

· 实验研究 ·

染尘大鼠支气管肺泡灌洗液中铜、锌、锰、硅、铁、铬含量的研究

Study on the contents of Cu, Zn, Si, Fe and Cr in BALF of rats exposed to SiO₂

曹燕花¹, 姚林^{1*}, 陈志远², 张志浩², 袁扬², 李清钊¹, 闫立成¹, 檀丽¹, 李明泉¹

CAO Yan-hua¹, YAO Lin^{1*}, CHEN Zhi-yuan², ZHANG Zhi-hao², YUAN Yang², LI Qing-zhao¹, YAN Li-cheng¹, TAN Li¹, LIMing-quan¹

(1. 华北煤炭医学院预防医学系, 河北省煤矿卫生与安全实验室, 河北 唐山 063000 2 中国煤矿工人北戴河疗养院, 河北 秦皇岛 066104)

摘要: 将 SD 雄性大鼠随机分为两组, 染尘组和对照组, 每组 10 只。非气管暴露法染尘 30 d 后, 经股动脉放血处死动物, 进行肺组织灌洗, 留取灌洗液, 进行各项指标测定。结果两组铜、硅含量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 两组锌、锰、铁、铬含量发生变化, 其中染尘组锌、锰含量升高, 铁、铬含量降低。两组 SOD 活力及总蛋白含量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), GSH-Px 活力无变化。

关键词: 尘肺; 支气管肺泡灌洗液; 总蛋白; 微量元素; SOD

中图分类号: R135.2 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2009)02-0116-02

探讨尘肺的确切发病机制对尘肺的预防、诊断、治疗乃至最终消除具有十分重要的意义。本研究采用支气管肺泡灌洗技术, 通过比较染尘组和对照组大鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中微量元素铜、锌、锰、硅、铁、铬的含量, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活力、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力及总蛋白含量的变化, 进一步探讨尘肺的发病机制, 为尘肺的诊断和防治提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物选择与分组

选用清洁级 SD 大鼠 20 只 (华北煤炭医学院实验动物中心提供), 雄性, 体重 180~220 g, 自由摄食, 饮水, 适应性喂养 1 周后供试。将大鼠随机分为 2 组, 染尘组和对照组, 每组各 10 只。

1.2 尘肺模型制备与支气管肺泡灌洗

大鼠麻醉后经非气管暴露法染尘, 染尘组大鼠气管内注入 50 mg/ml 的 SiO₂ 混悬液 1 ml, 对照组按同样方法注入高温灭菌生理盐水 1 ml。大鼠染尘 30 d 后, 经股动脉放血处死, 对肺组织进行灌洗。收集的灌洗液, 离心处理后 -70℃ 冰箱冻存备用。

1.3 支气管肺泡灌洗液的测定

电感耦合等离子体原子发射光谱法 (ICP-AES) 测定

BALF 中 Cu, Zn, Mn, Si, Fe, Cr 含量; 采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活力, 还原型谷胱甘肽反应法测定 GSH-Px 活力, 考马斯亮蓝法测定总蛋白含量。

1.4 统计学处理

所有数据录入 Excel 数据库, 采用 SAS9.1 统计学软件进行数据处理, 结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用方差分析或秩和检验进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

整个实验过程中, 两组大鼠皮毛光滑, 进食、饮水正常, 呼吸正常, 体重持续稳定增长。

2.2 BALF 中 SOD 活力、GSH-Px 活力及总蛋白含量的测定

染尘组 BALF 中 SOD 活力、总蛋白含量明显高于对照组, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$); GSH-Px 活力两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 BALF 中 SOD 活力、GSH-Px 活力及总蛋白含量的比较

组别	n	总蛋白含量 (g/L)	SOD 活力 (U/mg Prot)	GSH-Px 活力 (U/ml)
对照组	10	0.65±0.20	14.01±13.38	356.12±254.02
染尘组	10	1.40±0.95	22.01±6.46	329.45±194.01
F 值		2.45	4.80	0.30
P 值		0.02	0.02	0.77

2.3 BALF 中铜、锌、铜/锌比值、锰、硅、铁、铬含量的测定

染毒组 BALF 中锌、锰含量明显高于对照组, 铁、铬含量明显低于对照组, 铜/锌比值明显降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 铜、硅含量两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2 表 3。

3 讨论

有研究证明^[1], 尘肺患者血清 SOD 活力较任何粉尘接触史的对照组明显降低。本研究染尘组 BALF 中 SOD 活力较对照组升高。粉尘进入肺组织后产生大量活性氧物质, 从而启动了脂质过氧化的链式反应, 伴随着大量自由基的产生, 机体防御功能增强, 清除自由基酶的合成增加, SOD 活力代偿性升高, 从而使机体的氧化/抗氧化体系保持一个动态平衡。在尘肺病变过程中, GSH 被动员参与抗氧化反应, 生成氧化型谷胱甘肽 (GSSG), GSH 含量下降。本次研究结果未发现 GSH-Px 活力变化差异。目前多数研究认为, 尘肺患者和染尘动物 BALF 中总蛋白含量升高, 而 BALF 中的总蛋白含量的增

收稿日期: 2008-12-22

基金项目: 中国煤矿尘肺病治疗基金项目 (2006-0806-550)

作者简介: 曹燕花 (1977-) 女, 讲师, 研究方向: 分子生殖毒理学。

*: 通讯作者, 教授, Email: yaolin766@sohu.com

©1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2 两组 BALF中微量元素含量比较 (x±s)

组别	n	Cu (μ g/ml)	Zn (μ g/ml)	Mn (μ g/ml)	Si (μ g/ml)	Fe (μ g/ml)	Cr (μ g/ml)
对照组	10	0.18±0.06	2.51±1.77	0.09±0.04	363.78±179.45	4.76±1.70	0.35±0.10
染尘组	10	0.16±0.06	6.03±2.54	0.16±0.05	304.50±194.12	1.86±1.10	0.14±0.12
值		0.66	2.98	4.37	0.62	5.51	2.80
P值		0.51	0.01	0.02	0.54	<0.001	0.01

表 3 BALF上清中铜/锌比值的比较 (n=10)

组别	Cu/Zn			H值	P值
	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅		
对照组	0.07	0.11	0.15	4.81	0.02
染尘组	0.01	0.02	0.04		

高可以反映粉尘对肺组织的损害程度。本次研究所得结果与此研究结果一致^[2,3]。

有学者对尘肺患者和染尘动物体内铜含量的变化进行研究^[4-5],发现血清、头发、肺组织和BALF中铜含量升高。本次研究的结果没有显示染尘组与对照组BALF中铜含量的变化差异;锌具有抑制巨噬细胞的吞噬功能,阻止脂质过氧化,并与细胞膜上的酶相互作用,起稳定细胞膜的作用。关于接尘者体内锌含量的变化报道不一,朱玲勤^[5]等对煤工尘肺患者血清锌含量的测定结果为锌含量降低。本研究中锌、锰含量染尘组较对照组升高,可能是机体启动自我保护机制即代偿性的升高。

本实验对染尘大鼠模型的BALF中的硅、铁、铬元素含量进行了检测,发现BALF中染尘组与对照组比较,硅含量无明显变化,铁和铬含量降低。提示机体对进入体内外源性硅尘有一定的代谢和代偿能力。铁是机体内重要的抗氧化保护物质的组成成分,在尘肺病变时,其含量或活性可能受到影响。铬主要参与体内能量物质的代谢,在一定量SO₂作用下,细

胞受到损伤,机体启动修复机制;铬还参与脂质的代谢,在体内具有抗氧化作用。但是细胞内的铬与大分子结合,形成的化合物分子量很大,进行离心时,易于沉降,因此染尘组BALF中铬含量降低。

机体内众多微量元素既有协同亦有拮抗,它们相对维持在某种水平上,参与机体的各种代谢,使机体保持平衡。由于粉尘的侵入,微量元素在机体总体调节下,参与对粉尘的清除,这一过程中可能存在着某些元素一定时期一定程度代偿性的改变,最终会出现机体微量元素的失调,导致体内某些酶含量减少或活力减弱,脂质过氧化进程加速,细胞膜受损,机体免疫功能下降。有关微量元素参与尘肺发生的具体机制,尚需我们更深入地进行研究探讨。

参考文献:

[1] 李庆,徐从景,李倩,等.煤工尘肺与T淋巴细胞及微量元素关系的临床研究[J].中国工业医学杂志,2005,18(4):208-210
[2] 曹殿凤,孙杰,尚波.染尘动物及尘肺支气管肺泡灌洗液的研究进展[J].职业与健康,2007,23(12):1039-1040
[3] 张素华,张兆志.148例矽肺患者肺叶灌洗回收液检查结果分析[J].中国工业医学杂志,2005,18(4):241-242
[4] 谷春,刘占红,赵宏伟,等.接尘对血清免疫球蛋白水平及血清超氧化物歧化酶活力的影响[J].职业与健康,2003,19(2):48-49
[5] 朱玲勤,刘志宏.煤工尘肺患者血清铜蓝蛋白活性与微量元素Cu、Zn相关性的探讨[J].工业卫生与职业病,2001,27(3):149

染尘巨噬细胞上清液对人胚肺成纤维细胞中HSP27表达的影响

Effect of silica exposed macrophage cultural supernate on HSP27 expression in human embryonic lung fibroblasts

张海英¹, 邹伟明², 金泰虞^{3*}, 杨莉¹, 陈世艺¹

ZHANG Haiying, ZOU Weiming, JIN Taiyu*, YANG Li, CHEN Shi-yi

(1 广西医科大学公共卫生学院, 广西南宁 530024; 2 广西职业病防治研究院, 广西南宁 530024; 3 复旦大学公共卫生学院, 上海 200032)

摘要: 采用大鼠巨噬细胞 (AMs) 和人胚肺成纤维细胞 (HEL F) 组成体外模型, 以逆转录多聚酶链反应 (RT-PCR) 技术及免疫印迹 (western blot) 方法分别检测二氧化硅粉尘处理 AMs 24 h 的培养上清液刺激 HEL F 细胞的 HSP27 mRNA 及蛋白表达。同时用二氧化钛作为阴性对照, 以不用粉尘处理的 AM 培养上清液作为正常对照。结果 HSP 27 能被染尘 AMs 诱导表达, 且 mRNA 表达水平和蛋白质表达水平变化趋势一致, 均呈良好的剂量-效应关系。提示 HSP 27 可能参与了矽尘

致肺纤维化过程。

关键词: 矽尘; 人胚肺成纤维细胞; 热休克蛋白

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2009)02-0117-03

以往研究运用双向凝胶电泳/质谱 (2DE/MS) 检测到了染石英粉尘巨噬细胞上清液刺激的人胚肺成纤维细胞 HSP 27 表达的差异, 为了进一步对 2DE 筛出的差异结果进行验证, 且为进行下游差异蛋白质功能的分析打下基础, 我们采用 RT-PCR 及 western blot 技术分别对其 HSP 27 mRNA 及 HSP 27 蛋白质的表达进行了检测, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

收稿日期: 2008-11-12
基金项目: 广西青年科学基金资助 (桂科青 0832047)
作者简介: 张海英 (1973-), 女, 博士, 主要从事职业流行病学与分子毒理学研究。

* 通讯作者, Email: vjia@shmu.edu.cn
©1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net