

· 实验研究 ·

亚慢性苯暴露对小鼠抗氧化酶系统影响的实验研究

Experimental study of the effects of subacute exposure to benzene on the activities of anti-oxidase system in mice

胡怀前, 董玉奎

HU Huai-qian, DONG Yu-kui

(临沭县卫生防疫站, 山东 临沭 276700)

摘要: 将小白鼠按不同浓度和时间进行静式吸入染毒。20 d 后, 对其外周血 WBC 计数及血红蛋白超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及白细胞中过氧化脂质(WBC lipid peroxidation, WBC-LPO)进行检测。结果发现受试小鼠在白细胞计数尚属正常时, 其体内 GSH-Px、CAT 和 SOD 的活力以及 WBC-LPO 的含量就已发生了明显的改变。提示各种抗氧化酶活力和白细胞中过氧化脂质的测定在苯中毒的早期诊断中可能具有一定的应用价值。

关键词: 亚慢性苯暴露; 抗氧化酶; 过氧化脂质

中图分类号: R135.12 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2005)04-0230-02

目前苯中毒的诊断仍以白细胞和血小板计数的下降作为主要依据, 而一旦白细胞计数降低到可以确诊为慢性苯中毒时, 患者还可发展成再生障碍性贫血或白血病^[1]。为寻找更为敏感的早期发现慢性苯中毒的指标, 我们对亚慢性苯暴露小鼠抗氧化酶系统的血红蛋白中 GSH-Px、SOD、CAT 的活力和白细胞 WBC-LPO 含量的改变进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物为健康昆明种小白鼠 100 只, 雌雄各半, 体重(20±2) g; 受试物为苯(99.5%), 分析纯, 由天津化学试剂

二厂提供。

1.2 染毒方法

将动物随机分为对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组, 并将中浓度组按染毒时间分为 10 d 和 20 d 两个亚组, 其余各染毒组染毒时间均为 20 d。每(亚)组小鼠 20 只, 静式吸入染毒, 静式染毒柜体积为 48 cm×100 cm×72 cm(0.35 m³), 加样后使其自然挥发。每天染毒 2 h, 各组染毒浓度为对照组 0 mg/L, 低浓度组 10 mg/L, 中浓度组 15 mg/L, 高浓度组 22.5 mg/L。各染毒柜中加苯量按公式 $a = CL / d \times 1000$ 求得^[2]。

1.3 样品的收集及生化指标的测定方法

白细胞(WBC)计数, 在小鼠尾部取血, 按白细胞常规计数法计数; WBC-LPO 的测定用硫代巴比妥酸法^[3]; GSH-Px 的测定用改良的 Hafeman 微量法^[5,6]; SOD 的测定用邻苯三酚自氧化法^[4]; CAT 的测定用紫外分光光度计法^[5]。

1.4 统计分析

对实验结果进行 *t* 检验, 方差分析。

2 结果

2.1 不同染毒浓度组小鼠各项生化指标的测定

由表 1 可见, 随着染毒浓度的增加, 各浓度组 WBC 的下降呈明显的剂量-反应关系, 除 CAT 外, GSH-Px、SOD 的活力和 WBC-LPO 的含量各浓度组与对照组之间差异有显著性。

2.2 中浓度组不同染毒时间各项指标的测定(见表 2)

表 1 不同染毒浓度小鼠各项生化指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	WBC($\times 10^9/L$)	WBC-LPO(nmol/L $\cdot 10^6$)	GSH-Px(U/mgHb)	SOD(μ g/gHb)	CAT($\times 10^3$ /gHb)
对照组	9.8±2.7	0.232±0.063	26.6±3.8	2404.4±713.5	349.7±95.3
低浓度组	7.8±2.9	0.495±0.275*	58.1±25.4	2115.5±721.3	419.0±126.9
中浓度组	6.3±2.5	1.303±0.465**	70.5±23.8*	1919.5±534.1	421.5±131.5
高浓度组	5.5±2.3*	0.882±0.619*	80.5±19.5**	1334.0±580.9*	495.4±147.8

与对照组比较, **P*<0.05 ***P*<0.01; 下表同。

表 2 中浓度组不同染毒时间各项生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

染毒时间	WBC($\times 10^9/L$)	WBC-LPO(nmol/L $\cdot 10^6$)	GSH-Px(U/mgHb)	SOD(μ g/gHb)	CAT($\times 10^3$ /gHb)
对照组(0 d)	9.8±2.7	0.232±0.063	26.6±3.8	2404.4±713.5	349.7±95.3
10 d	7.8±2.4	0.237±0.110	59.4±19.7	3276.8±487.3	408.4±73.4
20 d	6.3±2.5	1.303±0.465**	70.5±23.8*	1919.5±534.1*	431.5±131.5

由表 2 可见, 随着染毒时间的延长, WBC 计数、SOD 活力下

降、WBC-LPO 含量升高、GSH-Px 活力的升高与对照组相比, 差异有显著意义(*P*<0.05), CAT 活力的改变不显著。

3 讨论

收稿日期: 2005-01-25; 修回日期: 2005-03-29
作者简介: 胡怀前(1968-), 主管医师, 从事公共卫生监督监测工作。

苯经肝脏代谢产生氢醌和半醌类物质, 最终导致产生自由

基及超氧阴离子, 自由基可引起组织细胞的脂质过氧化, 苯所引起的 WBC 下降等血液毒性就是由于其导致体内自由基代谢紊乱所产生的结果。

实验结果显示, WBC-LPO 随着染毒时间的延长有显著的提高, 且低浓度组与对照组比较差异有显著意义。高浓度组 WBC-LPO 比中浓度组有所下降, 其机制有待于进一步研究。GSH-Px 和 SOD 是细胞内抗脂质过氧化作用的酶系统之一, GSH-Px 活力随染毒浓度的增高而显著增强, 而 SOD 活力则显著降低。中浓度组随染毒时间的增加, WBC-LPO 明显增多, GSH-Px 活力升高。染毒 10 d 时 SOD 活力升高, 染毒 20 d 后, SOD 活力显著下降。不同染毒浓度下, 当中浓度组 WBC 尚处于正常范围(6.3 ± 2.5) $\times 10^9/L$ 时, GSH-Px 和 SOD 活力及 WBC-LPO 含量都已发生明显变化, 这提示我们, 在苯中毒早期的生物监测方面, GSH-Px、SOD 活力、WBC-LPO 含量要比白细胞下降更为敏感, 所以白细胞下降不一定是苯中毒患者早期的惟一诊断指

标, 体内的脂质过氧化反应及其相关生化指标, 对苯中毒的早期诊断可能具有一定的应用价值。

参考文献:

- [1] 王蓼兰. 劳动卫生学[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 56-60.
- [2] 刘毓谷. 卫生毒理学基础[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 56-67.
- [3] 陈顺志. 过氧化脂质显色的三种方法学比较[J]. 临床检验学杂志, 1994, 2(4): 8.
- [4] 袁勤生, 王志文, 翁清清, 等. 邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶的活性[J]. 医药工业, 1983 (1): 16-19.
- [5] 李立. 磷脂与疾病及其检验方法[M]. 西宁: 宁夏人民出版社, 1993: 192.
- [6] Hafeman DG, Desilva PE, Bengdahl IA, et al. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat[J]. J Nutr, 1994, 104: 580.

螺旋藻口含片增强免疫功能的实验研究

Experimental study on the immunity-enhancing effect of spiroid alga sucking tablet

张静, 张明月, 郑爱英, 赵春红

ZHANG Jing, ZHANG Ming-yue, ZHENG Ai-ying, ZHAO Chun-hong

(天津市卫生防病中心, 天津 300011)

摘要: 对螺旋藻口含片增强免疫功能进行实验研究。结果显示, 在小鼠脾淋巴细胞转化试验 (MTT 法)、半数溶血值 (HC_{50}) 测定、抗体生成细胞试验中, 各剂量组的吸光度差值、半数溶血值、抗体生成细胞数均高于对照组, 其中中、高剂量组与对照组相比, 差异有显著性 ($P < 0.05$); 其他各项试验均未见免疫抑制现象。初步表明螺旋藻口含片不但能增强机体非特异性细胞免疫功能而且能促进体液免疫的功能。

关键词: 螺旋藻; 免疫功能

中图分类号: TQ460.72; R282.71 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2005)04-0231-02

螺旋藻具有 60% 以上优质全蛋白以及丰富而珍贵的微营养素 (包括螺旋藻多糖、藻蓝蛋白、胡萝卜素、维生素 E 及硒等), 可以完全食用; 其降低胆固醇、抗癌、增强免疫功能、提高对铁的利用和抗贫血作用及促进伤口愈合与维生素样作用均有报道, 本课题拟就螺旋藻口含片对免疫功能的影响进行实验研究。

1 材料与方法

1.1 材料

螺旋藻口含片, 绿色片剂, 由天津某营养保健品有限公司提供。18~22 g 雌性二级昆明种小鼠 120 只, 由军事医学科学院实验动物中心提供, SPF 级实验动物室饲养。螺旋藻口

含片人体日摄入量为 3.0 g/60 kg, 设低、中、高三个剂量组, 分别为 0.25 g/kg、0.50 g/kg、1.50 g/kg, 即相当于人体推荐量的 5 倍、10 倍、30 倍。各组经口灌胃, 对照组给予等量蒸馏水每日 1 次, 连续给予 30 d。末次给药后 24 h 测定各项指标。免疫一组 40 只小鼠, 分为 4 组, 每组 10 只, 进行 HC_{50} 测定、抗体生成细胞检测、迟发型变态反应 (足趾增厚法); 免疫二组 40 只小鼠, 分为 4 组, 每组 10 只, 进行小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验、小鼠脾淋巴细胞转化试验、NK 细胞活性测定、脏/体比值测定; 免疫三组 40 只小鼠, 分为 4 组, 每组 10 只, 进行炭廓清试验。

RPMI1640 细胞培养液、刀豆蛋白、异丙醇、MTT、LDH 基质液、SRBC (绵羊红细胞)、鸡红细胞、印度墨汁、都氏试剂; UV1201 紫外-可见分光光度计、离心机、24 孔培养板、无菌解剖器材、二氧化碳培养箱、酶标仪、洁净工作台、游标卡尺、微量注射器、计时器、血色素吸管等。

1.2 方法^[1,2]

(1) 脏器/体重比值测定: 称取脾脏、胸腺, 计算脏/体比。(2) 迟发型变态反应: 第 25 天腹腔注射 2% SRBC, 免疫 4 d 后, 足趾增厚法测定迟发型变态反应。(3) ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验: 无菌取脾, 制成单细胞悬液, Hank's 液清洗细胞悬液, 调整细胞浓度为 3×10^6 个/ml, 实验前 72 h 加 ConA 诱导。MTT 法测定细胞活力。(4) 半数溶血值 (HC_{50}) 的测定: 于第 25 天腹腔注射 2% SRBC, 免疫 5 d 后, 摘眼球收集血清, 540 nm 比色测定半数溶血值。(5) 抗体生成细胞检测: 于第 25 天腹腔注射 2% SRBC, 免疫 5 d 后, 脱臼处死, 取脾,

收稿日期: 2005-01-25; 修回日期: 2005-04-07

作者简介: 张静 (1968-), 女, 助理研究员, 硕士在读, 从事卫生毒理工作。