

燃煤型砷中毒患者血清细胞因子改变及意义

何云, 张爱华, 杨大平, 王建宾, 韦小瑜, 黄晓欣

何云, 杨大平, 王建宾, 韦小瑜, 黄晓欣, 中国人民解放军第四十四医院
感染科 贵州省贵阳市 550006
张爱华, 贵阳医学院公共卫生学院 贵州省贵阳市 550001
国家自然科学基金, No. 39660070
贵州省自然科学基金, No. D97-3
军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MA048
项目负责人: 张爱华, 550001, 贵州省贵阳市北京路1号, 贵阳医学院公共
卫生学院.
电话: 0851-6908908 传真: 0851-6908908
收稿日期: 2004-04-15 接受日期: 2004-05-13

摘要

目的:明确燃煤型砷中毒患者血清细胞因子的改变及意义

方法:取128例燃煤型砷中毒患者, 分为对照组、轻度中毒组、中度中毒组、重度中毒组四组, 检测各血清中血小板活化因子(PAF)、肿瘤坏死因子(TNF)、内皮素(ET)细胞因子及丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD).

结果:砷中毒患者血中PAF(分别为 $1.53 \pm 0.42 \mu\text{g/L}$, $3.94 \pm 0.78 \mu\text{g/L}$, $5.73 \pm 0.96 \mu\text{g/L}$, $6.92 \pm 1.43 \mu\text{g/L}$)、TNF(分别为 $0.68 \pm 0.18 \text{ pmol/L}$, $1.87 \pm 0.51 \text{ pmol/L}$, $3.74 \pm 0.95 \text{ pmol/L}$, $5.89 \pm 1.23 \text{ pmol/L}$)、ET(分别为 $145.7 \pm 26.9 \text{ ng/L}$, $165.7 \pm 28.2 \text{ ng/L}$, $178.4 \pm 36.7 \text{ ng/L}$, $195.1 \pm 40.6 \text{ ng/L}$)显著升高($P < 0.001$), 且随着砷中毒程度的加重, 而明显升高($P < 0.05$ 或 0.01). 砷中毒患者MDA(分别为 $63 \pm 11 \mu\text{kat/L}$, $98 \pm 21 \mu\text{kat/L}$, $111 \pm 21 \mu\text{kat/L}$, $141 \pm 48 \mu\text{kat/L}$)显著升高($P < 0.001$), 且随着砷中毒程度的加重, 而明显升高($P < 0.01$), GSH-Px(分别为 $47.9 \pm 4.9 \mu\text{kat/L}$, $25.8 \pm 4.6 \mu\text{kat/L}$, $24.0 \pm 3.9 \mu\text{kat/L}$, $20.6 \pm 4.2 \mu\text{kat/L}$)和SOD(分别为 $2504 \pm 652 \mu\text{kat/L}$, $2025 \pm 565 \mu\text{kat/L}$, $1984 \pm 478 \mu\text{kat/L}$, $1787 \pm 427 \mu\text{kat/L}$)显著降低($P < 0.001$), 且随着砷中毒程度的加重, 而明显降低($P < 0.05$ 或 0.01).

结论:砷中毒肝损害除了已明确砷-巯基反应外, 还有细胞因子参与肝损害及氧化和抗氧化系统平衡紊乱.

何云, 张爱华, 杨大平, 王建宾, 韦小瑜, 黄晓欣. 燃煤型砷中毒患者血清细胞因子改变及意义. 世界华人消化杂志 2004;12(9):2210-2211

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2210.asp>

0 引言

燃煤型砷中毒是流行区居民生活用煤含砷量高和使用落后的燃煤方式所致. 主要表现皮肤色素异常沉着、过度角化、皮肤癌及肝脏损害^[1-2]. 肝脏损害的临床表现为肝肿大、腹痛、厌食及门脉高压, 血清转氨酶不一定升高^[3-5]. 贵州兴仁县交乐乡伴有腹水的肝硬化已死亡60

多例, 占砷中毒死亡人数的80%以上^[2]. 为此, 我们对燃煤型砷中毒患者血清细胞因子进行检测, 为阐述燃煤型砷中毒的发病机制提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择燃煤型砷中毒高发区贵州省兴仁县交乐乡为调查点, 有长期使用高砷煤史, 符合慢性砷中毒标准128例, 根据地方性砷中毒及皮肤诊断依据, 分为轻、中、重度^[2], 并排除了长期酗酒、慢性肝炎、血吸虫病等所致的慢性肝病. 年龄21-67岁, 平均38.6岁. 其中男性86例, 女性42例. 另选无高砷煤史的健康居民50名为对照.

1.2 方法 血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)测定采用生物法^[6], 将洗涤好的兔血小板悬液、消炎痛 $10-15 \text{ mol/L}$ 、磷酸肌酸激酶(4.68 nkat/L)、磷酸肌酸钠盐(360 g/L)及样品或标准品加入测定管, 在TYXN91型智能血液凝集仪上测定血小板聚集率标准曲线, 计算出样品中PAF含量. 每次检测均另取1份加入特异性PAF受体拮抗剂WEB2170(德国Zimmer博士惠赠), 作为阴性对照. 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)测定采用双抗夹心法, 试剂盒由北京邦定生物公司提供. 内皮素(endothelin, ET)测定采用放射免疫分析法, 试剂盒由解放军总医院提供. 血清丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定采用硫代巴比妥酸法. 血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)采用化学发光法检测. 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)测定采用比色法. 结果以平均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, 组间两两比较采用 t 检验.

2 结果

砷中毒患者血中PAF、TNF、ET都较对照组显著升高, 且随砷中毒的加重而进一步升高. 砷中毒患者血中SOD和GSH-Px都较对照组显著降低, 且随砷中毒的加重而进一步降低; 砷中毒患者血中MDA都较对照组显著升高, 且随砷中毒的加重而进一步升高(表1).

3 讨论

砷中毒是一种全身性的疾病. 肝脏是砷作用的靶器官之一. 砷致肝脏损害的机制仍不完全清楚. 甲基化后的砷化物毒性降低, 再经尿、胆汁、皮肤排出体外. 近年发现, 在砷甲基化的主要代谢产物-二甲基砷的代谢过程中, 可能有自由基参与^[7]. 近年发现细胞因子与各种原因引起的肝损害有关^[8]. 血小板活化因子(PAF)是一生物活性

表1 砷中毒患者血清 PAF, TNF, ET, SOD, MDA 及 GSH-Px 改变(mean \pm SD)

分组	n	PAF(μ g/L)	TNF α (pmol/L)	ET(ng/L)	SOD(μ kat/L)	MDA(μ kat/L)	GSH-Px(kkat/L)
对照组	50	1.53 \pm 0.42	0.68 \pm 0.18	145.7 \pm 26.9	2504 \pm 652	63 \pm 11	47.9 \pm 4.9
轻度中毒组	49	3.94 \pm 0.78 ^b	1.87 \pm 0.51 ^b	165.7 \pm 28.2 ^b	2025 \pm 565 ^b	98 \pm 21 ^b	25.8 \pm 4.6 ^b
中度中毒组	45	5.73 \pm 0.96 ^{bd}	3.74 \pm 0.95 ^b	178.4 \pm 36.7 ^b	1 984 \pm 478 ^b	111 \pm 21 ^{bd}	24.0 \pm 3.9 ^{ba}
重度中毒组	34	6.92 \pm 1.43 ^{bdf}	5.89 \pm 1.23 ^{bf}	195.1 \pm 40.6 ^{bf}	1787 \pm 427 ^{ba}	141 \pm 48 ^{bdf}	20.6 \pm 4.2 ^{bdf}

^a $P < 0.05$ vs 轻度中毒组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs 轻度中毒组; ^f $P < 0.01$ vs 中度中毒组。

很强的脂质递质, 参与了缺血再灌注肝损伤和内毒素性肝损伤, 且有中心放大作用^[8]。正常情况下, 肝脏单核-吞噬细胞能阻止肠源性内毒素进入体循环。但当肝Kupffer细胞受到抑制和损伤时, 内毒素可进入体循环。内毒素是PAF强有力的激动剂, 可刺激单核-吞噬细胞释放PAF。本实验发现随着砷中毒程度的加重, 患者血中PAF、TNF及(内皮素)ET的含量也逐渐的增加, 可见由内毒素诱导的一系列细胞因子在砷中毒肝损害中的作用, TNF也可刺激多种细胞释放PAF, 参与肝损害的发生。在肝功能受损所致肠源性内毒素血症时及低氧血症等因素可损伤血管内皮细胞释放ET, 而使门静脉收缩, 肝脏水肿, 细胞脂质过氧化和溶酶体的漏出, 形成恶性循环, 进一步加重肝损伤^[9]。总之, 这些细胞因子间存在着复杂的网络联系, 他们的产生和释放过程既可以相互激发又具有协同作用, 共同参与肝细胞损害。PAF在增加肝脏血管阻力及糖原分解的同时, 还可促进多形核白细胞(PMN)黏附于内皮细胞, 诱导PMN呼吸“爆炸”和继发性脱颗粒, 释放氧自由基及花生四烯酸代谢产物等。我们发现随着砷中毒的加重, 患者血中SOD及GSH-Px含量逐渐减少, 而MDA逐渐增加。SOD是机体抗氧化系统中重要的金属酶类, 他能有效地清除生物氧化产生的O²⁻。GSH-Px主要在肝脏合成, 是机体重要的含巯基抗氧化酶, 具有解毒作用, 其不仅在砷的甲基化中发挥重要作用, 而且也是体内重要的抗氧化物质, 具有直接清除自由基的

作用。砷对生物膜上的巯基(-SH)有很强亲和力^[10]。当这些抗氧化物质含量减少时, 就会引起自由基的大量堆积, 从而引起脂质过氧化(LPO)。

4 参考文献

- Liu J, Liu Y, Habeebu SM, Waalkes MP, Klaassen CD. Chronic combined exposure to cadmium and arsenic exacerbates nephrotoxicity, particularly in metallothionein-I/II null mice. *Toxicology* 2000;147:157-166
- 张爱华, 黄晓欣, 蒋宪瑶, 郭渝成, 罗鹏, 薛寿征. 贵州省燃煤型砷中毒研究进展. *中国公共卫生* 2000;16:735-737
- Madden EF, Fowler BA. Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinations: a review. *Drug Chem Toxicol* 2000;23:1-12
- Tully DB, Collins BJ, Overstreet JD, Smith CS, Dinse GE, Mumtaz MM, Chapin RE. Effects of arsenic, cadmium, chromium, and lead on gene expression regulated by a battery of 13 different promoters in recombinant HepG2 cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;168:79-90
- 杨大平, 张爱华, 黄晓欣, 郭渝成, 王松, 郭乔楠. 燃煤型砷中毒人体肝损伤临床研究. *世界华人消化杂志* 2000;8(特刊8):89
- 何云, 王宇明, 何燕, 袁凤仪, 丁健. 血小板活化因子对体外培养肝细胞的作用. *世界华人消化杂志* 1999;7:894-895
- Lu T, Liu J, LeCluyse EL, Zhou YS, Cheng ML, Waalkes MP. Application of cDNA microarray to the study of arsenic-induced liver diseases in the population of Guizhou, China. *Toxicol Sci* 2001;59:185-192
- 何云, 袁凤仪, 任渝江, 袁红波, 李凌, 程忠良. 银杏内酯对小鼠急性肝坏死的保护作用. *中华传染病杂志* 2001;19:368-370
- 陈隆典, 张维. 肝肺综合征的回顾与进展. *中华肝病杂志* 2003;11:318-319
- Xie Y, Miyamoto H, Kondo M, Koga H, Zhang A, Ohmichi M, Inaba Y, Chiba M. Element concentrations in urine of patients suffering from chronic arsenic poisoning. *Tohoku J Exp Med* 2001;193:101-107