

TOCP对作业工人淋巴细胞 NTE 活性的影响

北京医科大学第三医院职业病科 高宝熙 王世俊

一五三医院职业病科 郑维东

提 要 测定60例 TOCP 作业工人的淋巴细胞 NTE 活性,结果表明,该酶活性的降低可在一定程度上反映近期TOCP接触水平,因而可以做为有机磷作业工人的一项监测指标;但对岗位多变或已经脱离 TOCP 接触的迟发性神经病患者,淋巴细胞 NTE 活性测定无显著意义。

关键词 有机磷 中毒 迟发性神经病 淋巴细胞 神经病靶酯酶 磷酸三邻甲苯酯

自从淋巴细胞神经病靶酯酶 (Neuropathy target esterase, NTE)发现以来, 仅见 Lotti⁽¹⁾ 将这一方法引入了短期喷洒脱叶磷作业工人的健康监测,国内尚未见类似的报道。本研究旨在通过对磷酸三邻甲苯酯 (tri-o-cresyl phosphate, TOCP) 作业工人健康状况的调查, 探讨和评价淋巴细胞 NTE 活性测定作为有机磷迟发性神经病 (Organophosphate induced delayed neuropathy, OPIDN) 早期诊断或监测指标的可行性。

对象与方法

一、调查对象

选自某化工厂接触 TOCP 的60名在岗工人和5名已经离岗的 OPIDN 患者。其中男性44人, 女性21人, 平均年龄 38.6 ± 12.2 岁 ($\bar{X} \pm SD$)。依工作岗位及接触 TOCP 方式不同, 将60名在岗工人分为 A、B、C 三组。A组9人, 从事配料及配方研制工作, 接触TOCP 原液; B组13人, 将含有 TOCP 的增塑剂进行灌注铸型或压成薄片后包覆在胶柱表层, 操作中反复接触含有 TOCP 的半固态混合物; C组38人, 对包覆有 TOCP 的固状物进行整型加工, 接触含 TOCP 的粉末。为叙述方便, 将5名离岗的 OPIDN 患者作为D组。对照组选择不接触毒物的60名健康成人, 男性35人,

女性25人, 平均年龄 42.4 ± 12.9 岁 ($\bar{X} \pm SD$)。

二、试 剂

Triton X100、SDS、铁氰化钾及4-氨基安替比林均为市售成品, 分析纯。淋巴细胞分离液系上海化学试剂所生产, 比重1.077。对氧磷 (Paraoxon) 由军事医学科学院药物毒物研究所提供, 纯度99.5%。丙胺氟磷 (Mipafox) 及戊酸苯酯 (Phenyl Valerate, PV) 由北京医科大学药学院协助合成, 合成及提纯方法见 Johnson (1977)⁽²⁾。

三、淋巴细胞 NTE 活性测定

参照 Schwab⁽³⁾ 的方法, 各受试者取静脉血3ml, 进行淋巴细胞分离、计数, 并制成淋巴细胞匀浆。在含有0.5ml 抑制剂的A管 (含 Paraoxon $200\mu\text{M}$) 和B管 (含 Paraoxon $200\mu\text{M}$ + Mipafox $100\mu\text{M}$) 中, 各加入0.5ml 细胞匀浆 (相当于 1×10^6 个细胞), 于37℃水浴温育20min后, 加入1ml 底物溶液 (含PV 1mg/ml, Triton X100 0.03%), 继续温育30min, 然后加入1%SDS 溶液1ml (含4-氨基安替比林 0.025%) 终止反应。最后各管加入0.4%铁氰化钾 0.5ml, 待颜色反应稳定后, 于510nm 比色, A、B管光密度之差即反映NTE 对底物的分解能力。本实验以 $\text{n mol/min}/1 \times 10^6$ 个细胞表示 NTE 活性。

结 果

TOCP 接触组及对照组淋巴细胞 NTE 活性变化见表1。除A组与对照组间淋巴细胞NTE活性有显著差异($P<0.01$)外,其它各组与对照组均无显著差异($P>0.05$)。参照对照组正常范围($\bar{X}\pm 2SD$),对受试者个体淋巴细胞NTE活性测定结果进行分析,发现A、B、C三组中共有10人发生淋巴细胞NTE活性抑制,其中A组5人,B组2人,C组3人。A组淋巴细胞NTE活性抑制的发生率达55.56%(表1)。这一结果在一定程度上反映了不同组别 TOCP 接触程度对淋巴细胞 NTE 活性的影响。

表1 TOCP作业工人淋巴细胞NTE活性变化

组 别	n	NTE活性 Δ	NTE抑制例数	NTE抑制发生率
A+B+C组	60	0.318 ± 0.142	10	16.67%
A组	9	$0.254\pm 0.196^*$	5	55.56%
B组	13	0.367 ± 0.161	2	15.38%
C组	38	0.317 ± 0.116	3	7.89%
D组	5	0.401 ± 0.081	0	0
对照组	60	0.357 ± 0.086	0	0

Δ 单位为 $\text{nmol/min}/1\times 10^6$ 个细胞, $\bar{X}\pm SD$;

* $P<0.01$ 。

对受试者进一步做详细的神经系统检查及症状分析,结果发现,在10名淋巴细胞 NTE 抑制者中,有4例出现肢端麻木和腓肠肌痉挛症状,其中3例出现肢端针刺觉减退及正中神经、尺神经感觉传导速度减慢,有2例出现腓肠肌心电图异常,表现为自发电位阳性,小力收缩时动作电位时限延长,大力收缩时动作单位数量减少,出现单纯相。这4例有症状的淋巴细胞NTE抑制者在A组和C组各占两例。其中A组的两例 TOCP 接触工龄分别为4年和5.5年,C组的两例为13年和20年。淋巴细胞NTE活性的抑制程度,A组的两例为55.5%和57.7%,C组的两例为50.7%和55.5%。另6名淋巴细胞NTE抑制者,NTE的抑制程度均在48.2%~57.7%,但仅有头痛、失眠、记

忆力减退等非特异性症状,神经肌电图检查正常。这说明目前的淋巴细胞 NTE 抑制程度(57.7%)并不一定引起周围神经损害。

讨 论

关于有机磷迟发性神经病(OPIDN)的研究已有50余年的历史。在发病机理方面曾先后提出过真性胆碱酯酶抑制学说、假性胆碱酯酶抑制学说^[4]和“逆行死亡”学说^[5]。但是随着研究的不断深入,这些假说逐渐被否定。目前认为,OPIDN的发生更可能的是与神经组织内神经病靶酯酶(NTE)的抑制有关,NTE的高度抑制(动物实验 $>70\%$)和老化是诱发OPIDN必不可少的两个过程^[6]。这一学说目前已为广大学者所接受。尤其是近年来淋巴细胞NTE的发现^[7],为NTE活性测定在临床的应用带来了希望。但是淋巴细胞NTE活性测定能否反映神经系统的损伤变化,并作为临床OPIDN的诊断或监测指标,尚有待临床实践加以检验。本研究结果表明:(1)淋巴细胞NTE活性抑制与TOCP近期接触有密切关系;淋巴细胞NTE活性测定在一定程度上可以反映毒物的近期接触水平。在本研究调查的60名在岗工人中,由于工作岗位及作业方式不同,各组接触TOCP的密切程度有一定差异。经测定,A、B、C三种作业环境空气中TOCP的浓度依次为: $0.44\text{mg}/\text{m}^3$, $0.12\text{mg}/\text{m}^3$, $0.09\text{mg}/\text{m}^3$ 。与卫生标准 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ ^[8]相比,A环境空气中TOCP浓度超标3倍左右。而且A组工人由于直接接触TOCP原液,经皮肤吸收TOCP的量也较大,因而出现A组工人淋巴细胞NTE活性抑制的发生率显著高于其它各组,反映了淋巴细胞NTE活性抑制与TOCP接触水平的关系。(2)淋巴细胞NTE活性抑制程度与OPIDN的发生有关。动物实验表明,只有当TOCP染毒达到一定剂量,使淋巴细胞NTE活性发生严重抑制($>69\%$)时,才能发生OPIDN。人体是否符合这一规律尚不清楚。根据Lotti^[9]的结果,短期喷洒脱叶磷的工人,在连续工作25

~30天后,淋巴细胞 NTE 活性抑制达 40%~60%,并未出现周围神经受损的症状和体征。因此,诱发 OPIDN 的淋巴细胞 NTE 抑制的阈限值很可能大于60%。本次调查中,最严重者淋巴细胞 NTE 活性抑制达 57.7%,虽然有数人出现了周围神经受损的症状和体征,但难以排除是由于既往接触过量TOCP导致NTE活性严重下降而发生的周围神经性损害。因为同等程度的 NTE活性抑制,有人并未出现周围神经损害。但是Lotti⁽¹⁾认为,淋巴细胞NTE抑制达到60%应该视为接近于中毒的危险征象,并应该引起警惕。本研究中淋巴细胞 NTE 活性抑制最严重者达到57.7%,这至少说明,目前的TOCP 接触水平仍将对工人健康状况构成威胁,因此,早期防止 OPIDN 的发生仍然是必要的。(3) OPIDN 所致周围神经损伤的恢复是一个相当缓慢的过程,而淋巴细胞 NTE 活性有可能随着脱离毒物接触时间的延长得到恢复。本研究调查的 5 名 OPIDN 患者,3 年前均有不同程度的肢端麻木、下肢体弱和轻度肌肉萎缩,最严重的两例甚至不能够骑车或上楼梯。本次调查时,5 名患者中仍有 4 人遗留有肢端麻木、下肢体弱、四肢远端针刺觉减退及失神经样肌电图改变,但是5人中无一例出现淋巴细胞 NTE 活性降低。此种现象说明,淋巴细胞 NTE 活性抑制主要与近期 TOCP 接触有关,一旦停止接触,淋巴细胞 NTE 活性有可能恢复正常。这一点已在动物实验中得到了证实。因而在进行淋巴细胞 NTE 活性测定时,应该考虑到受试者的工作岗位变迁等因素对检查结果的影响。

有关人体淋巴细胞 NTE 活性抑制的研

究目前国内外均罕见报道,对这一指标的实际应用价值尚待更多的临床实践加以验证。我们认为,如能对急性有机磷中毒的病人进行淋巴细胞 NTE 活性动态测定,则对研究诱发人体 OPIDN 的淋巴细胞 NTE 抑制的阈限值及探讨人体淋巴细胞 NTE 的抑制和恢复规律有十分重要的意义。

参考文献

1. Lotti M, et al. Occupational exposure to the cotton defoliants DEF and Merphos. J Occup Med 1983; 25:517.
2. Johnson MK. Improved assay of neurotoxic esterase for screening organophosphates for delayed neurotoxicity potential. Arch Toxicol 1977; 37:113.
3. Schwab BW and Richardson RJ. Lymphocyte and brain neurotoxic esterase: dose and time dependence of inhibition in the hen examined with three organophosphorus esters. Toxicol Appl Pharmacol 1986; 83:1.
4. Earl CS, Thompson RHS. The inhibition of tri-o-cresyl phosphate on cholinesterases. Brit J Pharmacol 1952; 7:261.
5. Cavanagh JB. The significance of the 'dying-back' process in experimental and human neurotoxicological disease. Int Rev Exp Pathol 1964; 3:219.
6. Johnson MK. The primary biochemical lesion leading to the delayed neurotoxic effects of some organophosphorus esters. J Neurochem 1974; 23: 785.
7. Dudek BR, Richardson RJ. Evidence for the existence of neurotoxic esterase in neural and lymphatic tissue of the adult hen. Biochem Pharmacol 1982; 31:1117.
8. 赵金铎. 磷酸三甲苯酯中毒. 中国医学百科全书劳动卫生与职业病学分册. 上海科学技术出版社 1988; 113.
9. Carlsson A, et al. Exposure to toluene. Uptake, distribution and elimination in man. Scand J Work Environ Health 1982; 8: 43~55.
10. Andersen, et al. Human response to controlled levels of toluene in six-hour exposures. Scand J Work Environ Health 1983; 9: 405~418.
11. ACGIH. Documentation of threshold limit values and the biological exposure indices. American Committee of Governmental Industrial Hygienists. 1986. Cincinnati, Ohio.

(上接第22页)

cresol as biological indicators of occupational exposure to toluene. Am J Ind Med 1987; 11: 529~537.

Abstracts of Original Articles

Pathological Observation on 3 Siderosis Cases of Rust-removing Workers

Zou Changqi, et al

Three autopsy cases of siderosis in rust-removing workers of shipyard were reported. According to the pathological criteria of pneumoconiosis, 3 autops cases were diagnosed as I stage of macular type pneumoconiosis. The resules of pathomorphological observation showed that a lot of dust particles, dust induced fibrotic foci or nodules could be seen on the wall of respiratory bronchioles, adjacent alveolar spaces and on the peribronchioles and perivessels. The interstitial fibrosis of lung was slighter than those of welders pneumoconiosis. Based on elemental analysis of lung tissues, contents of Fe and Mn in 3 autopsy cases were much higher than those of non-pneumoconiosis group, but the contents of Mn in siderosis group were lower than those of welders pneumoconiosis. The contents of free silica of lung specimens in siderosis were 10 fold lower than those of silicotic group. Authors consider that iron dusts may cause changes of pneumoconiosis but the pathological changes of siderosis are less than those seen in welders pneumoconiosis.

Key Words: siderosis pneumoconiosis pathology

Lymphocyte NTE Activity in Workers Exposed to TOCP

Gao Baoxi, et al

Lymphocyte neuropathy target esterase (NTE) in 60 workers exposed to tri-o-cresyl phosphate (TOCP) were examined. The result showed that the inhibition of lymphocyte NTE may reflect the TOCP level of workers exposed recently, and lymphocyte NTE can

be used as a rational biomonitor for workers exposed to organophosphates.

Key words: organophosphate poisoning delayed neuropathy lymphocyte neuropathy target esterase

Comparison CT Scan, Ordinary Chest Radiograph and High Kilovoltage Chest Radiograph in the Diagnosis of Pneumoconiosis

Guo Xiangyun, et al

In order to evaluate the practical use of CT in the diagnosis of pneumoconiosis, 47 cases of pneumoconiosis of various stages caused by different kinds of dust were examined with three different methods—CT scan, ordinary chest radiograph and high kilovoltage chest radiograph. The results were compared with one another. For stage 0+—I of pneumoconiosis, thinner slice scan could identify small opacities more clearly than 10mm slice scan, high kilovoltage chest radiograph was better than ordinary chest radiograph in detecting irregular small opacities. For stage II—III of pneumoconiosis, the yield rate were 27.6% higher for large opcities with CT scan than that of chest radiograph. In comparison with ordinary chest radiograph, CT can also increase the yield rate of the focal emphysema and plueral thickening by 36% and 25% respectively.

Key words: pneumoconiosis CT scan chest radiograph

Report of 6 cases of Caplan's Syndrome

Yang Dechang, et al

Six cases of typical Caplan's Syndrome are reported. Diagnosis was made on the basis