

采石工人血清脂质过氧化水平和抗氧化酶活性的研究

李迎春¹, 孙 栩¹, 赵贤青², 汪华杰²

(1. 安徽医科大学劳动卫生教研室, 安徽 合肥 230032; 2 铁四局中心防疫站, 安徽 合肥 230000)

摘要:目的 探讨二氧化硅粉尘对人体作用中的脂质过氧化机制, 寻求矽尘作业人员早期健康监测灵敏指标。方法 整群抽取104名长期从事矽尘作业的采石工人和101名无接尘、接毒史的健康工人作为研究对象。分别测定血清中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的含量并对其结果进行相应的统计分析。结果 接尘组血清MDA、SOD均高于对照组, 而GSH-Px则低于对照组, 且均有统计学意义。3项指标的异常检出率均高于对照组, 其中MDA、SOD差异有显著性。接尘组MDA含量与SOD呈正相关, 而与GSH-Px呈负相关, 3项指标均与累积接尘剂量有一定的相关。结论 二氧化硅粉尘可引起接触者体内脂质过氧化水平和抗氧化酶活性改变。

关键词: 二氧化硅; 脂质过氧化; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号: R135.2; Q554.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2000)06-0321-04

Studies on serum level of lipid peroxidation and activity of anti-oxidase in Quarrymen

LI Ying-chun¹, SUN Xu¹, ZHAO Xian-qing², WANG Hua-jie²

(1. Department of Occupational Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2. Central Hygiene and Epidemic Prevention Station, The Fourth Engineering Construction Bureau Ministry of Railways, Hefei 230000, China)

Abstract: **Objective** To study the mechanism of the role that lipid peroxidation plays in the effects of silica dust on the human bodies and to find a sensitive indicator in early health monitoring for the exposed employees. **Methods** One hundred and four quarrymen exposed to silica dust for a long time and 101 non-exposed healthy men were selected with cluster sampling. Serum levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathion peroxidase (GSH-Px) were determined for all the subjects, and the data were analyzed statistically. **Results** Serum levels of MDA and SOD were higher in the exposed group than those in the controls but serum level of GSH-Px was lower in the exposed group than that in the controls with statistical significance. The rates of abnormal levels of serum MDA, SOD and GSH-Px were higher in the exposed group than those in the controls, with statistical significance only for MDA and SOD. Serum level of MDA correlated with that of SOD and inversely with that of GSH-Px in the exposed group. All the three indicators correlated with cumulative silica dust exposure to certain extent. **Conclusion** Silica dust could cause changes in serum level of lipid peroxidation and antioxidant activity in the bodies of those exposed.

Key words: Silica; Lipid peroxidation; Malondialdehyde (MDA); Superoxide dismutase (SOD); Glutathion peroxidase (GSH-Px)

近年来, 矽肺发生中的自由基机理越来越受到人们的关注。体外细胞培养及动物实验证实矽尘可致AM(肺泡巨噬细胞)、PMN(多形核白细胞)释放活性氧, 后者可使细胞膜上的多烯不饱和脂肪酸(PUFA)发生脂质过氧化(LPO), 引起膜损伤, 同时机体抗氧化系统亦发生相应改变^[1-3]。但有关人群方面的相关报道较少, 为探讨矽尘对人体作用中的脂质过氧化机制, 开展了此项研究。本文选择MDA、SOD、GSH-Px 3项指标对接尘组和对照组进行测定, 以期

为粉尘作业工人健康监护提供灵敏指标。

1 对象与方法

1.1 观察对象

选择某地区生产环境、工艺流程、劳动过程和生产规模相似的两家采石场接尘工龄满1年以上从事开山、碎石等作业的男性工人104名为接尘组(胸片经集体诊断排除尘肺), 另选无粉尘和其他毒物接触史的101名工龄满1年以上机械工人作为对照组。接尘组平均年龄(38.9±12.5)岁, 平均工龄(18.7±12.0)年, 平均接尘工龄(14.4±11.1)年, 平均累积接尘剂量(221.94±157.26)毫克·年; 对照组平均年龄(36.7±10.4)岁, 平均工龄(17.2±10.3)年。接尘组、对照组吸烟率分别为54.8%、51.4%($P>$

收稿日期: 2000-07-10; 修回日期: 2000-09-25

作者简介: 李迎春(1970—), 女, 安徽石台人, 硕士, 从事劳动卫生教学工作

0.05) (两组内部不同年龄组吸烟程度可比), 饮酒率分别为 42.2%、38.6% ($P>0.05$)。两组人群经体检及实验室检查排除肝、肾等疾患。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 粉尘浓度采用区域采样、滤膜称量法测定, 游离 SiO₂ 含量采用焦磷酸质量法测定, 累积接尘剂量按下式计算: $CD=\sum CiTi$

CD ——累积接尘剂量 (毫克·年), Ci ——接尘浓度 (mg/m³), Ti ——接尘时间 (year)。

1.2.2 取静脉血 5ml, 2 500r/min 离心 10min, 分离血清, 溶血标本弃去。MDA、SOD、GSH-Px 分别采用 TBA 法、黄嘌呤氧化酶法、DTNB 法测定, 试剂由南京建成生物工程研究所提供。鉴于以上指标目前尚无正常参考值, 根据有关文献均采用对照组参考值 ($\bar{x} \pm 1.96s$) 进行判断。MDA、SOD 异常以超过对照组 95% 参考值范围上限值为判断标准 [MDA (4.07 + 2.29)nmol/ml, SOD (104.37 + 36.11)NU/ml], GSH-Px 异常以低于对照组 95% 参考值范围下限值为判断标准

表 2 两组间不同年龄对 MDA 含量 (nmol/ml) 的影响

年龄组	n_1	接尘组 ($\bar{x} \pm s$)	n_2	对照组 ($\bar{x} \pm s$)	$F(H)$ 值	P 值
< 30	37	4.585 ± 1.412	32	4.008 ± 1.122	3.45	= 0.06
30 ~	16	4.690 ± 1.501	24	4.184 ± 1.075	1.55	> 0.05
40 ~	13	6.823 ± 1.652	36	4.229 ± 1.351	31.27	< 0.01
≥ 50	38	6.127 ± 1.802	9	3.393 ± 0.604	16.35*	< 0.01
		$F=10.16, P<0.01$		$F=1.33, P>0.05$		

* 该年龄组由于样本之间方差不齐, 用 Kruskal-Wallis 检验计算出 H 值, 下文各表同。

表 3 两组间不同工龄组 MDA 含量的比较

工龄组	n_1	接尘组 ($\bar{x} \pm s$)	n_2	对照组 ($\bar{x} \pm s$)	$F(H)$ 值	P 值
1 ~	24	5.062 ± 1.661	16	4.019 ± 0.891	5.12*	< 0.05
5 ~	19	4.069 ± 1.250	13	3.835 ± 1.256	0.27	> 0.05
10 ~	15	5.183 ± 1.636	14	4.236 ± 1.180	3.16	> 0.05
15 ~	10	5.213 ± 1.621	13	4.164 ± 1.111	3.39	> 0.05
≥ 20	36	6.598 ± 1.654	45	4.086 ± 1.287	59.14	< 0.01
		$F=8.86, P<0.01$		$F=0.22, P>0.05$		

由表 2 可见, 接尘组内各年龄组 MDA 含量均高于对照组, 其中 40 ~ 及 ≥ 50 岁组差异有显著性。随年龄增高, 接尘组 MDA 含量呈升高趋势, 但 ≥ 50 岁组不再升高。其中 < 30、30 ~ 岁组分别与 40 ~、≥ 50 岁组之间差异有显著性。由表 3 可见, 接尘组各工龄组 MDA 含量高于对照组, 其中 1 ~ 及 ≥ 20 年工龄组与对照组相比有统计学意义。接尘组内部 1 ~、5 ~、10 ~、15 ~ 年工龄组分别与 ≥ 20 年工龄组比较差异有

[(136.82—90.97)U/0.1ml]。

1.2.3 所有数据采用 Epi info 6.02、SAS 6.12 软件进行方差分析、非参数检验、相关及回归分析。

2 结果

2.1 1982 ~ 1999 年对作业环境共监测粉尘样品 1 293 个, 作业场所粉尘几何平均浓度为 (14.97 ± 4.81) mg/m³ (浓度范围 0.33 ~ 563.2mg/m³)。平均游离 SiO₂ 含量 5.05% ± 2.89%。工人操作时戴防护口罩。

2.2 接尘组与对照组间 MDA 含量的分析比较

2.2.1 由表 1 可见接尘组血清 MDA 含量高于对照组, 差异有统计学意义。

表 1 两组工人血清 MDA 含量 (nmol/ml)

组别	例数	MDA ($\bar{x} \pm s$)	F 值	P 值
接尘组	104	5.444 ± 1.810	41.1	< 0.01
对照组	101	4.074 ± 1.174		

2.2.2 接尘组与对照组不同年龄、不同工龄组间 MDA 含量的比较

显著性。相关研究表明接尘组 MDA 含量与年龄、接尘工龄、累积接尘剂量明显相关, 相关系数分别为 $r_1=0.41$ 、 $r_2=0.46$ 、 $r_3=0.48$ (P 均小于 0.01), 回归方程分别为 $Y_1=3.165+0.059X_1$ ($t_{b1}=4.49, P<0.01$)、 $Y_2=4.362+0.075X_2$ ($t_{b2}=5.24, P<0.01$)、 $Y_3=4.208+0.006X_3$ ($t_{b3}=5.59, P<0.01$)。协方差分析扣除年龄因素影响后, 接尘组内不同工龄组间差异仍有显著性, Q 检验表明 ≥ 20 年工龄组 MDA 含量

分别高于5~、10~、15~年工龄组(前者 $P<0.01$, 后者 $P<0.05$), 1~与5~年工龄组之间差异也有显著性($P<0.05$), 见表4。

表4 协方差分析前后接尘组内各工龄组

间MDA含量		nmol/ml	
工龄组	例数	MDA ($\bar{x}\pm s$)	校正MDA ($\bar{x}\pm s$)
1~	24	5.062 $\pm$ 1.661	5.260 $\pm$ 2.072
5~	19	4.069 $\pm$ 1.250	4.228 $\pm$ 1.852
10~	15	5.183 $\pm$ 1.636	5.198 $\pm$ 1.587
15~	10	5.213 $\pm$ 1.621	5.120 $\pm$ 1.634
≥ 20	36	6.598 $\pm$ 1.654	6.400 $\pm$ 2.274
		$F=8.86, P<0.01$	$F=3.43, P<0.05$

2.3 接尘组与对照组间SOD活性的分析比较

2.3.1 由表5可见接尘组血清SOD活性高于对照组, 差异有显著性。

表5 两组工人血清SOD活性(NU/ml)的比较

组别	n	SOD ($\bar{x}\pm s$)	F值	P值
接尘组	104	132.808 $\pm$ 13.607	158.6	<0.01
对照组	101	104.369 $\pm$ 18.426		

注: 每ml反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个亚硝酸盐单位(NU/ml)

2.3.2 接尘组与对照组不同年龄、不同工龄组间SOD活性的比较

表6 两组间不同工龄组SOD活性(NU/ml)的比较

工龄组	n_1	接尘组 ($\bar{x}\pm s$)	n_2	对照组 ($\bar{x}\pm s$)	F(H)值	P值
1~	24	132.425 $\pm$ 11.775	16	101.78 $\pm$ 21.937	13.79*	<0.01
5~	19	124.052 $\pm$ 12.878	13	98.315 $\pm$ 7.910	41.05	<0.01
10~	15	132.434 $\pm$ 16.816	14	107.006 $\pm$ 20.799	13.19	<0.01
15~	10	134.490 $\pm$ 12.245	13	103.882 $\pm$ 15.732	25.74	<0.01
≥ 20	36	137.372 $\pm$ 12.359	45	106.371 $\pm$ 19.378	36.49*	<0.01
		$F=3.29, P<0.05$			$F=0.63, P>0.05$	

接尘组各年龄组SOD活性均高于对照组, 差异有显著性, 两组人群内部不同年龄组之间差异无显著性。由表6可见, 接尘组内各工龄组SOD活性均高于对照组, 有统计学意义, 接尘组内部5~年工龄组与 ≥ 20 年工龄组之间有显著性差异。相关研究表明接尘组SOD含量与接尘工龄、累积接尘剂量呈正相关, 相关系数分别为 $r_1=0.28$, $r_2=0.23$ (P 均小于0.05), 回归方程分别为:

$$Y_1 = 127.8166 + 0.3472X_1 \quad (t_{11} = 2.97, P < 0.01)$$

$$Y_2 = 128.3735 + 0.0199X_2 \quad (t_{12} = 2.39, P < 0.05)$$

2.4 两组人群血清GSH-Px活性的比较分析

2.4.1 由表7可见, 与对照组相比接尘组GSH-Px减低, 差异有显著性。

表7 两组工人血清GSH-Px活性(U/0.1ml)的比较

组别	例数	GSH-Px ($\bar{x}\pm s$)	F值	P值
接尘组	104	108.735 $\pm$ 39.995	21.5	<0.01
对照组	101	136.818 $\pm$ 46.414		

注: 每0.1ml血清在37℃反应5分钟使反应液中GSH浓度降低 $1\mu\text{mol/L}$ 为一个酶活力单位(U/0.1ml)

2.4.2 接尘组与对照组不同年龄、不同工龄组间GSH-Px活性的比较

接尘组各年龄组GSH-Px活性低于各对照组, 其

中 <30 及 ≥ 50 岁年龄组与对照组差异有显著性, 两组人群内部不同年龄组间差异无显著性。接尘组各工龄组GSH-Px活性均低于对照组, 除5~年工龄组外其余各组差异均有显著性。两组人群内部不同工龄组间差异无显著性。

2.5 3项生化指标与工龄间的动态分析

由图1可见, MDA、SOD呈同向变化, 1~年工龄组较高, 到5~年工龄组有所降低, 以后又升高。而GSH-Px与MDA、SOD呈反向变化, 1~年工龄组较低, 5~年工龄组有所回升, 以后又逐渐降低。

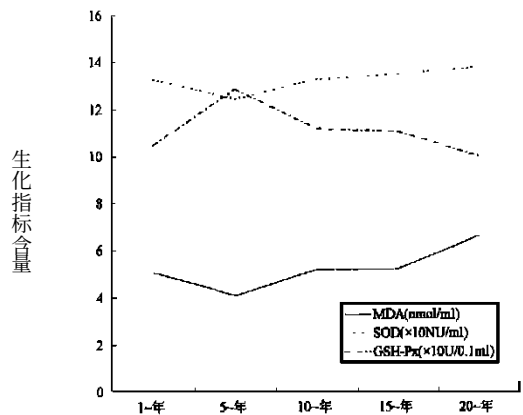


图1 采石工人3项生化指标与接尘工龄的动态变化

2.6 各指标之间相关分析

相关分析表明, 接尘组MDA含量与累积接尘剂量、年龄、工龄、SOD、GSH-Px相关明显, 而对照组

相关性不明显。多元逐步回归分析结果显示,各变量按进入回归方程的顺序排列依次为累积接尘剂量、SOD、GSH-Px (前两者 $P<0.01$),拟合后的最佳回归方程 ($R^2=0.93$, $\alpha=0.15$) 为:

$$\text{MDA} = 0.0045 \text{ 累积接尘剂量} + 0.0388 \text{ SOD} - 0.0064 \text{ GSH-Px}$$

对回归方程中引入的变量作相关分析得其相关系数矩阵如表8。

表8 接尘组各变量间的相关系数矩阵

	MDA	SOD	GSH-Px	累积接尘剂量
MDA	1			
SOD	0.488 *	1		
GSH-Px	-0.271 *	-0.266 *	1	
累积接尘剂量	0.484 *	0.231 △	-0.131	1

* $P<0.01$; △ $P<0.05$ 。

2.7 接尘组与对照组各指标异常率的比较

由表9可见接尘组各指标异常率高于对照组,其中MDA、SOD有统计学意义。

表9 接尘组与对照组3项指标异常率的比较

组别	例数	MDA	SOD	GSH-Px
		异常例数 (%)	异常例数 (%)	异常例数 (%)
接尘组	104	32 (30.77)	23 (22.12)	17 (16.35)
对照组	101	9 (8.91)	11 (10.89)	11 (10.89)
		$\chi^2=15.30$ $P<0.01$	$\chi^2=4.67$ $P<0.05$	$\chi^2=1.29$ $P>0.05$

3 讨论

3.1 目前,越来越多的人认为自由基引起机体脂质过氧化增强进一步导致机体氧化-抗氧化状态失衡是许多毒物毒作用起点。有研究表明金属、有机溶剂等毒作用机理中均有脂质过氧化机制参与^[4,5]。自1975年Gabor等^[2]首次将自由基概念引入矽肺发病机制以来,大量的体外细胞培养及动物实验表明,SiO₂具有启动细胞和肺组织脂质过氧化作用,是一种膜毒性物质^[1~3]。人群有关资料也显示各种粉尘作业者体内脂质过氧化代谢产物增多,抗氧化酶系活性发生改变^[6,7]。

3.2 本研究结果表明,在矽肺发病之前接尘工人体内脂质过氧化水平和相关抗氧化酶活性已发生明显改变。SiO₂粉尘长期作用可导致机体脂质过氧化水平升高,表现为血清MDA含量升高,同时还启动机体抗氧化机制使相关的抗氧化酶活性发生改变。SOD活性的增高说明接尘工人机体氧化应激加强,是一种保护性代偿作用。MDA、SOD异常率的比较也进一步证实了SiO₂粉尘可以引起接触者体内脂质过氧化状态发

生改变,这与国内外有关报道相似^[6,7]。相关及回归分析也表明MDA、SOD与接尘工龄、累积接尘剂量之间存在一定的剂量-效应关系。接尘组GSH-Px活性较对照组明显降低,可能是由于SiO₂粉尘作用下,脂质过氧化产物清除的过度消耗或过多的活性氧对酶活性的直接失活所致。

3.3 指标与工龄之间的动态分析表明接尘初期(1~年)MDA、SOD高,而GSH-Px低,可能是由于机体初始接触SiO₂粉尘时产生大量活性氧引起脂质过氧化水平增高,并诱导SOD反馈性代偿增强,由于对脂质过氧化产物清除的过度消耗或过多的活性氧(H₂O₂)对酶活性的直接失活使GSH-Px降低。其后(5~年),由于SOD等抗氧化酶对活性氧的清除,脂质过氧化水平下降,SOD活性亦随之降低,其中间代谢产物的减少使GSH-Px水平有所回升。随着接尘工龄延长,最终导致机体氧化与抗氧化失衡,表现为MDA、SOD活性增高,而GSH-Px活性降低^[6,8]。相关分析表明接尘组MDA与年龄、工龄呈正相关,而对照组无此发现,多元逐步回归分析也证实MDA与累积接尘剂量相关明显,提示对粉尘作业者健康监护的重点应放在年龄大、工龄长的人群。

综合研究结果,作者认为,SiO₂粉尘启动生物膜发生脂质过氧化,导致机体脂质过氧化产物增加及抗氧化酶系的消耗性降低或代偿性增加是矽肺发病中的重要环节。研究结果还为寻求采石工人早期健康监护敏感指标提供了新的线索。

参考文献:

[1] Vallyathan V, Leonard S, Kuppusamy P, et al. Oxidative stress in silicosis: evidence for the enhanced clearance of free radicals from whole lungs [J]. Mol Cell Biochem, 1997, 168 (1-2): 125-132.

[2] Gabor S. In vitro action of quartz on alveolar macrophage lipid peroxides. Arch Environ Health, 1975, 30 (10): 499-501.

[3] Dalal NS, Shi XL, Vallyathan V. Role of free radicals in the mechanisms of hemolysis and lipid peroxidation by silica: comparative ESR and cytotoxicity studies [J]. J Toxicol Environ Health, 1990, 29 (3): 307-316.

[4] 张献清. 金属中毒与脂质过氧化. 工业卫生与职业病, 1992, 18 (4): 246.

[5] 陈胤瑜, 邓锦伦, 翁乔生, 等. 苯对人体脂质过氧化作用及相关酶活性的影响 [J]. 中国预防医学杂志, 1992, 26 (6): 336.

[6] 陈勤, 林景英, 张学武, 等. 煤工尘肺患者脂质过氧化状态的研究 [J]. 工业卫生与职业病, 1998, 24 (1): 9.

[7] Kamal AA, el Khafif M, Koraah S, et al. Blood superoxide dismutase and plasma malondialdehyde among workers exposed to asbestors [J]. Am J Ind Med, 1992, 21 (3): 353-361.

[8] 肖国兵, 马藻华, 陈志先, 等. 石棉作业女工脂质过氧化与抗氧化活性的研究 [J]. 中国工业医学杂志, 1997, 10 (2): 76.