, *et al.* Chinese Journal of Public Health, 2003, **19**(10): 1212(in Chinese).
(罗文海, 高永, 万巧云, 等. 中国公共卫生, 2003, **19**(10): 1212.)
- [13] Deng Chunfu, Yang Yanchang. Journal of Modern Stomatology, 2003, **13**(2): 128(in Chinese).
(邓春富, 杨彦昌. 现代口腔医学杂志, 1999, **13**(2): 128.)
- [14] Maksimova I A, Klimenko L L, Protasova O V. Adv Gerontol, 2008, **21**(2): 218.
- [15] Wang Xiao, Zhang Xiang, Qin Zhi, *et al.* Nuclear Physics Review, 2008, **25**(3): 300(in Chinese).

- (王潇, 张翔, 秦芝, 等. 原子核物理评论, 2008, **25**(3): 300.)
- [16] Fang Yunzhong, Liu Zhifeng, Li Yixing. Chinese Science Bulletin, 1984, **15**(1): 943(in Chinese).
(方允中, 刘智峰, 李益新. 科学通报, 1984, **15**(1): 943.)
- [17] Shkala L V. Vopr Onkol, 1997, **43**(3): 273.
- [18] Hou Weiwei, Liu Bin, Zhang Gexiang, *et al.* Modern Preventive Medicine, 2008, **35**(16): 3060(in Chinese).
(侯玮玮, 刘斌, 张格祥, 等. 现代预防医学, 2008, **35**(16): 3060.)
- [19] Garibov R E, Kniazeva G V, Lukianova S N, *et al.* Radiats Biol Radioecol. 2005, **45**(5): 587.
- [20] Zagorskia N G, Kudiasheva A G, Shevchenko O G, *et al.* Radiats Biol Radioecol, 2007, **47**(4): 493.
- [21] Guo Chuanling, Wang Jufang, Wei Wei, *et al.* Nuclear Techniques, 2007, **30**(9): 752(in Chinese).
(郭传玲, 王菊芳, 魏巍, 等. 核技术, 2007, **30**(9): 752.)
- [22] Wang Jufang, Gao Qingxiang. Tumor, 2001, **21**(4): 249(in Chinese).
(王菊芳, 高清祥. 肿瘤, 2001, **21**(4): 249.)

Effect of Heavy Ion Beam on Concentrations of Trace Elements in Serum of Golden Hamster with Cheek Pouch Carcinoma*

ZHANG Bao-ping¹, ZHANG Hong^{2, 3, 4}, ZHANG Xiao-wen⁵, ZHANG Ge-xiang¹,
WANG Xiao-hu⁵, LIU Yang^{2, 3, 4}, LIU Bin^{1, 2, 3, 4, #}

(1 College of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2 Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

3 Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine of
Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

4 Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Medicine of Gansu Province, Lanzhou 730000, China;

5 Tumour Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730050, China)

Abstract: To study the trend of the changes of trace elements in serum of golden hamster with cheek pouch carcinoma after irradiation by heavy ion beam, the cheek pouch carcinoma of golden hamster was exposed to different doses of heavy ion beam, after 4 weeks, the contents of Cu, Zn, Fe, Mg and Ca in serum were detected by flame method of Atomic Absorption Spectrometer. The contents of Cu, Zn, Ca and Mg in experimental groups with cheek pouch carcinoma were significantly lower than that of the normal group ($P < 0.05$). After irradiated by 0, 4, 6, 8, 12 Gy heavy ion beam, the 4 Gy group showed a tendency downward, when the irradiation dose reached 6 Gy, the contents of Fe, Zn were increased, and decreased at 12 Gy. While Cu, Ca and Mg content of 8 Gy group rose to the highest, and decreased at 12 Gy. All of the results showed a dose-reaction relationship ($P < 0.05$). The irradiation of heavy ion beam maybe significantly affect the content of trace elements in serum of golden hamster with cheek pouch carcinoma.

Key words: heavy ion beam; cheek pouch carcinoma; trace element; irradiation

* Received date: 19 Oct. 2010; Revised date: 25 Nov. 2010

* Foundation item: Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) (2010CB834202); National Natural Science Foundation of China (Key Program) (30770639); Scientific Technology Research Project of Gansu Province (0702N KDA045, 0801NKDA001); Fundamental Research Funds for the Central University (lzujbky-2009-96)

Corresponding author: Liu Bin, E-mail: Liubkq@Lzu.edu.cn