

巯基乙醇和维生素 C 对镉孵育红细胞 GSH-Px 活性的影响

王培昌¹, 王明臣², 吴逸明², Xianglin Shi³, 闫乃清¹

(1. 河南医科大学一附院检验科, 郑州 450052; 2. 河南医科大学; 3. National Institute of Science and Health, Morgantown, USA, 26505)

摘要: 目的 探讨巯基乙醇和维生素 C 对镉孵育红细胞 GSH-Px 活性的影响。方法 用酶联法分别测定对照组 RBC、Cd 孵育 RBC、巯基乙醇+Cd 孵育 RBC、VitC+Cd 孵育 RBC 的谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性。结果 ① Cd 孵育 RBC 的 GSH-Px 活性显著低于对照组 ($P < 0.01$); ② 巯基乙醇+Cd 孵育 RBC 的 GSH-Px 活性与 Cd 孵育 RBC 的 GSH-Px 活性无显著性差异; ③ VitC+Cd 孵育 RBC 的 GSH-Px 活性显著高于 Cd 孵育组 ($P < 0.01$)。结论 ① 加入到抗凝血中的 Cd 易进入 RBC 中, 并抑制 RBC 的 GSH-Px 活性, 且随进入到 RBC 中的 Cd 浓度的增加而增加; ② 巯基乙醇 (2% V/ml 血) 不能有效地阻断 Cd 对 RBC 的 GSH-Px 活性的抑制; ③ VitC 可显著改善 Cd 对 RBC 的 GSH-Px 活性的抑制作用。

关键词: 巯基乙醇; 维生素 C; 镉; 红细胞; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号: O623.42 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2000)02-0070-03

Effects of mercaptoethanol and vitamin C on GSH-Px of erythrocytes incubated with cadmium

WANG Pei-cang¹, WANG Ming-chen², WU Yi-ming², Xianglin SHI³, YAN Nai-qin⁴

(1. Clinical Chem Lab, The first affiliated Hospital, Henan Medical University, Zhengzhou, 450052, China; 2. Henan Medical University, Zhengzhou, 450052, China; 3. National Institute of Science and Health, Morgantown, USA, 26505)

Abstract: **Objective** To explore the effects of mercapto ethanol and vitamin C on GSH-Px of erythrocytes incubated with cadmium. **Method** The activities of GSH-Px of control erythrocytes, erythrocytes incubated with cadmium, erythrocytes incubated with mercaptoethanol plus cadmium and erythrocytes incubated with Vit C plus cadmium were assayed with the method of enzymelinked reaction, respectively. **Results** (1) The GSH-Px activities of erythrocytes incubated with cadmium was significantly lower than that of control ($P < 0.01$); (2) There was no difference between the GSH-Px activity of erythrocytes incubated with mercaptoethanol plus cadmium and that with cadmium; (3) the GSH-Px activity of erythrocytes incubated with VC plus cadmium was significantly rised comparing with erythrocytes incubated with cadmium ($P < 0.01$). **Conclusion** (1) The cadminm, which could enter into erythrocytes easily and inhibit the activities of erythrocytd GSH-Px; (2) Mercaptoethanol had no function of preventing cadmium from damaging erythrocyte GSH-Px; (3) VC could prevent RBC GSH-Px from inhibiting by cadmium.

Key words: Mercaptoethanol; Vitamin C; Cadmium; Erythrocyte; Glutathione peroxidase

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 是红细胞 (RBC) 内的重要抗氧化酶之一, 其活性中心是以硒代半胱氨酸的形式存在^[1]。多种重金属离子可以与该半胱氨酸的巯基结合, 从而使 GSH-Px 失活。镉 (Cd) 是广泛应用于工农业生产重金属。本文旨在探讨 Cd 能否使 RBC 内的 GSH-Px 抑制或失活及巯基酶保护剂巯基乙醇 (mercaptoethanol) 和抗氧化剂维生素 C (VitC) 对染镉 RBC 的 GSH-Px 活性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

CdCl₂ (AR) 7×10^{-3} mol/L, 巯基乙醇 (AR), 维生素 C (AR), 磷酸钾缓冲液 (0.1mol/L, pH 7.0), 过氧化物酶 GSH 底物溶液 (0.24mmol/L NADPH, 1.5mmol/L GSH, 615.6U/L G. R), H₂O₂ 底物液 (2.25mmol/L)。721 分光光度计 (上海第三分析仪器厂)。

1.2 标本采集及处理

实验标本采集对象系河南医科大学一附院体检人员, 其中男 12 人, 女 18 人, 平均年龄 (26.3 ± 3.5) 岁, 均系非镉作业者, 并经体检排除肿瘤、冠心病等

收稿日期: 1999-06-21; 修回日期: 1999-08-10

作者简介: 王培昌 (1965—), 男, 河南民权人, 硕士, 副主任医师, 主要从事临床生物化学研究。

可能氧毒性疾病及近期放射接触史和抗氧化药物服用史。抽取受试者空腹静脉血,并将所有标本合并成混合静脉血。然后将其分为7个处理组(每组设置30个平行样品,每个样品取样1.0ml。各组样品做如下处理:(1)对照组:加生理盐水52 μ l;(2)先加CdCl₂溶液20 μ l,后加生理盐水32 μ l;(3)先加CdCl₂溶液50 μ l,后加生理盐水2 μ l;(4)先加巯基乙醇2.0 μ l,再加CdCl₂溶液20 μ l,后加生理盐水30 μ l;(5)先加巯基乙醇2.0 μ l,后加CdCl₂溶液50 μ l;(6)先加Vit C 1.0mg,再加CdCl₂20 μ l,后加生理盐水32 μ l;(7)先加Vit C 1.0mg,再加CdCl₂溶液50 μ l,后加生理盐水2 μ l,各组37℃水浴1h。

1.3 红细胞溶血液制备

上述标本,经等渗生理盐水洗涤RBC 3次(每次3 000r/min离心5min),弃上清液,取压积红细胞0.05ml,加重蒸馏水2.5ml, TritonX-100 2滴,静置10min,3 000r/min离心10min,取上清液待测。

1.4 测定指标与方法

红细胞GSH-Px活性测定采用酶偶联法^[2],略加改良。红细胞溶血液血红蛋白测定采用氰化高铁法^[3]。

2 结果

2.1 镉体外孵育红细胞GSH-Px活性分析

表1可见,20 μ l CdCl₂处理组RBC的GSH-Px活性下降至1.43U/mgHb,相当于对照组活性的57.4%;50 μ l CdCl₂处理组RBC的GSH-Px活性为0.88U/mgHb,相当于对照组的1/3。

表1 镉孵育红细胞1h的GSH-Px活性($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	GSH-Px (U/mgHb)
对照组	30	2.49 $\pm$ 0.54
20 μ l CdCl ₂ 处理组	30	1.43 $\pm$ 0.23 *
50 μ l CdCl ₂ 处理组	30	0.88 $\pm$ 0.19 *

*与对照组比较 $P < 0.01$ 。

2.2 巯基乙醇与镉共同孵育红细胞的GSH-Px活性分析

表2所示,加入巯基乙醇的RBC GSH-Px活性与未加巯基乙醇组差异无显著性($P > 0.05$)。

表2 巯基乙醇与镉共同孵育红细胞的GSH-Px活性($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	GSH-Px 活性 (U/mgHb)
20 μ l CdCl ₂ 处理组	30	1.43 $\pm$ 0.23
巯基乙醇+20 μ l CdCl ₂ 处理组	30	1.48 $\pm$ 0.21 *
50 μ l CdCl ₂ 处理组	30	0.88 $\pm$ 0.19
巯基乙醇+50 μ l CdCl ₂ 处理组	30	0.79 $\pm$ 0.14 *

*与上一组比较 $P > 0.05$ 。

2.3 VitC与镉共同孵育红细胞的GSH-Px活性分析

表3可见,预先加入1.0mg VitC后RBC的GSH-Px活性显著高于未加VitC组($P < 0.01$)。

表3 VitC与镉共同孵育红细胞的GSH-Px活性($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	GSH-Px 活性 (U/mgHb)
20 μ l CdCl ₂ 处理组	30	1.43 $\pm$ 0.23
VitC+20 μ l CdCl ₂ 处理组	30	2.15 $\pm$ 0.52 *
50 μ l CdCl ₂ 处理组	30	0.88 $\pm$ 0.19
VitC+50 μ l CdCl ₂ 处理组	30	1.89 $\pm$ 0.37 *

*与上一组比较 $P < 0.01$ 。

3 讨论

谷胱甘肽过氧化物酶是清除红细胞和其他各种组织细胞中H₂O₂和脂质过氧化物的主要抗氧化酶,与超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)共同构成抗氧化防御酶系,维持细胞结构和功能的稳定。镉对人体的多种脏器具有广泛的毒性^[4~6],此前研究证实,镉作业工人RBC的GSH-Px活性显著低于对照人群,进而对RBC产生氧毒性损害。为深入探讨Cd对RBC毒性的生化机理及有效的干预措施,作者系统观察了Cd孵育离体肝素抗凝血RBC,以及巯基乙醇和VitC分别预先处理的Cd孵育RBC内GSH-Px的活性变化。结果显示,红细胞GSH-Px活性分别下降至对照组的57.4%和35.4%,提示镉易进入RBC内,且对GSH-Px活性产生抑制,并呈剂量依赖性。如预先用巯基乙醇处理抗凝血,然后加入不同剂量的CdCl₂溶液共同孵育,结果显示,巯基乙醇对GSH-Px活性影响不大。作者认为其原因可能有二:(1)巯基乙醇未能有效地进入RBC内;(2)少量的巯基乙醇被加入的Cd形成Cd-巯基乙醇复合物,后者可能影响GSH-Px结构的稳定性。研究结果还显示,如抗凝血预先用VitC处理,再加入不同剂量的CdCl₂溶液,结果GSH-Px活性较之未加VitC的Cd孵育RBC的GSH-Px活性显著升高,提示VitC在该浓度下能明显缓解Cd对RBC的GSH-Px的抑制。至于Cd致RBC的GSH-Px活性抑制的机理,作者认为,一方面可能系Cd与GSH-Px的直接作用,另则可能系Cd进入RBC后,可取代RBC中的重要抗氧化酶CuZnSOD辅金属Zn形成Cu-CdSOD而抑制CuZnSOD活性^[7],导致RBC活性氧堆积,后者则可能对GSH-Px产生直接失活作用。VitC则可能通过对堆积活性氢的直接清除作用而间接缓解由Cd对红细胞GSH-Px活性的抑制,其机制尚待深入研究。

参考文献:

[1] 周致. 谷胱甘肽过氧化物酶[J]. 生物化学与生物物理进展,

1985, 3: 27.
 [2] 韩玉春, 胡延基. 酶偶联法测定红细胞 GSH-Px [J]. 中华医学检验杂志, 1994, 6: 342.
 [3] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程. 血红蛋白测定 [A]. 东南大学出版社, 第一版. 南京: 1991. P2
 [4] Saygi S, Deniz G, Kustal O, et al. Chronic effects of cadmium on kidneys, liver, testis and fertility of male rats [J]. Biol Trace Elem Res, 1991; 31: 209.

[5] Yamada YK, Shimiza F, Kawamura R et al. Thymicatrophy in mice induced by cadmium administration [J]. Toxicol Lett, 1981, 8: 49.
 [6] Chosh N, Bhatlacharys S. Thyrotoxicity of chlorides of cadmium and mercury in rabbit [J]. Biomed Environ Sci, 1992, 5 (3): 236.
 [7] Bauer R, Demeter I, Masemann V. Structural properties of the zinc sites in Cu, Zn-superoxide dismutase: perturbed angular correlation of Gamma ray spectroscopy on the Cu-Cd-superoxide dismutase derivative [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1980, 94: 296.

铸造作业接尘工人与矽肺病人小气道功能的研究

Study on the small airway function of foundry workers and pneumoconiosis patients

曹贵文, 孙秀田, 谢继安, 刘玉环

CAO Gui-wen, SUN Xiu-tian, XIE Ji-an, LIU YU-huan

(中国第一汽车集团公司职工医院呼吸内科, 吉林 长春 130031)

摘要: 研究了 94 例尘肺及 320 名铸造作业接尘工人的小气道功能, 并以 100 名正常人作对照组。结果表明铸造作业工人尘肺及接尘者小气道功能指标 $\dot{V}_{50}$ 、 $\dot{V}_{25}$ 明显低于对照组, 而异常率高于对照组。开展小气道监测对评价铸造作业工人矽尘肺损伤具有重要意义。

关键词: 铸造作业; 尘肺; 小气道功能

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2000)02-0072-01

铸造粉尘可引起接尘工人肺功能损害, 国内外已有许多报道^[1-3]。本文测定了铸造作业接尘工人与尘肺病人小气道功能的改变, 并对其诊断价值进行了探讨。现报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

于第一汽车集团公司铸造厂 1 736 名接尘工人中, 随机选择 320 名, 114 名矽肺中选择 94 名, 并劳动强度相似的非接尘工人 100 名作为研究对象, 3 组受试者均无呼吸系统急性感染、严重心肺疾病、胸廓畸形手术、外伤史, 年龄分别为观察组 (42.26±5.68) 岁, 接尘组 (44.17±6.98) 岁, 矽肺组 (60.12±5.48) 岁。

1.2 方法

应用美国麦加菲 1085DX 肺功能仪, 专人测定, 每项重复 2~3 次, 取最佳值, 由电脑自动计算。病人取立位, 常规测定最大呼气流速-容量曲线 (MEFV), 其数值以实测值/预计值%表示, 小于 80% 为异常。全部数据输入微机, 应用 Excel 软件处理。

2 结果

2.1 接尘组、矽肺组、对照组小气道异常率比较

表 1 矽肺组、接尘组、对照组小气道功能异常率 (%) 比较

指标	对照组			接尘组			矽肺组		
	受检数	异常数	异常率	受检数	异常数	异常率	受检数	异常数	异常率
$\dot{V}_{25}$	100	14	14.0	320	96	30.0	94	73	77.6
$\dot{V}_{50}$	100	15	15.0	320	101	31.6	94	69	73.4

表 1 表明接尘组与对照组、接尘组与矽肺组及矽肺与对照组 $\dot{V}_{50}$ 、 $\dot{V}_{25}$ 异常率比较均具有统计学差异 ($P<0.01$)。

2.2 接尘组、矽肺组、对照组小气道功能比较

表 2 可见接尘组与对照组、矽肺组与对照组及接尘组与矽肺组 $\dot{V}_{50}$ 、 $\dot{V}_{25}$ 差异均有显著意义 ($P<0.01$)。

表 2 矽肺组、接尘组、对照组小气道功能比较 ($\bar{x}\pm s$)

指标	对照组 (n=100)	接尘组 (n=320)	矽肺组 (n=94)
$\dot{V}_{25}$	116.67±35.23	92.58±40.22	43.59±17.36
$\dot{V}_{50}$	99.39±24.08	86.31±30.26	44.68±20.21

3 讨论

研究结果表明矽肺、接尘者小气道功能指标 $\dot{V}_{50}$ 、 $\dot{V}_{25}$ 明显低于对照组, 而异常率高于对照组, 这与国内外文献报道是一致的。由于小气道结构和功能特点, 矽尘吸入呼吸道内特别容易沉积, 引起小气道阻塞。早期肺部损伤者既无症状, 也无体征, 只有小气道功能测定才能发现其异常, 监测小气道功能对铸造作业矽尘所致肺损害具有重要价值。

参考文献:

[1] Johnson A. Respiratory abnormalities among workers in an iron and steel foundry [J]. Brit J Ind Med, 1985, 42: 94.
 [2] 何权瀛, 等. 矽肺患者的小气道功能测定 [J]. 职业医学, 1986, 1: 46.
 [3] 陈杰, 等. 铸造粉尘对接尘工人肺功能的影响及其因素分析 [J]. 中国医科大学学报, 1995, 24 (1): 28.

收稿日期: 1997-12-04; 修回日期: 1998-07-20

基金项目: 吉林省科技发展计划资助项目 (963008)

作者简介: 曹贵文 (1963—), 男, 吉林农安人, 硕士, 副主任医师,

主要从事慢性呼吸系统疾病的基础与防治研究。