

纳米偏钒酸钠的 DNA损伤研究

Study on DNA damage of human lymphocytes induced by nano sodium metavanadate

李卫红¹, 李清钊^{2*}, 姚林²

LIWEIHONG, LIQINGCHAO*, YAOLIN

(1 华北煤炭医学院医学实验动物中心; 2 华北煤炭医学院预防医学系, 河北 唐山 063000)

摘要: 采用单细胞凝胶电泳方法用常规偏钒酸钠和纳米偏钒酸钠对人淋巴细胞进行遗传毒性实验, 结果显示均无致突变性, 不同浓度偏钒酸钠对淋巴细胞存活率的影响无明显梯度和差异, 均在 85% 以上。纳米和常规偏钒酸钠对淋巴细胞增殖率的影响亦无明显差异, 无细胞致突变性。

关键词: 纳米; 偏钒酸钠; 细胞毒性

中图分类号: R994 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2010)02-0120-02

纳米材料是指几何尺寸达到纳米级水平, 并具有特殊性能的材料。纳米材料的危害主要体现在对呼吸系统 (特别是动物肺部损伤) 及免疫系统的干扰, 微观上主要是影响细胞表面的功能结构, 进而引起细胞整体代谢紊乱, 诱导细胞的凋亡或坏死^[1]。纳米材料的毒性、安全性研究处于起步阶段, 一些领域还是空白。钒 (Vanadium) 是人体必需的微量元素之一, 有关钒对人体伤害的临床流行病学研究迄今报道较少, 仅对某些临床表现进行了描述^[2]。本研究采用常规偏钒酸钠和纳米偏钒酸钠对人淋巴细胞进行遗传毒性研究, 报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料

健康人全血 20 mL 偏钒酸钠常规材料和纳米偏钒酸钠材料 (粒径 30 nm, 由天津南开大学环境科学学院纳米研究室提供), 实验时采用蒸馏水配置成混悬液; 正常熔点琼脂糖和低熔点琼脂糖, 三羟甲基氨基甲烷 (Tris), 盐酸, NaOH, 普通光学显微镜, DYY-II 17型转移电泳仪, 荧光显微镜及 10、20、100、1 000 μL 微量移液器。

1.2 方法

1.2.1 含纳米材料和常规材料偏钒酸钠的培养基制备 将纳米材料和常规材料偏钒酸钠用 RPMI-1640 分别配成质量浓度为 7.5、75、750 μg/mL 的含偏钒酸钠培养基, RPMI-1640 培养基为阴性对照。

1.2.2 人全血细胞培养 将血液细胞浓度用 RPMI-1640 培养基调整为 10⁶ cell/mL 接种于 12 孔培养板中。分别加入含纳米和常规材料偏钒酸钠 RPMI-1640 培养液 1 mL 染毒 24 h 后回收淋巴细胞并留取培养液, 将培养液离心后进行各项生化指标的测定。

1.2.3 淋巴细胞存活率 染毒方法同 1.2.2 染毒 24 h 后用一次性吸管分别取少量培养液于载玻片上, 滴加少量台盼蓝置于显微镜下用 40 倍镜观察其存活率, 每张玻片观察 100~150 个细胞, 并记录死亡细胞的个数。

1.2.4 纳米和常规偏钒酸钠对淋巴细胞的增殖率 培养 24 h 后淋巴细胞的数量无明显变化, 未表现出增殖作用。

1.2.5 单细胞凝胶电泳实验 取健康人全血 20 mL 分为阴性对照组、常规组和纳米组, 分别配成 7.5、75、750 μg/mL 剂量组, 取干净的磨砂载玻片, 置于水平操作台上, 40℃ 预热, 将 0.6% 的琼脂糖溶化并预热至 45℃。按下述步骤进行铺胶制片: 加 80 μL 0.6% 正常熔点的琼脂糖于载玻片上, 立即加盖玻片, 置 4℃ 下冷却 10 min 使胶凝固。去盖玻片, 加含有 10 μL 全血或细胞的 80 μL 0.6% 正常熔点的琼脂糖, 立即加盖玻片, 置 4℃ 下冷却 10 min 使胶凝固。去盖玻片, 加 80 μL 0.6% 的低熔点琼脂糖, 立即加盖玻片, 置 4℃ 下冷却 10 min 使胶凝固。细胞裂解: 将载玻片水平放入新鲜配置的 4℃ 裂解液中 2 h DNA 解螺旋: 将载玻片取出, 用吸水纸吸干裂解液, 平列置于水平电泳槽的阳极端, 电泳槽内加入预冷的新鲜配置的电泳缓冲液。电泳: 电压 25 V 电流 300 mA 电泳 40 min 电压、电流可通过改变电泳液的液面高度来调节。中和与染色: 电泳后将玻片置于小瓷方盘中, 缓缓加入中和液, 将载玻片浸没, 静置 15 min 用吸水纸将盘内液体吸干, 再缓缓加入无水乙醇浸泡 1 h 吸去乙醇, 每片加 50 μL 溴乙锭, 加盖玻片染色 20 min 4℃ 可保存 6 个月, 用荧光显微镜观察 200 个细胞, 记录细胞的畸形率。

2 结果

2.1 淋巴细胞存活率

由表 1 可见, 存活率常规组和纳米组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 可见偏钒酸钠常规材料与纳米材料 24 h 染毒后对淋巴细胞存活率的影响不很明显, 也无梯度关联和相关性。

表 1 淋巴细胞经常规与纳米材料偏钒酸钠染毒后的存活率

组别	偏钒酸钠浓度 (μg/mL)	观察细胞 数 (只)	存活个数 (只)	存活率 (%)
纳米组	7.5	200	191	95.5
纳米组	75	200	185	92.5
纳米组	750	200	179	89.5
常规组	7.5	200	188	94.0
常规组	75	200	190	95.0
常规组	750	200	192	96.0
阴性对照组	0	200	190	95.0

2.2 单细胞凝胶电泳实验

表 2 可见, 纳米材料和常规材料偏钒酸钠均没有表现出

收稿日期: 2009-07-15 修回日期: 2009-10-19

作者简介: 李卫红 (1973-), 女, 实验师, 研究方向: 实验动物研究。

*. 通讯作者, 高级实验师, 从事毒理学研究。

明显的遗传毒性。

表 2 常规和纳米材料偏钒酸钠单细胞凝胶电泳实验结果

组别	剂量 ($\mu\text{g/ml}$)	淋巴细 胞总数 (个)	拖尾淋 巴细胞 数(个)	细胞拖尾 率(%)	P值
纳米组	7.5	500	26	4.12	< 0.02
	75	500	24	4.80	< 0.05
	750	500	17	3.40	< 0.01
常规组	7.5	500	15	3.00	< 0.05
	75	500	18	3.60	< 0.02
	750	500	26	4.12	< 0.05
阴性对照组		500	29	5.80	< 0.05

3 讨论

纳米粒子也称超微颗粒,按国际标准是指其大小在 0.1~100 nm 间的粒子,处在微观原子簇和宏观物体交界的过渡区域,是一种典型的介观系统,具有比表面积大、表面活性中心多、催化效率高、吸附能力强等优良特性。国内外许多研究表明,纳米粒子的尺寸不同所产生的生物效应也不同,将宏观物质细分成超微颗粒(纳米级)后,其化学、物理性质及生物活性都可能发生改变。钒具有多种生物学功能,为人和动物的必需微量元素。李才等采用钒酸钠 11 和 12 mg/ml 两种剂量,放入饮水中治疗 5 周的 DM 大鼠,结果显示均未引起心、肝、肾脏的功能损害,动物饮用 15 mg/ml 钒酸钠,染毒 9 周大鼠血清 ALT、AST、BUN、C 均不增高,肝、肾的

光镜和电镜观察结果未见组织学改变,说明在实验条件下钒酸钠不引起心、肝、肾组织的损害^[3]。

本实验常规偏钒酸钠是一种易溶于水的晶体,纳米偏钒酸钠是粒径 39 nm 的难溶材料。在培养 24 h 后观察淋巴细胞的存活率都在 85% 以上,表明偏钒酸钠对淋巴细胞的生理毒性不很明显。单细胞凝胶电泳实验的结果显示,纳米和常规材料偏钒酸钠均没有表现出明显的遗传毒性。普遍认为纳米粒子由于粒径小、比表面大、表面原子数增大而易分解,一些原本无毒或者有毒的颗粒材料粒径达到纳米级时毒性明显增强^[4]。纳米材料具有一定的生物活性,由于种类繁多,且理化性质各不相同,即使是同种材料其毒性也可能不同。本实验显示,纳米和常规材料偏钒酸钠对淋巴细胞没有明显的生理毒性和致突变性。

参考文献:

- [1] Fern J, Oberdoster G, Penny D P. Pulmonary retention of ultra fine and fine particles in rats [J]. Am J Respir Cell Mol Biol 1992; 6: 535-542.
- [2] 王川. 纳米生物效应及安全性研究 [J]. 生物学通报, 2006; 9: 53-56.
- [3] 魏磊磊. 钒与人体健康 [J]. 微量元素与健康研究, 2003; 6: 12-14.
- [4] 何继亮. 纳米材料的毒理学研究进展 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006; 8: 502-505.

某医院临床医务人员职业 防护意识调查分析

庞燕, 高云, 李勤, 李锐曦

(重庆市第六人民医院, 重庆 400060)

为了解我院临床医务人员职业防护意识情况,有针对性地实施有效干预,随机抽查 100 名医务人员作为调查对象,进行职业安全防护知识的问卷调查,结果分析如下。

1 对象与方法

随机抽取我院 100 名临床医务人员进行问卷调查,年龄 20~64 (33.37±10.21) 岁。问卷内容: (1) 基本资料,包括年龄、学历、工作年限、专业、职称; (2) 职业防护知识掌握情况,包括洗手指征和标准洗手方法,对血液、体液等意外接触的自我防护意识等。对有效问卷采用 EPIDATA3.1 软件进行双录,以统计软件 SAS 12 进行分析。

2 结果

本次调查发出问卷 100 份,回收有效问卷 98 份,回收率 98%。医务人员职业防护意识与工作年限、年龄、学历、职称比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。医务人员职业防护意识在专业上比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。护士的防护意识最强,医生次之,医技人员较差。

在职业防护意识中,最强的是对血液传播 HIV、HBV 及其血液污染后处理的自我防护 (96.94%),防护意识最差的是在

诊疗中的洗手意识和标准洗手方法的掌握情况 (85.71%)。

3 讨论

3.1 本次调查结果显示,临床医务人员职业防护意识的强弱与工作年限、学历、职称等均无关,但不同专业的临床医务人员对职业防护知识的掌握程度有差异,可能与以下原因有关: (1) 医技人员无菌观念和防护意识淡薄,对危害因素的认识不足; (2) 护理人员与病人面对面的接触较多,无菌观念较强,自我防护意识较强; (3) 在感染控制工作中护士的工作任务较多,从工作中学习的机会增多,从而养成了较强的自我保护意识。

3.2 诊疗和护理每个病人前后的洗手和标准洗手意识较差,手卫生行为受许多复杂因素的影响,执行起来较为困难;同时可能与工作量大、时间紧、病人多、工作人员缺乏有关。

3.3 医务工作者从事的是一种高风险性和高危险性的工作,提高临床医务人员的职业防护意识,应采取以下干预措施: (1) 加强防护教育,树立防护意识,加强医务人员对《医院感染管理规范》中称之为“标准预防”的学习,增强和培养临床医务人员自我防护意识,提高自我保护能力; (2) 认真落实标准,重视预防措施,养成洗手的良好习惯,正确掌握“六步”洗手法,防止病原菌的相互传播; (3) 临床医务人员上岗前应接受各种形式的职业防护知识的培训,并开展各种形式的职业防护知识的继续教育,巩固已建立的职业危害防护体系; (4) 加强职业防护的管理工作,相关职能科室应对临床医务人员进行监督、检查、指导,及时纠正不良工作习惯,改善职业环境,强化医务人员的职业危害防范意识和应对职业危害的心理素质,并定期考核。