

表3 静脉血与末梢血 ChE 活性值比较 (x±s)

组 别	人 数			全血 ChE *		红细胞 AChE △		血浆 ChE #	
	男	女	计	静脉	末梢	静脉	末梢	静脉	末梢
健康人	15	17	32	3.77±0.55	3.83±0.55	3.01±0.46	3.07±0.45	0.76±0.16	0.76±0.18
轻度中毒	8	7	15	3.17±0.81	3.16±0.80	2.44±0.89	2.47±0.88	0.56±0.18	0.55±0.17
中、重度中毒	10	7	17	0.75±0.36	0.74±0.35	0.44±0.30	0.43±0.28	0.22±0.18	0.22±0.16

**r* 分别为 0.9538, 0.9763, 0.9924 *P*<0.01; *t* 分别为 1.95, 1.90, 1.82, *P*>0.05。
△*r* 分别为 0.9148, 0.9932, 0.9888, *P*<0.01; *t* 分别为 1.78, 1.70, 1.30, *P*>0.05。
#*r* 分别为 0.9896, 0.9961, 0.9641, *P*<0.01; *t* 分别为 0.13, 0.12, 0.10, *P*>0.05。

3.3 静脉血与末梢血 3 项 ChE 活性值结果比较 通过对 32 例健康成人及 32 例有机磷农药中毒患者肘静脉与耳垂血 3 项 ChE 活性值的配对比较及相关分析显示, 静脉血与末梢血 3 项 ChE 活性差异均无显著意义, 而且两种采血方法的测定值是直线正相关。故在实际工作中不必采用静脉血测定 ChE, 但在采集耳垂或指血时, 一定要注意皮肤的清洗及避免过度挤压而致溶血。

WHO 的准则为优先推荐测定红细胞 AChE 活性, 也可采用全血 ChE 活性替代。发达国家亦以测定前者为多, 而我国则以测定后者为主^[2-5]。本次调查提示, 健康成人的红细胞 AChE 活性占全血 ChE 活性的 85.34%。故可以后者替代, 但急性有机磷中毒时能否替代, 尚待进一步观察。我们建议选用 WHO 推荐的改良 Ellman 法, 有助于提高有机磷中毒的诊疗水平。

4 参考文献

- 1 William F, Tordoir, et al. Health surveillance of pesticide workers. *Histochemistry*1994; 91: 20~24
- 2 中华人民共和国国家标准 (GB7794-87): 职业性急性有机磷农药中毒诊断标准及处理原则. 中华人民共和国卫生部.
- 3 Tomokuni K. Cholinesterase activities in the blood and brain of rats and mice, as determined by a rapid colorimetric method. *Ind Health*, 1985, 23: 75~79
- 4 张金松, 黄金祥, 史硕岭, 等. 全血、红细胞、血浆胆碱酯酶活性微量、快速比色测定法. *卫生研究*, 1987, 6 (6): 36~38
- 5 孙东红. 血液胆碱酯酶测定方法的进一步研究 (I、II). *工业卫生与职业病*, 1994, 20 (3): 154~160
- 6 余亚雄. 正常儿童红细胞乙酰胆碱酯酶的测定. *上海医学*, 1981, 4 (6): 40~41

(收稿: 1998-07-03 修回: 1998-12-07)

槲皮素对三硝基甲苯染毒小鼠肝脏病理形态学的影响

李 中 史 霖 杨建会 刘黎阳 王淑芳

三硝基甲苯 (trinitrotoluene, TNT) 是一种氧化应激毒物^[1], 在体内可经硝基还原活化产生超氧阴离子及活性氧^[2], 使机体受到损伤。因此, 清除这些自由基对 TNT 毒作用的防治尤为重要。槲皮素 (quercetin, Que) 属黄酮类化合物, 其化学结构具有多酚羟基的特点。研究表明, Que 能抑制活性氧自由基对中国仓鼠 V₇₉ 细胞的细胞毒作用^[3]。本实验给 TNT 染毒小鼠口服 Que, 进行组织病理学观察, 旨在为 TNT 中毒性肝损伤的防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性 ICR 小鼠, 体重 22~24g, 购于西安医科大学实验动物中心。TNT 由兵器工业总公司某厂提供, 纯度 99%。槲皮素, 中国预防医学科学院劳卫所提供, 批号 911015。

1.2 方法

1.2.1 动物处理 用蒸馏水配制 3% 淀粉混悬液, 用此液配制 TNT 及 Que。ICR 小鼠 41 只, 分为 4 组, A 组: 空白对照组

(7 只); B 组: 3% 淀粉液组 (12 只); C 组: TNT 染毒组 (10 只), 300mg/kg TNT 灌胃 30 天, 每天 1 次; D 组: TNT+Que 组 (12 只), 300mg/kg TNT+50mg/kg Que。在 TNT 染毒后, 按 50mg/kg 口服给予 Que。连续染毒、给药 30 天, 每天 1 次。小鼠处死后取少许肝组织于 10% 甲醛液中固定, 切片, HE 染色, 观察病理改变。依病变程度分为正常 (—)、轻 (+)、中 (++)、重 (+++) 四级^[4]。

1.2.2 统计分析 依等级序值法^[5]判定统计学差异。

2 结果

实验结果见表 1 及图 1~4。

由表 1 可见, TNT 染毒组 (C 组) 小鼠肝脏发生肝细胞肿胀、嗜酸性变及肝瘀血等病理改变, 而给药组 (D 组) 与 TNT 染毒组相比, 上述病变得到不同程度的减轻。此外, 给予 Que 后, 肝细胞再生明显 (*P*≤0.05)。

3 讨论

黄明芳报道^[6] TNT 染毒大鼠可见内质网扩张, 亚急性中毒肝线粒体变性和内质网扩张成小泡状。光镜检查见肝细胞水肿、嗜酸性变和嗜酸小体形成, 与本实验的观察结果一致。本

表 1 Que 对 TNT 染毒小鼠肝脏病理形态学影响

	A 组 (7)				B 组 (12)				C 组 (10)				D 组 (12)				
	—	+	++	++++	—	+	++	++++	—	+	++	++++	—	+	++	++++	
肝细胞肿胀	4	3	0	0	9	3	0	0	0	4	4	2	8	3	1	0	
<i>P</i> 值										< 0.01				< 0.05			
嗜酸性变	7	0	0	0	12	0	0	0	4	6	0	0	11	1	0	0	
<i>P</i> 值										< 0.05				< 0.05			
肝细胞坏死	7	0	0	0	12	0	0	0	7	3	0	0	12	0	0	0	
<i>P</i> 值										> 0.05				> 0.05			
肝瘀血	7	0	0	0	12	0	0	0	2	5	3	0	6	5	0	1	
<i>P</i> 值										< 0.01				> 0.05			
肝细胞再生	7	0	0	0	10	2	0	0	9	1	0	0	5	7	0	0	
<i>P</i> 值										> 0.05				≤ 0.05			

注: P 值为 C 组与 A、B 组比较, D 组与 C 组比较。



图 1 正常对照组小鼠肝脏、肝细胞结构正常 (HE×400)



图 2 TNT 染毒小鼠肝脏、肝细胞高度肿胀, 肝细胞浆疏松, 呈空泡样 (HE×400)

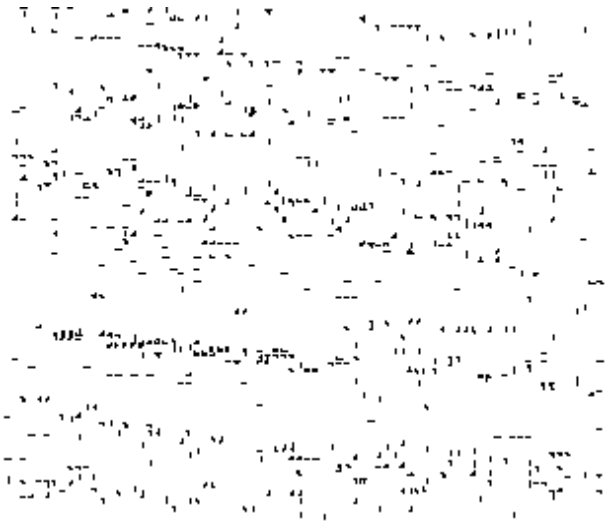


图 3 TNT 染毒小鼠肝脏、肝细胞高度肿胀, 可见嗜酸小体形成 (HE×400)



图 4 TNT+Que 小鼠肝脏、肝细胞结构正常 (HE×400)

实验结果表明, TNT 染毒小鼠的肝脏病理变化以肝细胞肿胀、嗜酸性变及肝瘀血为其突出特征。在 TNT 染毒的同时, 给予小鼠口服 Que, 可见肝损伤程度明显减轻, 同时 Que 还可促使病损肝组织的肝细胞再生。提示 Que 对 TNT 染毒小鼠肝损伤具有一定的保护作用。

自由基及其引发的脂质过氧化是各种肝病肝细胞损伤的重要原因^[7]。TNT 与肝脏线粒体、微粒体孵育后均可形成活性氧^[1], 活性氧可引起生物膜脂质过氧化损伤, 因而导致膜的通透性发生改变。表现为超微结构上线粒体扩张、嵴结构紊乱, 严重时线粒体高度肿胀^[8], 光镜下肝细胞水肿。研究表明^[9], 在铁负荷的肝细胞培养体系中, Que 能够防止细胞的脂质过氧化及肝细胞内的酶释放。因此, Que 可能通过清除活性氧自由基, 抑制脂质过氧化及络合铁离子而发挥其保肝作用。TNT 是否造成肝组织铁蓄积, 有待进一步探讨。

Que 口服剂量增加似不能明显提高血药浓度^[10], 本实验仅给予小鼠口服 50mg/kg Que, 未作剂量-效应关系探讨。

4 参考文献

- 1 孔令媛, 江泉观, 曲青山. 三硝基甲苯在大鼠肝线粒体及微粒体内的还原活化. 卫生毒理学杂志, 1988, 2 (2): 87

- 2 孔令媛, 江泉观, 李来玉. 三硝基甲苯在恒河猴体内的还原活化. 职业医学, 1988, 15 (5): 56
- 3 Tsutomu Nakayama. Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. Biochemical Pharmacology, 1993, 45 (1): 265
- 4 李中, 杨建会, 史霖, 等. 没食子酸丙酯对三硝基甲苯染毒小鼠肝脏病理形态学的影响. 卫生研究, 1998, 27 (3): 151
- 5 孙瑞元. 定量药理学. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 84
- 6 黄明芳. 三硝基甲苯 (TNT) 对大鼠毒作用的实验研究. 卫生研究, 1990, 19 (3): 4
- 7 Arthu M J P. Reactive oxygen intermediates and liver injury. Journal of Hepatology, 1988, 25
- 8 胡文媛, 吴沈春, 等. 三硝基甲苯对大鼠兔亚急性染毒肝脏透射电镜观察. 中华劳动卫生职业病杂志, 1989, 7 (4): 247
- 9 Isabelle Morel, Gerard Iescoat, Pascale cogrel, et al. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. Biochemical Pharmacology, 1993, 45 (1): 13
- 10 赵维中, 戴例明, 方明. 槲皮素在兔体内的药代动力学. 中国药理学通报, 1992, 6: 452

(收稿: 1997-07-17 修回: 1998-08-31)

脐血 CD₃₄⁺造血干/祖细胞含量的研究

刘长安 贾廷珍

脐血作为造血干/祖细胞 (HSC/HPC) 的一个重要来源已是医学工作者的共识, 对脐血 CD₃₄⁺HSC/HPC 含量测定已有较多报道, 但较大样本的研究报道尚不多见。本文采用单克隆抗体 (MoAb) 技术和流式细胞术 (FCM) 检测了足月正常分娩新生儿脐血 (CB) 中 CD₃₄⁺ 细胞含量, 并与成人外周血 (PB) 及骨髓 (BM) CD₃₄⁺ 细胞含量进行了比较, 同时分析了新生儿性别、体重、胎龄、产母年龄和脐血血象诸指标与其 CD₃₄⁺ 细胞含量的关系, 以期对脐血的临床应用提供实验资料。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记的鼠抗人 CD₃₄ 单克隆抗体 (MoAb-CD₃₄, phamingen 公司)。淋巴细胞分离液 (1.077g/ml, 中国医学科学院血液学研究所)。叠氮钠 (NaN₃, Sigma)。牛血清白蛋白 (BSA, Sigma)。FACSscan 流式细胞仪 (美国 BD 公司)。MEK-5108K 型血液分析仪 (日本 NIHON KOHDEN 公司)。

1.2 试剂配制

1.2.1 PBS 洗涤液 取 0.15mol/L pH 为 7.4 的 PBS 1 000ml 加入 2.0g BSA 及 1g NaN₃ 溶解备用。

1.2.2 红细胞溶解液 于 0.15mol/L pH 为 7.4 的 PBS 1 000ml 中加入氯化铵 8.29g、碳酸氢钾 1.0g、Na₂EDTA 0.037g, 溶解后置 4℃ 保存备用。

1.2.3 细胞保存液 pH7.4 的 0.15mol/L PBS 中含 2% (W/V) 葡萄糖, 1% (V/V) 甲醛、0.1% (W/V) NaN₃, 置 4℃ 保存。

1.3 标本采集和单个核细胞 (MNC) 分离

采集健康产妇足月分娩 48 名正常新生儿 CB, 男、女各 24 名, 胎龄为 37~42 周, 体重为 2 600~4 950g。48 名健康成人 PB 和 7 名健康成人 BM, 均肝素抗凝。采集后以 1.077 比重的淋巴细胞分离液分离 MNC 层, 加入红细胞溶解液 1ml 反应 1min, 再以 PBS 洗涤洗涤 2 次备用。

1.4 血常规和白细胞分类

取抗凝 CB 用 MEK-5108K 型血液分析仪测定白细胞 (WBC)、血红蛋白 (Hb)、红细胞 (RBC) 和血小板 (Plt), 并涂片以瑞氏姬姆萨染液染色, 在油镜下进行白细胞分类。

1.5 CD₃₄⁺ 细胞含量测定

1.5.1 CD₃₄⁺ 细胞荧光标记单抗染色 调整 MNC 悬液浓度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$, 每份样品取细胞悬液 100 μl , 加 FITC 标记的 MoAb-CD₃₄ 20 μl 混匀, 4℃ 孵育 30min, PBS 洗涤液洗涤 2 次, 吸干上清液, 加入细胞保存液制备 MNC 悬液 ($1 \times 10^6/\text{ml}$), 置 4℃ 于 24 小时内送检。每一样品均设非特异对照, 以 PBS 代替