

低剂量X线照射对继发闭经性不孕症患者与实验小鼠 及其子代的微核及染色体观察

山东省立医院妇产科

杨钟莉 苏应宽

Kaplan (1) 自1925年就开始应用低剂量X线治疗继发性闭经和不孕症,取得了较好的临床效果,而且未发现子代异常(2)。从60年代末期,我们对内分泌治疗效果欠佳,妇科检查又无器质性病变的继发性闭经和不孕症患者进行了垂体、卵巢的低剂量X线照射,其月经恢复率及妊娠率较满意[3]。但X线照射能造成多大损害?对后代有否遗传学影响?如何评价此治疗方法?为探索上述问题,我们对3~16年前在我院行低剂量X线照射治疗的病人及其子代进行外周血淋巴细胞微核检查,同时进行照射小鼠卵巢的模拟实验,观察小鼠亲代、子代的骨髓细胞染色体畸变率、微核率。

材料和方法

一、实验对象:

(一)临床观察对象:

1、观察组:

(1)亲代:系3~16年前因继发性闭经、不孕而行低剂量X线照射治疗后妊娠分娩的随访病人共22例。年龄25~40岁,妇科检查无器质性病变,闭经年限1~8年不等。

(2)子代:上述病人治疗后生育的子代共24例。年龄2~14岁,其中1例1胎3胎,3例剖宫产,其余均足月顺产。

2、对照组:

(1)亲代:系来妇产科检查的习惯性流产及闭经病人共30例。年龄20~35岁。

(2)子代:系来染色体实验室检查的两性畸形及尿道下裂病人共20例。年龄3~15岁。

对照组病人均无明显放射线接触史及服

用化学药物史,无遗传病家族史,居住周围无明显污染源。

(二)动物实验:

昆明种雌性小白鼠60只,体重28~35g,年龄5~6周,随机分成5组,每组12只。

1、实验组:

(1)亲代:随机取4组做卵巢局部X线照射,按剂量大小分为1~4组。

(2)子代:上述受照射小鼠生育的子代。体重22~26克,年龄4~5周。

2、对照组:

(1)亲代:未照射的第5组小鼠。

(2)子代:未照射组生育的子代。

二、实验方法:

(一)人

1、照射条件:苏联产深部X光治疗机。180KV, 10mA, 滤过板为0.5mmCu+1.0mmAL, 照射剂量为22rad/min。

2、照射方法:每周照射垂体,卵巢各1次,3周为1疗程。距离40cm, 垂体150rad/左右野, 卵巢约50rad/野。

3、外周血淋巴细胞微核检查:取病人静脉血0.2ml, 肝素防凝,放入微沉降管中,加相当于1/3血量的0.3%甲基纤维素,混匀,置37℃恒温箱内自然沉降45min,取上清液离心10min(1000转/分),弃上清液,取沉淀物推片,迅速吹干,放入A、R甲醇液中固定5min后Giemsa染色。

(二)小鼠:

1、照射条件:同人。

2、照射方法:将小鼠放入特制多孔塑料筒内,铅板屏蔽全身。仅暴露卵巢部位,

距离 2 cm, 每周照射 1 次, 共 3 周。1~4 组每次分别照射 9、7、5、3 分钟, 照射总量分别为 594、462、330、198rad。第 5 组为对照组。

3、繁殖子代: 照射小鼠与同种雄鼠交配, 生育子代。照后 2 个月(妊娠、哺乳期过后)脱臼处死亲、子代小鼠, 观察骨髓细胞染色体及微核变化。

4、微核制备: 脱臼处死小鼠, 取 2 根股骨, 暴露髓腔, 1 ml 小半血清冲洗骨髓液于离心管内, 打碎团块, 离心, 弃上清液, 混匀涂片, 速干。放入 A、R 甲醇液固定 5 min 后, Giemsa 染色。

5、染色体制备: 于实验前 4 小时体内注射秋水仙素(4mg/kg 体重)。同法处死动

物, 0.075M KCl 4 ml 冲洗骨髓液于离心管内, 放入 37°C 水浴 15min, 离心, 弃上清液。加固定液 4 ml, 15min 后离心, 弃上清液, 再加固定液 20min, 离心, 弃上清液。取沉淀物滴片, 干燥后 Giemsa 染色。

结 果

一、临床观察结果:

22 例病人经照射治疗后, 月经多在照后 2~3 月来潮, 病人除轻微头晕外, 无明显其它不适。多数病人在治疗后半年~1 年内怀孕, 最早 1 例照射当月怀孕, 立即停止照射。24 例子代经智商、身高、体重等检查均在正常范围, 外观无畸形。观察组及对照组的亲代及子代外周血淋巴细胞微核率观察结果见表 1。

表 1 亲代与子代平均微核率观察结果

	亲 代		子 代	
	例数	平均微核率(%)	例数	平均微核率(%)
观察组	22	2.273***	24	0.63**
对照组	30	0.567	20	0.50

与对照组比: **P > 0.05,

***P < 0.01

二、动物实验结果:

共有 4 只小鼠不孕(1 组 2 只, 2、3 组各 1 只), 其余全部受孕。无流产、死胎。

每窝子鼠约 6~12 只不等, 雌雄约各半, 外观无畸形。

(一)微核亲代与子代小鼠微核率变化见表 2

表 2 亲、子代实验小鼠的微核率变化情况

	亲 代			子 代		
	例数	细胞数	平均微核率(%)	例数	细胞数	平均微核率(%)
实验组 1	10	10000	20.0***	12	1200	2.08**
实验组 2	10	10000	14.4***	12	1200	1.67**
实验组 3	10	10000	10.8***	12	1200	1.08**
实验组 4	10	10000	7.6***	12	1200	1.66**
对照组 5	10	10000	1.8	12	1200	1.08

均与对照组比, **P > 0.05,

***P < 0.01

(二)染色体: 亲代与子代的实验小鼠中母组均分析1000个细胞, 均无发现微小体和

染色体易位现象, 其他染色体检查结果见表3。

表3 亲代及子代小鼠染色体观察结果

单位: 细胞数

畸变类型	亲代(组别)					子代(组别)				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
无着丝点断片	24	20	16	13	4	3	1	5	1	4
染色单体断裂	15	11	12	9	3	2	0	3	0	4
染色体断裂	12	13	11	9	3	2	1	3	1	3
双着丝粒染色体	8	5	2	1	0	2	2	0	1	0
环	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
畸变率(%)	6.3	4.9	4.1	3.2	1.0	0.9	0.7	0.9	0.7	0.8

与亲代1—4组比***P<0.01

讨论

一、从病人外周血细胞微核及小鼠染色体、微核观察看辐射对机体影响:

我们随访了22例病人, 其外周血细胞检查微核率为2.273%, 对照组为0.567%, 前者较后者明显增高, 统计学差异显著, 但仍没超过正常值范围(3%)。小鼠照射实验后微核率及染色体畸变率也较对照组为高, 且畸变率与剂量呈正相关关系(4-5)。

X线对机体的影响除上述的躯体效应外, 还表现在遗传方面, 主要通过生殖细胞的基因突变及染色体畸变起作用。目前, 辐射对人类的遗传效应, 尚不能通过直接方法来证明, 还是以动物实验数据的外推、受照者子女染色体畸变等间接方法来分析(6-7)。我们对受照射病人子代的随访, 未发现异常现象; 小鼠模拟照射实验后子代的微核率及染色体畸变率与对照组比较也无明显差异。以上结果与Awa [8] 报道的对原子弹爆炸幸存者及其子代的外周血细胞染色体与观察结果相似。陶祖范 [9] 综合报道了广岛, 长崎原子弹爆炸后受照者远后效应的结果, 恶性肿瘤发生率增加。根据1959—1978年广岛、长崎两城市恶性肿瘤统计资料分析, 不同癌症的年发生率一般随剂量的增加而增加。我们所用的低剂量X线照射的治疗方法, 每侧卵巢每周照射1次, 若3

次, 总量为150rad, 剂量较原爆后的放射量明显减小, 是否也影响患者寿命或增加癌症发病率, 因例数不多尚难结论。但有一点可肯定, 原爆受害者的子代无异常发现。但X线照射的遗传学影响需进一步追踪观察。

二、低剂量X线照射治疗方法的可行性:

从临床治疗效果看, 多数病人照射后月经恢复或妊娠, 且无明显不良作用。微核率虽高于正常对照组, 但仍在正常范围内。至于子代, 则无论从长期临床观察还是微核检查都未发现异常。我们认为, 低剂量X线照射垂体、卵巢治疗闭经性不孕仍不失为一种经济、有效的方法。其远期影响尚有待更长期的随访观察。

本文放射治疗蒙山东省立医院科放射科及济南铁路中心医院放射科协助施行, 特此致谢。

参考文献

- 1、Kaplan I I. Am J Obst Gynec 1928, 15: 658
- 2、Kaoldn I I. Am J Obst Gynec 1954, 13: 484
- 3、苏应宽、蔡雯茜、山东医药。1981, 2: 24
- 4、A.D.B100m et al, Lancet II 1966 672
- 5、A.A.Awa et al, J Radiat Res, 1978, 19, 126
- 6、Faarikant JI Radiat Res, 1980, 84(3): 361
- 7、Ehling UH et al Metat Res, 1982, 92: 181
- 8、Awa J Radiat Res 16, Suppl, 1975: 122
- 9、陶祖范, 中华放射医学与防护杂志, 1984, 4(4): 60.