氟对大鼠脾脏抗氧化酶活性的影响

Effect of fluorine on anti-oxidases of rats' spleen

刘建东¹, 陈容安²

LIU Jian-dong, CHEN Rong-an

(1. 广东省肇庆卫生学校, 广东 肇庆 526020, 2. 华中科技大学同济医学院劳动卫生与职业病教研室, 湖北 武汉)

摘要: 目的 探讨氟对大鼠脾脏的影响, 方法 选择健康雄性 Wistar 大鼠 24 只, 随机分为实验组和对照组, 每组 12 只。2 个月后处死, 测试骨氟、牙氟含量, 脾脏组织液 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量, 脾脏脏器系数。结果 实验组骨氟、牙氟及 MDA 含量明显高于对照组 ($P < 0.01$), 实验组 SOD、GSH-Px 活性和脾脏脏器系数显著低于对照组 ($P < 0.01$)。结论 氟对大鼠脾脏有毒性作用。

关键词: 氟; 脾; 抗氧化酶

中图分类号: Q553 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2002)04-0234-02

脾脏是体内最大的外周淋巴器官, 具有造血、滤血及参与免疫反应等功能。国内外大量研究显示, 氟对淋巴细胞有毒作用。但氟对脾脏的作用未见报道。本文就氟对脾脏的影响作了初步研究。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用健康雄性 Wistar 大鼠 (140~150 g) 24 只, 随机分为实验组和对照组, 每组 12 只。采用自由式饮水染毒。实验组动物饮含 180 mg/L F^- 的溶液, 对照组饮自来水。观察 60 天后, 断头处死, 测试有关指标。

1.2 组织处理

1.2.1 脾脏组织液的制备 动物处死后, 立即取出脾脏, 用冷 Hanks 液洗净脾脏表面的血液。剔去结缔组织。按质量:体积=1:3 将脾脏置于盛有 0.25 mmol/L 蔗糖溶液的匀浆管内。用组织匀浆器以 10 000~12 000 r/min 匀浆, 至无肉眼可见组织残块。取 1 ml 匀浆液, 置离心管内, 在 4 °C 条件下, 2 000 r/min 离心 10 min。上层液即为组织液。

1.2.2 骨、牙的处理 动物处死后, 取右侧股骨和门牙, 去除软组织和骨髓。用去离子水洗净。110 °C 烘干 2 h, 钳碎, 称质量。置坩埚内, 于电炉上 300~400 °C 炭化。后置马福炉内, 650 °C 灰化 8 h, 冷却后取出, 于碾钵中碾成粉末。取 0.2 g 粉末, 置 25 ml 带塞刻度试管内, 加浓 HCl 1.5 ml, 使骨灰完全溶解。再加入 6 N NaOH, 调 pH 值至 3~4, 加水至 15 ml。取该溶液 10 ml, 加 10 ml TISAB。用氟离子选择电极测定 F^- 浓度。

1.3 测试指标

1.3.1 骨氟、牙氟含量 用氟离子选择电极法测定。

1.3.2 脾脏组织液 SOD (亚硝酸盐法)、GSH-Px (二硝基苯甲酸法) 活性、MDA 含量 (硫代巴比妥酸法) 用南京聚力生物医学工程研究所的试剂盒测试。

1.3.3 脾脏脏器系数 用体重计和天平测定。

1.4 数据处理 t 检验。

2 结果

2.1 骨氟、牙氟含量 见表 1。

表 1 两组动物骨氟、牙氟含量

($\bar{x} \pm s$, mg/kg 组织干质量)

组别	n	骨氟含量	牙氟含量
实验组	12	4 341.25±428.90*	1 836.25±509.23*
对照组	12	641.25±78.18	101.15±28.15

*与对照组比较 $P < 0.01$ 。

表 1 显示, 实验组动物的中毒模型已建立, 可以作相关指标的测试。

2.2 脾脏组织液 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量 见表 2。

表 2 两组动物脾脏组织液 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD 活性 (U/ml)	GSH-Px 活性 (U/ml)	MDA 含量 (nmol/ml)
实验组	12	253.99±99.29*	11.75±4.23*	6.23±1.10*
对照组	12	359.02±48.35	22.75±7.15	3.67±0.82

*与对照组比较 $P < 0.01$ 。

表 2 说明氟可致脾脏抗氧化酶活性下降, 而使脾脏受损。进一步引起脂质过氧化物的代谢产物 MDA 含量上升。

2.3 实验组和对照组动物脾脏脏器系数

实验组大鼠的脾脏脏器系数 (0.24 ± 0.04) 小于对照组 (0.39 ± 0.08) ($P < 0.01$)。说明氟对大鼠的脾脏发育有抑制作用。

3 讨论

氟在体内蓄积的主要组织是骨骼^[1,2]。氟对机体损伤的主要临床表现为氟骨症和氟斑牙。因此, 在动物实验中, 常以骨氟的含量作为氟中毒模型建立与否的依据。本实验中, 实验组动物骨氟、牙氟的含量高于对照组, 且有统计学意义。说明氟中毒模型已建立。

脾是体内最大的外周淋巴器官, 具有造血、滤血、清除衰老血细胞及参与免疫反应等功能。在脾内有大量 B 细胞和 T 细胞, 是活化 T 细胞和 B 细胞及进行免疫应答的重要场所^[3]。大量的研究显示^[4], 氟对淋巴细胞有毒性作用, 主要表现为

收稿日期: 2001-10-25; 修回日期: 2001-12-20

作者简介: 刘建东 (1969-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 职业中毒。

减少淋巴细胞含量,降低淋巴细胞功能及对淋巴细胞结构造成损伤。作为一个重要的免疫器官,脾在对淋巴细胞的损伤作用中起着重要的作用。本研究显示,氟可降低脾脏组织中抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 的活性,增加脂质过氧化产物的含量,还能减缓脾脏的生长发育。

近年来的研究表明,机体的衰老、损伤很多是由于机体产生过多的自由基造成的^[5]。SOD 和 GSH-Px 是清除自由基、抗组织氧化的两个非常重要的酶。MDA 是组织脂质过氧化的中间产物。本文中 SOD、GSH-Px 活性的降低及 MDA 含量的增高表明氟对脾脏有着明显的毒作用,这种毒作用势必会影响到淋巴细胞正常的发育及免疫应答。除此之外,也会影响到脾脏的其他功能。另外,氟对脾脏的生长发育也有抑制作用。这种抑制作用也是影响淋巴细胞免疫功能及脾脏其他功能的

重要因素。

参考文献:

- [1] Largent EJ. Fluoride and compounds luigi pameggiani, eneyelopædia of occupational health and safety [M]. Third Edition (Revised). Switzerland; ILO Geneva, 1983. 891.
- [2] 朱育慧. 地方病学(中国医学百科全书)[M]. 上海: 上海科技出版社, 1985. 36.
- [3] 龙振洲. 医学免疫学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 96.
- [4] 宋世震. 氟对淋巴细胞毒性的研究近况[J]. 中国地方病防治杂志, 1995, 10(3): 156-158.
- [5] 方允中. 自由基生命科学进展(第3集)[M]. 北京: 原子能出版社, 1994. 10.

1, 2, 4-三氯苯对小鼠抗氧化能力的影响

The effect of 1, 2, 4-trichlorobenzene on antioxidation ability of mice

范来富¹, 梁英杰¹, 李革新¹, 李建明², 王慧敏³

FAN Lai-fu¹, LIANG Ying-jie¹, LI Ge-xin¹, LI Jian-ming², WANG Hui-min³

(1. 中国医科大学公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110001; 2. 沈阳陶瓷医院; 3. 沈阳市疾病预防控制中心)

摘要: 目的 通过测定 1, 2, 4-三氯苯(1, 2, 4-TCB)染毒小鼠全血及组织中超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GSH-Px)活力的变化, 探讨三氯苯对抗氧化能力的影响, 采用经后肢皮下注射染毒法, 于小鼠染毒 24 小时后采集血样, 摘取肝、肾、心和脑并制成匀浆, 分别测定全血及组织中 SOD 和 GSH-Px 活力的变化。结果: 在肝脏高剂量组和脑高、中、低剂量组 SOD 活力显著升高。在全血高、中、低剂量组, 肝脏的高和中剂量组, 肾脏的高、中、低剂量组 GSH-Px 活力均显著降低, 脑的高剂量组 GSH-Px 活力显著升高。结论 1, 2, 4-TCB 能导致肝脏和脑中 SOD 活力及脑中 GSH-Px 活力代偿性升高, 血液、肝脏和肾脏 GSH-Px 活力显著下降。

关键词: 1, 2, 4-三氯苯; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号: Q553 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2002)04-0235-02

1, 2, 4-三氯苯是工业合成的中间产物, 由六六六在热解釜中加热热解而制得^[1], 也可由六六六无效体与石灰乳共热而制得。在工业上具有广泛的用途, 在三氯苯的三种同系物中其毒性仅次于 1, 2, 3-TCB。目前有一定量的该物质 1, 2, 4-TCB 存在于自然环境和生产环境中。美国环境保护局(EPA)已将其列入重要环境污染物质清单。根据目前研究, 自由基与

人类健康和疾病关系十分密切, 而超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶是体内一种重要的自由基清除剂, 所以本试验通过测定染毒小鼠体内 SOD 和 GSH-Px 活力的变化, 探讨 1, 2, 4-TCB 对机体的毒性, 为研制国家卫生标准提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物分组

选取健康成年小鼠 32 只, 体质量(30±3)g(中国医科大学实验动物部提供), 按体质量大小顺序随机分成 4 组: 对照组、实验组 1(低剂量组)、实验组 2(中剂量组)、实验组 3(高剂量组), 每组 8 只, 雌雄各半。

1.2 染毒方式与剂量

经后肢皮下注射染毒。实验组 1、实验组 2、实验组 3 的染毒剂量分别为 1 400 mg/kg、2 800 mg/kg、4 200 mg/kg。对照组注射等量的生理盐水。

1.3 实验器材与试剂

1.3.1 实验器材

722 型分光光度计(上海第三分析仪器厂制造)、LxJ II 型离心机(上海医用分析仪器厂制造)、三用电热恒温水浴箱(北京长安科学仪器厂制造)、分析天平、586 型计算机等。

1.3.2 实验试剂

黄嘌呤氧化酶(日本株式会社提供)、还原型谷胱甘肽(GSH)(日本和光株式会社)、DTNB(美国 SIGMA 公司), 其余均为分析纯。

1.4 受试物

1, 2, 4-TCB(分析纯, 北京旭东化工厂)。

1.5 测定方法

收稿日期: 2001-09-27; 修回日期: 2001-12-31

作者简介: 范来富(1944-), 男, 山西太原人, 教授, 研究方向: 有机化学物毒理及卫生标准研制。