

- [5] 何伟明. 急性有机磷农药中毒合并 MODS血清肿瘤坏死因子- α 水平测定临床意义 [J]. 内科急危重症杂志, 2005, 11 (2): 83-84
- [6] 关永东, 徐辉, 李小利, 等. 重度急性有机磷中毒患者血清 LPS、TNF- α 的变化及与 MODS的相关研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2001, 10 (4): 230-231
- [7] 关永东, 徐辉, 李小利, 等. 急性有机磷患者内毒素和肿瘤坏死因子与多器官功能障碍综合征的相关研究 [J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2001, 7 (1): 33-34
- [8] 张在其, 彭巍, 翁志华, 等. 急性毒鼠强中毒患者血清 B-EP

ET、NO与 TNF- α 的动态变化 [J]. 中华急诊医学杂志, 2004, 13 (11): 774-777.

- [9] Alexander W S. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) in the immune system [J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2 (6): 410-416
- [10] Dalpke A H, Oppler S, Zimmermann S, et al. Suppressors of cytokine signaling SOCS-1 and SOCS-3 are induced by CPG-DNA and modulate cytokine response APCs [J]. J Immunol, 2001, 166 (12): 7082-7089

雌二醇和壬基酚对仔鼠神经毒性的联合作用

Neurotoxic effects of nonylphenol and estradiol on offspring rats

许洁^{1,2}, 俞捷¹, 汪洋², 李岩¹, 胡斌丽¹

XU Jie^{1,2}, YU Jie¹, WANG Yang², LI Yan¹, HU Bin Li¹

(1. 遵义医学院预防医学教研室, 贵州 遵义 563003; 2. 重庆医科大学公共卫生学院, 重庆 400010)

摘要: 探讨母体雌二醇 (estradiol, E_2) 和壬基酚 (nonylphenol, NP) 联合暴露对仔鼠神经系统发育的影响, 并初步探讨 E_2 和 NP 的联合毒性作用。将孕鼠随机分为 7 组, 花生油溶剂对照组, NP 染毒低、高剂量组 (50、100 mg/kg), E_2 染毒低、高剂量组 (10、20 μ g/kg), NP+ E_2 联合染毒低、高剂量组 (NP50 mg/kg+ E_2 10 μ g/kg, NP100 mg/kg+ E_2 20 μ g/kg 组), 每组 6~7 只孕鼠, 妊娠第 9~15 天灌胃染毒。观察母鼠生产指标 (产仔数、活产数); 仔鼠神经行为发育指标 (平面翻正、空中翻正、听觉惊愕和视觉定向); 用 Morris 水迷宫观察学习记忆; 检测垂体和海马组织乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 的活性。与对照组和单独染毒组比较, 联合染毒低、高剂量组孕鼠产仔数、活产数减少, 仔鼠断崖回避、平面翻正、空中翻正、听觉惊愕和视觉定向发育时间推迟, 水迷宫实验中逃避潜伏期延长, 穿越平台次数减少; 跳台实验中反应时间延长, 步下潜伏期缩短, 错误次数增加, 海马组织 ChAT 活性下降, AChE 活性上升, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。提示孕期暴露壬基酚和雌二醇联合作用可影响仔鼠神经发育, 二者的神经毒性表现为相加作用。

关键词: 雌二醇; 壬基酚; 仔鼠; 神经毒性; 联合作用

中图分类号: R996.0625.311 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2011)04-0288-04

壬基酚 (nonylphenol, NP) 作为乳化剂被广泛应用于数十个行业生产中, 其作为环境内分泌干扰物 (environmental endocrine disruptors, EEDs) 对机体的毒性是当今深受关注的研究热点^[1]。研究表明 NP 这类雌激素样物质具有神经毒

性^[2-6], 随着近年来雌激素制剂 (如口服避孕药) 的大规模临床应用以及 EED 的广泛存在, 两者对人体的联合作用机会大大增加。目前国内外未见关于两者对机体的神经系统联合作用的报道, 为此, 本课题选择亲代孕期暴露于壬基酚和雌二醇的仔鼠作为研究对象, 研究壬基酚和雌二醇单独和混合后对其神经系统发育及神经行为和学习记忆的影响, 测定仔鼠海马和垂体组织中乙酰胆碱酯酶和胆碱乙酰转移酶的活性及体内激素水平的变化, 确定两者的联合作用类型, 初步探讨其可能的作用机制, 为真实反映二者共存对哺乳动物神经系统可能造成的损害作用以及为后续的实验研究提供科学的依据。

1 材料与与方法

1.1 试剂和仪器

壬基酚和 β 雌二醇 (东京化成工业株式会社 Tokyo Chemical Industry), 纯度 99%; AChE 和 ChAT 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 睾酮及雌二醇测试盒 (北京北方生物技术研究所)。分光光度计 (上海电化仪表自控公司 721-A), 高速电动匀浆器 (上海浦东物理光学仪器厂 FSH-2), 电子天平 (上海精密科学仪器厂 EA1004N), Morris 水迷宫监测系统 (成都泰盟科技有限公事), γ 放射免疫计数器 (中科大中佳公司)。

1.2 实验动物与分组

(260 \pm 20) ♂雄性及 (180 \pm 10) ♀雌性清洁级 SD 大鼠 (用于交配) 共 100 只, 购于第三军医大学 (动物合格证号: SCXK (渝) 20070005)。饲养于相对湿度 (60 \pm 5)%, 温度 (28 \pm 2) $^{\circ}$ C 的环境中, 自然通风, 12 h 光照 12 h 黑暗, 自由取食、饮水。

大鼠按雌:雄 (2:1) 同笼交配, 次日晨将雌鼠逐一阴道涂片镜检发现精子当日记为孕期 0 d。将交配成功的孕鼠随机分配到 7 组: 即花生油溶剂对照组和 NP 染毒低、高剂量组 (50、100 mg/kg), E_2 染毒低、高剂量组 (10、20 μ g/kg),

收稿日期: 2011-01-28 修回日期: 2011-05-20

基金项目: 贵州省自然科学基金 (黔科 2019 号); 遵义市自然科学基金 (遵市科合社字 200805); 遵义医学院院基金 (2007-61-22)

作者简介: 许洁 (1979-), 女, 研究方向: 毒理学。

NP+E₂ 联合染毒低、高剂量组 (NP50 mg/kg+E₂ 10 μg/kg ~15天灌胃染毒。自然分娩、哺乳。将仔鼠饲养至成年做指标检测。

1.3 检测指标

1.3.1 观察母鼠生产指标 记录总胚胎数、活胎、死胎、吸收胎数量。

1.3.2 仔鼠神经行为发育指标 平面翻正、空中翻正、听觉惊愕和视觉定向的达标时间^[7]。

1.3.3 学习记忆观察 用 Morris水迷宫观察。水迷宫测试仪为直径 120 cm 高 30 cm的圆形水池, 划为 4个象限盛水后加适量奶粉, 使水成不透明乳白色, 水温 (23±2)℃, 水深 25 cm 淹没平台 2 cm (A) 定位航行实验 (Place navigation test PNT), 实验历时 4 d 1 d时大鼠在水池内自由游泳 3 min 熟悉环境。以后每天上下午各测试 1组次, 选平台相对象限中点为入水点, 共入水 4次, 记录找到平台的时间, 即逃避潜伏期, 如 120 s仍未找到, 记录为 120 s 以 4次的平均值作为学习成绩, 分析动物获取空间信息的学习能力。(B) 空间探索实验 (spatial probe test SPT), 定位航行实验完毕 2 时, 撤除平台, 重复实验操作。以潜伏期作为记忆成绩, 判断动物记忆储存及提取再现能力。

1.3.4 垂体和海马组织乙酰胆碱酯酶和胆碱乙酰转移酶的活性测定 垂体和海马组织称重后用冰冷的匀浆液制成 10% 匀浆 (6 s次, 间隔 10 s 共 20次, 匀浆过程始终处于冰块中)。蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法, 脑组织 AChE和 ChAT含量依照试剂盒说明进行测定。

1.3.5 血清激素水平检测 4℃、2 000 r/min离心 15 min取血清, 按试剂盒说明书加样, 放射免疫法检测。

1.4 统计学处理

各组数据以均数 ±标准差 (x±s) 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件进行 2×2两因素 2水平的析因分析, 有交互作用的再固定其他因素进行单独比较。

2 结果

2.1 孕期染毒雌二醇和壬基酚对母鼠生产状况影响

壬基酚和雌二醇对每窝活胎数和死胎数的交互效应的 P 值均 <0.05 说明壬基酚和雌二醇的交互效用有统计学意义,

NP100 mg/kg+E₂20 μg/kg组), 每组 6~8只孕鼠, 妊娠第 9 与非联合作用组比较, 联合作用组窝活胎数减少、死胎数升高, 提示两者有相加效应。由于存在交互效应, 需固定一因素分析另一个因素的影响, 与对照组比较, 各暴露组平均每窝产仔总数差异无统计学意义 (P>0.05); 与对照组及单独暴露 NP 50、100 mg/kg剂量组, 单独暴露 E₂ 10、20 μg/kg剂量组比较, NP50 mg/kg+E₂ 10 μg/kg NP 100mg/kg+E₂ 20 μg/kg联合暴露组每窝活胎数减少、死胎数升高, 差异有统计学意义 (P<0.05), 见表 1。

表 1 母鼠生产指标

组别	剂量	样本量	每窝产仔总数	每窝活胎数	每窝死胎数
对照组	0	7	10.00±1.41	9.85±1.34	0.29±0.49
NP	50	8	9.87±1.55	8.50±2.39	0.88±1.25
	100	7	9.50±1.64	8.00±1.79 ^a	1.50±1.05 ^a
E ₂	10	6	10.00±1.41	8.66±1.21	1.33±1.21 ^a
	20	6	9.00±1.55	7.16±0.75 ^{ab}	1.67±1.03 ^{ab}
NP+E ₂	50+10	6	9.33±1.75	6.00±1.26 ^{abcd}	3.33±0.82 ^{abcd}
	100+20	6	9.50±1.87	3.16±0.98 ^{abcd}	6.00±2.19 ^{abcd}

注: 与对照组比较 ^a P<0.05 与 NP50 mg/kg组比较, ^b P<0.05 与 NP100 mg/kg组比较, ^c P<0.05 与 E₂ 10 μg/kg组比较, ^d P<0.05 与 E₂20 μg/kg组比较, ^e P<0.05 与 NP50 mg/kg+E₂10 μg/kg组比较, ^f P<0.05

2.2 孕期染毒雌二醇和壬基酚对仔鼠神经行为发育指标的影响

壬基酚和雌二醇对仔鼠神经反射各指标交互效应的 P 值均 <0.05 有统计学意义。与非联合作用组比较, 联合作用组神经反射各指标达标时间延长, 提示两者有相加效应。因存在交互效应, 需固定一因素分析另一个因素的影响, 与对照组及单独暴露 NP50、100 mg/kg剂量组, 单独暴露 E₂ 10、20 μg/kg剂量组比较, 联合暴露 NP50 mg/kg+E₂ 10 μg/kg和 NP100 mg/kg+E₂ 20 μg/kg剂量组仔鼠断崖回避、平面翻正、前肢悬挂、空中翻正、听觉惊愕、视觉定向的达标时间延长, 差异有统计学意义 (P<0.05), 见表 2。

表 2 仔鼠早期神经反射 (x±s)

组别	剂量	仔鼠数	断崖回避	平面翻正	空中翻正	听觉惊愕	视觉定向
对照组	0	10	8.1±0.7	5.1±0.4	8.3±0.5	9.3±0.5	17.4±0.5
NP	50	10	8.0±0.6	5.3±0.5	8.3±0.5	9.6±0.5	17.6±0.8
	100	10	9.6±1.1 ^b	6.0±0.8 ^a	8.6±0.5	9.7±1.0	19.0±0.8 ^a
E ₂	10	10	9.8±1.0 ^{ab}	6.5±0.8 ^a	11.3±0.5 ^{abc}	11.2±1.0 ^{abc}	20.2±1.0 ^{ab}
	20	10	10.2±1.3 ^{ab}	6.5±0.8 ^{ab}	11.4±1.7 ^{abc}	11.2±1.4 ^{abc}	20.7±2.2 ^{ab}
NP+E ₂	50+10	10	11.7±1.25 ^{abcd}	8.0±1.0 ^{abcd}	13.7±2.4 ^{abcde}	13.8±2.1 ^{abcd}	21.4±1.2 ^{abcd}
	100+20	10	13.2±2.6 ^{abcde}	8.8±1.0 ^{abcd}	15.6±1.7 ^{abcde}	15.6±1.5 ^{abcd}	23.3±2.1 ^{abcde}

注: 与对照组比较, ^a P<0.05 与 NP50 mg/kg组比较, ^b P<0.05 与 NP 100 mg/kg组比较, ^c P<0.05 与 E₂ 10 μg/kg组比较, ^d P<0.05 与 E₂ 20 μg/kg组比较, ^e P<0.05 与 NP50 mg/kg+E₂ 10 μg/kg组比较, ^f P<0.05。

2.3 孕期染毒雌二醇和壬基酚对仔鼠学习记忆成绩的影响

Morris水迷宫测试结果: 壬基酚和雌二醇对仔鼠学习和记忆成绩交互效应的 P 值均 <0.05 差异有统计学意义。与非

联合作用组比较, 联合作用组学习记忆成绩降低, 提示两者有相加效应。由于存在交互效应, 需固定一因素分析另一个因素的影响, 与对照组及单独暴露 NP 50、100 mg/kg剂量组,

单独暴露 E₂ 10、20 μg/kg 剂量组比较, 联合暴露 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 和 NP 100 mg/kg + E₂ 20 μg/kg 剂量组仔鼠学习和记忆成绩下降。表现为第 1~4 日定位航行实验和第 5 日空

间探索实验中, 仔鼠逃避潜伏期和探索潜伏期延长, 错误次数增多 (P < 0.05), 差异有统计学意义, 见表 3。

表 3 水迷宫实验仔鼠学习、记忆成绩 (x̄ ± s)

组别	剂量	仔鼠数	学习成绩		记忆成绩	
			逃避潜伏期 (s)	错误次数 (n)	探索潜伏期 (s)	错误次数 (n)
对照组	0	10	32.42 ± 3.30	0.85 ± 0.89	21.00 ± 4.83	0.42 ± 0.53
NP	50	10	31.85 ± 5.33	1.00 ± 0.81	18.42 ± 4.72	0.71 ± 0.75
	100	10	36.57 ± 4.31	1.28 ± 0.75 ^b	25.71 ± 3.25	0.85 ± 0.69
E ₂	10	10	36.42 ± 2.87	1.28 ± 0.75 ^b	25.28 ± 6.26	1.00 ± 0.81
	20	10	38.71 ± 6.23 ^{ab}	2.00 ± 0.81 ^{ab,cd}	36.00 ± 6.87 ^{ab}	1.71 ± 1.11 ^{ab}
NP + E ₂	50 + 10	10	41.57 ± 4.50 ^{ab}	2.85 ± 0.89 ^{ab,cd}	38.28 ± 6.47 ^{ab,cd}	2.14 ± 1.06 ^{ab,cd}
	100 + 20	10	47.42 ± 6.97 ^{ab,cd,ef}	4.00 ± 1.29 ^{ab,cd,ef}	45.14 ± 6.96 ^{ab,cd,ef}	2.42 ± 0.97 ^{ab,cd,ef}

注: 与对照组比较, a P < 0.05 与 NP 50 mg/kg 组比较, b P < 0.05 与 NP 100 mg/kg 组比较, c P < 0.05 与 E₂ 10 μg/kg 组比较, d P < 0.05 与 E₂ 20 μg/kg 组比较, e P < 0.05 与 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 组比较, f P < 0.05

2.4 孕期染毒雌二醇和壬基酚对仔鼠脑组织 ChAT 和 AChE 活性的影响

壬基酚和雌二醇对仔鼠海马和垂体组织 ChAT 和 AChE 活性的 P 值均 < 0.05 差异有统计学意义。与非联合作用组比较, 联合作用组 ChAT 活性降低, AChE 活性升高, 提示两者有相加效应。因存在交互效应, 需固定一因素分析另一个因素

的影响。与对照组及单独暴露 NP 50、100 mg/kg 剂量组、单独暴露 E₂ 10、20 μg/kg 剂量组比较, 联合暴露 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 和 NP 100 mg/kg + E₂ 20 μg/kg 剂量组仔鼠海马和垂体组织 ChAT 活性降低, AChE 活性升高 (P < 0.01), 差异有统计学意义, 见表 4。

表 4 仔鼠海马、垂体组织 ChAT 和 AChE 活性 (x̄ ± s)

组别	剂量	仔鼠数	海马组织		垂体	
			ChAT (U/g)	AChE (U/mg)	ChAT (U/g)	AChE (U/mg)
对照组	0	10	259.57 ± 15.83	8.92 ± 0.94	206.85 ± 11.14	21.61 ± 3.15
NP	50	10	267.42 ± 17.48	9.27 ± 1.09	210.42 ± 12.99 ^a	19.31 ± 2.02
	100	10	236.28 ± 13.56 ^{ab}	10.18 ± 1.55	201.85 ± 13.88 ^{ab}	22.32 ± 3.30
E ₂	10	10	238.14 ± 22.28 ^{ab,c}	10.41 ± 1.60 ^a	192.00 ± 13.31 ^{ab,c}	19.64 ± 4.27
	20	10	217.14 ± 24.07 ^{ab,c}	13.37 ± 2.84 ^{ab,cd}	166.57 ± 18.86 ^{ab,cd}	26.91 ± 5.19 ^{ab,cd}
NP + E ₂	50 + 10	10	197.14 ± 7.17 ^{ab,cd,e}	15.61 ± 2.77 ^{ab,cd,e}	143.85 ± 12.78 ^{ab,cd,e}	28.68 ± 3.89 ^{ab,cd}
	100 + 20	10	175.42 ± 12.69 ^{ab,cd,ef}	20.40 ± 2.15 ^{ab,cd,ef}	127.00 ± 11.38 ^{ab,cd,ef}	36.14 ± 6.59 ^{ab,cd,ef}

注: 与对照组比较, a P < 0.05 与 NP 50 mg/kg 组比较, b P < 0.05 与 NP 100 mg/kg 组比较, c P < 0.05 与 E₂ 10 μg/kg 组比较, d P < 0.05 与 E₂ 20 μg/kg 组比较, e P < 0.05 与 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 组比较, f P < 0.05

3 讨论

目前, 母体妊娠期暴露于药物、化学物和环境因素对仔代神经系统发育和功能完整性的影响受到了广泛的重视^[8]。雌激素类化合物在环境中通常以混合物形式存在, 环境浓度通常很低, 单独作用不会产生明显效应, 但共存时呈现浓度相加作用, 总效应不容忽视。目前国内外未见母体 E₂ 和 NP 联合暴露对仔鼠神经系统发育影响的研究, 本研究于神经系统胚胎发育关键期, 即妊娠第 9~15 天灌胃染毒发现: 联合暴露 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 和 NP 100 mg/kg + E₂ 20 μg/kg 剂量组母鼠每窝活胎数减少、死胎数升高, 说明其具有胚胎毒性; 仔鼠出生后神经行为发育指标 (平面翻正、空中翻正、听觉惊愕和视觉定向) 达标时间均延迟, 说明联合暴露对母体的毒性作用直接影响了出生后的仔鼠的发育, 仔鼠脑组织对 E₂ 和 NP 这类脂溶性物质具有高度蓄积性, 因此推测 E₂ 和 NP 可以透过胎盘屏障阻碍神经系统发育, 用 Morris 水迷宫观察学习记忆的结果也进一步印证了该推测。水迷宫结果显示,

第 1~4 日定位航行实验中, 联合暴露 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 和 NP 100 mg/kg + E₂ 20 μg/kg 剂量组仔鼠逃避潜伏期和进入盲端次数增多, 说明子代获取空间信息的学习能力下降; 空间探索实验成绩下降, 说明子代记忆储存及提取再现能力降低。那么, NP 与 E₂ 联合暴露导致子代神经发育延迟, 学习记忆能力下降是否与其影响脑组织中的神经递质和神经营养因子有关, 乙酰胆碱 (ACh) 是脑内重要的神经递质, 其主要功能是维持意识的清醒, 促进学习和记忆的改善, 与学习记忆密切相关, 胆碱酯酶 (AChE) 在神经细胞发育过程中起重要的作用, 在脑发育的关键时期可作为神经营养因子, 起着信息联系与终止细胞复制并促进胆碱能靶部位细胞分化和结构构建的作用^[7]。海马直接参与了学习记忆信息的识别、编码和储存过程, 因此本研究对垂体和海马组织中 ChAT 和 AChE 活性进行了检测。结果显示, 联合暴露 NP 50 mg/kg + E₂ 10 μg/kg 和 NP 100 mg/kg + E₂ 20 μg/kg 剂量组仔鼠海马和垂体组织 ChAT 活性降低, AChE 活性升高 (P < 0.01), NP

透过胎盘进入子代体内并蓄积,致乙酰胆碱水平降低,从而抑制神经肌肉接点处的兴奋传导,影响神经细胞生长、分化和脑的正常功能,最终导致子代神经系统发育延缓,学习记忆水平下降,部分揭示了 NP 的神经毒作用机制。另外,联合染毒高低剂量组血清睾酮降低、雌激素水平升高,孕 9~15 d 正是胎鼠神经系统发育关键期,体内内分泌系统脆弱,在该期暴露 NP 和 E_2 其与下丘脑和垂体前叶的雌激素受体结合,可干扰下丘脑-垂体-性腺轴的调节功能,改变下丘脑 GnRH 和垂体 LH、FSH 的释放,影响外周性腺的功能,改变仔鼠体内的性激素代谢的平衡,使雄激素合成下降、雌激素水平升高,激素水平的改变与学习记忆水平下降之间是否有因果关系有待进一步深入研究。

与以往研究相比,本研究为 NP 与 E_2 联合暴露,时间缩短至胎鼠神经系统器官形成关键期孕 9~15 d 采用一组行为毒理学的测试方法,观察到联合暴露对仔鼠的神经系统毒作用。本研究还发现,除了联合染毒组与对照组及单独染毒组之间的毒作用差异之外,染毒组之间也存在差异,同种物质染毒,高剂量毒性强于低剂量,两种毒物混合染毒的毒性强于一种毒物单独染毒。这说明壬基酚和雌二醇的联合毒性表现为相加作用。本研究结果可为探讨母体 E_2 和 NP 联合暴露对子代神经毒性和孕期干预提供实验依据。

随着工业化的发展,环境雌激素的污染已对人类健康构成较大的威胁,关系着人类的生存繁衍。因此对该类物质可能造成的危害进行全面彻底的研究已成为当务之急。本研究对 NP 和 OP 致小鼠睾丸细胞 DNA 损伤联合作用的评价仅是初

步的,如何全面正确评价烷基酚类其他物质的联合作用,并进一步阐明烷基酚类物质的整体危害效应,是毒理学者下一步应该认真研究的课题。目前,环境雌激素的毒性实验多集中于动物模型,缺乏对人类直接影响的流行病学资料,因此,今后需要进一步进行这方面的深入研究。

参考文献:

- [1] Xu Jie, Yu Jie, Wang Yang, et al. Immune effects of nonylphenol on offspring of rats exposed during pregnancy [J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2010, 16 (2): 444-452
- [2] 卢宁,俞捷,许洁,壬基酚对仔代脑组织 AChE 和 ChAT 活性的影响 [J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34 (9): 1221-1223.
- [3] 许洁,汪洋,张恒,等.壬基酚对仔鼠脑组织脂质过氧化损伤的研究 [J]. 中国工业医学杂志, 2010, 23 (2): 48-50
- [4] Xu Jie, Wang Yang, Yu Jie, et al. Toxic effect of gestational exposure to nonylphenol on F1 male rats [J]. Birth Defects Research (Part B), 2010, 83: 1-11
- [5] 许洁,汪洋,卢林,等.壬基酚对雄性仔代学习记忆和海马超微结构的影响 [J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2010, 19 (1): 18-20
- [6] 许洁,汪洋,俞捷,等.经胎盘暴露壬基酚对仔鼠神经行为发育的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2010, 28 (4): 13-16
- [7] 李勇,张大东.发育毒理学研究方法和实验技术 [M]. 北京:北京医科大学出版社, 2000: 183-194
- [8] Uryu S, Tokuhito S, Murasugi T, et al. A novel compound R5178 specifically inhibits neuronal cell death mediated by beta amyloid induced macrophage activation in vitro [J]. Brain Res, 2002, 946 (2): 298-306

(上接第 258 页)

酶法和苦味酸法测定血清肌酐含量相关性的研究报道很多,相关系数大多在 0.99 以上^[6-8],本文图 3、图 4 显示,在方法的线性范围内,苦味酸法与酶法检测的 1:10 及 1:20 稀释尿液的肌酐值相关系数分别为 0.9955 和 0.9977,与血清肌酐测定研究的结果相近,均成直线相关关系。在实际工作中,检验科医师在用酶法检测出尿液肌酐含量后,可根据相应的回归方程计算成苦味酸法肌酐含量,再按照 WS/T 265—2006 标准报告职业接触汞的生物限值,既可提高工作效率,又能保证报告的可比性和可靠性。

GBZ 289—2007《职业性汞中毒诊断标准》规定用苦味酸法测定尿液肌酐含量,根据本实验室的研究结果,将酶法尿液肌酐值乘以 0.63 (本研究样本量不大,此值仅供参考)即为苦味酸法尿液肌酐值。为了方便临床医师应用酶法测定的尿液肌酐含量的汞报告代替苦味酸法测定的尿液肌酐含量的汞报告,也可以 GBZ 289—2007 为依据,经过换算近似认为酶法尿液肌酐的尿汞正常参考值为 $1.42 \mu\text{mol/mol}$ _{肌酐} 或 $2.5 \mu\text{g/g}$ _{肌酐},当酶法尿液肌酐的尿汞高于其生物接

触限值 $13 \mu\text{mol/mol}$ _{肌酐} 或 $22 \mu\text{g/g}$ _{肌酐},可认为长期从事作业劳动者尿汞增高,尿汞正常者经驱汞试验,用 5% 二巯丙磺钠 5 ml 一次肌内注射,酶法尿液肌酐的尿汞 $> 0.141 \mu\text{mol/d}$ 提示有过量汞吸收存在,对诊断有参考意义。

参考文献:

- [1] 高静,董振南,田亚平,等.酶法与苦味酸法测定血清肌酐水平的转换方法 [J]. 军医进修学院学报, 2005, 12: 342-343.
- [2] 叶应妩. 全国临床检验操作规程 [M]. 南京:东南大学出版社, 1990: 182-190
- [3] 林其燧主译. 临床生物化学方法大全 [M]. 北京:北京大学出版社, 1991: 64-69
- [4] 李影林. 中华医学检验全书 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1996: 701-704
- [5] 朱广忠,杨焕涛.尿肌酐测定中尿液稀释比例对测定结果的影响 [J]. 实用医技杂志, 2008, 10: 4182-4183.
- [6] 陈筱菲,倪甘甜.酶法与碱性苦味酸法测定肌酐清除值的差异情况研究 [J]. 检验医学, 2010, 4: 272-274
- [7] 孙艳虹,高玲,钟方毅,等.三种肌酐测定方法偏倚的比较 [J]. 实用医学杂志, 2004: 324-326
- [8] 马超.血清肌酐肌氨酸氧化酶法与苦味酸动力学法检测结果的比较 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 6: 561.