

丙烯腈对小鼠红细胞膜 ATP 酶活性的影响

Effect of acrylonitrile on ATPase in erythrocytic membrane of mice

王振全¹, 冯三畏², 连素琴¹, 李学伟¹, 桑向来¹

WANG Zhen-quan¹, FENG San-wei², LIAN Su-qin¹, LI Xue-wei¹, SANG Xiang-lai¹

(1. 兰州大学公共卫生学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州化学工业公司职工医院, 甘肃 兰州 700030)

摘要: 将40只小鼠分为4组, 以不同剂量的丙烯腈(0、18.60、9.30、4.65 mg/kg)灌胃染毒35 d后, 测定红细胞膜Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶的活性。各染毒组两种酶的活性有不同程度的降低, 与对照组相比, 差异有统计学意义(P≤0.05)。Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性随染毒剂量的增加而降低, 呈负相关(r=-0.901, r=-0.921)。说明丙烯腈有抑制小鼠红细胞膜Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性的作用。

关键词: 丙烯腈; Na⁺-K⁺-ATP酶; Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶; 红细胞膜

中图分类号: R135.1 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2007)04-0256-02

丙烯腈(AN, CAS NO. 107-13-13)是重要的有机合成原料, 主要用于合成丙烯纤维、腈纶、塑料、橡胶、树脂等有机化合物。以往研究发现, 丙烯腈可导致大(小)鼠产生大量的棘形红细胞^[1, 2, 14], 提示丙烯腈具有一定的血液毒性。本研究探讨丙烯腈对小鼠红细胞膜上Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性的影响。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选用清洁级的昆明种小白鼠(批号: 甘医动字第14-005号)40只, 雌雄各半, 体重(22.5±2.0)g, 由兰州大学实验动物中心提供。

1.1.2 丙烯腈, 分析纯, 由天津博迪化工有限公司提供。Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性测定试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。龙尼柯7200型紫外分光光度计(上海仪器有限公司), LD-2型离心机(北京医用离心机厂), DK-600S型水浴箱(上海精密实验设备有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及染毒剂量 将40只小鼠随机分为4组, 每组10只, 雌雄各半。其中1组为对照组, 其余3组以18.60 mg/kg (1/10LD₅₀, 高剂量组)、9.30 mg/kg (1/20LD₅₀, 中剂量组)、4.65 mg/kg (1/40LD₅₀, 低剂量组)经口灌胃染毒, 以双蒸水作为对照及溶剂。连续染毒6 d, 停1 d, 共计35 d。于第36 d停止染毒, 染毒结束后即进行指标测定。

1.2.2 检测指标 (1)取20 μl抗凝全血, 加入红细胞稀释

液后, 考马斯亮蓝比色血红蛋白定量测定, 同时进行红细胞计数。(2)于染毒结束后眼球采血1.0 ml, 采用肝素抗凝。以2 000 r/min离心10 min。取红细胞, 将沉积红细胞进行双蒸水溶血10 min(辅以冻溶), 之后取0.2 ml溶血样本进行Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性的测定。(3)采血后, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 迅速取出肝、脾、肾, 剔除无关组织, 擦去血污, 称重。进行脏器系数的计算及统计学检验, 观察不同染毒剂量组间脏器系数的变化。

1.2.3 统计学处理 采用SPSS10.0软件包进行相关分析和方差分析。结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 丙烯腈对小鼠主要脏器系数的影响

由表1可见, 丙烯腈染毒组与对照组比较, 脾脏、肾脏的脏器系数有不同程度的降低, 差异有统计学意义。肝脏的脏器系数中4.65 mg/kg、9.30 mg/kg染毒剂量组与对照组比, 差异均有统计学意义, 18.60 mg/kg剂量组与4.65 mg/kg、9.30 mg/kg剂量组比较差异有统计学意义。

表1 丙烯腈对小鼠主要脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 染毒剂量 (mg/kg) | n | 肝脏 | 脾脏 | 肾脏 |
|--------------|----|------------------|--------------|------------------|
| 0 | 10 | 5.225±0.313 | 1.570±0.147 | 2.607±0.229 |
| 4.65 | 10 | 4.797±0.342* | 1.022±0.176* | 1.929±0.198* |
| 9.30 | 10 | 5.636±0.347* | 1.075±0.619* | 1.997±0.158* |
| 18.60 | 10 | 5.219±0.431 | 1.163±0.276* | 1.829±0.171* |
| | | F=22.345 P<0.001 | | F=33.902 P<0.001 |

*与对照组比较, P<0.05

2.2 丙烯腈对小鼠外周血血红蛋白、红细胞膜Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性的影响

由表2可见, 丙烯腈染毒组与对照组比较, 染毒组的血红蛋白含量均有不同程度的降低, 且随着染毒剂量的增加下降愈明显, 差异有统计学意义(F=11.003, P<0.001)。经相关检验, 呈负相关, 相关系数r=-0.626, 回归方程 $\hat{y}=158.95-4.176x$ 。

与对照组比较, 丙烯腈染毒组Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性有不同程度的降低, 经统计学分析有统计学意义(P<0.001)。染毒剂量与Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性的降低呈负相关。Na⁺-K⁺-ATP酶活性相关系数r=-0.901, $\hat{y}=17.488-2.499x$; Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶活性r=-0.921, $\hat{y}=12.133-1.965x$ 。

收稿日期: 2006-03-13; 修回日期: 2006-05-26

作者简介: 王振全(1966-), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事劳动卫生学教学科研工作。

表2 丙烯腈对小鼠外周血 Hb、红细胞膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活性的影响 ($\bar{x}\pm s$)

| 染毒剂量 (mg/kg) | n | Hb(g/L) | $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶 [$\mu\text{mol}(\text{Pi})/\text{gHb}$] | $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶 [$\mu\text{mol}(\text{Pi})/\text{gHb}$] |
|-----------------|----|---------------------------|--|---|
| 0 | 10 | 155.85±6.37 [#] | 16.356±0.604 [#] | 10.509±0.471 [#] |
| 4.65 | 10 | 148.18±3.39 ^{*#} | 10.529±0.539 ^{*#} | 7.272±0.313 ^{*#} |
| 9.30 | 10 | 148.03±5.15 ^{*#} | 9.821±0.846 ^{*#} | 7.072±0.296 ^{*#} |
| 18.60 | 10 | 141.98±6.23 [*] | 8.189±0.509 [*] | 4.054±0.431 [*] |
| | | $F=11.008$ | $F=286.966$ | $F=447.082$ |
| | | $P=0.000$ | $P<0.001$ | $P<0.001$ |

*与对照组比较, $P<0.05$; #与染毒高剂量组比较, $P<0.05$

3 讨论

丙烯腈在体内经肝微粒体混合酶作用形成氰环氧乙烷(CEO), CEO的酶水解作用可以释放氰化氢(HCN), 但是许多实验证明HCN的释放并不足以解释其众多毒效应^[4,5]。如接触丙烯腈持续的肝脏酶升高, 进而导致肝细胞膜过氧化反应, 以及引起与剂量有关的高血糖, 造成胃、睾丸、肾上腺等脏器的病变。已有许多研究发现丙烯腈直接影响骨髓造血功能, 引起外周血红细胞和骨髓细胞数量、形态、功能发生异常改变^[9,11-13]。国内外资料提示丙烯腈作业工人末梢血象红、白细胞数量普遍降低, 贫血患者所占比例增高^[7,10,11]。

丙烯腈单体易断裂的双键会产生自由基, ACN由环境进入人体后, 经血液运输分布于全身各个组织器官, 红细胞可能是ACN毒作用首先攻击的靶目标, 引起脂质过氧化导致膜结构损伤而抑制 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活性^[3,8,13]; $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活性被抑制, 导致胞浆内外离子转移发生异常, 致使离子浓度发生改变, 继而可激活磷酸化酶A, 破坏细胞膜结构和膜磷脂成分, 最终可能导致细胞膜结构的损伤、死亡, 甚至发生癌变。本次实验结果提示, 丙烯腈导致的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活性的降低、损伤与丙烯腈的中毒及癌变的机制有重

要的关系。有关丙烯腈对血液细胞的毒性有待进一步探讨, 对红细胞膜的毒性研究将有助于揭示丙烯腈的毒作用机制。

参考文献:

- [1] 王振全, 肖卫, 连素琴. 丙烯腈对小鼠外周血液毒性的研究 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16(10): 912.
- [2] 王振全, 肖卫, 李芝兰, 等. 丙烯腈对大鼠外周血液的毒性作用 [J]. 中国工业医学杂志, 2002, 15(4): 196-198.
- [3] 丁晟, 金复生, 周元陵, 等. 丙烯腈对作业工人红细胞膜ATP酶活性的影响 [J]. 环境与职业健康, 2005, 22(1): 56-57.
- [4] Frederick W. Biological markers of acute acrylonitrile intoxication in rats as a function of dose and time [J]. Fund And Apl Toxicol, 1997, 36: 141.
- [5] Abdel-Aziz AH. In-vitro testicular bioactivation of acrylonitrile [J]. Pharmacol Res, 1997, 35(2): 129.
- [6] 唐均, 范卫, 朱瑞娟, 等. 丙烯腈作业工人人群的脂质过氧化能力的观察 [J]. 工业卫生与职业病, 2001, 27(1): 11-13.
- [7] 徐丽丽. 长期接触低浓度丙烯腈对工人健康的影响 [J]. 现代预防医学, 2001, 28(3): 295-296.
- [8] 张正东, 王心如, 周建伟, 等. 丙烯腈对大鼠肝脏 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ 酶、磷酸化酶A的活力影响 [J]. 卫生研究, 1999, 28(4): 194-195.
- [9] 张正东, 张贵利, 戴修道. 丙烯腈对大鼠外周血淋巴细胞DNA损伤的研究 [J]. 劳动医学, 1999, 16(4): 220-222.
- [10] 陈玉清, 陈昌发. 丙烯腈作业对工人健康影响的调查 [J]. 中国职业医学, 2000, 27(1): 17-19.
- [11] 张一峰, 杨观徒, 徐结民. 丙烯腈对肝脏及白细胞慢性影响的调查 [J]. 中国工业医学杂志, 1995, 8(6): 359-360.
- [12] 范卫, 朱瑞娟, 马来记, 等. 丙烯腈作业工人外周血有核细胞线粒体DNA损伤的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2003, 21(2): 99-101.
- [13] 张贵利, 戴修通, 张正东, 等. 丙烯腈对细胞膜的毒作用研究 [J]. 中国公共卫生学报, 1998, 11(3): 168-169.
- [14] 肖卫. 丙烯腈对大鼠外周血的联合毒性研究 [J]. 中国公共卫生学报, 1997, 10(1): 74-78.

甲硝唑静脉滴注致高热抽搐 1例报告

A case report on hyperpyrexia and convulsion caused by intravenous infusion with metronidazole

苏春兰, 窦锡彬, 林艳明

(广西右江民族医学院, 广西百色 533000)

患者, 男, 35岁, 教师, 平素体健, 无过敏史。因转移性右下腹痛、发热1d, 于2006年10月19日15:00时到医院诊治。T 37.5℃, P 86次/min, R 16次/min, BP 118/74 mm Hg, WBC $19\times 10^9/L$, N 0.87, B超示右下腹炎性包块。右下腹(M氏点)固定性压痛, 肌紧张及反跳痛存在但不明显, 即按急性阑尾炎处理。予0.5%甲硝唑注射液100ml缓慢静滴, 5min后, 患者出现恶心、胸闷、发冷、寒战, 继而四肢抽搐、面色暗红、口唇发绀、呼吸急促、烦躁不安、恐惧等

症状, 但意识清楚。查生命体征发现体温升高至40.1℃, 脉搏126次/min, 呼吸急促约30次/min, 血压由于患者四肢抽搐无法测量。考虑为甲硝唑过敏所致, 立即停药、平卧、保暖, 迅速给氧, 皮下注射0.1%肾上腺素1mg, 肌内注射非那根50mg, 安定10mg, 复方氨林巴比妥2ml, 静脉注射50%GS 20ml, 10%葡萄糖酸钙10ml, 地塞米松5mg, VitC 1.0g, 接着给予10%GS 500ml, VitB₆ 100mg静脉滴注。经上述处理后约15min, 病情逐渐好转, 30min后患者开始出汗, 体温降至38.5℃, P 96次/min, 呼吸减慢, BP 114/70 mm Hg, 唇色转红润, 寒战发冷及四肢抽搐等症状消失。第二日患者继续行输液抗炎治疗, 改用青霉素、环丙沙星静脉滴注则无上述反应发生, 说明本次高热抽搐属于甲硝唑过敏反应所致。

近几年有关甲硝唑不良反应的报道较多, 严重者致高热惊厥、龟头溃烂、中毒性精神病、哮喘样发作、泌尿及心血管系统不良反应、过敏性休克等。为此建议, 用药前应询问病人有无过敏史, 用药期间不能远离患者, 注意观察病情。静脉用药开始滴速宜慢, 一旦发现异常立即停药, 及时处理。如出现过敏性休克, 要迅速采取有效的抗休克、抗过敏措施进行抢救。