

叔丁基对苯二酚对急性矽尘接触大鼠肺组织醌氧化还原酶表达的影响

Effect of tert-butyl hydroquinone on expression of quinone oxidoreductase (NQO1) in lung tissue of acute silica dusts exposed rats

杨治峰¹, 胡玉伟^{1,2}, 张海东¹, 王瑞¹, 单永乐¹, 张普¹

(1. 山东省医学科学院/山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 2. 济南大学医学与生命科学学院, 山东 济南 250062)

摘要: 选用雄性 Wistar 大鼠为受试物, 采用非气管暴露法构建急性矽尘接触模型, 染尘后干预组给予质量分数 1% 的叔丁基对苯二酚 (tBHQ) 溶液, 对照组给予 1% 的生理盐水。免疫组化实验发现对照组 NQO1 蛋白有少量表达; 模型组、干预组 NQO1 蛋白表达增加, 干预组 NQO1 蛋白表达比模型组数量多、表达强。提示 tBHQ 对其表达具有一定的提升作用。

关键词: 叔丁基对苯二酚; 矽尘; 醌氧化还原酶

中图分类号: R135.2; R994.1 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2018)05-0377-02

DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2018.05.024

矽肺是由于长期吸入大量游离二氧化硅含量>10%的矽尘引起的以肺组织弥漫性纤维化为主的全身性疾病^[1]。叔丁基对苯二酚 (tBHQ) 是一种人工合成的酚型强抗氧化剂和代谢酶诱导剂, 可干扰多种异源性有毒化合物的体内代谢过程而减轻机体的损伤^[2]。本研究旨在探讨 tBHQ 对急性矽尘接触后大鼠肺组织醌组织氧化还原酶 (NQO1) 表达的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及染毒方法

选择健康 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 96 只, 分为矽肺模型组、tBHQ 干预组、空白对照组, 每组 32 只。用 0.9% NaCl 溶液配制 150 mg/ml 的 SiO₂ 粉尘悬浮液, 采用一次性非气管暴露法建立大鼠急性矽尘暴露模型; 空白对照组用同样方法气管内注入 1ml 灭菌生理盐水。干预组于 24 h 后每天 1 次定时经口灌胃干预剂 1 ml (1% tBHQ 玉米油溶液)。

1.2 标本的采集

模型组、干预组、对照组分别在 3、14、28、60 d 各取 8 只大鼠的肺组织测定 NQO1 蛋白定位与定量表达, 同时测定其上游 mRNA 基因表达。

1.3 统计分析

采用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较和两两比较采用单因素方差分析及 LSD-*t* 方法检验。

以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NQO1 蛋白定位表达变化

镜下 (×400) 显示 NQO1 在肺组织细胞中阳性表达为棕黄色颗粒。对照组 NQO1 蛋白少量阳性表达; 模型组、干预组各时间段 NQO1 阳性表达均增多, 可见数量较多的棕黄色 NQO1 颗粒。干预组 NQO1 蛋白表达比模型组表达数量多, 阳性表达进一步增多。

2.2 肺组织中 NQO1 蛋白和 mRNA 基因表达定量检测结果

与对照组相比, 各个时间点干预组和 28 d 模型组大鼠肺组织 NQO1 蛋白表达均增强 ($P < 0.05$), 14 d、60 d 的干预组和模型组 NQO1 mRNA 基因含量升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 干预组各时间点 NQO1 蛋白和 28 d、60 d mRNA 基因表达均高于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。表 1、2。

表 1 各组大鼠肺组织中 NQO1 蛋白含量变化 ($\bar{x} \pm s, n=8$) ng/ml

组别	动物数	3 d	14 d	28 d	60 d
对照组	32	0.81±0.06	0.85±0.03	0.79±0.05	0.83±0.03
模型组	32	0.64±0.10 ^a	0.69±0.06 ^a	0.98±0.05 ^a	0.89±0.08
干预组	32	1.21±0.05 ^{ab}	1.39±0.04 ^{ab}	1.36±0.04 ^{ab}	1.43±0.06 ^{ab}

注: a, 与对照组比较, $P < 0.05$; b, 与模型组比较, $P < 0.05$

表 2 各组大鼠肺组织中 NQO1 mRNA 含量变化 ($\bar{x} \pm s, n=8$) ng/ml

组别	动物数	3 d	14 d	28 d	60 d
对照组	32	1.10±0.03	0.09±0.01	1.21±0.04	1.13±0.05
模型组	32	1.14±0.05	1.25±0.09 ^a	1.26±0.12	1.76±0.13 ^a
干预组	32	1.16±0.02	1.29±0.10 ^a	1.73±0.12 ^{ab}	1.94±0.04 ^{ab}

注: a, 与对照组比较, $P < 0.05$; b, 与模型组比较, $P < 0.05$

3 讨论

NQO1 在胞浆内属于 II 相抗氧化解毒酶, 催化体内的有毒化合物—醌类还原反应, 进而使醌类及其衍生物降解, 阻止其进一步发生氧化应激反应, 以及减少 ROS 的产生^[3]。

本次实验结果发现模型组和干预组大鼠肺组织 NQO1 蛋白表达均增强。同时, RT-PCR 实验结果也表明干预组 NQO1 在 mRNA 的转录水平高于模型组。表明 tBHQ 干预对 NQO1 的表达起到了一定促进作用。tBHQ 作为经典的 Nrf2/ARE 氧化应急通道的激活剂^[4], 对 NQO1 表达的促进作用可能是通过激活 Nrf2-ARE 信号通路, 提高了上游 NQO1 mRNA 的转录水平, 使得相关抗氧化蛋白表达而起到抗氧化作用。薛丽君

收稿日期: 2018-04-12; 修回日期: 2018-09-12
基金项目: 山东省重点研发计划项目 (2017GSF18143, 2017GSF218042); 山东省医药卫生科技发展计划项目 (2015WS0169); 山东省医学科学院院级科技计划 (2015-07)
作者简介: 杨治峰 (1981—), 女, 助理研究员, 研究方向: 劳动卫生与环境卫生学。
通信作者: 张海东, 副研究员, E-mail: 13589033609@163.com; 王瑞, 研究员, E-mail: 13075308745@163.com。

等^[5]发现橄榄油中的主要成分酪醇可以诱导 NQO1 表达, 抗氧化剂 BHA 和 β -NF 也是 NQO1 活力的诱导剂, 清除活性氧和拮抗过氧化损伤, 在防癌、防冠心病和延缓老化中发挥重要作用, 与我们的研究结果有相似之处。

综上所述, 急性矽尘接触后出现肺组织 NQO1 蛋白的表达升高, 是机体对氧化应激的一种保护作用, 从而减弱炎症和纤维化进程; tBHQ 作为该通道的特异激活剂可增强上游 NQO1 mRNA 的适度表达, 从而为临床治疗和早期预防矽肺发生提供新的研究靶点。

参考文献:

[1] 金泰虞, 孙贵范. 职业卫生与职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出

版社, 2008; 184-185.

[2] Bauer AK, Faiola B, Abernethy DJ, *et al.* Genetic susceptibility to benzene-induced toxicity: role of NADPH: quinine oxidoreductase-1 [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (5): 929-935.

[3] 夏小俊, 金中初. NQO1 酶及其被氧环境诱导表达的研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2002, 33 (3): 225-229.

[4] 王金丽. 抗氧化应激转录因子 Nrf2 在血管钙化发生中的作用及机制研究 [D]. 华中科技大学, 2016.

[5] 薛丽君, 金中初, 夏小俊, 等. 抗氧化剂和低氧诱导醌氧化还原酶 1 基因的表达及其机制 [J]. *毒理学杂志*, 2005, 19 (2): 92-95.

舔服百草枯中毒 1 例救治报道

张鹤^{1,2}, 尚波², 曹殿凤², 高福泉¹

(1. 滨州医学院, 山东 滨州 256603; 2. 淄博市职业病防治院, 山东 淄博 255000)

关键词: 百草枯; 中毒

中图分类号: R595.4 文献标识码: C

文章编号: 1002-221X(2018)05-0378-01

DOI:10.13631/j.cnki.zgggyx.2018.05.025

百草枯是一种快速灭生性除草剂。对人体毒性大, 且无特效解毒药。我院收治 1 例舔服百草枯中毒患者, 经积极救治, 未出现并发症, 痊愈出院。

1 病例资料

患者, 女, 27 岁, 农民, 因与家人怄气, 舔服百草枯少量。因恶心、呕吐 2 h 收入院。查体: T 36.8℃, P 64 次/min, R 13 次/min, BP 115/73 mm Hg, 意识清, 精神可, 双侧瞳孔等大等圆, 直径约 2.5 mm, 对光反射灵敏, 双肺呼吸音清, 未闻及干湿性啰音; 心率 64 次/min, 律齐, 各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音; 腹软, 无压痛、反跳痛, 肝脾肋下未触及; 双下肢无水肿。实验室检查: (1) 入院后 2 h 血液送毒检中心检测, 检出百草枯浓度 2.8 mg/L; (2) 血常规, 白细胞 15.01×10⁹/L、中性粒细胞 91.61%、C 反应蛋白<0.5 mg/L; (3) 尿常规, 蛋白质 (+)、酮体 (+)、白细胞 152 个/ μ L, 红细胞 8.8 个/HP、白细胞 27.4 个/HP; (4) 凝血系列, 纤维蛋白原 1.47 g/L、D-二聚体 0.42 mg/L FEU; (5) 胸部 CT 未见明显异常。患者口服百草枯病史明确, 诊断“急性百草枯中毒”。

入院后收入急诊 ICU 治疗, 行心电监护, 并给予清水洗胃, 甘露醇+活性炭导泻, 右股静脉置管行血液灌流, 血流量 160 ml/min, 每次灌流时间为 2 h, 1 次/d, 共 3 次。糖皮质激素冲击治疗, 甲泼尼龙 500 mg/d 冲击治疗 3 d 后减至 200 mg/d 静脉滴注, 第 4 天改为 80 mg/d 静脉滴注, 第 8 天减至 40 mg/d 静脉滴注; 继续 3 d 后改为口服泼尼松片 40 mg/d, 每 7 天减少 5 mg, 直至 5 mg/d; 磷酰胺 0.5 g/d, 连用 3 d 后改为 0.2 g/d, 直至出院。辅以血必净、依达拉奉、谷胱甘

肽、乌司他丁、维生素 C、康复新液。

住院第 7 天, 复查胸部 CT 较前未见明显变化。出院前, 复查血常规、血生化、尿常规, 未见明显异常, 且患者无特殊不适, 住院 14 天好转出院。出院后 1 个月、3 个月及半年复查, 患者均无不不适, 胸部 CT 未见明显异常, 血尿常规、肝肾功能等指标均在正常范围。1 年后复查血常规、髋关节磁共振及胸部 CT 均未见异常。

2 讨论

百草枯可经皮肤、呼吸道和消化道吸收, 尤其在肺部含量高, 一般大于血液中的十至数十倍, 在体内很少降解, 大多患者病情进展迅速。百草枯能影响心脏、肾、肝脏、骨骼肌、脾和中枢神经系统等脏器, 甚至导致多器官功能障碍综合征 (MODS)^[1]。成人致死量为 20% 水溶液 5~15 ml (20~40 mg/kg)^[2], 在进入体内后, 肺纤维化多在 5~9 d 内发生, 2~3 周达高峰。

百草枯中毒病死率达 90%, 即便患者口服量极小, 或进口未咽下, 仍可以检测到血标本中有高浓度的百草枯。文献报道^[3], 在常规治疗方法上加用激素等免疫抑制剂能将病死率降至 31.3%。除了催吐、洗胃、导泻以减少毒物剂量外, 还应行血液灌流, 2~4 h 内开展者效果较好。血液灌流可以有效地清除血液中的百草枯。服毒量 50~100 ml 者的病死率随灌流次数增加而明显下降, 并联合药物治疗, 尽最大可能改善预后, 降低病死率。本例因口服量较少, 及时送医, 并采取积极综合治疗, 故预后较好。

急性百草枯中毒是一种严重威胁生命健康的较常见的中毒性疾病, 其中毒的机制尚未完全阐明, 临床上治疗效果尚不理想。其治疗关键在于采用综合手段尽快彻底清除毒物, 减少毒物在体内的吸收。潜伏期百草枯中毒在临床救治中有重要意义, 应充分利用该“时间窗”采取积极有效措施, 防止、延迟或减轻肺脏等多个靶器官的损伤, 有效提高百草枯中毒病人的救治成功率。

参考文献:

[1] Song C, Kan B, Guangcai YU, *et al.* Acute paraquat poisoning with sinus bradycardia: A case report [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8 (5): 1459.

[2] 中国医师协会急诊医师分会. 急性百草枯中毒诊治专家共识 [J]. *中国急救医学*, 2013, 33 (6): 484-489.

[3] 郭利涛, 刘昱, 张蕾, 等. 血液灌流救治百草枯中毒方法探讨 [J]. *重庆医学*, 2013, 42 (5): 552-553.