

丙烯腈对雄性大鼠脂质过氧化作用研究

马明月¹, 张玉敏², 李海山², 崔金山²

(1. 中国医科大学环境卫生教研室, 辽宁 沈阳 110001; 2. 沈阳医学院毒理教研室, 辽宁 沈阳 110031)

摘要: 目的 研究丙烯腈对机体的脂质过氧化作用。方法 给雄性大鼠皮下注射丙烯腈, 测定染毒 38 天和 77 天血及睾丸组织脂质过氧化指标; 并对睾丸、附睾进行病理学检查。结果 染毒 38 天中、高剂量组大鼠血中谷胱甘肽 (GSH) 含量显著升高, 各剂量组大鼠睾丸中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 显著下降且与染毒剂量呈高度负相关 ($r = -0.464$, $P < 0.01$); 染毒 77 天高剂量组大鼠血中 GSH-Px 显著下降, 各剂量组血中 GSH 显著下降且与染毒剂量呈高度负相关 ($r = -0.789$, $P < 0.01$), 各剂量组大鼠睾丸中 GSH-Px 显著下降; 病理所见曲细精管、精原细胞发生纤维变性, 精子生成减少, 附睾中精子数量减少。结论 丙烯腈能使大鼠睾丸组织产生氧化损伤。

关键词: 丙烯腈; 大鼠; 脂质过氧化; 睾丸

中图分类号: O623.76⁺1; R446.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X (2000) 03-0138-03

Study on the lipid peroxidation effect of acrylonitrile in male rats

MA Ming-yue¹, ZHANG Yu-min², LI Hai-shan², CUI Jin-shan²

(1. Department of Environmental Health China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. Department of Toxicology, Shenyang Medical College, Shenyang 110031, China)

Abstract Objective To study the lipid peroxidation effect of acrylonitrile (AN), subcutaneous injection of acrylonitrile was made in male rats. **Methods** The indices of lipid peroxidation in blood and testicles were determined in 38th day and 77th day after injection, and pathological examinations were also done in testicles and epididymides. **Results** In 38th day, glutathione (GSH) level in blood increased in higher dose groups and the glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in testicles decreased in every group and that negatively correlated with AN dose ($r = -0.464$, $P < 0.01$). In 77th day, GSH-Px activity in blood decreased in high dose group and GSH level in blood decreased at all exposure groups and also was negatively correlated with AN dose ($r = -0.789$, $P < 0.01$). And GSH-Px activity in testicles decreased in all exposed group. Pathological examination showed that fibrotic degeneration in spermatogonia and testicles convoluted tubules decreased spermiogenesis, spermocrosis in epididymides. **Conclusion** Acrylonitrile could induce lipid peroxidation in test of rats.

Key words: Acrylonitrile; Rat; Lipid peroxidation; Testicles

丙烯腈是职业环境空气中重要的有害污染物之一^[1], 以往对丙烯腈的毒理学研究重点在特殊毒性^[2]。本文拟通过丙烯腈亚慢性染毒, 检测雄性大鼠血及睾丸组织中脂质过氧化物及抗氧化物含量、抗氧化酶活力, 探讨丙烯腈生殖毒性作用的可能机理。

1 材料与方法

1.1 受试物

丙烯腈为化学纯试剂, 纯度 $> 99\%$, 含氢氰酸 0.05% 。

1.2 动物与分组

选择体质量 $180 \sim 220$ 克健康雄性 Wistar 大鼠 80 只, 随机将大鼠分为对照组、丙烯腈染毒 5、15、

25mg/kg 组, 每组 20 只。Wistar 大鼠由沈阳医学院实验动物中心提供。

1.3 实验动物处置

按设计剂量将丙烯腈用生理盐水配成相应浓度的溶液, 按 $0.2\text{ml}/100\text{g}$ 皮下注射; 对照组给予等容积的生理盐水, 1 天 1 次, 共染毒 77 天。于染毒第 38 天和第 77 天每组随机处理 10 只动物, 经腹主动脉采血, 并取左侧睾丸用生理盐水制成 $1:10$ 组织匀浆备检 (取 0.5 克睾丸组织加 4.5ml 冷生理盐水用组织捣碎机 $1 \sim 1.5$ 万转/分, 匀浆 10 秒/次, 间隙 20 秒连续 4 次)。

1.4 检测指标及方法

测定血和睾丸匀浆中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力及丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH) 的含量。上述指标测定所用试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 按试剂盒中相应指标检测说明书操作^[3]

收稿日期: 1999-08-16 修回日期: 1999-11-16

作者简介: 马明月 (1970—), 女, 辽宁沈阳人, 讲师, 主要从事化学物生殖内分泌毒理、重金属毒理研究。

1.5 组织形态观察

每组选2只动物,取其右侧睾丸,福尔马林固定,石蜡切片,HE染色,光镜检查。

1.6 统计方法

应用Foxbase软件建立数据库,SAS软件进行统

表1 染毒丙烯腈38天雄性大鼠血中MDA、SOD、CAT、GSH-Px、GSH测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	MDA (nmol/ml)	SOD (NU/ml)	CAT (U/gHb)	GSH-Px (U)	GSH (mg/gHb)
对照组	10	14.91±3.78	386.75±50.85	448.30±136.31	30.91±9.05	2.39±0.26
5mg/kg组	10	13.85±2.32	330.50±95.05	454.40±132.21	31.87±7.85	2.93±0.63
15mg/kg组	10	15.89±0.87	350.08±98.79	441.25±90.86	32.03±12.40	3.10±0.55*
25mg/kg组	10	16.09±2.25	335.98±37.41	476.44±90.28	27.30±15.41	2.92±0.39*

注: *与对照组相比, $P < 0.05$ 。

从表1可见血中GSH含量各组间经方差分析(F 检验)有显著性($P < 0.05$),各组间两两比较用 q 检验,GSH含量显著升高,其他指标差异均无显著意义($P > 0.05$)。

表2 染毒丙烯腈38天大鼠睾丸中MDA、SOD、CAT、GSH-Px、GSH测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	MDA (nmol/mgPr)	SOD (NU/mgPr)	CAT (U/gPr)	GSH-Px (U/mgPr)	GSH (mg/gPr)
对照组	10	0.69±0.12	39.91±4.19	32.71±10.77	48.79±8.81	4.52±0.40
5mg/kg组	10	0.62±0.11	48.10±11.11	25.61±7.01	39.57±7.42*	4.31±0.58
15mg/kg组	10	0.63±0.13	52.06±9.690	25.55±8.13	39.96±7.29*	4.43±0.85
25mg/kg组	10	0.56±0.14	49.03±4.73	26.05±5.32	36.15±5.89*	4.19±0.62

注: *与对照组相比, $P < 0.05$ 。

由表2可见,38天大鼠睾丸匀浆中GSH-Px各组间经方差分析,两两比较 q 检验差异有显著意义($P < 0.05$),且与染毒剂量呈高度负相关($r = -0.464$, $P < 0.01$),其他指标的差异均无显著意义($P > 0.05$)。

表3 染毒丙烯腈77天雄性大鼠血中MDA、SOD、CAT、GSH-Px、GSH测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	MDA (nmol/ml)	SOD (NU/ml)	CAT (U/gHb)	GSH-Px (U)	GSH (mg/gHb)
对照组	10	11.60±1.64	331.88±41.64	528.87±94.20	38.54±10.57	2.64±0.91
5mg/kg组	10	8.47±1.91	325.87±73.06	463.52±138.37	43.52±10.55	2.40±0.65
15mg/kg组	10	9.54±0.87	307.69±41.14	526.63±180.88	51.62±14.67	3.17±0.98
25mg/kg组	10	10.17±1.41	296.29±26.21	535.46±107.59	26.76±8.15*	2.45±0.45

注: *与对照组相比, $P < 0.05$ 。

从表3可见血中GSH-Px活力25mg/kg组与对照组经 q 检验,差异有显著意义($P < 0.05$),其他指标差异均无显著性($P > 0.05$)。

表4 染毒丙烯腈77天大鼠睾丸中MDA、SOD、CAT、GSH-Px、GSH水平测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	MDA (nmol/mgPr)	SOD (NU/mgPr)	CAT (U/gPr)	GSH-Px (U/mgPr)	GSH (mg/gPr)
对照组	10	0.70±0.17	38.16±5.74	26.36±6.00	37.79±11.63	3.64±0.91
5mg/kg组	10	0.61±0.15	37.73±8.87	20.54±4.26	24.00±9.24*	2.70±0.86*
15mg/kg组	10	0.70±0.15	42.07±7.48	25.49±5.08	25.49±6.39*	1.88±0.68**
25mg/kg组	10	0.56±0.09	33.28±12.17	21.40±7.70	23.87±8.62*	1.12±0.34**

注: *与对照组相比, $P < 0.05$; **与对照组相比, $P < 0.01$ 。

由表4可见,77天大鼠睾丸匀浆中GSH-Px经方差分析、 q 检验差异有显著性($P < 0.05$),各组GSH

计分析。

2 结果

2.1 染毒丙烯腈38天雄性大鼠血中SOD、CAT、GSH-Px、MDA、GSH测定结果(表1)

义($P > 0.05$)。

2.2 染毒丙烯腈38天大鼠睾丸中SOD、CAT、GSH-Px、MDA、GSH测定结果(表2)

0.05)。

2.3 染毒丙烯腈77天雄性大鼠血中SOD、CAT、GSH-Px、MDA、GSH测定结果(表3)

2.4 染毒丙烯腈77天大鼠睾丸中SOD、CAT、GSH-Px、MDA、GSH测定结果(表4)

显著下降,且与染毒剂量呈高度负相关($r = -0.789$, $P < 0.01$),其他指标的差异均无显著意义

($P > 0.05$)。

2.5 组织形态观察结果

高剂量组病理所见, 曲细精管、精原细胞发生纤维变性, 精子生成减少, 附睾中精子数量减少。低、中剂量未见明显异常。

3 讨论

目前已知丙烯腈在体内有两种主要代谢途径^[4], 一是与 GSH 结合解毒, 二是在细胞色素氧化酶的作用下形成氰环氧乙烷 (Cyanothyleneoxide, CEO)。丙烯腈及其代谢产物 CEO 具有较强的亲电性和氧化性^[2], 其大部分都将与 GSH 结合由尿液排出体外; 此一结合过程需要谷胱甘肽—S—转移酶 (GST) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的作用。

本研究结果发现染毒丙烯腈 38 天, 中高剂量组大鼠血中 GSH 显著升高, 而各染毒组睾丸组织中 GSH-Px 活力显著下降, 且存在剂量-效应关系; 染毒丙烯腈 77 天, 高剂量组大鼠血中 GSH-Px 活力显著下降, 各染毒组血中 GSH 显著下降, 且存在剂量-效应关系。推测可能由于丙烯腈及其代谢产物 CEO 大量进入体内, 造成 GSH 应激性合成增加之故; 但随染毒时间延长, 体内丙烯腈和 CEO 进一步增加, GSH 逐渐消耗, 而使血中 GSH 含量明显下降。对睾丸组织来说, GSH-Px 活力降低, 提示睾丸组织受到一定损伤; 病理亦证实丙烯腈可使生精细胞损伤并致纤维

化, 导致生精能力破坏, 精子数量下降与报道一致^[5,6]。

由上述结果, 初步表明丙烯腈在体内代谢活化中, 对机体产生一定的脂质过氧化作用, 这可能也是丙烯腈致雄性生殖系统损伤的机理之一。但本次研究见睾丸组织中脂质过氧化指标变化不明显, 可能与睾丸组织中的 GSH 保护作用相对稳定有关。丙烯腈对机体产生的脂质过氧化作用的特征为血和睾丸组织中 GSH 水平下降, 因此推测丙烯腈对人体损伤的早期变化即可能为血中 GSH 水平下降。如经人体推测证实此结果, 建议可将检测血中的 GSH 含量变化作为丙烯腈产生损伤作用的早期效应指标。

参考文献:

- [1] Environmental Protection Agency (EPA): National emission standards for hazardous air pollutants for source categories: Organic chemical manufacturing industry and seven other processes [J]. Fed Regist. 1992, 57: 62602.
- [2] 张正东, 王心如. 丙烯腈的遗传毒理学 [J]. 工业卫生与职业病, 1998, 24 (3): 179.
- [3] 南京建成生物试剂公司. SOD、CAT、GSH-Px、MDA、GSH 测定试剂盒说明书 [Z]. 1998.
- [4] 张贵利, 戴修道. 丙烯腈的毒作用研究进展 [J]. 中国公共卫生学报, 1998, 17 (3): 190.
- [5] Tandon R, Saxena DK, Chandra SV, et al. Testicular effects of acrylonitrile in mice [J]. Toxicol lett, 1988 Jul; 42 (1): 55.
- [6] Ahmed AE, Abdel Rahman SZ, Nouraldeen AM. Acrylonitrile interaction with testicular DNA in rats [J]. J biochem toxicol, 1992 Spring, 7 (1): 5.

· 病例报告 ·

脾机能亢进误诊苯中毒 2 例报告

白 岩¹, 刘丽洁²

(1. 沈阳市劳动卫生职业病研究所, 110024; 2. 沈阳市第九人民医院, 110024)

〔例 1〕 女, 46 岁, 某厂装配工, 接触信那水、汽油等含苯化学物 5 年, 于 1975 年因白细胞及血小板减低入院。入院后白细胞波动于 $2.7 \times 10^9 \sim 5.9 \times 10^9/L$ 之间, 多数在 $3.0 \times 10^9 \sim 4.0 \times 10^9/L$ 之间, 血小板波动于 $82 \times 10^9 \sim 126 \times 10^9/L$ 之间; 查肝脾肋下未触及, 未做脾脏超声检查。根据含苯化学物接触史及血象改变, 诊断为慢性轻度苯中毒。此后脱离原岗位, 但白细胞及血小板继续下降, 1991 年住院期间白细胞波动于 $2.05 \times 10^9 \sim 4.45 \times 10^9/L$ 之间 (多数低于 $3.0 \times 10^9/L$), 血小板波动于 $44 \times 10^9 \sim 88 \times 10^9/L$ 之间 (多数低于 $60 \times 10^9/L$); 骨髓穿刺示增生性骨髓象; B 超示脾大, 诊断为慢性中度苯中毒。以后反复感染, 并有明显出血倾向, 1996 年住

院时白细胞及血小板仍低; 行脾切除术后血小板及白细胞均恢复正常。

〔例 2〕 女, 44 岁, 某厂喷漆工, 接触信那水、底漆等含苯化学物 2 年半, 因反复头晕、乏力于 1986 年入院。入院后白细胞波动于 $3.70 \times 10^9 \sim 3.95 \times 10^9/L$ 之间, 血小板及血色素正常, 肝脾肋下未触及, 诊断为慢性轻度苯中毒。此后脱离原岗位, 1988 年住院时 B 超检查发现脾大; 1994 年住院期间白细胞波动于 $2.8 \times 10^9 \sim 3.95 \times 10^9/L$ 之间, 并出现血小板及血色素减低, 头晕、乏力症状加重, 伴齿龈出血、月经过多, 骨髓穿刺示增生性骨髓象; 行脾切除术后血象恢复正常。

讨论: 上述 2 例患者血细胞进行性下降, 骨髓穿刺示增生性骨髓象, 脾切除后血象恢复正常, 诊断为脾机能亢进。我们在诊断苯中毒时职业接触史固然重要, 但更重要的是排除其他疾病尤其是排除脾机能亢进。在与脾机能亢进鉴别时应注意单纯脾脏增厚时触诊不能发现且脾肿大程度与血细胞减少的程度不一定成正比, 轻微的脾肿大有可能引起严重的血细胞减少, 故诊断苯中毒前一定做脾超声检查, 排除脾机能亢进。