

四硼酸钠对氟致肾损伤的拮抗作用及机理*

同济医科大学 劳动卫生教研室 李健学 陈荣安 章孟本
环境医学研究所 吴惠霞

内容提要 本文研究了四硼酸钠对氟化钠所致实验动物肾脏和离体肾细胞损伤的拮抗作用,并探讨了其机理。亚急性和慢性氟暴露家兔尿中 γ -GT活性增加,肾组织 AKP、SDH和 AcP 活性减低,小管细胞内多种细胞器出现损伤。大鼠离体肾细胞的蛋白质、RNA 和 DNA合成代谢不同程度地受到含氟培养液的影响。四硼酸钠对氟的上述不良效应应具有较全面的拮抗作用。其机理可能是:①硼与氟在体内形成氟硼酸根,改变了氟在体内的存在形式,并促使氟随尿排出;②硼降低了细胞膜对氟离子的通透性,使细胞内的氟含量减少。

关键词 四硼酸钠 氟化钠 硼的拮抗作用

氟病在发病机理、防治措施等方面尚有许多亟待解决的问题。本文拟在以前的硼抗氟性骨损伤研究的基础上^[1],进一步探讨氟化钠对肾的损伤以及四硼酸钠的拮抗效应和机理,为防治氟病提供进一步的理论和实验依据。

材料和方法

一、整体动物实验

将家兔随机分为氟组、氟+硼组、对照组,进行亚急性和慢性实验(表1)。留尿测定 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)活性;并对肾组织作碱性磷酸酶(AKP)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、酸性磷酸酶(AcP)等肾细胞不同微结构标志酶的组织化学观察;最后对肾组织作光镜和透射电镜观察。

表1 整体动物实验分组和处理

组别	动物数(只) ♂ ♀	体重 (kg)	氟化钠经口 (mg/kg·d)	四硼酸钠经口 (mg/kg·d)	实验期 (月)
亚急性					
氟	5 0	2.5	80	0	1
氟+硼	5 0	2.5	80	120	1
对照	5 0	2.5	0	0	1
慢性					
氟	5 5	1.5~2.0	20	0	4~6
氟+硼	5 5	1.5~2.0	20	30	4~6
对照	5 5	1.5~2.0	0	0	4~6

二、离体细胞实验

无菌分离成年雄性 Wistar 大鼠肾细胞,置37℃分别培养1和3小时(表2)。

表2 离体细胞培养分组和处理

受试物种类	对照组	氟组			硼组			氟+硼组		
		高	中	低	高	中	低	高	中	低
氟化钠终浓度(mM)	0	6.0	3.0	1.5	0	0	0	6.0	3.0	1.5
四硼酸钠终浓度(mM)	0	0	0	0	2.2	1.1	0.6	2.2	1.1	0.6

测定肾细胞内³H-亮氨酸(³H-Leu)、³H-尿嘧啶核苷(³H-UR)、³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)参入量。

三、其他测定指标

包括实验动物尿中氟硼酸根(BF₄⁻)含量、肾氟(F⁻)含量、离体肾细胞和培养液中氟(F⁻)含量、人尿中BF₄⁻含量等。人尿标本取自某铝厂不摄硼的氟作业工人(16名)和摄四硼酸钠200mg的氟作业工人(15名)。

结 果

1. 尿酶和肾酶测定 氟组动物尿中 γ -GT排出量明显增加;肾组织AKP、SDH、AcP活性明显降低。氟+硼组的改变则较轻。

2. 肾脏病理检查 光镜下可见亚急性实验氟组动物肾小管除了广泛的细胞水肿、空泡变外,部分还出现坏死性改变;氟+硼组未见坏死现象。慢性实验氟组动物肾小管以可逆性病变为主,坏死现象不太明显,晚期可见肾间质

* 国家自然科学基金资助项目

增生; 氟+硼组的病变范围和受损程度均明显小于氟组。电镜下可见慢性实验氟组动物肾近曲小管细胞线粒体明显肿胀变性、微绒毛脱落、基底反褶消失、滑面内质网扩张、粗面内质网脱粒、核蛋白体解聚, 部分细胞器崩解液化, 自噬性溶酶体增多, 出现混合性囊泡, 个别细胞核出现“核边集”等早期坏死征象; 而氟+硼组仅见轻度线粒体肿胀或溶酶体增多。

3. 3种 ^3H 标记物参入量 第1、3小时末, 3种浓度氟组肾细胞的 ^3H -Leu参入量均明显增加, 最高达对照组的二十多倍; 另两组未见明显改变。第1小时末低浓度氟组细胞 ^3H -UR参入量明显增加, 高浓度氟组细胞该参入量则明显减少; 第3小时末中、高浓度氟组和硼组、高浓度氟+硼组细胞 ^3H -UR参入量明显减少, 余者未见明显改变。第3小时末高浓度氟组细胞 ^3H -TdR参入量明显减少, 余者未见明显改变。

4. 尿氟硼酸根 氟+硼组动物尿中 BF_4^- 日排出量明显高于氟组和对照组; 摄硼的氟作业工人尿中 BF_4^- 日排出量亦明显高于不摄硼的氟作业工人。

5. 肾氟 肾 F^- 含量以氟组动物为高, 对照组最低, 氟+硼组居中。

6. 培养液和肾细胞内氟 第1、3小时末氟组和氟+硼组培养液中 F^- 含量未见明显改变。氟组肾细胞内 F^- 含量明显高于氟+硼组。如果将两组相同的正常肾细胞先给氟培养两小时, 换去含氟培养液后, 在其中一组加入硼, 另一组不加硼, 继续培养1小时, 则可见第3小时末这两组细胞培养液以及细胞内 F^- 含量基本相同。

讨 论

肾脏是氟的重要非骨相靶器官, 也是氟的主要排泄器官, 减轻氟性肾损伤有利于维持机体的耐氟力^[2]。本研究选用肾小管细胞微绒毛、线粒体、溶酶体的标志酶为指标, 观察氟对肾脏的损伤作用, 结果与Singh^[3]的报道相似, 即氟可改变这些酶的活性, 而使其相应功能受

损。Lavrushenko等^[4]发现氟中毒大鼠肝组织超微结构变化的主要部位是线粒体和内质网。本研究观察到线粒体肿胀变性和内质网扩张是氟性肾小管超微结构损伤的早期表现, 为光镜所见细胞浊肿和空泡变的基础。大量自噬性溶酶体形成表明细胞器受损严重, 是细胞崩解液化的先兆。本研究发现硼对上述氟性肾功能和结构损伤均有较明显的拮抗作用。

Holland^[5]观察了氟对小鼠成纤维细胞合成代谢的影响, 发现低于1.3mM的氟化钠在一定条件下可增加 ^{14}C -亮氨酸参入量, 认为可能与鸟氨酸脱羧酶被激活有关。结合本研究观察到的氟增加尿 γ -GT排出量的结果, 推测 ^3H -亮氨酸参入量增加的原因, 还可能是氟激活了肾细胞膜内 γ -GT, 加强了其转运氨基酸的功能。Holland^[6]还比较了氟对小鼠成纤维细胞和游离核内 ^3H -胸腺嘧啶核苷参入量的影响, 推测氟化钠对细胞DNA合成代谢的影响可能是通过对蛋白质合成代谢的影响间接作用。本研究亦观察到氟对离体肾细胞 ^3H -亮氨酸参入量的影响明显早于和重于对 ^3H -尿嘧啶核苷和 ^3H -胸腺嘧啶核苷参入量的影响, 提示蛋白质代谢可能是氟性细胞毒作用的主要靶点。本研究发现硼对氟性肾细胞的某些毒作用具有拮抗效应, 尤其在蛋白质合成代谢方面表现较为明显。

硼抗氟性肾损伤的重要途径可能是硼降低了机体肾氟含量和离体肾细胞内氟含量。本研究结果表明, 硼与氟在体内可形成氟硼络合物, 增加氟经尿的排泄, 减少体内氟蓄积; 这也改变了氟在体内的存在形式, 使化学性质活泼的 F^- 变成相对稳定的 BF_4^- , 减轻氟对靶组织的损伤^[7]。硼降低离体细胞内氟含量的机理可能有3个: (1) 硼与氟在培养液中形成氟硼络合物; (2) 硼与氟在细胞内形成氟硼络合物; (3) 硼降低了细胞膜对 F^- 的通透性。本实验发现培养液中的氟含量在培养前后并无改变, 表明硼与氟未在培养液中形成氟硼络合物, 因而排除了第一种可能性。对先给氟后给硼与先给氟不给硼两组细胞的培养液和细胞内

(下转24页)

重者加大维生素K₁用量,采用静脉滴注。一般病例,经用药后第2日出血明显减轻,多数患者1~3天即可止血。但有1例患者,每日需用维生素K₁90mg以上才能控制出血,用药6天才止血,最大量用至110mg/d,未见不良反应。死亡的2例,1例系外院误诊,实属惨痛教训;另1例也因就诊太晚,死于多脏器出血及肠扭转。该患者系两种疾病并存或因敌鼠钠中毒后肠扭转,根据现有资料尚难定论。但凡是中毒症状重者均有明显腹胀、腹痛,肠鸣音亢进,甚至可闻气过水声,全腹压痛及反跳痛,X线腹部透视提示肠腔胀气。据此推理,敌鼠钠中毒后肠管出血、功能紊乱、蠕动增强,可能是肠扭转的诱因。

总之,本起敌鼠钠盐浸拌大米集体中毒给我们深

刻地教训:①凡是既往身体健康,突然发生不明原因多处出血,尤其是牙龈、皮肤和尿血并存时应疑有敌鼠钠中毒之可能,若化验血小板正常,毛细血管脆性试验阴性,凝血时间及凝血酶原时间延长,则属高度疑诊对象,对于一时难以追索中毒史者,一方面可用维生素K₁试验治疗,另一方面应进行毒物鉴定。②在同一食堂进餐而有多人短期内出现类似出血表现者,更应高度疑诊本病。③凡是确诊或高度疑诊敌鼠钠中毒患者,都应及早足量使用特效拮抗剂维生素K₁,止血后巩固治疗5~7天,再观察10~15天而无再出血者,方可视为临床治愈。④有关部门应加强灭鼠剂的管理,同时大力宣传食品卫生法,避免类似中毒事件发生。

依地酸钠溶液治疗24例角膜铁锈症

上海第三钢铁厂卫生处眼科 宋友琪

随着工业生产的发展,工业性眼外伤日益增多,其中角膜铁锈症(指角膜异物剔除后在角膜上仍有铁锈残留者)十分常见。此症如不及时治疗,可影响视力,甚至造成严重的并发症。我科于1985年以来因一次剔除未尽的24例角膜铁锈症采用2%的Na₂EDTA溶液治疗,其中男性20例,女性4例。21~35岁共17例,36~50岁7例。铁锈斑直径以0.5~1mm为最多,且多呈点状、弧形、圆环形。铁锈侵入角膜的深浅程度不一,眼刺激症状也轻重不等。

治疗方法:以我厂药房配制的2% Na₂EDTA溶液,每2小时滴眼一次,每次1~2滴,同时滴用抗生素眼药水,以防继发感染,还辅以维生素C及维生素B₂口服。结果在治疗5天内角膜刺激症状消退,铁锈

斑吸收消失,角膜伤面修复者21例,治疗5~9天痊愈者2例。用药后超过9天仍遗留铁锈斑,需要再次剔除者1例。

病例介绍:徐某,女性,34岁,车工。因右眼铁屑溅入而来门诊。剔除后次日复诊,发现右眼3点瞳孔区有点状铁锈残留,直径约0.5mm,锈环达实质浅层,视力右眼0.2,左眼1.2。经2%Na₂EDTA溶液滴眼,3天后门诊复查:眼部刺激症状明显减轻,炎症轻微,铁锈呈点状隐约可见,荧光素染色(-),右眼视力0.6。第5天症状体征消退,右眼视力恢复到0.9。

我们的经验说明用药物滴眼,代替再次手术剔除,效果良好,是值得推广的。

(上接14页)

氟测定表明,硼与氟亦未在细胞内形成氟硼络合物。我们推测硼似乎主要是通过降低细胞膜对F⁻的通透性来减少培养细胞内的氟含量,提示硼不仅可以作用于氟,减轻其对机体的损伤,而且还可能直接作用于组织细胞,增加机体的耐氟力。

参考文献

1. 陈荣安,等. 硼对氟化钠拮抗作用的实验研究(二). 工业卫生与职业病杂志1984;10:270.
2. 李健学. 氟的肾毒作用. 地方病译丛1986;(3):6.
3. Singh M. Biochemical and cytochemical alterations in liver and kidney following

experimental fluorosis. Fluoride 1984;17:81.

4. Lavrushenko LF, et al. Morphofunctional characterization of certain ultrastructures of rat liver hepatocytes under the prolonged influence of sodium fluoride. Fluoride 1982; 15:162.
5. Holland RI. Fluoride inhibition of protein and DNA synthesis in cells in vitro. Acta Pharmacol et Toxicol 1979; 45:96.
6. Holland RI. Fluoride inhibition of DNA synthesis in isolated nuclei from cultured cells. Acta Pharmacol et Toxicol 1979; 45:302.
7. 李健学. 氟拮抗剂的研究进展. 国外医学卫生学分册, 1986;(6):335.

Determination of T-cell Subsets in the Patients with Anthracosilicosis

Shen Linxun, et al,

Using the monoclonal antibodies (OKT System), we have studied T-cell subsets in 212 definite and probable patients with anthracosilicosis, at the same time, acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) activity and the serum levels of IgG, IgA and IgM have been determined. Multiple stepwise regression has been applied to analyse the relationships among the different immunologic indexes. The results revealed that, in the patients, the percentages of OKT-3 positive, OKT-4 positive T lymphocytes, ANAE positive lymphocytes and OKT4⁺/OKT8⁺ ratio significantly decreased, the serum levels of IgG, IgA increased significantly and were negatively correlated with the percentages of OKT-3 positive, OKT-4 positive T lymphocytes.

In view of these results, it was considered that the percentage of OKT-3 positive T lymphocytes in peripheral blood of the patients with anthracosilicosis decreased chiefly because of the reduction of OKT-4 T lymphocytes, the reduction of OKT-4 T lymphocytes belonged mainly to the decrease of suppressor-inducer OKT-4 positive T lymphocytes. As the result, the serum levels of IgG, IgA in the patients were elevated and the patients became susceptible to tuberculosis and other complications. These results suggest that the

determination of T-cell subsets could be used as one of the indexes to assay the immunologic status in the patients with anthracosilicosis.

key words, anthracosilicosis T-cell subsets monoclonal antibody

Protection and its Mechanism of Sodium Tetraborate on the Kidneys and Cultured Renal Cells from Fluoride Damage

Li Jianxue, et al,

The paper first reported the protection and its mechanism of sodium tetraborate on the kidneys and the cultured renal cells from sodium fluoride damage. Under subacute and chronic fluoride exposures, the rabbits urinary r-GT excretion increased, renal AKP, SDH, and AcP activities decreased, various organelles of renal tubular cells were damaged. The anabolisms of protein, RNA and DNA in the cultured rat renal cells were also affected by fluoride. Boron could eliminate or reduce all above adverse effects of fluoride. The possible protection mechanism of boron was that boron could integrate itself with fluorine to form BF_4^- , and that probably boron reduced the permeability of the cellular membrane for fluorine.

Key words, sodium tetraborate sodium fluoride fluoride damage on kidney boron protection protection mechanism