

人红细胞对溴甲烷代谢的实验研究*

深圳市沙头角卫生防疫站 (518081) 张亚飞

同济医科大学职业医学研究所 (430030) 徐代根 陈萍 贺涵贞

提 要 研究了人红细胞对溴甲烷的代谢发现,约92%的人红细胞对溴甲烷具有酶促代谢作用,比国外报道的60%要高,并且 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 均能抑制该酶促代谢作用,有明显的剂量-反应关系。未发现三种离子抑制作用之间的差别。可用此方法对职业性接触一卤代甲烷的人群进行筛选,以保护工人健康。对暴露 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 的职业人群可通过检测谷胱甘肽 S-甲基转移酶Rho(GSH-S-TrRho)来反映机体接触水平及其对机体的损伤程度。

关键词 溴甲烷 谷胱甘肽 S-甲基转移酶 抑制作用

溴甲烷是一种熏蒸剂,常用于粮仓、森林的防虫、杀虫以及进出口商品集装箱的消毒等。接触溴甲烷者主要为溴甲烷生产工人、溴甲烷使用者以及进入用溴甲烷熏蒸过区域的人。溴甲烷具有明显的神经毒作用,在人体轻微中毒时,即使缺乏主观感觉症状,也可以发现脑电图(EEG)的异常改变^[1];溴甲烷还可能具有致癌性,其致癌机理到目前为止还不太清楚,可能与DNA加成物的形成有关^[2]。同谷胱甘肽结合生成S-甲基谷胱甘肽是一卤代甲烷代谢的重要途径。溴甲烷的直接烷化作用属解毒过程,因而研究使溴甲烷产生酶促代谢作用的谷胱甘肽S-甲基转移酶(GSH-S-Tr)Rho对筛选职业性接触一卤代甲烷作业人员有重要意义。因此,本实验研究了中国人红细胞对溴甲烷的酶促代谢作用,以便了解GSH-S-Tr酶Rho在人群中的分布。同时还研究金属离子 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 是否抑制人红细胞对溴甲烷的酶促代谢作用。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂和仪器

武汉市中心血站提供的20~35岁健康男性献血者新鲜血液。

溴甲烷由浙江省临海市化工厂提供,纯度99.9%;还原型谷胱甘肽(GSH)为上海酵母厂生产;气相色谱仪,103型,上海分析仪器厂生产。

1.2 实验方法

1.2.1 溴甲烷的气相色谱法测定

色谱柱用聚乙二醇 6000:6201=5:100 填充,使用 FID 检测器,氮气作为载气。优化后的测试条件为:柱压 0.9kg/cm²;气化室温度90°C;柱温90°C;检测器120°C;氮气40ml/min;氢气70ml/min;空气30ml/min。在该测试条件下,溴甲烷的保留时间为19秒。

1.2.2 人红细胞对溴甲烷的代谢

用肝素抗凝,收集20名男性健康献血人员血样,每份10ml。200rpm 离心提取红细胞,保留血浆。用 0.9%NaCl 溶液洗涤红细胞两次,加等体积的双蒸水溶解红细胞^[3],制备红细胞胞浆。以相应的血浆和灭活酶活性的红细胞胞浆^[4]作为对照,分别吸取红细胞胞浆、血浆、灭活酶活性的红细胞胞浆4ml置入28ml的顶空管中,加1ml GSH和磷酸盐缓冲液(pH 7.4),密封,37°C水浴。在一小时期间每隔15min 取样测量各管溴甲烷浓度的变化。

1.2.3 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 对红细胞代谢作用的抑制

采集血样10份,每份10ml,用肝素抗凝,制备红细胞胞浆,再将胞浆混合、混匀,分别取4ml 转移至10支顶空管中,第一管为空白对照,其余各管分别加0.1mol/L硝酸铅溶液50 μ l,200 μ l,500 μ l;0.1mol/L 硝酸镉溶液50 μ l,

* 本研究承国家自然科学基金青年基金资助

200μl, 500μl, 0.1mol/L 氯化汞溶液 50μl, 200μl, 500μl密封。以后操作同前。在一小时期间每隔15min 取样测量各管溴甲烷浓度变化。

2 结果

2.1 人红细胞对溴甲烷的代谢

对人红细胞胞浆以及相应的血浆和灭活酶活性的红细胞胞浆的顶空管中溴甲烷的浓度进行测量, 结果发现, 在1小时内有18份血样红细胞胞浆中溴甲烷的浓度下降显著, 另外两份血样红细胞胞浆中溴甲烷的浓度下降不明显, 其相应的血浆和灭活了酶活性的红细胞胞浆中溴甲烷的浓度下降也不明显。20份血样中, 溴甲烷浓度变化显著的18份红细胞胞浆溴甲烷浓

度的平均值、溴甲烷浓度变化不明显的2份红细胞胞浆溴甲烷浓度的平均值以及相应的20份血浆和灭活了酶活性的红细胞胞浆溴甲烷浓度的平均值随时间的变化如下图所示。说明在这20份血样中, 有18份血样的红细胞存在对溴甲烷的酶促代谢作用, 约占人群的92%, 而另外两份血样的红细胞则不存在对溴甲烷的酶促代谢作用。作为对照的相应的血浆、灭活了酶活性的红细胞胞浆的结果排除了其中存在的酶促代谢作用的可能性。

2.2 不同金属离子对红细胞酶促代谢作用的抑制

对人红细胞胞浆予以不同的金属离子、不同的剂量处理, 测得的溴甲烷浓度结果显示,

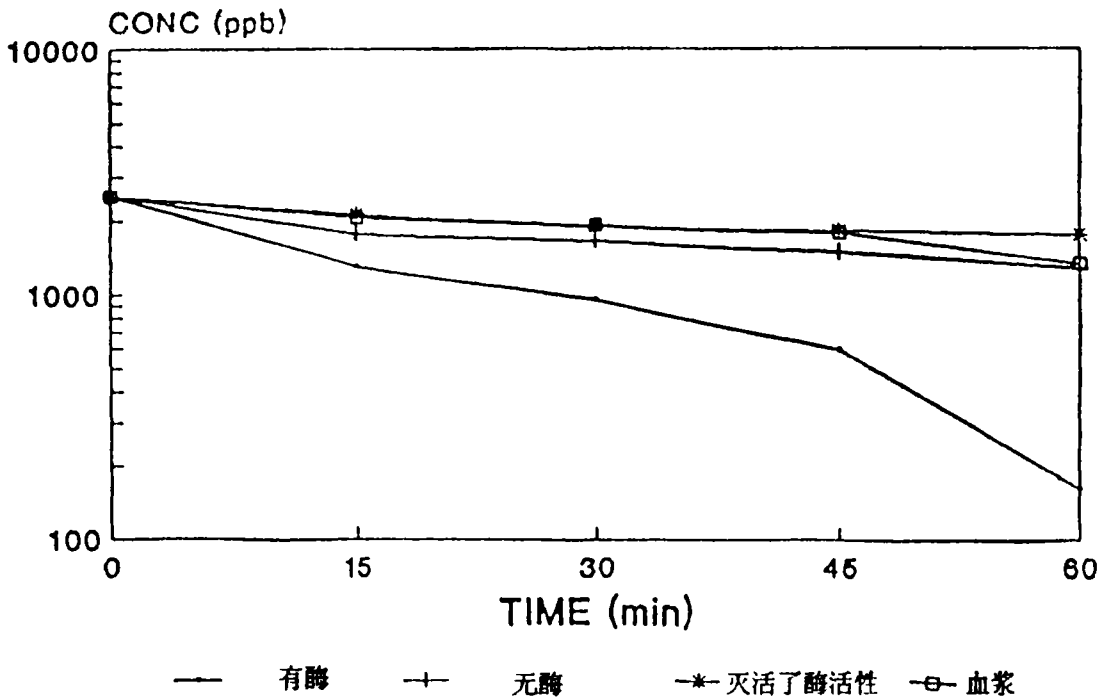


图 溴甲烷在人红细胞胞浆、血浆、灭活了酶活性的红细胞胞浆中浓度的变化

同对照管相比, 三种金属离子对红细胞的酶促代谢作用均有抑制。1.25μmol/ml浓度的Pb²⁺、Cd²⁺和Hg²⁺就开始出现抑制作用, 浓度增高, 抑制作用加强, 没有发现三种离子抑制作用之间的差异。

3 讨论

在人红细胞中, 一氯甲烷、溴甲烷和一碘

甲烷都能同谷胱甘肽结合生成S-甲基谷胱甘肽。这首先是用一氯甲烷进行研究时发现的⁽⁴⁾。本文研究结果也证实了人红细胞对溴甲烷具有这种方式的代谢作用。Peter和Hallier等⁽⁵⁾认为代谢溴甲烷的酶催化结合反应与红细胞中存在的GSH-S-Tr酶Rho有关, 用该酶抑制剂溴磺酞能消除该酶的催化结合反应。人红细胞对溴甲烷的代谢, 在酶催化结合反应的

同时还存在非酶催化结合反应,但酶催化结合反应在溴甲烷的代谢中占主导地位。

机体对外来化合物的代谢有增毒和减毒作用。谷胱甘肽依赖途径在一卤代甲烷的代谢中起重要作用⁷⁾。Chellman等¹⁰⁾用大鼠研究时发现,耗尽谷胱甘肽能抑制一氯甲烷的急性毒作用,它提示S-甲基谷胱甘肽或其中的代谢产物与一卤代甲烷的毒作用有关。但在另一方面,人红细胞对一氯甲烷的代谢产物S-甲基谷胱甘肽未从红细胞中释放出来⁴⁾,它又提示人红细胞的这种代谢作用能降低一卤代甲烷的急性和慢性毒作用,包括其致癌作用。并且,一卤代甲烷通过呼吸系统由肺泡进入血液系统,在血液中首先对其进行清除,防止毒物经过血液循环而作用于其他的靶器官如肾脏、脑组织等,因而人红细胞的这种代谢性保护作用就显得更加重要。况且,在大鼠的红细胞中不存在对一卤代甲烷的这种酶促代谢作用,因而Chellman等人的发现也不一定完全适合于人。

人类酶存在的多态性是很常见的。Peter和Hallier等人报道了红细胞对一氯甲烷、溴甲烷和一碘甲烷的酶促代谢作用只在大约60%的人群中发现,其余的40%则没有这种代谢作用。也就是说,只有大约60%的人红细胞中含有代谢一卤代甲烷的谷胱甘肽S-甲基转移酶Rho,而40%的人则不含有。本文的研究发现,红细胞能对溴甲烷产生酶促代谢作用的人占92%,比Hallier等人报道的60%要高,这可能是因为种族的差异导致的。

Pb²⁺、Cd²⁺和Hg²⁺是重要的环境毒物,进入机体可引起广泛的毒作用。本文研究发现这三种金属离子均能抑制人红细胞中GSH-S-Tr酶Rho,并有明显的剂量-反应关系。可能是因为Pb²⁺、Cd²⁺和Hg²⁺同该酶的巯基直接结合,使其结构发生改变,导致其功能丧失而表现出这三种离子的抑制作用。同时,可能因为三种离子均为二价阳离子,同酶的结合部位相同,

结合能力相近,使酶的结构改变相似,因而三种离子之间的抑制作用差异不明显。

人群中的红细胞对溴甲烷的酶促代谢作用存在个体差异。鉴于该代谢作用的保护性意义,在尽可能降低环境一卤代甲烷浓度的前提下,可用此方法对职业性接触一卤代甲烷的人群进行筛选,以保护工人的身体健康。同时对暴露Pb²⁺、Cd²⁺和Hg²⁺的职业人群可通过检测GSH-S-Tr酶Rho的改变来反映机体的接触水平及其对机体的损伤程度。

4 参考文献

- 1 Verberk MM, et al. Bromine in blood, EEG and transaminases in methyl bromide workers. *Br J Ind Med* 1979; 36, 59
- 2 Xu Daigen. Untersuchungen zur Bindung von Monohalogenierten Methanen [on DNA [and] Hamoglobin von F344-Ratten. Dissertation der Tongji Medizinischen Universität, 1990.
- 3 Strange RC, et al. Studies on the variability of glutathione S-transferase from human erythrocytes. *Clin Chim Acta* 1982; 120:251
- 4 Redford-Ellis M, et al. Studies on the reaction of chloromethane With human blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 1971a; 30, 36
- 5 Hallier E, et al. A comparative investigation of the metabolism of methyl bromide and methyl iodide in human erythrocytes. *Int Arch Occup Environ Health* 1990; 62, 221
- 6 Peter H, et al. Metabolism of methyl chloride by human erythrocytes. *Arch Toxicol* 1989; 63, 351
- 7 Kornbrust DJ, et al. The role of glutathione and cytochrome P-450 in the metabolism of methyl chloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983; 67, 246
- 8 Chellman GJ, et al. Inhibition of the acute toxicity of methyl chloride in male B6C3F1 mice by glutathione depletion. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 85, 93

0.001). Agreement rate of HBDT was 77.78% with non-specific bronchial-provocation test. The diagnosis index of HBDT was 172.14%. The results showed that the basophil releasability is dependent on IgG levels and plays an important role in the mechanism of asthma due to MDI. Clinical data should be considered when HBDT is used in diagnosis of MDI-asthma.

Key words: diphenylmethane diisocyanate (MDI), occupational asthma, allergy and immunology, human basophil degranulation test (HBDT)

An Experimental Study on the Metabolism of Methyl Bromide by Human Erythrocyte

Zhang Yafei, et al

Metabolism of methyl bromide by human erythrocytes plasma was studied and the decline in concentration of methyl bromide

was monitored by gas chromatography—every 15 minutes. About 92% of the subjects showed metabolism of methyl bromide in their erythrocytes, suggesting that the majority of the Chinese population have glutathione S-transferase Rho, the rate is much higher than that in European population as reported by some authors. Pb²⁺, Cd²⁺ and Hg²⁺ could inhibit the enzymatic metabolism and the inhibition was dose dependent, although no significant difference in their inhibitive effect was found. The measurement of glutathione S-transferase Rho activity can be applied to biomonitor the workers occupationally exposed to monohalogenated methanes. The inhibition of the enzyme by Pb²⁺, Cd²⁺ and Hg²⁺ may represent the level of exposure to these ions and the damage to the body.

Key words: methyl bromide, glutathione, S-transferase, inhibition,

一起汽车车库内一氧化碳、碳氢化合物急性中毒事故的调查

沈阳市劳动卫生监督监测所 (110024) 徐志洪 董春风 刘虹

沈阳市于洪区卫生防疫站检验科 张沈燕

谢某,男,30岁,汽车司机;李某,女,30岁,打字员。于1994年6月17日12时左右在该厂小车库内休息,当时室外温度较高,故打开汽车内的空调器,约10多分钟后关闭发动机和空调器。17时20分被人发现,昏倒在车库内。20分钟后送到职业病院进行抢救。当时,二患神志不清,口吐白沫,大小便未失禁,结膜充血,巩膜无黄染,瞳孔等大等圆,口唇无发绀;一人双肺布满湿性罗音,心率100次/分,生理反射存在。入院3小时后,出现脑水肿症状,双上肢痉挛,曾呕吐约50克胃内容物。经脱水、防治感染及对症治疗,5小时后,二人皆恢复神志,问之能答,脱离危险期,17天后治愈出院。

事故发生第二天对现场进行了劳动卫生学调查和模拟试验,仍用二患中毒时使用的面包车。关闭车门,启动汽车发动机和空调器,20分钟后停发动机和空

调器。测得车库内空气中一氧化碳浓度为800~900 mg/m³,碳氢化合物8000~10000mg/m³,车内一氧化碳浓度为1800~2000mg/m³,碳氢化合物10000~10400mg/m³。把车库门完全打开半小时后,库内室中央的一氧化碳和碳氢化合物均未检出。

测定证明,中毒为发动机内汽油没有充分燃烧,排出的尾气中含有大量一氧化碳和碳氢化合物所致。

我们测得库内一氧化碳和碳氢化合物分别超过国家标准66.7倍和34.7倍。由于我们所测空气中有害气体浓度是根据中毒者的口诉模拟试验的结果,中毒的实际浓度可能比我们所测的要低。而碳氢化合物具有麻醉作用,可使中毒者呼吸量降低,造成进入人体的毒物减少。

此事应当引起高度重视,以避免此类事件再次发生。