

慢性氟中毒大鼠血清总抗氧化能力与一氧化氮水平的变化

The serum total antioxidant capacity and nitric oxide level in chronic fluorine poisoned rats

孙玉敏¹, 陈树君¹, 杨扬¹, 宋福成²

SUN Yum in¹, CHEN Shu jun¹, YANG Yang¹, SONG Fu cheng²

(1 沧州医学高等专科学校医学系内科教研室, 河北 沧州 061001; 2 武警医学院研究生 18队, 天津 300162)

摘要: 选用 Wistar 雄性大鼠 24 只, 分为对照组、低氟组、高氟组, 每组 8 只, 染氟组分别自由饮用含氟化钠 100 mg/L、200 mg/L 的自来水, 对照组自由饮用自来水, 喂养 20 周。取股动脉血离心出血清, 采用比色法检测总抗氧化能力 (T-AOC) 及一氧化氮合酶 (NOS) 活力, 黄嘌呤氧化酶法检测超氧化物歧化酶 (SOD) 活力, 硝酸还原酶法检测一氧化氮 (NO) 含量。低氟组大鼠血清 T-AOC 明显高于对照组 ($P < 0.01$), 而高氟组与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 低氟组 NO 含量比对照组明显增高, 高氟组的 NO 含量明显高于低氟组 ($P < 0.01$)。提示低剂量氟使 T-AOC 代偿性增加, 氟可能通过刺激诱导型一氧化氮合酶 (NOS) 异常表达而使 NO 合成大量增加。

关键词: 大鼠; 氟; 一氧化氮; 脂质过氧化

中图分类号: R994.6 O613.41 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2009)06-0445-02

氟是人体所必需的微量元素之一, 它广泛存在于水源、土壤、大气和动植物体内。适量的氟能促进动物的生长发育和繁殖, 参与骨骼代谢, 具有影响动物的造血功能及神经兴奋性和传导的作用; 但过量氟可引起牙齿、骨骼及非骨相的多种组织和器官的损伤。近年的研究表明, 氟通过促进自由基产生, 抑制抗氧化酶类活力, 导致脂质过氧化作用增强是氟造成组织细胞损伤, 促进疾病发生和发展的重要机制^[1]。本实验通过人工复制氟中毒, 观察总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活力与一氧化氮合酶 (NOS)、一氧化氮 (NO) 的变化规律, 从亚分子水平上探讨氟中毒的发病机制, 为地氟病的防治提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

TU-1800 型紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司), 37℃ 恒温水浴锅 (上海一恒科技有限公司), TDL-40B 型台式离心机 (北京医用离心机厂生产)。氟化钠 (分析纯, 天津市化学试剂三厂), 冰醋酸 (分析纯, 天津市化学试剂三厂), T-AOC、SOD、NOS、NO 测试盒、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验动物分组与处理

选用健康 2 月龄 Wistar 雄性大鼠 24 只, 体重 180~200 g

按体重随机分为 3 组 (对照组、低氟组、高氟组), 每组 8 只。大鼠在相同环境下适应性喂养 3 d 后, 对照组自由饮用自来水, 低氟组饮用含 100 mg/L 氟化钠的自来水, 高氟组饮用含 200 mg/L 氟化钠的自来水。所有大鼠喂食低营养饲料, 成分为面粉 25%、麸皮 20%、玉米粉 52%、食盐 1%、酵母 1%、骨粉 1%, 喂饲 20 周。

1.3 观察指标

每周称量大鼠的体重, 并观察动物的一般情况。处死动物前, 从股动脉抽取血液, 离心出血清。采用比色法测定 T-AOC 含量, 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活力, 比色法测定 NOS 活力, 硝酸还原酶法测定 NO 含量。

1.4 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 1.5 统计软件包, 多个样本均数比较用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 及两两比较 t 检验, 以 $P < 0.05$ 作为判断差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 血清 T-AOC 的变化和 SOD 活力

低氟组大鼠血清 T-AOC 明显高于对照组 ($P < 0.01$), 而高氟组大鼠血清 T-AOC 与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组间 SOD 活力比较, 差异均无统计学意义, 见表 1。

表 1 血清 T-AOC 的变化和 SOD 活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	T-AOC (U/mg Prot)	SOD (U/mg Prot)
对照组	8	9.73 $\pm$ 0.62	109.90 $\pm$ 29.22
低氟组	8	13.05 $\pm$ 0.26 [▲]	123.46 $\pm$ 33.26
高氟组	8	10.33 $\pm$ 0.39	139.05 $\pm$ 20.35

与对照组相比, [▲] $P < 0.01$

2.2 血清 NO 含量和 NOS 活力

对照组、低氟组、高氟组大鼠血清 NOS 活力逐渐增高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。低氟组大鼠血清 NO 含量与对照组相比, 明显增高 ($P < 0.01$); 高氟组大鼠血清 NO 含量明显高于低氟组 ($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 血清 NO 的含量和 NOS 活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NOS (U/mg Prot)	NO (μ mol/g Prot)
对照组	8	34.54 $\pm$ 7.72	2.77 $\pm$ 0.36
低氟组	8	36.13 $\pm$ 2.58	9.76 $\pm$ 0.82 ^{▲▲}
高氟组	8	38.71 $\pm$ 4.70	17.24 $\pm$ 1.24 ^{▲▲#}

与对照组相比, [▲] $P < 0.01$; 与低氟组相比, [#] $P < 0.01$

3 讨论

1994 年, 在第 20 届国际氟研究协会学术讨论会上, 王志成等^[2]首先提出了氟损伤自由基代谢和抗氧化系统功能的学

收稿日期: 2009-06-01

作者简介: 孙玉敏 (1975-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向: 内科临床与教学。

说。T-AOC是近几年研究发现的用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标。T-AOC的大小可反映机体抗氧化酶系统和非酶系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态,其中的酶系统主要包括谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、SOD 过氧化氢酶等,非酶系统主要包括还原型谷胱甘肽、脂溶性维生素、葡萄糖等^[3-4]。由于T-AOC具有很强的代表性且容易检测,所以是反映机体抗氧化功能的良好指标。

正常动物血清中含有一定量的NO,此生理量的NO是由固有型一氧化氮合酶(eNOS)催化,通过L-精氨酸氧化合成。生理量的NO在体内广泛参与多种生理过程如调节血管张力、参与神经传递等。但在受到外界刺激时,体内多种细胞如巨噬细胞、肝细胞、软骨细胞、滑膜细胞等可表达NOS而产生比生理量大得多的NO,且持续时间更长。本研究发现大鼠在给予过量氟时,其血清NO含量增高,并随染氟剂量增加而增加,与许鹏^[3]等的报道一致。推测氟进入机体,刺激巨噬细胞、肝细胞、软骨细胞、滑膜细胞表达NOS产生大量NO,从而引起血清NO含量明显增高。

NO作为内源性自由基可与超氧阴离子O₂⁻反应,生成强氧化剂过氧化亚硝酸(ONOOH),诱导脂质过氧化。但NO作为体内一种重要的信使分子,不同于其他自由基,具有多方面的生物学作用。即使在氧化应激反应中,NO的作用也是双重的。多种实验表明,NO既能通过ONOOH诱导脂质过氧化,又能对脂质过氧化发挥阻断作用。从分子生物学角度来看,自由基主要是通过脂质过氧化作用,损伤蛋白质、核酸等生物大

分子物质,造成组织细胞损伤,影响机体内环境的相对稳定,从而导致许多疾病的发生和发展。但在正常情况下,动物体内存在一套有效的抗氧化防御系统如SOD、GSH-Px等,能及时清除过多的自由基,而不造成组织细胞损伤。但在某些病理情况下,机体产生的自由基超过机体的清除能力,促使疾病进一步发展^[4]。本实验检测了大鼠氟中毒后体内抗氧化防御系统的变化,探索自由基在中毒发生中的作用,结果表明,低氟可使血清T-AOC代偿性增高,SOD无明显变化,说明体内除了SOD外,还有其他的抗氧化防御成分发挥作用。

参考文献:

- [1] 薛诚,陈学敏.氟摄入致脂质过氧化作用及其机理[J].环境与健康,2000,17(1):59-62.
- [2] 王志成,富德,李晓冬,等.自由基对氟中毒发病的影响及SOD、VE的保护作用[C].北京:第20届国际氟研究协会学术会议论文集,1994:117.
- [3] 王国明,陈俊荣,李积胜,等.牛磺酸和锌对氟致神经系统损伤的拮抗作用[J].中国工业医学杂志,2007,20(6):399-400.
- [4] 陈树君,孙玉敏,孟羽俊,等.慢性氟中毒大鼠睾丸组织总抗氧化能力与一氧化氮合酶和一氧化氮水平的变化[J].环境与健康,2007,24(8):627-629.
- [5] 许鹏,张大勇,陈凤石,等.过量氟对实验大鼠血清一氧化氮含量及骨发育的影响[J].中国地方病学杂志,1999,18(5):331-333.
- [6] 梅梅,于燕妮,陈杨,等.不同浓度氟对大鼠肝、肾功能及氧化应激的影响[J].贵阳医学院学报,2007,32(4):356-358.

职业卫生所举办当代职业卫生实践强化培训班

经过前期考察、磋商,中国疾病预防控制中心职业卫生所于2009年11月8日至14日在广东省深圳市举办当代职业卫生实践强化培训班。该培训班为GE项目的一项重要内容,旨在培养高层次的职业卫生骨干人才。培训班得到了香港中文大学的大力支持与协助。培训班由来自香港中文大学、香港科技大学、香港劳工部的5位教授用英文主讲,内容涉及到发达国家的职业卫生实践、国际职业卫生学的进展及专业资格认证、健康风险的管理计划、健康风险评估及管理、个人防护装备、纳米物质对环境、健康及安全的影响、危害控制工程学原理、通风系统的设计、噪音的评估及控制、人类工效学的干预及评估、非离子辐射的评估方法等。职业卫生所的3位领导也分别在培训班上介绍了国家职业卫生标准体系、职业病诊断标准体系,以及国家自然科学基金申请与科技论文写作等内容。

参加培训的正式学员22名,来自各省级职业病防治机构和疾病预防控制中心,大多数为青年专业技术骨干,平均年龄34岁。另外来自广东省职业病防治研究院、深圳市职业病防治院和深圳市宝安区疾病预防控制中心的15名代表参加了旁听。

培训班每天安排了1~2小时的交流与讨论时间,13名学员为培训班带来了自己的研究课题及学术论文,在培训班的专题讨论时间演讲,内容主要有:职业病防治管理体系模式探讨、2007年安徽省尘肺病现况分析、多环芳烃(PAHs)的职业暴露评估、三种不同粉尘采样器及采样方法测定结果的比较、受检者依从性对个体噪声检测影响及质量控制探讨、职业性皮肤病接触评估方法研究进展、焦炉工易感性生物标志物的研究、北京地区有毒化学物品使用情况调查研究、职业性急性环氧乙烷中毒诊断标准研究综述、铅暴露对雄性生殖系统毒性的研究进展、重金属对接触人群健康损害的生物监测和预防控制研究、纳米二氧化钛诱导的氧化应激反应及其机制研究。

本期培训班安排了英文考试,从考试结果看,这批年青的职业卫生骨干具有良好的专业素养,并具有一定的英文交流能力,培训班达到了良好的培训效果,对我国职业卫生领域的国际国内交流起到了积极的推进作用。培训班还对参加专题讨论的专业论文/课题申请书进行了评比,根据论文的创新性、科学性、实用性和演讲水平,评选出陈尚、孙敬智、陈青松三名优秀青年骨干。

本期培训班获得学员的好评,在推动地区专业人员的交流、提高专业人员的素质、培养中青年专业技术骨干方面做出积极的贡献,同时促进了内地与香港的职业卫生工作的交流。培训组织部门对这次培训班进行了认真的分析与总结,今后举办此类培训将更加细分培训对象,在培训内容上将更加专业与深入,培训时间和培训形式也将根据实际需要进行调整,尽可能给更多的中青年职业卫生专业人员提供相互交流与学习的平台。

中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所 徐茗