

· 动 态 ·

职业苯暴露生物标志物的研究现状

Research progress on biomarkers for occupational exposure to benzene

郭颖燕¹, 陈坤²

(1 温岭市卫生监督所, 浙江 温岭 317500 2 浙江大学公共卫生学院, 浙江 杭州 310000)

关键词: 苯; 暴露; 生物标志物

中图分类号: R135.12 文献标识码: C

文章编号: 1002-221X(2008)01-0058-03

苯作为有机化学生产过程中广泛使用的原料, 在生产环境中多以蒸气形式由呼吸系统进入人体, 主要分布在含类脂质较多的组织和器官, 如骨髓、脑髓、脂肪组织和肝脏^[1], 体内苯主要在肝脏代谢, 在肝微粒体上的细胞色素 P450 (CYP) 介导下苯被氧化成环氧化苯。通过对 DNA 的直接损伤作用, 而引起造血系统的损害^[2]。苯已被国际癌症研究机构定为 I 类化学致癌物^[3]。发达国家现将苯接触阈值限值时间加权平均浓度 (TLV-TWA) 降至 32 mg/m³ 以下, 美国则降至 0.32 mg/m³, 我国现行 GBZ-2002《工作场所有害因素职业接触限值》中规定生产环境空气中苯的时间加权平均容许浓度为 6 mg/m³, 而短接触容许浓度 (PC-STEL) 为 10 mg/m³^[4]。1989年至 2000年国内期刊报道有 28例苯白血病^[5]。Stockstad 等^[6]报道在鞋厂工作的工人接触 1 mg/m³ 的苯浓度仍可引起人体白细胞和淋巴细胞减少。Lan Q等^[7]认为 40 mg/m³ 以下苯作业工人易罹患骨髓瘤。苯还可诱导血清活性氧水平, 引起细胞成分包括 DNA 氧化损伤^[8]。

随着对低浓度苯接触人群健康状况的关注, 寻找可靠的早期生物标志物, 评价苯的接触剂量和健康效应以及人群对苯的易感性就显得十分必要。

1 接触生物标志物, 反映机体内苯与细胞或分子交互作用产物浓度的指标

1.1 尿苯

尿苯能很好地反映苯的暴露水平, 但有人认为作业后尿苯高于作业前, 即被吸收的苯若以原型从尿中排出, 至多只需要 8 h 因而尿苯只能是反映近期的苯接触水平, 可作为苯接触工人生物样品常规监测手段之一。由于尿中苯含量低, 衰减快, 不易保存和运输, 可采用现场 Tenax GC 管吸收尿苯, 然后热解吸气相色谱法测定。也可采用顶空固相微浸出法 (HS-SPMA), 既灵敏又简便。

1.2 尿酚

多年来人们采用尿酚含量作为职业性苯接触的生物监测指标, 但是由于尿酚的本底值较高, 在苯接触浓度小于 16

mg/m³ 时缺乏特异性, 因而在低浓度苯暴露水平下, 苯酚的监测已无实际意义。

1.3 反式粘糠酸 (ttMA) 苯在肝脏经细胞色素氧化酶介导, 形成环氧化物, 并进一步氧化成粘糠酸^[9], 尿中反式粘糠酸的检测日益受到关注。Omos 等^[10]报道采用高效液相色谱法 (HPLC法) 进行检测, 最低检出限为 10.8 mg/L, 相关系数为 0.9955 Raghavan 等^[11]在实验中发现苯暴露与工人班后尿中反式粘糠酸直接相关, 与对照组差异有统计学意义。

尿中反式粘糠酸在人群中本底值极低, 其惟一来源是苯暴露, 且其代谢转化速率与苯接触水平显著相关, 但易受多种因素的影响, 最为常见的是山梨酸, 山梨酸在体内也可代谢为 ttMA 研究发现摄入含山梨酸食物后, 尿中粘糠酸的浓度升高。宋世震等^[12]发现 ttMA 代谢转化速率与苯接触水平呈负相关, 并建议我国职业接触苯作业工作班末尿中 ttMA 为 3.0 mg/gCr, 工作班前尿中 ttMA 为 1.5 mg/gCr, 认为反式粘糠酸可作为评价苯暴露的生物标志物, 但在测定中应注意对食物中摄入山梨酸的控制。

1.4 S-苯巯基尿酸 (SPMA)

SPMA 是环氧化苯与谷胱甘肽在 GST 作用下形成的 GSH 结合物, Marubini 等^[13]建议当 SPMA 高于 5 mg/L 时可采用酶联免疫吸附法 (ELISA 法) 检测, 低于 5 mg/L 可采用气质联用法 (GC-MS 法) 检测, Scherer 等^[14]发现吸烟对测定有影响。SPMA 人体本底浓度很低, 具有较好的特异性和半衰期, 因此认为是低于 1 mg/m³ 浓度暴露的最佳生物标志物, 但应注意对吸烟的控制。

1.5 蛋白质加合物

苯的代谢产物环氧化苯、反式粘糠酸等苯氧化物可与血红蛋白、血清蛋白中的半胱氨酸形成蛋白质加合物, 且与苯接触水平有关; 苯氧化物可与血红蛋白半胱氨酸的巯基团形成 S-苯半胱氨酸加合物, 因此苯与蛋白质加合物可作为苯接触的生物标志物。

2 效应生物标志物

指机体中可测定的用以指示生化、生理、行为变化或其他改变的指标, 可用来评价接触有害物质所引起的生物学反应。理想的效应生物标志物应是接触某有害物质所产生的特异性生物学变化指标, 然而在劳动卫生与职业病领域, 特异性生物标志物很少, 因此只能用一些非特异性的效应生物标志物评价接触毒物所产生的毒性效应。

2.1 血象分析

苯可引起白细胞计数减少、血红蛋白减少、淋巴细胞相对值增加、血小板计数减少以及淋巴细胞微核率增加。由于

收稿日期: 2007-03-01

基金项目: 浙江省温岭市科技项目

作者简介: 郭颖燕 (1969-) 女, 在读硕士研究生, 副主任技师, 主要从事职业卫生监督工作。

外周血象分析既简便又快速, 因此目前已成为基层卫生单位苯接触人群最常用的检测指标。

2.2 DNA损伤

可采用单细胞凝胶电泳试验或称彗星试验进行检测, 由于彗星试验可在单细胞水平上直接观察 DNA断裂损伤, 并具有敏感、快速、简便、重复性好等优点, 因此成为目前最流行的 DNA损伤检测方法。韦拔雄等^[15]发现苯可致淋巴细胞 DNA损伤, 且损伤程度与苯接触量有关; 有人发现苯暴露导致外周血细胞 DNA断裂损伤加重, 且呈明显剂量-反应关系, 同时累积接苯浓度比单纯苯浓度更能反映苯暴露水平^[16]; Testa等^[17]还发现吸烟对职业苯接触人群 DNA损伤具有一定影响。而混有其他苯化合物越多的工种, DNA损伤程度越大, 提示不同苯化合物之间存在一定的相互作用^[18]。DNA损伤目前成为苯接触常用的效应生物标志物。

2.3 8-羟基脱氧鸟嘌呤核苷 (8-OHdG)

8-OHdG是活性氧自由基损伤细胞核 DNA或线粒体 DNA后形成的产物, 可反映 DNA受羟基基团攻击的损伤。有多种检测方法如高效液相色谱-电化学法 (HPLC-ECD法)、P后标记-薄层色谱法、酶联免疫吸附法、PY共振光散射法、高效毛细管电泳 HPLC以及 GC-MS法。孙咏梅等^[19]发现吸烟是影响 8-OHdG的重要因素, 香烟烟雾对 DNA具有氧化能力, 有直接的遗传毒性; PiGe等^[20]报道吸烟者尿液 8-OHdG水平未见增高, 且尿液与白细胞中的 8-OHdG含量不完全相符, 而刘珊等^[21]也认为吸烟者尿液中 8-OHdG并未增加。因此认为虽然 8-OHdG可作为苯暴露的 DNA氧化性损伤的生物标志物, 但是对其背景浓度依然不很清楚, 仍需作进一步研究。

2.4 染色体畸变

苯是已被确定的致癌物, 能导致外周血淋巴细胞染色体畸变并改变细胞的正常分化过程, 最终导致癌变发生。纪之莹等^[22]发现苯接触工人外周血淋巴细胞染色体畸变增加, 且呈剂量-反应关系, 因此染色体畸变可作为苯接触的效应生物标志物。

2.5 碱性磷酸酶

苯作业工人血液中性粒细胞的碱性磷酸酶活力可出现不同程度的抑制, 认为血液粒细胞碱性磷酸酶的活力可作为苯的早期骨髓毒性效应的生物标志物。

2.6 其他

苯还可导致机体内活性氧 ROS水平的明显升高、热应激蛋白 (HSP) 及其抗体升高以及脂质过氧化损伤如谷胱甘肽过氧化物酶升高、超氧化物歧化酶升高、谷胱甘肽减少。

3 易感生物标志物

反映先天或后天获得的对接触苯产生反应能力的指标。个体易感性的研究包括代谢表型和基因型、DNA修复、营养状况等, 现多集中在基因型的研究, 苯代谢活性及解毒代谢酶的基因多态性目前成为研究慢性苯中毒易感性的焦点, 主要用以评价个体的先天因素在职业或环境接触苯致癌、致病中的易感作用。

3.1 谷胱甘肽转移酶 M1基因缺失

谷胱甘肽转移酶缺失的危险度是谷胱甘肽酶携带者的 3~

4倍^[23]。若能开发出此类基因疫苗, 对职业人群进行接种, 可起预防苯中毒甚至苯白血病和其他一些环境性疾病的作用。

3.2 NQO1基因多态性

携带 NQO1 C609T纯合突变基因型个体接苯时发生苯中毒的危险性增高是其他基因型的 2.82倍^[24]; 同时携带 NQO1 C609T/T基因型、GSTT1 缺失基因型和 GSI M1基因型个体发生苯中毒的风险最大。因此提议此基因可作为易感性生物标志物, 用于苯作业工人上岗前的筛选。

3.3 XPD基因多态性

由于核苷酸切除修复 (NER) 在 DNA加合物造成损伤的修复过程中发挥重要的作用, 而 XPD是参与 NER的重要基因, 在相同苯作业暴露环境下, 携带 XPD基因 751Gln变异等位基因个体发生慢性苯中毒的危险性升高。因此建议将此基因作为易感性生物标志物。

4 结语

综上所述, 苯接触的生物标志物研究历经几十年的发展, 各种测定方法已日趋成熟、完善。通过对苯接触生物标志物的测定, 可早期发现不良效应, 筛检易感人群, 有助于早期采取措施, 防止苯对健康的不良影响, 也为研究苯的致癌机制提供线索。当前职业接触苯最为重要和常用的接触性生物标志物是 t-RA及 S-PMA, 外周血象分析是目前基层卫生单位最为常用的效应生物标志物, DNA损伤以及 8-OHdG为最常用的职业接触苯效应生物标志物; MQO1基因多态性及 XPD基因多态性可作为职业接触苯的易感性生物标志物, 对职业接触人群进行筛选。

在实际工作中, 应注意各类生物标志物的综合应用。如可同时分析 t-RA及 S-PMA用于评价职业苯接触, 分析 8-OHdG等用于评价苯致 DNA氧化损伤效应, 为职业苯接触提供精确资料; 同时应深入开展个体易感性标志物 NQO1基因多态性及 XPD基因多态性研究, 早期发现高危人群, 免除苯的职业损害。

参考文献:

- [1] 许春向, 邹学贤. 现代卫生化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 833
- [2] Stoyanova KYD A, Goldman R, Clevamp H G, et al. Phenoxyl radical induced thiol dependent generation of reactive oxygen species: implications for benzene toxicity [J]. Arch Biochem, 1995, 317 (2): 315-323
- [3] Snyder R. Recent developments in the understanding of benzene toxicity and leukemogenesis [J]. Drug Chem Toxicol, 2000, 23 (1): 13-25
- [4] 金泰虞. 职业卫生与职业医学 [M]. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 207-208
- [5] 苗丽壮, 傅华. 11年来国内相关期刊报道苯白血病病例分析 [J]. 环境与职业医学, 2002, 19 (1): 61-62
- [6] Stochstad E. Toxicology factory study shows low levels of benzene reduce blood cell counts [J]. Science, 2004, 306 (5702): 1665
- [7] Lan Q, Zhang L, Li G, et al. Hematoxicity in workers exposed to low levels of benzene [J]. Science, 2004, 306 (5702): 1774-1776
- [8] 徐玉宝, 许东, 李洪, 等. 焦化厂接苯工人血清活性氧水平检测 [J]. 郑州大学学报, 2005, 40 (5): 915-916

- [9] Melikian A A, O'Connor R, Prahalad A K, et al. Determination of urinary benzenemethabolites S-Phenymercaptopuric acid and trans-trans-mucinic acid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Carcinogenesis* 1999, 20 (4): 719-726.
- [10] Olinos V, Lenzen S C, Lopez C M, et al. High-performance liquid chromatography method for urinary trans-transmucinic acid. Application to environmental exposure to benzene [J]. *J Anal Toxicol* 2006, 30 (4): 258-261.
- [11] Raghavan S, Basavaiah K. Biological monitoring among benzene exposed workers in Bangalore city, India [J]. *Biomarkers* 2005, 1 (5): 336-341.
- [12] 宋世震, 刘黎文, 陈醒觉, 等. 职业性苯暴露反-反式粘糠酸生物接触限量研究 [J]. *中国工业医学杂志*, 2005, 18 (6): 328-330.
- [13] Mamubini G, Dugheri S, Pacenti M, et al. Determination of S-Phenymercaptopuric acid by GC/MS and ELISA: a comparison of the two methods [J]. *Biomarkers* 2005, 10 (4): 238-251.
- [14] Scherer G, Urban M, Engl J, et al. Influence of smoking charcoal filter tipped cigarettes on various biomarkers of exposure [J]. *Inhal Toxicol* 2006, 18 (10): 821-830.
- [15] 韦拔雄, 麦剑平, 陈月华, 等. 苯接触与淋巴细胞 DNA 损伤 [J]. *中国工业医学杂志*, 2005, 18 (5): 290-291.
- [16] 刑彩虹, 纪之莹, 李桂兰, 等. 苯作业工人外周血细胞 DNA 损伤检测 [J]. *卫生研究*, 2005, 34 (1): 22-24.
- [17] Testa A, Festa F, Ranaldi R, et al. A multibiomarker analysis of DNA damage in automobile painters [J]. *Environ Mol Mutagen* 2005, 46 (3): 182-190.
- [18] 朱志良, 庄志雄, 黄钰, 等. 混苯作业工人外周血细胞 DNA 损伤的检测 [J]. *现代预防医学*, 2002, 29 (4): 498-499.
- [19] 孙咏梅, 戴树桂, 袁著革, 等. 香烟烟雾成分分析及其对 DNA 生物氧化能力研究 [J]. *环境与健康*, 2004, 18 (4): 203-207.
- [20] Pilger A, Rudiger H W. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures [J]. *Int Arch Occup Environ Health* 2006, 80 (1): 1-15.
- [21] 刘珊, 宛超, 徐海滨, 等. 吸烟人群尿中 8-OHdG 水平的观察 [J]. *华南预防医学*, 2006, 32 (3): 52-53.
- [22] 纪之莹, 李桂兰, 李凌凇, 等. 苯接触工人外周血淋巴细胞染色体畸变分析 [J]. *卫生研究*, 2004, 33 (3): 269-272.
- [23] 许继取. 苯作业工人人体内脂质过氧化与抗氧化水平研究 [J]. *现代预防医学*, 2003, 30 (4): 494-496.
- [24] 陈艳, 纪之莹, 许建宁, 等. NQO1 基因多态性与慢性苯中毒遗传易感性的研究 [J]. *卫生研究*, 2004, 33 (6): 657-659.

新型选择性抗胆碱药长托宁的临床应用研究进展

Progress on clinical application of a new selective anticholinergic agent, Penehyclidine hydrochloride

林大伟^{1,2}, 菅向东^{1*}

(1. 山东大学齐鲁医院, 山东 济南 250012; 2. 济南医院, 山东 济南 250013)

关键词: 长托宁; 有机磷农药; 抗胆碱作用; 中毒

中图分类号: R971.92 文献标识码: C

文章编号: 1002-221X(2008)01-0060-03

长托宁(盐酸戊乙奎醚注射液)是我国原创的拥有自主知识产权的新型选择性抗胆碱药物(成都力思特制药股份有限公司与中国军事医学科学院毒物药物研究所联合研制),对中枢和周围神经均具有很强的抗胆碱作用。长托宁不但抗胆碱作用强,而且作用全面、持续时间长,同时具有高度选择性 M₁、M₃ 受体拮抗作用,而对 M₂ 受体无明显作用,毒副作用较小,目前已广泛应用于临床。

1 用于治疗急性有机磷农药中毒

急性有机磷农药中毒是急诊常见的急危重症,由于有机磷农药抑制胆碱酯酶,引起乙酰胆碱蓄积,使胆碱能神经元持续冲动,导致先兴奋、后衰竭的一系列毒蕈碱样、烟碱样

和中枢神经系统的中毒症状。传统的有机磷农药中毒救治以阿托品和复能剂为主,阿托品用量不易掌握,用量过大易导致阿托品中毒,用量过小又达不到最佳的疗效,而且阿托品反复大剂量给药 1 d 后,可引起 M 受体上调,负反馈调节作用也受到抑制或阻滞^[1]。综合分析有关文献^[2-6],新型抗胆碱药长托宁的特点如下:(1)疗效确切,能同时拮抗毒蕈碱样和烟碱样症状,可使患者 M 样症状明显缩短,减少并发症发生机会,尤其对中枢神经受体也有明显作用,能较早出现阿托品化,提高了抢救成功率;(2)用量小,作用持续时间长,半衰期达 10.5 h,因此用药次数和用量明显少于阿托品;(3)阿托品化时间早,与复能剂联合应用胆碱酯酶活力恢复快;(4)毒副作用较小,由于对 M 样受体具有明显选择性,主要作用于分布在中枢神经系统和周围平滑肌腺体的 M₁ 和 M₃ 受体,而对 M₂ 受体影响较小,故能较好地控制有机磷中毒时的中枢神经系统、胃肠道、呼吸道和腺体分泌增多等一系列中毒症状,而对心率影响小,阿托品化时尿潴留发生率不高;(5)合理使用基本上无反跳和耐药现象发生;(6)既有中枢和外周抗 M 胆碱能受体作用,也具有中枢和外周的抗 N 受体作用,能较全面地对抗 M 样、N 样和中枢神经系统症状,为防治有机磷农药中毒中间综合征提供了药理依据。

长托宁应用剂量充足的标准为:口干、皮肤干燥和气管

收稿日期: 2007-09-18 修回日期: 2007-11-14

基金项目: 山东省科技厅计划项目 (项目编号: 2003B57)

作者简介: 林大伟 (1966-), 男, 副主任医师, 硕士研究生, 主要从事职业病和急危重症救治工作。

*: 通讯作者, 内科学博士, 硕士生导师, E-mail: jianxiar@pub.lic.jn.sdu.cn