

苯对大鼠总抗氧化能力的影响

史善富¹, 胡启之², 邢艳¹, 汤桂秋³, 晋嫻¹, 刘协², 李小宁², 包六行², 张弛²

(1. 南京市职业病防治所, 江苏 南京 210042; 2. 江苏省卫生防疫站, 江苏 南京 210009; 3. 新余市钢铁总公司中心医院, 江西 新余 336500)

摘要: 目的 探讨苯对大鼠总抗氧化能力 (Total antioxidant capacity, TAC) 的影响。方法 应用化学比色法检测大鼠血清中 TAC 含量, 同时利用直接计数法计数大鼠全血白细胞 (WBC) 总数。结果 苯使染毒大鼠血清 TAC 含量明显降低, 与 WBC 计数结果一致。结论 TAC 水平的改变可能是苯毒性作用的重要方面。

关键词: 苯; 总抗氧化能力; 白细胞

中图分类号: O625. 11 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)01-0007-03

Effect of benzene on the total antioxidant capacity

SHI Shan-fu¹, HU Qi-zhi², XING Yan¹, TANG Gui-qiu³, JIN Xian¹, LIU Xie², LI Xiao-ning², BAO Liu-xing², ZHANG Ci²

(1. Nanjing Occupational Disease Protection and Treatment Hospital, Nanjing 210042, China; 2. Jiangsu Provincial Sanitary Anti-epidemic and Health Station, Nanjing 210009, China; 3. Hospital of Steel Company of Xinyu, Xinyu 336500, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of benzene on TAC in rat. **Methods** The concentrations of TAC in serum were measured by chemocolorimetry, the WBC count in peripheral blood were also made at same time. **Results** There was a reduction of TAC in serum, and the WBC number decreased too. **Conclusion** It is suggested that reduction of TAC might be one of the most important aspects in the toxic mechanism of benzene in experimental animals.

Key words: Benzene; Total antioxidant capacity; White blood cells

在体内苯能产生半醌自由基, 并导致氧自由基增加, 从而引起细胞老化, 并导致瞬时的不可逆损伤, 甚至可能介导细胞凋亡^[1]。同时在体内存在着灭活自由基的抗氧化体系, 该体系分酶促体系 (如 SOD、GSH-Px、CAT、GST 等) 和非酶促体系 (如 VC、VE、Cp、Glu、Tf 等)。本研究检测的血清中的总抗氧化能力 (TAC) 主要是血清中非酶促体系的抗氧化物质和酶促体系少数小分子量抗氧化物质的总和^[2], 是反映机体抗氧化作用的重要指标之一。本实验检测了染毒大鼠血清 TAC 含量, 同时做了全血白细胞计数, 以探讨染苯大鼠 TAC 水平变化情况及与白细胞总数之间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物及染毒

健康 SD 大鼠 48 只, 河南医科大学实验动物中心提供 (合格证书: 医动字第 971002), 分成 4 组, 每组 12 只, 雌雄各半, 雄性大鼠体质量 (90±15) g,

雌性大鼠体质量 (100±25) g, 于 (23±2)℃ 环境下饲养。设一对照组, 其余 3 组按 LD₅₀ 的 1/30 (低剂量组)、LD₅₀ 的 1/20 (中剂量组)、LD₅₀ 的 1/10 (高剂量组) 量作灌胃染毒, 每天 1 次, 每次 5.0 ml/kg, 以液体石蜡油作溶剂, 对照组给予等量的石蜡油灌胃。动物自由进食、饮水, 每隔 5 天称 1 次体质量, 并调整染毒剂量, 直至第 90 天。苯为分析纯试剂, 含量 99% 以上 (宜兴化学试剂厂出品)。

1.2 TAC 及 WBC 检测方法

分别于第 1 次染毒后第 10 天、第 45 天、第 90 天于大鼠眼内眦静脉丛采血 0.8~1.0 ml, 取 20[#]l 作白细胞计数, 余血离心, 取血清检测 TAC 含量。TAC 检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 是依据机体中有许多抗氧化物质能使 Fe³⁺ 还原成 Fe²⁺, 后者与菲啉类物质形成稳固的络合物, 通过比色可测出其抗氧化能力的高低。WBC 计数采用《全国临床检验操作规程》(1990 年版) 推荐方法。

1.3 结果分析

结果先用方差分析法比较各组间的差异, 再做两两比较。最后 1 次采血时中剂量组 1 只大鼠死亡, 所缺数值按照随机单位与拉丁方中缺项之估计方法计算

收稿日期: 2000-09-27; 修回日期: 2000-11-06

作者简介: 史善富 (1957-), 男, 江苏扬州人, 主管检验师, 主要从事职业病临床检验工作。

产生^[3]。

2 结果

2.1 一般情况

实验过程中大鼠体质量变化情况见表1。

表1 各剂量组大鼠染毒前后体质量变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	体质量变化 (g)	
		染毒前	染毒后
对照组	♂6	92±9	439±52
	♀6	96±22	280±41
低剂量组 (LD ₅₀ 1/30)	♂6	92±15	453±62
	♀6	95±19	275±75
中剂量组 (LD ₅₀ 1/20)	♂6	92±11	399±66
	♀6	92±19	262±40
高剂量组 (LD ₅₀ 1/10)	♂6	85±12	394±65
	♀6	94±21	261±42

2.2 TAC 含量及 WBC 计数结果

2.2.1 大鼠血清 TAC 含量、全血 WBC 总数变化

由图1、图2可见,除对照组外,各剂量染毒组 TAC 与 WBC 的变化趋势相似,低剂量染毒组、中剂量染毒组的 TAC 含量及 WBC 总数在染毒第45天后明显降低;而高剂量组的 TAC 含量在染毒第10天时有明显增高,随着染毒时间的延长, TAC 含量直线下降;高剂量组的 WBC 总数在染毒第10天时增高并不明显,45天后也呈明显降低趋势。

2.2.2 染毒大鼠 TAC 含量及 WBC 计数方差分析

将染毒大鼠 TAC 含量及 WBC 总数按染毒时间及染毒剂量分组并作配伍组设计的两因素方差分析,发现不同染毒时间及不同染毒剂量的 TAC 含量及 WBC 总数之间差异均存在显著性,见表2。

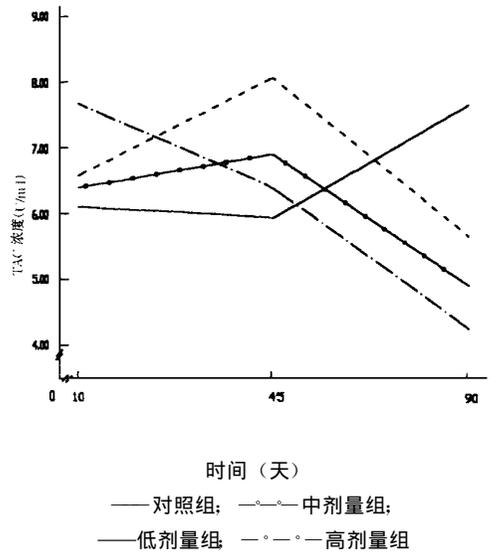


图1 各染毒剂量组不同时间 TAC 含量变化情况

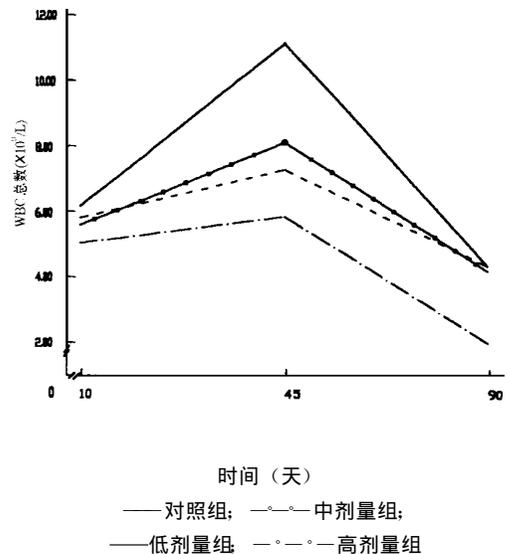


图2 各染毒剂量组不同时间 WBC 总数变化情况

表2 染毒大鼠 TAC 含量及 WBC 计数方差分析

组别	数量	TAC (U/ml)		WBC ($\times 10^9/L$)	
		$\bar{x} \pm s$	F 值	$\bar{x} \pm s$	F 值
按染毒时间分组					
对照组	10天	12	6.12±0.56▲▲	17.74**	6.3±1.5△△
	45天	12	5.96±0.87▽▽		11.3±3.8▽▽
	90天	12	7.71±0.60		4.4±2.0
低剂量组	10天	12	6.54±1.02△	10.34**	5.8±1.5△△
	45天	12	8.07±2.18▽▽		7.5±2.4▽▽
	90天	12	5.66±0.80▲		4.2±1.1
中剂量组	10天	12	6.39±0.69▲▲	13.75**	5.6±2.5
	45天	12	6.81±1.35▽▽		8.3±3.9▽
	90天	12	5.06±0.60		4.4±2.7
高剂量组	10天	12	7.71±0.76△△	90.53**	5.0±2.1
	45天	12	6.23±0.80▽▽		5.9±2.2▽▽
	90天	12	6.24±0.59▲▲		2.1±0.9▲▲

续表 2

组 别	数量	TAC (U/ml)		WBC ($\times 10^9/L$)	
		$\bar{x} \pm s$	F 值	$\bar{x} \pm s$	F 值
按染毒剂量分组					
第 10 天 对照组	12	6.12 \pm 0.56		6.3 \pm 1.5	
低剂量组 (LD ₅₀ V 30)	12	6.54 \pm 1.02 ☆☆		5.8 \pm 1.5	
中剂量组 (LD ₅₀ V 20)	12	6.39 \pm 0.69 ◇◇	10.12 * *	5.6 \pm 2.5	1.01
高剂量组 (LD ₅₀ V 10)	12	7.71 \pm 0.76		5.0 \pm 2.1	
第 45 天 对照组	12	5.96 \pm 0.87 ◆		11.3 \pm 3.8 ◆	
低剂量组 (LD ₅₀ V 30)	12	8.07 \pm 2.18 ☆		7.5 \pm 2.4	
中剂量组 (LD ₅₀ V 20)	12	6.81 \pm 1.35	4.62 * *	8.3 \pm 3.9 ■	6.29 * *
高剂量组 (LD ₅₀ V 10)	12	6.23 \pm 0.80		5.9 \pm 2.2	
第 90 天 对照组	12	7.66 \pm 0.57 ■■		4.7 \pm 1.7	
低剂量组 (LD ₅₀ V 30)	12	5.66 \pm 0.80 ◆◆☆☆		4.6 \pm 1.0 ☆☆	
中剂量组 (LD ₅₀ V 20)	12	4.87 \pm 0.50 □□	71.76 * *	4.5 \pm 2.7	5.89 * *
高剂量组 (LD ₅₀ V 10)	12	4.24 \pm 0.59 ◇◇		2.2 \pm 0.8 ◇	

配伍组设计的两因素方差分析 * * $P < 0.01$

两两比较 按染毒时间分组: 10 天与 45 天 $\triangle\triangle P < 0.01$, $\triangle P < 0.05$; 10 天与 90 天 $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$, $\blacktriangle P < 0.05$; 45 天与 90 天 $\nabla\nabla P < 0.01$, $\nabla P < 0.05$

按染毒剂量分组: 高剂量组与对照组 $P < 0.01$; 高剂量组与低剂量组 $\text{☆☆} P < 0.01$, $\text{☆} P < 0.05$; 高剂量组与中剂量组 $\text{◇◇} P < 0.01$;

低剂量组与对照组 $\text{◆◆} P < 0.01$, $\text{◆} P < 0.05$; 低剂量组与中剂量组 $\text{□□} P < 0.01$; 中剂量组与对照组 $\text{■■} P < 0.01$, $\text{■} P < 0.05$

3 讨论

3.1 各剂量染毒组在不同染毒时间内的 TAC 变化情况

图 1、表 2 显示对照组大鼠在溶剂灌胃 45 天内 TAC 变化不大, 但 45 天后, TAC 含量逐步上升, 考虑可能与大鼠的年龄增长有关; 在染毒第 10 天时, 对照组、低剂量组、中剂量组大鼠的血清 TAC 含量均数相近 ($P > 0.05$), 而高剂量组的大鼠血清 TAC 含量则明显高于其余 3 组 ($P < 0.01$); 染毒第 45 天时, 低剂量组含量上升, 高于对照组 ($P < 0.05$), 而中剂量组与对照组 TAC 含量均数之间的差异无显著意义 ($P > 0.05$), 考虑可能是与染毒剂量有关的应激反应; 在染毒第 10 天时, 高剂量组即出现 TAC 含量的升高, 至第 45 天时, TAC 含量迅速降低, 此时中剂量组的 TAC 含量可能过了应激高峰期, 而此时低剂量染毒组大鼠的 TAC 含量正好达到应激高峰水平。在染毒第 90 天时, 3 个剂量染毒组的 TAC 含量均明显降低, 经方差分析, 不同染毒剂量组间的 TAC 含量均数差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。提示染毒剂量与 TAC 含量之间存在一定的剂量-反应关系。

3.2 各剂量染毒组在不同染毒时间内 WBC 变化

图 2、表 2 显示在染毒第 10 天时, 4 个试验组的 WBC 总数均值相近 ($P > 0.05$); 在染毒第 45 天时, 高剂量组 WBC 总数均值有所降低, 但与第 10 天的 WBC 总数均值差异无显著意义 ($P > 0.05$), 而此时

对照组的 WBC 总数均值明显上升, 低、中剂量染毒组的 WBC 总数均值也有所上升, 与对照之间差异有显著性 ($P < 0.05$)。此时对照组大鼠的 WBC 总数大幅上升可能与鼠龄的增长有关, 而中、低剂量染毒组由于苯的毒性的影响, 上升的幅度受到了抑制。第 90 天时, 对照组及低、中剂量染毒组的 WBC 总数均下降, 高剂量染毒组 WBC 总数均值与低剂量组、对照组之间的差异有高度显著意义 ($P < 0.01$), 与中剂量染毒组之间的差异有显著意义 ($P < 0.05$)。提示苯达到一定的剂量后, 才能最终导致 WBC 总数降低。

3.3 TAC 与 WBC 两指标的比较

各染毒组变化趋势相似, 但各染毒组 TAC 显示了一定的剂量-反应关系, 而 WBC 总数只在高剂量染毒组才显示明显降低, 剂量反应关系不明显。提示作为苯染毒的生物指标, TAC 较 WBC 更敏感, 且能更确切地反映苯染毒剂量与中毒程度之间的关系。

参考文献:

- [1] Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine [M]. Oxford: Clarendon Press, 1985. 1.
- [2] Nichol J MILLER, Catherine RICE-EVANS, Michael J DAVIES, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates [J]. Clinical Science, 1993, 84: 407-412.
- [3] 郭祖超. 医用数理统计方法 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1963. 291.