

丙烯腈对男工脂质过氧化作用研究

马宝玺¹, 崔金山¹, 柏松², 郎艳燕¹, 杨衍凯³, 付守林⁴, 朱峰³, 刘杰³

(1. 沈阳医学院毒理教研室, 辽宁 沈阳 110034; 2. 沈阳医学院附属二院内科教教研室, 辽宁 沈阳 110002; 3. 抚顺市卫生监督所预防监督科, 辽宁 抚顺 113006; 4. 抚顺市石化四厂职工医院, 辽宁 抚顺 113008)

摘要: 目的 探讨不同浓度丙烯腈 (ACN) 对男工机体产生脂质过氧化作用的规律, 筛选早期敏感的损害效应生物标志物。方法 以 93 名接触 ACN 男工为接触组, 条件相近的不接触毒物的 70 名男工为对照组, 测定血清中 MDA、ROS、GSH 含量和 SOD、GSH-Px、GST、CAT 活力。结果 与对照组比较, 接触组血清 MDA、ROS 含量显著升高 ($P < 0.01$), SOD、GSH-Px、GST、GSH 显著下降 ($P < 0.05$), 上述各指标随工龄增加和车间中 ACN 浓度升高而升高或下降, 均存在良好的剂量-效应关系, 且以 MDA、ROS 和 SOD 改变出现较早。结论 在本次调查的浓度范围内 ACN 可引起机体脂质过氧化损伤, 提示 ACN 浓度在低于或接近国家标准时仍可引起损害效应, 建议将血清中 MDA、ROS 和 SOD 作为较早期损害效应的生物标志物。

关键词: 丙烯腈; 脂质过氧化作用; 抗氧化作用; 生物标志物

中图分类号: O623.761; Q554 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)01-0017-03

Effects on lipid peroxidation in male workers exposed to acrylonitrile

MA Bao-xi¹, CUI Jin-shan¹, BAI Song², LANG Yan-yan¹, YANG Yan-kai³, FU Shou-Lin⁴, ZHU Feng³, LIU Jie³

(1. Department of Toxicology, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China; 2. Medical Department, The Second Hospital Affiliated to Shenyang Medical College, Shenyang 110002, China; 3. Prevent and Intendence Department, Fushun Sanitation Intendence Station, Fushun 113006, China; 4. Employment Hospital, The Fourth Petrochemical Factory, Fushun 113008, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects on lipid peroxidation in male workers exposed to varied concentrations of acrylonitrile (ACN) and to look for a sensitive biomarker for early harmful effects caused by ACN. **Method** Ninety-three male workers exposed to ACN and 70 similar non-exposed workers were recruited and their blood specimens were collected for determining the levels of MDA, ROS and GSH, as well as activities of SOD, GSH-Px, GST and CAT. **Result** Serum levels of MDA and ROS were significantly higher in the exposed group, increasing with length of employment, than those in the controls ($P < 0.01$), and serum activities of SOD, GSH-Px, GST and GSH were significantly lower in the exposed group, decreasing with length of employment, than those in the controls, both in a dose-response pattern. Serum levels of MDA, ROS and serum activity of SOD changed earlier than other indicators. **Conclusion** Exposure to ACN at the concentrations in this research, whether lower or approximating to the national hygienic standards, could cause damage in lipid peroxidation in human bodies, and serum levels of MDA, ROS and serum activity of SOD could be used as biomarkers indicating its early harmful effects.

Key words: Exposure to acrylonitrile; Lipid peroxidation; Antioxidation; Biomarker

丙烯腈 (acrylonitrile, ACN) 是一种高毒类有机腈, 有机合成工业广泛应用的单体。关于 ACN 引起脂质过氧化作用实验动物研究较多^[3~5], 人群资料报道较少。国内唐钧等人报道了接触低浓度 ACN 可引起作业工人的脂质过氧化作用^[6]。为进一步探讨 ACN 产生脂质过氧化作用的规律及毒性作用机制, 我们测定了在不同浓度下作业男工血清中丙二醛 (MDA)、活性氧 (ROS)、谷胱甘肽 (GSH) 的含量和超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽硫转移酶 (GST)、过氧化氢酶 (CAT)

活力, 结果如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

以某石油化工厂化工、丙烯腈和仓储车间的 93 名男工为接触组, 平均年龄 (37.4 ± 7.5) 岁, 平均工龄 (15.1 ± 7.7) 年, 工人经呼吸道接触 ACN, 无皮肤接触机会。选同一地区生活环境、经济状况相近、不接触任何毒物和有害作业的男性 70 人为对照组, 平均年龄 (37.0 ± 7.4) 岁, 平均工龄 (15.6 ± 7.4) 年。接触组吸烟工人 21 人, 对照组吸烟者 10 人, 两组吸烟率差异无显著性 ($P > 0.05$)。

收稿日期: 2002-08-07; 修回日期: 2002-10-31

作者简介: 马宝玺 (1954-), 男, 实验师, 从事卫生学检验研究工作。

1.2 作业场所空气中 ACN 的测定

1990 年前车间空气中浓度为每 2 个月检测 1 次, 1990 年后改为每月检测 1 次, 按《劳动卫生工作规范》分别在化工车间设 17 个采样点, 丙烯腈车间设 8 个采样点, 仓储车间设 3 个采样点, 每个采样点采取 4 个样品, 气相色谱法分析测定。

1.3 测定指标及方法

早餐禁食, 于上午 8~10 时抽取上肢静脉血分离血清, 置 -20℃ 冰箱备检。分别测定血清中 MDA、ROS 和 GSH 含量及 SOD、GSH-Px、GST、CAT 酶活力。每一指标同批血样同批完成测定, 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 测定方法按试剂盒说明书进行。

1.4 统计方法

应用 Foxbase 建立数据库, SAS 软件进行相应的 χ^2 、 t 检验和方差分析。

2 结果

2.1 1990~2001 年各车间空气中丙烯腈平均浓度测定结果

该厂始建于 20 世纪 70 年代, 1990 年前污染严重, 车间中 ACN 浓度超过国家标准 10~20 倍; 1990 年该厂引进先进设备, 露天框架, 生产过程全部管道化、密闭化、自动化操作。新设备使用后, 1990~

1995 年处于试生产阶段, 各车间空气中丙烯腈浓度波动在 1.54~6.09 mg/m³, 平均浓度超过国家标准 1~4 倍。1996~2001 年 12 月底生产线运转正常, 车间空气中丙烯腈浓度明显下降, 低于国家标准或偶有超标, 监测结果见表 1。

表 1 1990~2001 年各车间空气中丙烯腈平均浓度 mg/m³

年度	化工车间	丙烯腈车间	仓储车间
1990	4.25(3.10~5.70)	5.40(3.45~6.50)	6.09(3.15~7.45)
1991	4.10(3.10~5.10)	4.40(3.50~6.10)	5.10(3.10~7.00)
1992	3.52(2.80~4.80)	3.50(2.80~4.40)	4.40(3.00~5.10)
1993	4.10(3.10~4.80)	3.30(2.10~4.50)	4.00(3.10~4.85)
1994	2.25(1.50~3.10)	2.50(1.45~4.10)	2.80(2.60~4.00)
1995	1.54(0.80~2.10)	2.00(1.10~2.50)	1.75(1.10~2.40)
1996	1.95(1.10~2.30)	1.90(1.10~2.20)	2.15(1.10~2.80)
1997	3.52(2.95~4.50)	2.20(1.00~3.10)	3.05(1.70~4.10)
1998	1.40(0.70~2.10)	0.84(0.50~1.35)	0.43(0.20~0.65)
1999	0.74(0.40~1.15)	0.43(0.15~0.94)	0.14(0.00~0.20)
2000	1.64(0.70~2.10)	1.76(0.55~2.20)	0.41(0.00~0.84)
2001	0.70(0.40~0.93)	0.81(0.53~1.10)	0.40(0.00~0.73)

注: () 内为 ACN 浓度波动范围。

2.2 接触组与对照组工人血清中 MDA、ROS、GSH、SOD、GSH-Px、GST、CAT 测定结果(见表 2)

表 2 血清中 MDA、ROS、GSH、SOD、GSH-Px、GST、CAT 测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MDA (mmol/L)	ROS (U/ml)	GSH (μ mol/L)	SOD (NU/ml)	GSH-Px (U/L)	GST (nmol/L)	CAT (U/g·Hb)
对照组	70	3.97±1.46	824.4±167.8	4.29±1.04	241.8±94.4	149.4±34.7	4.30±1.80	142.5±29.7
接触组	93	5.48±1.78**	1297.8±194.6**	3.17±1.10**	173.6±78.2**	117.3±30.2**	2.80±0.90*	147.3±26.8

与对照组比较 * $P<0.05$ ** $P<0.01$

2.3 不同工龄组间各指标比较

由于该厂各车间 ACN 浓度变化有明显的时间段, 为正确评价 ACN 浓度与毒效应关系, 依参加工作的时间将工人划分为 3 个组, 即 1990 年前参加工作工龄组; 1990~1995 年参加工作工龄组; 1996~2001 年参加工作工龄组, 并进行组间比较。对照组年龄范围为 21~55 岁, 在该年龄范围内, 上述各项指标受年

龄影响很小, 为增加结果的可信度, 亦将 70 名对照组工人按上述时间段划分为 3 个组, 将上述各指标进行了组间方差分析, 结果各组间差异均无显著性 ($P>0.05$), 因此, 仅对接触工人各工龄组间的结果进行比较。

ACN 接触工人不同时段工龄组间各指标结果比较见表 3。

表 3 不同时段工龄组工人各测定指标结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	平均工龄(年)	n	MDA (nmol/L)	ROS (U/ml)	GSH (μ mol/L)	SOD (NU/ml)	GSH-Px (U/L)	GST (nmol/L)	CAT (U/g·Hb)
1996~2001	4.2±1.9	22	4.91±1.74	1024.3±164.5	4.31±0.94	214.2±81.1	144.2±33.1	4.20±1.60	164.0±27.2
1990~1995	9.2±1.7	30	5.53±2.00**	1297.2±197.4**	3.07±1.09**	177.4±89.2**	117.9±32.3*	3.60±1.80*	158.0±26.8
1990 以前	22.4±9.7	41	6.01±2.10** $\Delta\Delta$	1484.0±210.4** $\Delta\Delta$	2.84±1.04** $\Delta\Delta$	141.0±69.4** $\Delta\Delta$	98.0±30.2** $\Delta\Delta$	2.0±1.60** $\Delta\Delta$	154.0±28.6

与 1996~2001 年组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 1990~1995 年组比较 $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

由表 3 可见, 血清中 MDA、ROS 含量随工龄增加、车间中 ACN 浓度升高而明显升高, 而且在 1996~2001 年组就与对照组 (见表 2) 差异有高度显著性 ($P < 0.01$), 而 GSH 随工龄增加、ACN 浓度升高而下降, 1996~2001 年组与对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

血清中 SOD、GSH-Px、GST、CAT 酶活性亦随工龄增加和 ACN 浓度升高而下降, 其中以 SOD 下降最明显, 反应最敏感。1996~2001 年时段工龄组就明显低于对照组, 差异有高度显著性 ($P < 0.01$), 而 GSH-Px 和 GST 在此时段工龄组与对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

3 讨论

丙烯腈在细胞色素 P4502E1 (CYP2E1) 的催化下, 代谢为 2-氰环氧乙烷 (cyanothyleneoxide, CEO), 引发自由基反应, 生成活性氧 (ROS), 发生脂质过氧化作用产生 MDA 等活性中间产物^[1,2]。因而, 接触工人血清中 MDA、ROS 含量明显增高。为清除自由基及活性中间产物, 促进 CEO 与 GSH 的结合, 加速代谢产物排除体外, SOD、GSH-Px、GST 和 GSH 发挥抗氧化作用而被消耗, 因而, 酶活力下降, GSH 含量减少。接触工人血清中 CAT 与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。这与其他研究者的报道相近^[1-6]。

接触工人按车间浓度变化的时间段划分工龄后, 工龄间比较结果发现, MDA、ROS 随工龄增加和车间空气中 ACN 浓度升高而升高, 呈正相关关系, 相关系数依次为 0.732 和 0.793 ($P < 0.01$), 并且在接近或低于国家标准浓度的 1996~2001 年工龄组 MDA、ROS 含量均明显高于对照组, 差异有非常显著性 ($P < 0.01$), 说明血清中 MDA、ROS 是反应 ACN 致脂质过氧化损伤的早期敏感的损害效应标志物。

本研究结果表明, 接触工人血清中 SOD、GSH-

Px、GST 酶活力和 GSH 含量明显低于对照组 ($P < 0.01$), 且均随工龄增加和车间空气中 ACN 浓度升高而降低, 存在明显的负相关关系, 相关系数依次为 0.814、0.773、0.712 和 0.747 ($P < 0.01$), 说明这种降低确由 ACN 及其代谢产物产生的脂质过氧化作用所致。在低于和接近国家标准的 1996~2001 年时间段的工龄组仅 SOD 酶活力仍明显低于对照组 ($P < 0.01$), 而 GSH-Px、GST、GSH 均与对照组差异无显著性 ($P > 0.05$), 说明 SOD 在反应机体脂质过氧化损伤效应方面也是一个早期较敏感的损害效应指标。在该时段年龄组的 GSH-Px、GST、GSH 与对照组差异无显著性, 说明机体处于代偿阶段, GSH-Px、GST、GSH 在促进 GSH 与 CEO 结合方面发挥着重要作用, 并存在较大的潜能, 以维持机体脂质过氧化作用处于稳态。当 ACN 及其代谢产物对机体损伤进一步加重, 其代偿能力耗竭, 则表现为 GSH-Px、GST 和 GSH 均显著下降, 机体受到脂质过氧化损伤。

综上所述, 血清中 MDA、ROS、SOD 可作为监测 ACN 较早期损害效应的生物标志物。同时提示, 现行的 ACN 车间空气最高容许浓度为 $1\text{mg}/\text{m}^3$ 的标准是否安全, 还须进一步观察。

参考文献:

- [1] Woutersen R A. Toxicological profile of acrylonitrile [J]. Scand J Work Environ Health, 1998, 24 (Suppl2): 5.
- [2] Kanthasamy A G, Ardele B, Malave A, et al. Reactive oxygen species generated by mediate Toxicity in rat pheochromocytoma cell [J]. Toxicol Lett, 1997, 93: 47.
- [3] Liang J, Xu Y, Klauing J E. Induction of oxidative stress in rat brain by acrylonitrile [J]. Toxicol Sci, 1998, 41: 334.
- [4] 马明月, 张玉敏, 李海山, 等. 丙烯腈对雄性大鼠脂质过氧化作用研究 [J]. 中国工业医学杂志, 2000, 13 (3): 138.
- [5] 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.
- [6] 唐钧, 范卫, 朱瑞娉, 等. 丙烯腈作业人群的脂质过氧化与抗氧化能力观察 [J]. 工业卫生与职业病, 2001, 27 (1): 11.
- [7] Church H J, Day J P, Braithwaite R A, et al. The speciation of lead in erythrocytes in relation to lead toxicity: Case studies of two lead-exposed workers [J]. Neurotoxicology, 1993, 14 (2-3): 359-364.
- [8] cadmium-hemoglobin affinity assay [J]. Method Enzymol, 1991, 205: 83-88.
- [9] Minami M, Koshi K, Homma K, et al. Changes of the activities of superoxide dismutase after exposure to the fume of heavy metals and significance of zinc in the tissue [J]. Arch Toxicol, 1982, 49: 215.
- [10] Rhee S J, Huang P C. Metallothionein accumulation in CHO Cd²⁺ cell in response to lead treatment [J]. Chem Biol Interact, 1989, 72: 347-361.
- [11] James F R, Bent I V. Determination of metallothionein in tissues by

(上接第 16 页)

参考文献:

- [1] 王桂兰, 刘双军, 侯玉春, 等. 铅对大鼠脑细胞膜脂质过氧化及超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. 卫生毒理学杂志, 1995, 9 (3): 175-176.
- [2] 丁训诚, 刘春芳, 董竟武, 等. 铅对发育中的脑脂质过氧化作用的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1988, 2 (4): 293-296.
- [3] 柯浩. 金属硫蛋白与人类健康 [J]. 生物学通报, 1995, 30 (7): 9-10.
- [4] James F R, Bent I V. Determination of metallothionein in tissues by