

煤工尘肺患者血中一氧化氮自由基含量的改变

王明臣¹, 王培昌², 李玉山³, 王俊萍¹, 李江滨¹, 陈勤⁴

(1. 河南医科大学生化教研室, 河南 郑州 450052; 2. 河南医科大学一附院, 河南 郑州 450052; 3. 河南医科大学三附院, 河南 郑州 450052; 4. 平顶山煤业集团职防院, 河南 平顶山 467001)

摘要: 目的 探讨一氧化氮等自由基与煤工尘肺发生发展的关系。方法 系统测定 163 例不同期别煤工尘肺患者 ($O^+ \rightarrow I \rightarrow II \rightarrow III$) 及 40 例健康对照者血清一氧化氮 (NO)、过氧化脂质 (LPO)、总巯基 (T-SH) 含量及超氧化物歧化酶同功酶 (SODs) 活性。结果 与对照组相比, 各期别煤工尘肺机体血清 NO 含量、LPO 水平均显著升高, 而总巯基含量则显著下降, 血清总 SOD 活性亦呈代偿性增加, 且表现为 MnSOD 活性的显著增加。结论 煤工尘肺发生过程中体内一氧化氮及氧自由基反应呈病理性加剧, 氧化/抗氧化状态严重失衡。

关键词: 煤工尘肺; 一氧化氮; 自由基; 脂质过氧化

中图分类号: R135. 2; R446. 112 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2000)05-0270-03

Changes in blood level of nitric oxide free radicals in patients with coal worker's pneumoconiosis

WANG Ming-chen¹, WANG Pei-chang², LI Yu-shan³, WANG Jun-ping¹, LI Jiang-bin¹, CHEN Qin⁴

(1. Department of Biochemistry, Henan Medical University, Zhengzhou 450052, China; 2. The First Affiliated Hospital, Henan Medical University, Zhengzhou 450052, China; 3. The Third Affiliated Hospital, Henan Medical University, Zhengzhou 450052, China; 4. Institute of Occupational Disease, Pingdingshan Coal Co. Pingdingshan 467001, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between free radicals, such as nitric oxide, and pathogenesis and development of coal workers' pneumoconiosis (CWP). **Methods** Serum levels of nitric oxide (NO), lipid peroxide (LPO) and total mercapto-group (T-SH), as well as activity of isoenzymes of superoxide dismutase (SODs), were determined for 163 cases of CWP at varied stages (from O^+ to III) and 40 healthy controls. **Results** As compared with those in healthy controls, serum levels of NO and LPO increased significantly, serum T-SH decreased significantly and serum activity of total SODs increased compensatorily with significant increase in manganese-containing SOD in patients with CWP. **Conclusion** In the pathogenesis of CWP, reaction of nitric oxide with other oxygen free radicals exacerbated pathologically, causing serious imbalance in oxidation and anti-oxidation in the body.

Key words: Coal worker's pneumoconiosis (CWP); Nitric oxide; Free radical; Lipid peroxide

本研究旨在探讨煤工尘肺 (Coal worker's pneumoconiosis, CWP) 发生发展过程中机体一氧化氮自由基含量的变化及抗氧化酶 SOD 同功酶的活性状态, 以期阐明煤工尘肺发生发展的生化及分子机制及寻求有效的干预措施提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

按现行的煤工尘肺 X 线诊断标准随机选取经集体确诊的 O^+ 期煤工尘肺 59 例, I 期煤工尘肺患者 54 例, II 期煤工尘肺患者 47 例, III 期煤工尘肺患者 3 例作为研究对象, 另选 40 名无粉尘接触史的健康人群作为对照。受试者均系男性, 且各组平均年龄接近, 并经统计学处理差异无显著意义。各组受试人群均经体检排除有明显的心、肝、肾等主要脏器疾病,

亦均排除肿瘤、糖尿病、冠心病等可能具有氧化性损伤的疾病。接尘工种均系掘进工和采煤工 (表 1); 粉尘类型为混合型; 平均粉尘浓度: 采面为 $9.3 \sim 181.6 \text{ mg/m}^3$, 掘进在 $5.8 \sim 41.1 \text{ mg/m}^3$, 平均超标率为 62.7%; 游离 SiO_2 含量: 采面为 3.8%, 掘进为 4.5%; 分散度小于 $5 \mu\text{m}$ 尘粒在 90% 以上。

1.2 标本采集与处理

全部受试对象在早晨空腹时采取静脉血 5ml, 3 000 r/min 离心 10 分钟分离血清, 溶血标本弃去。

1.3 测定指标及方法

血清 NO 含量测定采用 Griess 方法, NO 试剂盒购自北京军事医学科学院; 血清过氧化脂质 (LPO) 测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 显色法^[1], 以 1, 1, 3, 3-四乙氧基丙烷 (TEP) 作为标准品; 血清总巯基 (T-SH) 含量测定采用 DTNB 法^[2]; 血清超氧化物歧化酶同功酶 (SODs) 活力采用亚硝酸盐法测定^[3]。籍黄嘌呤氧化酶系统产生的 O_2^- 可与羟胺反应生成亚硝

收稿日期: 2000-01-26; 修回日期: 2000-05-29

作者简介: 王明臣, 男, 医学硕士, 副教授, 主要从事自由基生物学及自由基医学研究。

酸盐，经显色成玫瑰红偶氮化合物，在 550nm 处有最大吸收，故可比色测定。因 SOD 可专一歧化 O_2^- ，故可抑制亚硝酸盐形成和显色。以抑制亚硝酸盐形成 50%所需的血清酶量定为一个亚硝酸盐单位（Nitrite Unit，NU），由此可测定总 SOD（T-OD）。又基于 KCN 对 CuZnSOD 的抑制，可测出 MnSOD。T-SOD 与 Mn-

SOD 的差减值即 CuZnSOD。

1.4 统计分析方法

采用单因素方差分析（*F* 检验）及 *Q* 检验。

2 结果

2.1 受试对象的接尘工种分布及接尘工龄（表 1）

表 1 受试对象的接尘工种分布及接尘工龄统计结果

组别	例数	平均年龄 (岁)	作业工种			平均接尘工龄 (年)
			掘进	采煤	非粉尘作业	
对照组	40	58.8±9.1	—	—	40	—
0 ⁺ 组	59	60.6±10.5	37	22	—	26.7
I 期尘肺组	54	60.6±8.7	33	21	—	26.1
II + III期尘肺组	50	62.4±6.0	35	15	—	27.5

2.2 不同人群血清 NO、LPO 及 T-SH 含量

表 2 显示，0⁺ 组人群及各期别煤工尘肺患者血清 NO、LPO 水平均显著高于对照组，且 II + III期尘肺组亦均显著高于 0⁺ 组及 I 期尘肺组。而 0⁺ 组及各期别尘肺组 T-SH 含量则较对照组显著降低，且 II + III期尘肺组亦均显著低于 0⁺ 组及 I 期尘肺组。

表 2 不同人群血清 NO、LPO 及 T-SH 含量测定结果

组别	NO (μmol/L)		LPO (μmol/L)		T-SH (μmol/100ml)	
	例数	$\bar{x} \pm s$	例数	$\bar{x} \pm s$	例数	$\bar{x} \pm s$
对照组	30	45.43±10.2	38	4.40±0.64	36	58.46±11.21
0 ⁺ 组	37	51.68±12.8 ^{*#}	58	5.52±1.25 ^{*#}	41	51.84±10.98 ^{*#}
I 期尘肺组	32	52.76±14.1 ^{*#}	46	5.59±1.29 ^{*#}	50	47.92±6.05 ^{*#}
II + III期尘肺组	35	64.67±17.6 [*]	47	6.75±1.62 [*]	49	42.75±8.04 [*]

* 与对照组比较 *P* < 0.01，# 与 II + III期尘肺组比较 *P* < 0.01。

2.3 不同人群血清中的 SOD 同功酶活力

表 3 可见，0⁺ 组人群及各期别煤工尘肺患者血清 T-SOD 活力均显著高于对照组，且表现为含锰超氧化物歧化酶（MnSOD）活性升高，而 CuZnSOD 活性则无显著性改变。

表 3 不同人群血清中的 SOD 同功酶活力测定结果 ($\bar{x} \pm s$) NU/ml

组别	例数	T-SOD	MnSOD	CuZnSOD
对照组	40	16.83±1.76	8.05±1.56	8.73±1.26
0 ⁺ 组	47	19.11±2.26 [*]	9.90±1.49 [*]	8.87±1.40
I 期尘肺组	54	20.50±1.82 [*]	11.15±1.31 [*]	9.12±1.07
II + III期尘肺组	50	19.62±1.84 [*]	10.43±1.34 [*]	9.16±1.06

* 与对照组比较 *P* < 0.01。

3 讨论

近年来研究显示，自由基及其引发的脂质过氧化损伤在煤工尘肺发生过程中起重要作用^[4]。生理情况下，生物体内存在有效的自由基防御体系，使得自由基的产生与清除之间处于动态平衡。尤其超氧化物歧化酶（人体内有 MnSOD 和 CuZnSOD 2 种同功酶），作为自由基连锁反应的启动剂—— O_2^- 的天然清除酶类，其抗自由基氧化损伤作用最为重要。任何原因致自由基产生过多和/或自由基清除不力，均可引发机

体的脂质过氧化损伤，产生过氧化脂质（LPO）。一氧化氮自由基（NO）是继活性氧自由基之后新的研究热点。NO 是 NO 合酶（NOS）催化精氨酸和分子氧为底物形成的小分子自由基。NO 化学性质活泼，半衰期短，发挥作用后很快氧化成 NO₂，以亚硝酸根（NO₂⁻）和硝酸根（NO₃⁻）离子形式存在于体液中，故 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 近年来已被广泛用作研究 NO 水平的指标^[5]。

本研究结果显示，0⁺ 组及各期别煤工尘肺患者

血清 NO 及 LPO 水平均较对照组显著升高, 且 II+III 期尘肺组亦均高于 0^{+} 组及 I 期尘肺组。而各期别尘肺组血清总巯基含量则显著性降低, 且 II+II 期尘肺组亦均显著低于 0^{+} 组及 I 期尘肺组, 表明尘肺患者机体的自由基脂质过氧化反应呈病理性加剧。这可能缘于肺泡巨噬细胞 (PAM) 在吞噬进入肺部的大量煤尘、矽尘等无机尘粒过程中被激活, 并可通过线粒体呼吸链的 NADPH 还原酶及黄嘌呤氧化酶系统产生大量的 O_2^{-} 、 $\cdot OH$ 等活性氧自由基, 进而引发机体的脂质过氧化损伤^[6-9]。同时肺部损伤区可出现明显炎症, 多种吞噬细胞可迅速诱生和激活诱导型 NO 合酶产生大量的 NO 自由基。高浓度的 NO, 一方面与 O_2 反应形成有较强细胞毒性的超氧亚硝基自由基 ($ONOO^{-}$), 后者可迅速分解为 NO_2 和羟自由基 ($\cdot OH$); 另一方面, NO 自身因可使储铁蛋白大量释放铁, 后者作为催化剂可触发 O_2^{-} 与 H_2O_2 之间的歧化反应, 因而导致大量高活性的羟自由基的生成, 进一步对细胞产生更大的氧化毒性, 可氧化失活大量的含巯基的酶或蛋白质^[9]。本研究结果还显示各尘肺患者最重要的抗氧化酶 SOD 的活性亦呈诱导性亢奋状态, 且以 MnSOD 活性升高为主, 这与 Yvonne 等研究吸入 SiO_2 后鼠肺 PAM 中表达 MnSOD 的 mRNA 的水平显著升高的结果相一致^[10]。综之, NO 自由基随煤工尘肺

的发生发展, 呈显著性升高趋势, 但其究竟是煤工尘肺发生的原因抑或是发生发展过程中的伴行改变, 尚需深入研究。

参考文献:

- [1] 钟福孙. 硫代巴比妥酸法测定血清过氧化脂质 [J]. 临床检验杂志, 1986, (4): 129.
- [2] 李文瑞. 新疆人、汉族人青年血清巯基测定 [J]. 新疆医学院学报, 1987, 10 (4): 235.
- [3] Oyanagi, Y. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity [J]. Anal Biochem, 1984, 142: 2901.
- [4] 江泉观. 中毒机理的一种学说——脂质过氧化 [J]. 国外医学卫生学分册, 1980, 7 (6): 3644.
- [5] 钟慈声, 孙安阳. 一氧化氮的生物医学 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1997. 218.
- [6] Lapp N, Gastranova V. How silicosis and coal workers pneumoconiosis develop—a cellular assessment [J]. Occup Med, 1993, 8(10): 35.
- [7] Dalas NS, et al. Hydroxyl radical generation by coal mineral dust: possible implication to coal workers' pneumoconiosis (CWP) [J]. Free Rad Biol Med, 1995, 18: 11.
- [8] Vallyathan V. Enhanced generation of free radical from phagocytes induced by mineral dust [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1992, 6 (4): 404.
- [9] Kamal A. Plasma lipoperoxides among workers exposed to silica [J]. Environ Res, 1989, 49 (2): 73.
- [10] Yvonne MW. Expression of antioxidant enzyme in rat lungs after inhalation of asbestos or silica [J]. J Biol Chem, 1992, 267: 1062.

苯中毒致淋巴细胞白血病 1 例报告

白 岩

(沈阳市劳动卫生职业病研究所, 110024)

苯中毒致白血病以急性粒细胞白血病多见, 我院于 1998 年 7 月收治 1 例苯中毒致急性淋巴细胞白血病, 现报告如下。

郑某, 女, 54 岁。1965 年开始从事高纯金属分析工作, 接触纯苯, 主要用苯萃取, 每日用苯量约 500ml。车间面积仅为 16m², 每天工作 8 小时, 个人有防护口罩, 不常戴。1972 年以后用苯量有所减少, 每周用量约 1 000ml。同工种另 2 人白细胞均低于正常。其单位每年进行健康体检, 从 1984 年起发现白细胞低于 $4.0 \times 10^9/L$, 白细胞分类正常, 血小板及血色素正常, 同时有头晕、乏力、失眠、记忆力减退等症状。未经系统治疗, 仍继续原工作, 1995 年退休。脱离苯作业环境后, 每年仍进行体检, 结果白细胞仍低于正常, 余各项正常。1985 年 5 月开始反复发热, 就诊于某医院。查外周血白细胞 $2.9 \times 10^9/L$, 原幼淋占 50%, 血小板 $84 \times 10^9/L$, 血色素 78g/L;

骨髓穿刺检查, 结果见骨髓增生活跃, $G=1.6\%$, $E=6.0\%$, $G/E=0.3/1$, 粒红两系增生均受抑, 形态大致正常; 淋巴细胞增生极度活跃, 以原幼淋增生为主, 占 81.6%, 胞体大小不一, 多数核大, 胞核呈圆形、类圆形、不规则形, 染色质细致核仁清晰, 1~2 个, 胞浆量较多, 蓝或灰蓝色过氧化物酶染色病态细胞阴性。糖原染色病态细胞 4% 阳性。诊断急性淋巴细胞白血病 L_2 , 为进一步诊治入我院。入院查: $T36.3^{\circ}C$, $P74/分$, $R18次/分$, $BP16.0/10.6kPa$, 皮肤粘膜无出血点, 浅表淋巴结不大, 胸骨无压痛, 心肺听诊正常, 肝脾肋下未触及, 经现场调查该患既往工作环境苯浓度超标, 故诊断为职业性慢性重度苯中毒。

讨论 患者为急性淋巴细胞白血病 L_2 , 但外周血白细胞低于正常, 无肝脾及淋巴结肿大似为较特殊的白血病, 考虑可能为苯中毒致白血病的特点。本例患者在脱离苯作业后 3 年发生急性白血病, 说明虽然脱离了苯作业, 但苯对骨髓的毒性作用依然存在, 故已确诊苯中毒的患者仍应定期复查。

(收稿: 1998-08-27; 修回: 1998-09-24)