

局部振动对血浆内皮素浓度影响的实验研究

林立, 张强, 聂继池, 张春之, 王林

(山东省济宁医学院职业卫生与环境医学研究所, 山东 济宁 272013)

摘要: 目的 探讨局部振动对血浆内皮素浓度的影响。方法 对不同接振时间、不同接振强度的家兔进行了血浆内皮素的测定与分析。结果 随接振时间的延长和接振剂量的增大, 血浆内皮素浓度有升高的趋势, 振动实验后各实验组血浆内皮素浓度均高于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 局部振动可致家兔血浆内皮素浓度的增高。

关键词: 局部振动; 内皮素; 家兔

中图分类号: TB53; R446.11⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X (2000)03-0144-02

An experimental study on the effects of local vibration on plasma concentration of endothelin in rabbits

LIN Li, ZHANG Qiang, NIE Ji-chi, ZHANG Chun-zhi, WANG Lin.

(Institute for Occupational Health and Environmental Medicine, Jining Medical College, Jining 272013, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of local vibration on plasma concentration of endothelin in rabbits. **Methods** Plasma concentration of endothelin was determined in rabbits exposed to varied length and intensity of local vibration. **Results** Plasma concentrations of endothelin showed an increasing trend with the increase in length and intensity of exposure to local vibration. Plasma level of endothelin was higher in all experimental groups after vibration test than that in control group ($P < 0.05$ and $P < 0.01$). **Conclusion** Local vibration could cause increased plasma concentration of endothelin in rabbits.

Key words: Local vibration; Endothelin; Rabbit

内皮素 (endothelin, ET) 是由血管内皮细胞合成、释放的生物活性物质, 是迄今已知体内最强、最持久的缩血管物质, 血浆中其水平的高低, 与外周血管张力的大小有密切关系。振动对机体的主要危害之一是外周血管的损害, 可表现为外周血管的收缩、痉挛, 严重者可发生振动性白指。但振动性血管损害与 ET 的关系国内尚未见报道。为此, 我们对不同接振强度、不同接振时间家兔进行了血浆 ET 浓度的研究。结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及其分组

选择 3.5 月龄左右的健康家兔 18 只作为实验对象, 体质量 2.0~2.5kg, 由济宁医学院实验动物中心提供。按随机原则, 将家兔随机分为 A、B 和一个对照组, 每组家兔雌雄各半。3 组家兔饲养条件、生活环境完全相同, 由专人饲养与管理。其具体分组情况、接振强度、接振时间、接振时噪声水平见表 1。

1.2 实验仪器及试剂

收稿日期: 1999-07-18; 修回日期: 1999-11-30

基金项目: 山东省卫生厅青年基金资助

作者简介: 林立 (1967—), 男, 山东省沂水县人, 讲师, 硕士, 研究方向为物理因素职业卫生。

表 1 实验家兔分组及其接振强度、接振时间

	对照组 (n=6)	A 组 (n=6)	B 组 (n=6)
接振频率 (Hz)	—	125	125
振动加速度 (g)	—	25	35
每天接振时间 (h)	—	1	1.5
$a_{w(4)}$ (m/s ²) *	—	15.31	26.26
噪声水平 [dB (A)]	86	86	90

* 根据接振频率、加速度和接振时间计算的 4 小时等能量频率计权加速度

D-100B 电动振动台、ZK-1 振动控制仪 (苏州试验仪器厂), HH6003 型 γ 放免测定仪 (北京核海电子技术开发中心), ET 放免盒由北京东亚免疫技术研究所提供。

1.3 动物接振方式及总接振时间

家兔固定于自制铁质固定器上^[2], 双后肢密切接触于振动台面。振动参数由 D-100B 电动振动台及 ZK-1 振动控制仪调控。3 个实验组总接振时间为 30 天, 对照组在与 B 组相同的环境中, 只接触噪声, 不接触振动。

1.4 标本的制备及 ET 的测定

分别在家兔接振前及接振后 10、20、30 天, 经其耳中动脉采血 2ml, 立即放入内盛 10% EDTA-Na₂ 30μl 和抑肽酶 400IU 的试管中混匀, 在 4℃、

3 000r/min的条件下离心 10min, 分离血浆, 保存于一40℃冰箱中待测。ET 的测定严格按说明书推荐的步骤进行。

1.5 统计学处理

以 Foxbase 建立数据库, 应用 SAS 进行统计学分析。

2 结果

2.1 不同接振时间、接振强度家兔血浆 ET 的变化 (见表 2)

实验前各组血浆 ET 浓度差异均无显著意义。随实验时间延长, 各组 ET 浓度总体上均有逐渐增高的趋势。2 个实验组实验后各个时间的 ET 浓度均较实验前显著增高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 2 个实验组在实验后 20、30 天 ET 浓度均较实验后 10 天者明显上升 ($P<0.05$, $P<0.01$); A 组实验后 30 天 ET 较 20 天者明显上升 ($P<0.05$)。B 组实验后 30 天 ET 浓度较 20 天者略有下降, 无统计学意义。对照组实验后 ET 浓度较实验前也略有上升, 但无统计学意义。随接振强度的加大, ET 浓度总体上有增高的趋势。其中 A 组、B 组在接振后 10、20、30 天, ET 浓度均显著高于处于相同实验时间的对照组者 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

表 2 不同接振时间、接振强度家兔血浆 ET 浓度比较 ($\bar{x}\pm s$)

	对照组 (n=6)	A 组 (n=6)	B 组 (n=6)
实验前	40.97±7.99	42.66±9.20	41.86±6.12
实验后			
10 天	42.23±4.55	52.56±8.00**#	64.77±5.08***#
20 天	44.52±6.45	63.24±6.73***#	83.64±9.36***#
30 天	44.84±7.66	72.98±9.24***#	82.56±6.41***#

同组内与实验前比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与对照组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

2.2 实验前后, 实验组和对照组血浆 ET 水平变化趋势 (见图 1)

3 讨论

内皮素具有强大的缩血管效应。在正常情况下, 机体 ET 含量较低, 但在病理情况下^[1], 如组织缺血、缺氧, 去甲肾上腺素、血管紧张素浓度增高, 则明显升高。研究表明^[1,2], 与外周血管损害有关的疾病如高血压病、雷诺病等, 可见 ET 增高。

本研究结果发现, 振动可致实验家兔血浆 ET 水

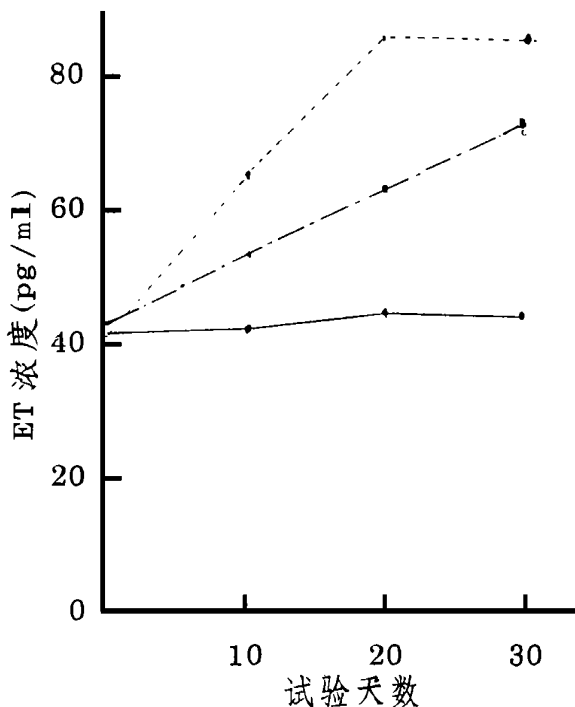


图 1 实验组与对照组血浆中 ET 浓度的变化

平的增高, 并随接振强度的增大增高更加明显, 其原因可能与下列因素有关: (1) 振动对内皮细胞机械性的损伤, 使 ET 合成增加^[3]; (2) 局部振动所致肢体末梢组织的缺血、缺氧, 也可促进 ET 的合成与释放; (3) 局部振动可致植物神经功能紊乱 (包括交感神经功能亢进、迷走神经功能下降), 体内去甲肾上腺素水平明显增高^[4,5], 后者也是促进 ET 的合成因素。ET 的生物学效应即为收缩末梢血管, 因此 ET 浓度的增高又可加重末梢血管的收缩、痉挛, 而使组织缺氧更加明显。上述多种因素相互作用、相互促进, 可能是振动性血管损伤的原因之一。

B 组 (该组接振强度最大) 实验后 30 天 ET 浓度较 20 天者略有下降 (差异无显著意义), 是机体在长时间、高强度接振后, 可能通过某种反馈机制或机体自我调节能力的提高, 使 ET 不再继续升高, 还是因例数较少、抽样误差所致, 尚需进一步研究。此外, B 组接振时噪声强度高于 A 组和对照组, 本研究未设与 B 组相同噪声强度的对照组, 噪声对血浆 ET 浓度是否有影响未见报道, 因此 B 组 ET 浓度的变化是否受噪声的影响, 还待我们今后继续研究。为消除性别因素的影响, 本研究在分组时每组家兔均雄雌各半。

参考文献:

- [1] 石湘芸, 姚松朝, 杨晔. 血管活性物质与临床 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993: 1~9.

(下转第 148 页)

表2 CMCys 精密度测定结果

CMCys	均值 ($\mu\text{mol/L}$)	标准差	CV 值 (%)
批内变异 ($n=8$)	20.8	0.77	3.7
	164.2	8.05	4.9
批间变异 ($n=6$)	64.7	2.91	4.5
	392.8	22.78	5.8

表3 CMCys 回收试验 ($n=6$)

CMCys	加入值	测定值	回收值	回收率
($\mu\text{mol/L}$)	($\mu\text{mol/L}$)	($\mu\text{mol/L}$)	($\mu\text{mol/L}$)	(%)
60	20	78.5	18.5	92.5
	60	124.3	64.3	107.2
160	20	182.8	22.8	114.0
	60	214.6	54.6	91.0

3.4 CMCys 的 AccQ-Tag 衍生物稳定性实验

取 10^4mol/L 和 20^4mol/L 的 CMCys 样品各 3 个分别衍生后室温下保存, 分别于当天、第二天和第三天分析, 其测定结果无明显差异, 见表 4。

表4 CMCys 样品测定的生物稳定性

时间	测定值 ($\bar{x} \pm s, n=3$)	
	样品 1 (10^4mol/L)	样品 2 (20^4mol/L)
第 1 天	10.36 ± 0.63	20.53 ± 0.96
第 2 天	10.28 ± 0.65	19.96 ± 0.92
第 3 天	9.64 ± 0.71	20.26 ± 0.87

3.5 1, 2-DEC 染毒大鼠血清色谱分析

动物: Wistar 大鼠, 雄性, 体质量 200g (北京医科大学实验动物中心提供)。

染毒: 1, 2-DEC 200mg/kg 体质量灌胃, 3 天后断头取血, 离心取血清。

以超滤方法去蛋白 (离心超滤管为美国 Millipore 公司产品), 按以上色谱条件分析。1, 2-DEC 染毒大鼠血清色谱图见图 1 中图 B。

4 讨论

CMCys 可能为卤代烃化合物染毒后在血中的主要代谢产物之一, 检测其水平可相对反应出卤代烃化合物的接触情况, 因此 CMCys 在卤代烃化合物的生物监测中可能具有重要的价值。有关 CMCys 检测方法的报道比较少, 目前国内尚没有比较成熟的检测方法, 国外有以色谱-质谱联用法检测 CMCys 的报道^[1], 虽然具有准确、敏感的特点, 但因要求设备条件较

高, 因此不能适应我国生物监测的要求; 我们参考血清氨基酸分析方法^[2,3], 建立了 CMCys 的柱前衍生高效液相色谱 AccQ-Tag 荧光检测分析法, 它有操作简单、相对敏感和准确、稳定性好的特点, 除能分析 CMCys 以外, 尚能分析其它 18 种氨基酸, 本实验结果表明此法完全可达到规范要求。

CMCys 做为卤代烃化合物染毒后的主要代谢产物主要经肾排出, 但因尿中其它代谢产物较多, 在一定程度上对 CMCys 分析产生干扰, 因此必须对尿液进行预处理 (如以 Sep-Pak 小柱处理), 以去除干扰分析的物质; 此外尿中 CMCys 的水平尚受到尿液浓度的影响, 为了准确定量, 一般要同时分析尿肌酐, 而尿肌酐测定还受饮食和运动等多种因素的影响, 因此准确分析尿中 CMCys 受到多种条件的制约, 而血中的 CMCys 水平相对比较稳定, 干扰分析物质的水平也较低, 此外在急性卤代烃化合物染毒的生物监测也以血样较为适宜。

在实验中有些因素可能影响 CMCys 的准确分析, 如要精确调整流动相的 pH 值 (小数点第二位), 因流动相的 pH 值的变化可影响样品峰的洗脱顺序、分离度和重现性; 血清样品以超滤方法去蛋白为好, 因以沉淀法去蛋白时一则无法将样品中的蛋白去除完全, 从而影响柱效和分析柱寿命, 二则沉淀剂对氨基酸类组分有一定的破坏作用, 加之有部分氨基酸类组分随沉淀物一起被沉淀, 因此对分析的稳定性、敏感性、准确性均有很大影响, 而采用超滤方法去蛋白则可不受以上因素的影响。

因本方法尚没有应用于生物监测实践, 因此有待于今后进一步验证。

参考文献:

- [1] R. Anacardio M. G. Gantalin, F. De Angelis, et al. Quantification of S-carboxymethyl- (R)-cysteine in human plasma by high-performance ion-exchange liquid chromatography/atmosphere pressure ionization mass spectrometry [J]. J of Mass Spectrometry, 1997, 32: 388~394
- [2] 唐志毅, 许维佳, 杨振华, 等. 体液游离氨基酸反相高效液相色谱测定法[J]. 中华医学检验杂志, 1994, 17(3): 140~143.
- [3] 王桂珍, 廖文斌. AccQ-Tag 法测定复方氨基酸注射液中的氨基酸含量 [J]. 中国药科大学学报, 1996, 27 (1): 29~31.

(上接 145 页)

- [2] 彭英, 黄如训, 王映红, 等. ET、CGRP 水平在高血压及局部脑缺血后下丘脑和血浆中的动态变化 [J]. 脑与神经病杂志, 1996, 4 (3): 129~132.
- [3] Toibana N, Kanazuka M, Shigekiyo T. High level plasma thrombomodulin concentration and correlation with endothelin-1 in vibration-exposed

patients [J]. Cent Eur J Public Health, 1995, 3 suppl: 40~42.

- [4] Harada N. Autonomic nerves of hand-arm vibration syndrome patients [J]. Nagoya J Med Sci, 1994, 57: 77~85.
- [5] Kondo F. Functions of the sympathetic-adrenomedullary system and adrenocortical hormones in patients with vibration syndrome [J]. Jpn J Ind Health, 1998, 30: 263~271.