

从表3可见  $Z_2$ 和  $Z_6$ 的系数与表1的结果基本一致,  $S_1 \sim S_5$ 的系数依次增大, 其中  $S_1$ 与  $S_2$ ,  $S_3$ 与  $S_4$ 的系数接近, 经检验,  $S_1$ 与  $S_2$ ,  $S_3$ 与  $S_4$ 间的差别无显著意义(其  $P$  值分别为 0.82 和 0.20), 将  $S_1$ 与  $S_2$ ,  $S_3$ 与  $S_4$  合并后的 Cox 模型见表4。

### 3 讨论

从危险状态 Cox 回归分析的结果可以看到干式作业(1958~1964年开始接尘组)与湿式作业(1965年以后开始接尘组)发病模式的变化, 无论哪个工种的相对危险度干式作业组均高于湿式作业组, 这表明湿式作业的防尘效果显著, 但两个组内各工种间差异的变化值得注意, 干式作业组内危险性最大的是掘进工种, 采煤工种与其他工种差异不显著。而湿式作业组内掘进工种与采煤工种间差异不显著。以上结果说明从1965年开始采取的以湿式作业为主的综合防尘措施取得了明显效果, 尤其大大降低了掘进工种发病的危险性。同时也应注意到1965年以后开始接尘组中, 采煤工种和掘进工种差异不显著。近年来采煤工种甚至有超过掘进工种的趋势。其原因是该矿井下煤层干燥, 瓦斯浓度高, 风大, 采煤工作面的煤尘难以控制。如何降低煤尘浓度是该矿今后防尘工作的重点。

开始接尘年代与实际接尘工龄交互作用呈负相关, 其原因

是矿工在高粉尘浓度的环境中, 短时期接触即可发病而退出粉尘作业, 故实际接尘工龄较短, 而接尘工龄长者常为接触低浓度粉尘者。如果模型中不加入接尘年代与接尘工龄的交互项, 则实际接尘工龄的作用表现为负相关。任爱国等<sup>[3]</sup>在用 Cox 模型分析 III 期煤工尘肺发病影响因素时也得到接尘工龄呈“负相关”的结果。众所周知, 粉尘浓度是致尘肺的绝对重要因素, 如不同年代粉尘浓度相差很大, 仅凭接尘工龄显然不足以反映其矿工的真实接尘量, 应综合考虑接尘工龄与粉尘浓度的情况。

本文以开始接尘到发生尘肺作为生存历程进行 Cox 回归分析, 揭示了不同接尘年代(干式作业与湿式作业)各接尘工种的发病情况, 对了解煤工尘肺的发病规律, 评价防尘措施的效果, 筛选高危因素有一定实际意义。

### 4 参考文献

- 1 栾建安, 等. 尘肺 I 期的生存分析. 中国卫生统计, 1995, 12 (1): 19
- 2 刘韵源, 等. 危险状态分析方法及其应用. 中国公共卫生, 1986, 5 (6): 22
- 3 任爱国, 等. III期煤工尘肺发病影响因素的 Cox 回归分析. 中华劳动卫生职业病杂志, 1992, 10 (5): 264

(收稿: 1997-04-11 修回: 1997-07-03)

## 拟除虫菊酯类农药对大鼠肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca 释放的影响

夹访贤 张秀莲 王海石 于丽华 菅向东

拟除虫菊酯类农药具有杀虫谱广、效果强、低残留和在环境中分解较快的特点, 被广泛应用于防治农业害虫、仓储害虫及卫生害虫等方面<sup>[1]</sup>, 因而其在粮食、蔬菜及瓜果中的残留, 已构成对人群的危害, 且不易预防。以往对于此类农药的研究, 主要集中在其神经毒性方面<sup>[2]</sup>, 而其对肝脏钙稳态的影响, 国内外报道甚少。本文特对此进行了探讨, 以为此类农药的安全使用提供科学的理论依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

动物选用健康纯种 SD 大鼠, 体重 190~240g, 由山东医科大学实验动物中心提供。试剂<sup>45</sup>CaCl<sub>2</sub> 由中国原子能科学研究院提供, 每克钙的放射性活度为 2 183MBq。溴氰菊酯、氯氰菊酯分别由法国罗素优克福公司和英国壳牌公司生产的原粉。哇巴因、ATPN<sub>2</sub>、HEPES、EGTA 均为华美生物工程公司提供。Ls-3801 型液体闪烁计数仪和 L<sub>6</sub>-50E 型超速冷冻离心机均为美国 Beckman 公司产品。多头细胞收集器为上海仪器厂生产。

#### 1.2 测定方法

1.2.1 大鼠肝线粒体、微粒体制备 参照 Moore 法进行<sup>[3]</sup>。匀浆和超速离心均在 0~4℃以下进行。蛋白定量参照 Lowry 法进行<sup>[4]</sup>。

1.2.2 大鼠肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca 被动释放的测定 参照 Tskos-Kuhn 法进行<sup>[5]</sup>。线粒体、微粒体加入含<sup>45</sup>Ca 的缓冲液中, 置入 0~4℃冰箱内, 使<sup>45</sup>Ca 充分进入线粒体和微粒体内。缓冲液含 100mmol/L 氯化钾, 5mmol/L 氯化镁, 20mmol/L Hepes, 3.7kBq 的<sup>45</sup>Ca。蛋白浓度线粒体为 2.75mg, 微粒体为 1.8mg。18h 后分别加入溴氰菊酯和氯氰菊酯, 使其终浓度为 0、25、50、100mg/L, 37℃孵育 30min 后取 0.1ml 稀释至 1ml, 按一定时间间隔取出样品, 用 49 型玻璃纤维滤膜真空抽滤终止反应。待滤膜晾干后加入闪烁液, 测定肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca 残留量。

### 2 结果

#### 2.1 溴氰菊酯对大鼠肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca 被动释放的影响

实验表明, 溴氰菊酯可明显促进<sup>45</sup>Ca 从线粒体、微粒体内的被动释放, 与对照组相比差异均具有显著性 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且存在明显的剂量-效应关系和时间-效应关系。见表1、表2。

作者单位: 250012 济南 山东医科大学 (夹访贤、张秀莲、于丽华、菅向东), 山东省立医院 (王海石)

表1 溴氰菊酯对大鼠肝线粒体<sup>45</sup>Ca被动释放的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) (n=8) $\mu\text{mol/g}$ 

| 溴氰菊酯 (mg/L) | 0min        | 1min         | 2min          | 4min          | 8min          |
|-------------|-------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| 0           | 9.98 ± 1.12 | 8.37 ± 1.01  | 7.41 ± 0.70   | 4.92 ± 0.87   | 3.24 ± 0.50   |
| 25          | 9.84 ± 0.92 | 7.91 ± 0.94  | 6.80 ± 0.50   | 4.35 ± 0.60   | 2.82 ± 0.30   |
| 50          | 9.80 ± 0.94 | 7.70 ± 1.06  | 6.24 ± 0.91*  | 3.75 ± 0.26** | 2.31 ± 0.45** |
| 100         | 9.68 ± 0.82 | 7.03 ± 1.21* | 5.74 ± 0.81** | 3.08 ± 0.66** | 2.04 ± 0.60** |

注: 与对照组相比 \*P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01.

表2 溴氰菊酯对大鼠肝微粒体<sup>45</sup>Ca被动释放的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) (n=8) $\mu\text{mol/g}$ 

| 溴氰菊酯 (mg/L) | 0min        | 1min         | 2min         | 4min          | 8min          |
|-------------|-------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| 0           | 6.62 ± 0.61 | 3.64 ± 0.92  | 2.82 ± 0.49  | 2.38 ± 0.42   | 2.12 ± 0.26   |
| 25          | 6.81 ± 0.58 | 3.30 ± 0.81  | 2.31 ± 0.70  | 2.03 ± 0.54   | 1.89 ± 0.23   |
| 50          | 6.63 ± 0.63 | 2.98 ± 0.56  | 2.04 ± 0.62* | 1.80 ± 0.51*  | 1.68 ± 0.39*  |
| 100         | 6.42 ± 1.16 | 2.60 ± 0.86* | 1.90 ± 0.40* | 1.64 ± 0.31** | 1.56 ± 0.24** |

注: 与对照组相比 \*P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01.

## 2.2 氯氰菊酯对大鼠肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca被动释放的影响

结果表明, 氯氰菊酯也能明显地增加<sup>45</sup>Ca从线粒体、微

粒体内的被动流出, 与对照组相比, 差异均具有显著性 (P&lt;0.05或P&lt;0.01), 也存在明显的剂量-效应关系和时间-效应关系。见表3、表4。

表3 氯氰菊酯对大鼠肝线粒体<sup>45</sup>Ca被动释放的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) (n=8) $\mu\text{mol/g}$ 

| 氯氰菊酯 (mg/L) | 0min        | 1min        | 2min          | 4min          | 8min          |
|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|---------------|
| 0           | 9.79 ± 1.03 | 8.37 ± 1.04 | 7.26 ± 0.64   | 5.11 ± 0.85   | 3.19 ± 0.56   |
| 25          | 9.74 ± 0.89 | 7.69 ± 0.91 | 6.69 ± 0.58   | 4.56 ± 0.72   | 2.79 ± 0.34   |
| 50          | 9.62 ± 1.16 | 7.40 ± 1.12 | 6.16 ± 0.84*  | 3.95 ± 0.83*  | 2.41 ± 0.66*  |
| 100         | 9.72 ± 0.80 | 7.10 ± 1.32 | 5.80 ± 0.88** | 2.98 ± 1.12** | 1.98 ± 0.62** |

注: 与对照组相比 \*P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01.

表4 氯氰菊酯对大鼠肝微粒体<sup>45</sup>Ca被动释放的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ) (n=8) $\mu\text{mol/g}$ 

| 氯氰菊酯 (mg/L) | 0min        | 1min         | 2min         | 4min          | 8min          |
|-------------|-------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| 0           | 5.92 ± 1.12 | 3.14 ± 0.80  | 2.36 ± 0.38  | 2.12 ± 0.24   | 2.00 ± 0.29   |
| 25          | 5.78 ± 0.81 | 3.08 ± 0.56  | 2.01 ± 0.50  | 1.87 ± 0.45   | 1.71 ± 0.30   |
| 50          | 5.54 ± 0.60 | 2.83 ± 0.54  | 1.89 ± 0.42* | 1.78 ± 0.36*  | 1.58 ± 0.31*  |
| 100         | 5.64 ± 1.10 | 2.54 ± 0.21* | 1.78 ± 0.44* | 1.60 ± 0.21** | 1.41 ± 0.26** |

注: 与对照组相比 \*P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01.

## 3 讨论

化学物质引起细胞毒性损伤涉及到体内一系列生理、生化过程紊乱, 近年来许多研究表明, 中毒性细胞损伤与细胞内钙稳态之间存在着内在关系。细胞内钙稳态对维持细胞的各种代谢极为重要, 细胞内钙稳态的破坏, 往往是由于膜的损伤所引起, 因此, 膜的结构与功能与细胞损伤的关系日益引起人们的重视。线粒体、微粒体对细胞内Ca<sup>2+</sup>具有封闭能力, 即可通过摄取和释放Ca<sup>2+</sup>而发挥其调节胞浆钙水平的作用, 线粒体、微粒体钙封闭能力的丧失, 目前被认为是导致胞浆游离钙增加, 进而造成细胞坏死的主要机制<sup>[6]</sup>。

根据细胞Ca<sup>2+</sup>转移的动力学分析, 线粒体Ca<sup>2+</sup>循环比内质网大两个数量级, 细胞内Ca<sup>2+</sup>大部分被隔离在线粒体内, 故线粒体在调节胞浆游离Ca<sup>2+</sup>浓度中起重要作用。但线粒体Ca<sup>2+</sup>池很不稳定, 易受某些毒物的影响<sup>[7]</sup>。本次研究结果表明, 溴氰菊酯、氯氰菊酯均能明显地降低大鼠肝线粒体

对<sup>45</sup>Ca主动摄取的能力, 与对照组相比均具有非常显著性差异。同时, 溴氰菊酯、氯氰菊酯还能明显地促进大鼠肝线粒体对<sup>45</sup>Ca的被动释放, 与对照组相比差异均具有显著性。说明溴氰菊酯、氯氰菊酯均有降低线粒体钙隔离作用的能力。

肝脏内质网是许多化学物质代谢的靶部位, 本结果表明, 溴氰菊酯、氯氰菊酯均能明显地抑制肝微粒体对<sup>45</sup>Ca主动摄取的能力, 同时也能明显地促进肝微粒体对<sup>45</sup>Ca的被动释放。

综上所述, 溴氰菊酯、氯氰菊酯对大鼠肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca摄取均具有明显的抑制作用, 而对肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca被动释放却具有明显的促进作用, 二者结合起来, 使线粒体、微粒体Ca<sup>2+</sup>呈现外流倾向, 并大大降低了它们对胞浆Ca<sup>2+</sup>增高的缓冲能力, 使钙离子浓度升高。胞浆内钙离子浓度持续升高, 将触发一系列的细胞反应过程, 如激活磷脂酶和蛋白酶, 使细胞内磷脂和蛋白分解, 造成细胞损伤甚至死亡。提示, 溴氰菊酯和氯氰菊酯对肝细胞内钙稳态的影响,

其作用部位主要是线粒体和内质网钙隔离和调节系统,使其钙封闭作用失调,细胞内游离钙离子浓度升高,细胞正常生理生化功能紊乱,最后出现一系列的中毒症状。其详细机理尚待进一步探讨。

4 参考文献

1 万有葵, 文保元, 王庆标. 农药毒性博览. 济南: 山东科技出版社, 1986

2 何凤生. 拟除虫菊酯杀虫剂的毒理及职业危害. 中华劳动卫生职业病杂志, 1983, 1 (4): 237~239

3 Moore L, Chen T, Knapp H R, et al. Energy-dependent calcium sequestration activity in rat liver microsomes. J Biol Chem, 1975, 230: 4562~

4568

4 Lowry O H, Rosenbrough N J, Farr AL, et al. Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem, 1951, 193: 265

5 Tsokos-Kuhn JO, Smith CV, Entman ML. Evidence for increased membrane permeability of plasma membrane vesicles from livers of phenobarbital induced CCl<sub>4</sub> intoxicated rats. Mole Pharmacol, 1986, 30: 444

6 沈杰, 张席锦, 聂松青, 等. 消炎痛对大鼠肝线粒体、微粒体<sup>45</sup>Ca摄取及膜流动性的影响. 生理学报, 1990, 42 (4): 356~358

7 李志光. 细胞内钙稳态失调与中毒性损伤. 国外医学卫生学分册, 1987, (2): 80

(收稿: 1998-03-17 修回: 1998-09-10)

## 锰铁冶炼工人尿中高香草酸含量的变化

栗学军 刘基芳 刘鹏来 张玉梅

锰是机体代谢过程中不可缺少的微量元素之一,但过量的锰进入体内可对中枢神经系统产生损害作用。目前,诊断锰中毒尚无特异的实验室检查指标,尿锰和发锰仅能作为接触指标,诊断的主要根据是有无肯定的肌张力增高,如出现此症状,则病情已达到一定程度,不利于对本病的早期诊断及治疗。本文报告了锰铁冶炼工人尿中高香草酸(HVA)含量的变化,以估计锰对体内多巴胺(DA)含量的影响,为发现锰对机体的早期影响提供科学依据。

1 对象和方法

1.1 对象

接触组选择某厂锰铁冶炼车间193名男性冶炼工,平均年龄40.8(21~56)岁,平均工龄18.6(1~38)年,根据国家锰中毒诊断标准,均排除慢性锰中毒。对照组选择厂外与接触组劳动强度相近但不接触任何有毒物质的142名男性工人,平均年龄36.7(20~58)岁,平均工龄14.7(1~37)年。

1.2 方法

空气中锰浓度:在工人工作地点呼吸带高度,每天8、10、14时各采样1次,连续采样3天,磷酸-高碘酸钾比色法测定。尿中HVA含量:收集工人上午8时尿样,亚硝基萘酚反应法则定<sup>[1]</sup>。

2 结果

2.1 车间空气中锰浓度

共测定该车间60个空气样品,其范围为0.14~1.18mg/m<sup>3</sup>,平均浓度为0.58mg/m<sup>3</sup>,最高浓度超标4.9倍,其中有52个空气样品超过国家最高容许浓度,超标率为88.66%。

2.2 尿中HVA含量变化

接触组不同工龄区间尿中HVA含量都明显低于对照组(P<0.01),且随工龄增加而降低(r<sub>s</sub>=-1, P<0.05)。不同工龄间尿中HVA含量经F检验差异有显著意义(P<0.05),

又经Newman-keuls法检验,20年以上工龄与20年以下工龄间比较差异有显著意义(P<0.05),见表1。

2.3 尿中HVA含量低于正常值P<sub>5</sub>阳性率比较

为进一步了解尿中HVA含量在个体间的变化,以对照组为正常人群,用百分位数法计算出该人群尿中HVA含量正常值P<sub>5</sub>为3.45mmol/mol肌酐。接触组尿中HVA含量低于该值的阳性率明显高于对照组(P<0.01)。不同工龄间该阳性率随工龄增长而增加(r<sub>s</sub>=1, P<0.05),20年以上工龄该阳性率明显增加,见表2。

表1 尿中HVA含量测定结果(mmol/mol肌酐)

| 工龄(年) | 接触组 |                 | 对照组 |                 |
|-------|-----|-----------------|-----|-----------------|
|       | n   | $\bar{x} \pm s$ | n   | $\bar{x} \pm s$ |
| 1~    | 52  | 4.33±2.14       | 42  | 6.24±2.22       |
| 10~   | 29  | 3.63±1.30       | 21  | 5.88±1.95       |
| 20~   | 89  | 3.42±1.65*      | 56  | 6.17±1.93       |
| 30~   | 23  | 3.30±1.36*      | 23  | 5.79±1.51       |
| 合计    | 193 | 3.66±1.64       | 142 | 6.08±1.96       |

注: u=11.99, P<0.01。

F=3.51, P<0.05。r<sub>s</sub>=-1, P<0.05。

\*经q检验,20年以上工龄组与20年以下工龄组比较P<0.05。

表2 不同工龄间尿中HVA含量低于3.45mmol/mol肌酐阳性率(%)

| 工龄(年) | 例数 | 阳性人数 | 阳性率(%) |
|-------|----|------|--------|
| 1~    | 52 | 13   | 25.00  |
| 10~   | 29 | 11   | 39.73  |
| 20~   | 89 | 44   | 49.43* |
| 30~   | 23 | 12   | 52.17* |

注: χ<sup>2</sup>=9.37, P<0.05。r<sub>s</sub>=1, P<0.05。

\*20年以上工龄组与20年以下工龄组比较P<0.05。