

2-乙氧基乙醇生物学检测研究进展

王三虎¹ (综述), 高 星², 刘 勛³ (审校)

(1. 北京市丰台区卫生防疫站, 北京 100071; 2. 北京市劳动卫生职业病防治研究所, 北京 100020; 3. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017)

摘 要: 2-乙氧基乙醇 (EE) 广泛应用于激光照排等高技术产业, 接触 EE 人数正逐渐增加, 其职业危害日益受到关注。对接触者进行生物检测可以预测 EE 对机体的损害, 评价其危险度, 从而提出可行的干预措施, 保护工人健康。现将 EE 生物检测进展作一概述。

关键词: 2-乙氧基乙醇; 生物检测; 精子毒性; 细胞色素 P₄₅₀2E1

中图分类号: R446.1; O623.42 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2000)03-0179-03

Research advance in biological monitoring for 2-ethoxyethanol

WANG San-hu¹, GAO Xing², LIU Xu³

(1. Fengtai District Sanitation and Epidemic Prevention Station, Beijing 100071, China; 2. Beijing Institute of Labor Hygiene & Occupational Diseases, Beijing 100020, China; 3. Hebei Medjag University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract 2-ethoxyethanol is now used widely in high-tech, such as laser photomechanical process. Number of workers exposed to it increased gradually, and its occupational hazard has been concerned increasingly. Biological monitoring for the exposed workers can predict its hazard to human body and can be used to evaluate its risk. And then, intervention measures can be put forward to protect the workers from hazard. An advance in biological monitoring for 2-ethoxyethanol was reviewed briefly in this article.

Key words: 2-ethoxyethanol; Biological monitoring; Sperm toxicity; Cytochrome2E1

2-乙氧基乙醇 (EE) 是一种既含有羟基又含有醚键的基本无味的可燃液体。EE 可溶于水、乙醇、乙醚、丙酮和液态酯, 也可溶于许多油类和树脂。由于其蒸气压低及易溶解的特性, 使其广泛应用于保护性涂膜、油漆、涂料、清洗剂、航空燃料抗冻剂等的生产和使用。我国于 70 年代引进该技术, 首先应用于激光照排所用的 PS 版生产。据国外文献报道, 高浓度 EE 能引起动物神经、血液、肾脏损害。低浓度时主要引起精子毒性。本文就其生物学检测进展作一综述。

1 EE 生物接触检测

EE 可经呼吸道吸入, 同时极易经皮肤吸收。对 EE 进行生物检测可真实反映 EE 及其代谢产物在体内的剂量, 评价作业者的实际接触, 明确个体外暴露浓度与尿中代谢产物的关系。

1.1 EE 的生物接触标志物

进入人体的 EE 主要分布于肝脏、睾丸, 其次进入脾脏、脑、肾脏等器官。60%~80% 的 EE 经乙醇脱氢酶 (ADH) 氧化为 2-乙氧基乙醛 (EALD), 又经乙醛脱氢酶 (ALDH) 氧化为 2-乙氧基乙酸 (EAA)。10%~15% 的 EE 则通过乙二醇、乙醇醛、乙醇酸、二羟醋酸代谢为草酸。EAA 主要由尿排出。人体接触 EE 后的代谢情况表明: EAA 排泄高峰出现在停止接触后 3~4h, 体内 EAA 清除速率为 13.3ml/(mg·h), 在 42h 内有

23% 的 EE 以游离 EAA 形式排出, 未发现结合形式的 EAA, 人体内 EAA 平均半衰期为 57.1h^[1,2]。由于 EE 主要代谢为 EAA, 且 EAA 的化学性质较 EALD 稳定, 半衰期也较长, 因此十分适合于生物接触监测, 许多学者都把 EAA 作为 EE 的接触标志物。

1.2 EE 的生物学接触检测

目前, 监测 EAA 的方法主要是气相色谱法。Smallwood^[3] 于 1984 年首先建立了检测 EAA 的方法。该方法使用聚乙二醇填充柱, 以二氯甲烷萃取尿中 EAA, 五氟溴苯使 EAA 衍生化后, 氢焰离子化检测器检测。Johanson^[4] 于 1986 年对 Smallwood 方法进行了改进, 采用融合硅胶毛细柱和电子捕获检测器, 从而改善了分离情况, 提高了灵敏度。并于 1989 年再次完善了他的方法, 新方法克服了以前需要二次萃取的不足, 将二氯甲烷的萃取过程和五氟溴苯的衍生化过程一次完成, 从而简便了操作, 而且五氟溴苯的用量减少至以前的十分之一, 节约了试剂^[5]。Groseneken^[6] 于 1986 年采用配有融合硅胶毛细柱、氢焰离子化检测器的气相色谱仪分析 EAA 含量, 为提高萃取效率, 此法需将尿样冻干后以二氯甲烷萃取, 重氮甲烷酯化 EAA 后分析。上述分析过程均较为复杂, 所需时间长, 在实际运用中很不方便。Sakai^[7] 于 1993 年发展了一种改良的气相色谱法检测 EAA。该法采用毛细柱, 氢焰离子化检测器, 以二氯甲烷和异丙醇萃取 EAA, 三甲基硅重氮甲烷酯化 EAA 后即可分析。该法检出限为 0.07 μ mol。当空气中 EE 浓度为 (6.8 $\pm$ 5.2) mg/m³ 时, 接触组 40 名工人尿中 EAA 浓度即可达

收稿日期: 1999-05-24; 修回日期: 1999-09-15

作者简介: 王三虎 (1970—), 男, 北京人, 硕士, 医师, 研究方向为毒物的生物监测。

到 (10.71 ± 6.08) mg/g 肌酐。此方法灵敏度高, 检出限低, 样品处理后稳定性好, 从而适用于职业人群的监测。

2 EE 的生物学效应检测

2.1 EE 对血液系统的影响

Sparer^[8]对造船厂接触 EE 的油漆工人进行了跟踪调查, 结果发现从事此工作 3 年后, 15% 的工人检出贫血或粒细胞减少。为排除其他因素对血液系统的影响, Mark^[9]对血液指标异常的工人进行了更深入的研究, 研究表明这些工人体内谷胱甘肽还原酶 (GSHR) 与黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 结合程度下降, 暴露组工人丙酮酸激酶 (PK) 水平明显低于对照组工人。GSHR 与 FAD 饱和程度下降说明体内核黄素代谢受到干扰。由于核黄素水平下降, 从而导致了 PK 水平降低^[10]。已有研究证实, PK 水平下降与获得性骨髓发育不良关系密切。因此, Mark 认为随着接触 EE 时间延长, 接触者骨髓造血机能将受到损害。PK 在不同人种中含量差异小, 接触 EE 后 PK 水平下降出现较早, 易于检测, 故可将 PK 含量作为 EE 血液毒性的标志物。

高星等^[11]研究了高浓度 ($203\text{mg}/\text{m}^3$) EE 对工人血液系统的影响, 调查显示: 工人不仅红细胞计数、白细胞计数下降, 而且红细胞脆性增加, 明显高于对照组工人, 差异有显著意义 ($P < 0.05$)。

2.2 EE 的精子毒性

2.2.1 EE 对男工精子的影响 Ratcliffe^[12]对 37 名接触 EE 的男工进行了研究。作业场所空气中 EE 浓度为 $0 \sim 96.5\text{mg}/\text{m}^3$, 工人尿中 EAA 浓度在 $0 \sim 163\text{mg}/\text{g}$ 肌酐, 去除年龄、吸烟、饮酒、禁欲时间等混杂因素后, 接触组工人与对照组在一次射精量、精子活力、精子形态指标上差异无显著意义, 但接触组工人精子总数明显低于对照。

高星等^[11]对 3 个工厂内接触 EE 的 120 名男工进行了调查, 车间空气中 EE 平均浓度分别为 $19.7\text{mg}/\text{m}^3$ 、 $77\text{mg}/\text{m}^3$ 、 $203\text{mg}/\text{m}^3$ 。调查发现 2 个高浓度组工人的精子总数、精子活力、精子密度、精子存活率明显下降, 精子畸形率上升, 与对照组及低剂量组比较差异有显著意义。

2.2.2 EE 精子毒性标志物研究 高星等^[13]研究发现接触 EE 工人精液中的乳酸脱氢酶-C₄ (LDH-C₄) 活性降低, 随着接触水平的增加, LDH-C₄ 活性逐渐下降, 呈剂量反应关系。由于 LDH-C₄ 为精子糖代谢所必需的酶, 它主要为精子活动提供能量, 如果该酶受到抑制, 将影响精细胞的生成, 使精子数量减少, 活力下降^[14], 因此, 可将 LDH-C₄ 活性作为 EE 精子毒性的标志物。常元勋等^[15]发现接触 EE 的男工精液异常者体内肌酸水平极显著地高于对照组 ($P < 0.01$)。由此推测, 肌酸与精子损伤间存在一定联系, 但可否作为精子毒效应标志物, 还有待进一步研究。

2.2.3 精子损伤恢复研究 Oudiz^[16]给小鼠连续 5 天染毒, 4 组剂量分别为 0、936、1 872、2 802mg/kg。染毒 4 周后, 2 个高剂量组小鼠精子总数下降并呈剂量反应关系; 7 周后, EE 毒效应最强, 低剂量组小鼠精子总数也下降, 且精子畸形率

明显上升; 10 周后, 损伤的生殖细胞开始恢复, 表现为精子总数上升, 畸形率下降; 16 周时, 大部分生殖细胞已恢复正常, 只有 1 872mg/kg 组仍有部分曲细精管萎缩, 小鼠精子数目仅为正常值的 40%, 这说明生殖细胞的恢复与受损程度之间不是简单的直线关系, Oudiz 推测个体间的差异在精子恢复过程中可能起着重要作用。男工精子损伤恢复研究, 目前尚未见报道。

2.3 EE 的肾脏毒性

EE 在体内有一小部分代谢为草酸, 这一代谢途径对肾脏的影响最近受到了重视。Laitine^[17]对从事丝网印刷的工人进行调查后发现: 该组工人肾脏结石的发病率为办公室人员的 3.4 倍。随着接触 EE 剂量的增加, 工人尿中草酸、钙离子、氨基葡萄糖 (GAG) 的排出增加, 且尿中钙离子浓度与 GAG 含量呈正相关。尿路结石主要依赖于草酸及钙离子, GAG 的大量排出, 使其抑制草酸钙形成的作用受到抑制, 因此丝网印刷工人肾结石的发病率上升。接触 EE 后, 钙尿与肾结石的发生关系密切, 因此 Laitine 认为, 可将钙尿作为 EE 肾脏毒性的检测指标。

3 EE 的遗传易感性检测

CYP2E₁ 是细胞色素 P₄₅₀ 超基因家族的一员, 是外源性化学物质体内生物转化第一时相的酶。最近有研究证实, CYP2E₁ 参与了 EE 的氧化过程, 且随着 EE 浓度增高, 由该酶氧化的 EE 比例增大。

3.1 CYP2E₁ 概述

CYP2E₁ 主要分布于肝小叶周围的肝细胞中, 另有少量分布于枯否氏细胞中。细胞内滑面型内质网中 CYP2E₁ 含量最高^[18]。该酶可氧化多种化合物, 许多化学物质经 CYP2E₁ 氧化后, 毒性不但没有减弱, 反而形成毒性更大的代谢产物。CYP2E₁ 另一个重要特点是可以被多种化学物质诱导, 经诱导后, 该酶活性增强, 代谢毒物能力也随之增强^[19]。

3.2 CYP2E₁ 基因多态性研究

CYP2E₁ 存在 (RsaI) 和 (DraI) 两种多态。RsaI 多态又可分为位于基因上游的 RsaI 多态和位于启动区域的 PstI 多态。Watanabe^[20]研究发现 (PstI) 多态和 (RsaI) 多态完全连锁, 并把 CYP2E₁ 基因划分为 3 种基因型, 即 A (C₁/C₁)、B (C₁/C₂)、C (C₂/C₂)。由于存在基因多态, 因而造成了该酶转录能力的差别。研究表明携带突变基因 C₂ 的个体的转录能力, 酶的活力及 CAT 基因表达能力均高于携带 C₁ 基因的个体^[21]。经 DnaseI 足迹法及序列分析证实: 在 RsaI 多态处存在一顺式作用元件, 由于这一元件中 G→C 突变, 影响了反式因子 HNF₁ 与之结合, 从而改变了其对转录的调控作用^[19]。

3.3 CYP2E₁ 遗传多态与 EE 易感性研究

研究表明同一工作环境下, 接触 EE 工人受到的健康损害程度是不一致的, 这提示可能存在对 EE 的易感基因型。坂井公等^[22]首先进行了这方面的研究。通过对接触 EE 工人尿中 EAA 浓度进行检测, 结果显示 A 基因型个体与 B、C 基因型个

体在接触相同浓度 EE 时, 尿中 EAA 浓度存在的差异有显著意义。携带突变基因 C₂ 的个体代谢产生的 EAA 高于携带 C₁ 基因的个体。由于 EAA 为导致健康损害的主要代谢产物, 并存在剂量-反应关系, 因此坂井公等认为 CYP2E₁ 存在于 EE 的敏感基因型。

由于遗传背景不同, 不同个体毒物的代谢能力存在差异, 对化学毒物的敏感性也就不同, 因此毒物代谢酶基因多态对于筛选高危人群具有重要意义。目前, 应加紧进行这方面研究, 以便更好地保护易感者。

参考文献:

- [1] Gamey EW. An integrated perspective on the development of toxicity of ethylene glycol [J]. *Reprod toxicol*, 1994, 2 (suppl8): 99.
- [2] Groeseneken D, Veulemans H, Masschelein R, et al. Comparative urinary excretion of ethoxyacetic acid in man and rat after single low dose of ethylene glycol monoethyl ethers [J]. *Toxicol Lett*, 1988, 41: 57.
- [3] Smallwood AW, Karl E, Lany K, et al. Analysis of ethylene glycol monoalkyl ethers and their proposed metabolites in blood and urine [J]. *Environ Health Perspect*, 1984, 57: 249.
- [4] Johanson G, Kronborg H, Naslund PH, et al. Toxicokinetics of inhaled 2-butoxyethanol in man [J]. *Scand J Work Environ Health*, 1986, 12: 594.
- [5] Johanson G. Analyses of ethylene glycol ether metabolites in urine by extractive alkylation and electron-capture gas chromatography [J]. *Arch Toxicol*, 1989, 63: 107.
- [6] Groeseneken D, Vleme E, Veulemans H, et al. Experimental human exposure to ethylene glycol monoalkyl ether [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 1989, 61: 243.
- [7] Sakai T, Araki T, Masuyama Y. Determination of urinary alkoxyacetic acids by a rapid and simple method for biological monitoring of workers exposed to glycol ethers and their acetates [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 1993, 64: 495.
- [8] Sparer J, Welch L, Monahan K. Effects of exposure to ethylene glycol ethers on shipyard painters [J]. *Am J Ind Med*, 1983, 14: 497.
- [9] Mark R, Lawrence R, Patricia E, et al. Morphologic, biochemical, and cytogenetic studies of bone marrow and circulating cells in painters ex-

- posed to ethylene glycol ethers [J]. *Environ Res*, 1992, 59: 250.
- [10] Staal G, Berket T, Nijenssen J. Normalization of red blood cell pyruvate kinase deficiency by riboflavin treatment [J]. *Clin Chem Acta*, 1975, 60: 323.
 - [11] 高星, 李祖瑶, 周淑梅, 等. IS 版作业工人健康影响调查 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1998, 16: 228.
 - [12] Ratcliffe, Schrader S, Clapp D, et al. Semen quality in workers exposed to 2-ethoxyethanol [J]. *Br J Ind Med*, 1989, 46: 399.
 - [13] 高星, 陈冰铨, 张鹏, 等. 接触 2-乙氧基乙醇对 LDH-C₄ 活性影响与精子毒性关系 [J]. *中国工业医学杂志*, 1997, 10: 73.
 - [14] Chapin RE, Mommsen R, Guhli DK, et al. Are mouse strain differentially susceptible to the reproductive toxicity of ethylene glycol monomethyl ether? A study of three strains [J]. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1993, 21: 8.
 - [15] 常元勋, 崔京伟, 王艳斌, 等. 机体 (人和大鼠) 接触锡化合物和 2-乙氧基乙醇血清肌酸含量变化. *职业医学*, 1996, 23: 1.
 - [16] Oudiz D, Zenick H, Niewenhuis R, et al. Male reproductivity and recovery associated with acute ethoxyethanol exposure in rats [J]. *J Toxicol Environ Health*, 1984, 13: 764.
 - [17] Laitine J, Liesiouasi J, Saudainen H. Urinary alkoxyacetic acid and renal effects of exposure to ethylene glycol ethers [J]. *Occup Environ Med*, 1996, 53: 595.
 - [18] Koivisto T, Mishin K, Mark M, et al. Induction of cytochrome P-450 2E1 by ethanol in rat Kuffer cells [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1996, 20: 207.
 - [19] Lieber LS. Cytochrome P-450 2E1: its physiological and pathological role [J]. *Physiol Rev*, 1997, 77 (2): 517.
 - [20] Watanabe K, Hayashi S, Kawajiri E, et al. Different regulation and expression of the human CYP2E1 gene due to the polymorphism in the 5'-flanking region [J]. *J Biochem*, 1994, 116: 321.
 - [21] Tsutsumi M, et al. Hepatic messenger RNA contents of cytochrome P₄₅₀ 2E1 in patients with different P₄₅₀ 2E1 genotypes [J]. *Int Hepatol Commun*, 1994, 2: 135.
 - [22] 坂井公, 牛尾耕一, 荒木高明. CYP2E₁ および GSTM1 多型とエチレングリコールモノエチルエーテル尿中代謝物との関係 [J]. *産卫志*, 1995, 37: 460.

· 消 息 ·

《中国工业医学杂志》被确定为预防医学、卫生学类中文核心期刊

经权威机构运用科学合理的研制方法, 经过对相关文献的检索、统计、分析, 并经学科专家鉴定, 本刊被确定为预防医学、卫生学类中文核心期刊。

作为“国家教委人文社会科学研究‘九五’规划项目”之一的中文核心期刊重新研制筛选工作, 是研制者们在认真总结前两次研制工作的经验基础上, 参考国内外大量相关文献, 以多家信息机构编制的文献数据为统计工具, 在不受外界干扰情况下, 对各种刊物在一定时期内的论文质量和学术水平进行综合评价。此次通过严格筛选程序, 从我国近万种

中文期刊中确定了1 568种核心期刊。

在此基础上, 《中文核心期刊要目总览》(2000年版) 已定于近期由北京大学出版社出版, 中文核心期刊的重新研制工作将每隔三年进行一次, 并通过国际互联网, 促进中文核心期刊与国际间的学术交流。

本刊将以此为动力, 从抓质量入手, 不断总结办刊经验, 使本刊在新世纪里再上新台阶。

《中国工业医学杂志》编辑部