基础研究 文章编号:0253-3626(2010)06-0819-03

多环芳烃类对人群血浆中单胺类神经递质的影响

何丽君[1],汤 艳[2],何志军[3],何平中[3],涂白杰[1]

(1. 重庆医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室,重庆 400016;2. 泸州医学院公共卫生系环境卫生与劳动卫生教研室,泸州 646000 3. 重钢劳动卫生研究所,重庆 400080)

【摘 要】目的:探讨多环芳烃类(Polycylic aromatic hydrocarbons,PAHs)对接触人群血浆中单胺类神经递质的影响。方法:选取80名某钢铁公司焦化厂健康成年男性焦化作业工人作为接触组,80名氧气厂一般情况相近的工人作为对照组。使用高效液相-荧光测定法检测作业环境中苯并芘(Benzo[a]pyrene,B[a]P)浓度、高效液相-荧光测定法检测尿中 1-羟基芘(1-hydroxypyrene,1-OHP)水平、高效液相-电化学检测法测定血浆中去甲肾上腺素(Noradrenaline,NE)、肾上腺素(Adrenaline,AD)、多巴胺(Dopamine,DA)和五羟色胺(Serotonin,5-HT)含量。结果:作业环境中 B[a]P 浓度接触组明显高于对照组($P<0.05$)。与对照组相比,接触组尿中 1-OHP 含量、血浆中 NE、DA、5-HT 含量明显增高($P<0.05$),AD 含量无明显变化,并且 NE、DA、5-HT 含量与尿中 1-OHP 含量存在回归关系($P<0.05$)。结论:PAHs 可致接触人群中单胺类神经递质升高的改变。

【关键词】多环芳烃;苯并芘;1-羟基芘;单胺类神经递质

【中国图书分类法分类号】R135.99 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-18

Effects of polycylic aromatic hydrocarbons on plasma monoamine neurotransmitters

HE Li-jun, et al

(*Department of Occupational and Environmental Medicine, College of Public Health, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the effect of polycylic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plasma monoamine neurotransmitters. *Methods*: 80 healthy adult male coke oven workers were selected from a coke plant of a state-owned steel enterprise, 80 controls were selected from the oxygen factory. Concentration of benzo[a]pyrene(B[a])P in the working environment was monitored by high performance liquid chromatography(HPLC) with fluorescence detector. The level of urinary 1-hydroxypyrene(1-OHP) was determ ined by HPLC with fluorescence detector.The plasma noradrenaline(NE), adrenaline(AD), dopamine(DA)and serotonin (5-HT)levels were measured by high performance liquid chromatography (HPLC) with electrochemical detection. *Results*: In the working environment of B[a]P, concentration in coke oven workers were significantly higher than controls ($P<0.05$).The urinary 1-OHP concentrations in coke oven workers were significantly higher than controls ($P<0.05$).The plasma NE, DA, 5-HT levels in coke oven workers were significantly higher than controls($P<0.05$), the plasma A level have no significant difference, and results of correlation analysis showed that positive correlation between the plasma NE, DA, 5-HT levels and the urinary 1-OHP concentrations. *Conclusion*: PAHs may cause an increase of plasma monoamine neurotransmitters in exposed population group.

【Key words】Polycylic aromatic hydrocarbons; Benzo[a]pyrene; 1-hydroxypyrene; Monoamine neurotransmitters

当今多环芳烃类(Polycylic aromatic hydrocarbons,PAHs)污染已经成为中国人以至于全人类健康最主要的危害之一。以苯并芘(Benzo[a]pyrene,B[a]P)为代表的 PAHs 是已确认的致癌物,可诱发皮肤癌、肺癌、直肠癌、胃癌、膀胱癌等[1,2]。另外有研究表明 B[a]P 等 PAHs 类化合物还具有中枢和周围神经毒性。Harkitis 等发现 10 mg/kgB[a]P 大鼠腹膜内注射后可改变海马区多巴胺(Dopamine,DA)的活性,使下丘脑和海马区去甲肾上腺素(Noradrenaline,NE)水平增高,而对五羟色胺(Serotonin,5-HT)的水平及活性无影响。即使是相对低浓度的 B[a]P,也能导致海马区和下丘脑儿茶酚胺类物质的改变,这对于相关器官的生理机能还有认知功能和内环境的稳定是至关重要的[3]。目前关于 PAHs 神经毒性机制的研究主

作者介绍:何丽君(1981-),女,硕士,研究方向:职业与环境毒理学。

通讯作者:涂白杰,男,教授,E-mail:Baijietu@163.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30671744)。

要集中在动物实验,对于人群的研究很少见。为更好的评估 PAHs 对人群神经毒性的影响,本研究拟观察 PAHs 对接触人群血浆中单胺类神经递质的影响。

1 对象与方法

1.1 对象

选取 80 名某钢铁公司焦化厂健康成年男性焦化作业工人作为接触组,平均年龄(41.16 ± 9.43)岁,平均工龄(8.84 ± 7.66)年,未接触铅、汞、等其他导致神经行为功能受损的职业性有害因素。以氧气厂 80 名工人作为对照组,平均年龄(38.61 ± 9.62)岁,平均工龄(9.86 ± 8.33),且没有接触过任何其他神经毒性物质。两组在年龄、工龄、文化程度,饮酒、吸烟,饮食等方面均衡可比。所有研究对象无神经、精神病史和家族史;无重大精神打击史;测试前两周内未服用影响神经系统功能药物,无酗酒和过度吸烟。

1.2 方法

1.2.1 作业环境中 B[a]P 浓度测定 分别在接触组的炉顶、炉侧、炉底和对照组工作场所各选取 3 个采样点,每个采样点放置 3 台粉尘采样器,流量 20 L/min,采样 1 d,连续采样 4 h,用高效液相—荧光测定法检测作业环境中 B[a]P 浓度[4]。

1.2.2 尿中 1-OHP 水平测定 用聚乙烯塑料瓶收集研究对象班末尿,参照李晓华等[5]的方法对尿样进行前处理,尿样充分摇匀后,立即取出 2 ml 置于 10 ml 具塞比色管中,加入 0.6 g/ml 的氢氧化钠溶液 0.5 ml,混匀后于管式加热器上 100℃避光水解 3.5 h。水解结束后加入 100 μg/ml 的内标溶液 50 μl,用盐酸调节 pH 3~5。加入 4 ml 二氯甲烷,在旋涡混匀器上混匀 3 min,分取二氯甲烷约 3 ml,室温下吹氮浓缩至近干。残渣用 0.2 ml 甲醇/水(75/25)溶解,取 10 μl 进行高效液相-荧光检测分析。以保留时间定性,内标法峰面积定量。流动相:甲醇/水 =75/25,流速 1.0 ml/min。荧光检测器波长:λ ex/λ em = 346/386 nm。所测尿 1-OHP 浓度尿肌酐含量校正(肌酐含量用医院常规检测方法测得),而后进行对数变换。

1.2.3 血浆中单胺类神经递质的测定 采血前 3 d 研究对象避免饮酒、高脂和高酪胺饮食,抽取清晨空腹静脉血 5 ml 置于肝素抗凝管中,4℃,3 000 r/min,离心 5 min。取血浆 1 ml,加纯水 1 ml,再加入 1.5Tris.HCl 2 ml,混匀后加入 Al_2O_3 40 mg,混匀静置 5 min,去上清液,分别加纯水 3 ml,清洗 2 次,用滤纸吸干水分后加入 0.1 mol/L HCl 100 μl,轻轻混匀静置 5 min,3 000 r/min 离心,标本由 5600 A-HLP 库伦阵列电化学分析仪(美国 esa 公司)检测,标准品购自美国 Sigma 公司。色谱柱:MD-150;流动相:60 mmol/L NaH_2PO_2,1.5 mmol/L 辛基磺酸钠,50 μmol/L EDTA,9% 乙腈,pH 3.5;流速:0.6 ml/min;电压:CH1:-100 mV,CH2:+100 mV,CH3:+300 mV,CH4:+500 mV。以保留时间定性,外标法峰面积定量。

1.3 统计学分析

所有数据用 SPSS10.0 统计学软件包进行分析,用两样本的 t 检验、方差分析和多元线性回归进行检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 环境中 B[a]P 浓度

数据经方差分析,方差齐同 $P=0.057$,由表 1 可见接触组作业环境中 B[a]P 浓度由炉底到炉顶逐渐升高,且超过国家职业卫生标准(<0.15 μg/m³)。

2.2 尿中 1-OHP 水平

数据经 t 检验,由表 2 可见接触组人群尿中 1-OHP 水平明显高于对照组($P<0.05$)。

2.3 血浆中单胺类神经递质

数据经 t 检验,由表 3 可见,与对照组比较,接触组的 NE、DA、5-HT 含量明显增高($P<0.05$),AD 含量无明显变化($P>0.05$)。

2.4 尿中 1-OHP 水平与血浆中单胺类神经递质的线性回归分析

数据经多元线性回归分析,由表 4 可见,血浆中 NE、DA、5-HT 与尿中 1-OHP 水平存在回归关系,而 AD 与尿中 1-OHP 水平无回归关系。

表 1 2 组作业环境中 B[a]P 浓度结果

分组	苯并芘浓度(μg/m³)	苯并芘超标倍数
炉顶接触组	2.47 ± 1.97#*Δ	16.4
炉侧接触组	0.42 ± 0.50#*	2.8
炉底接触组	0.27 ± 0.33#	1.8
对照组	0.025 ± 0.008	0

注:# 与对照组比较 $P<0.05$,* 与炉底比较 $P<0.05$,Δ 与炉侧比较 $P<0.05$

表 2 尿中 1-OHP 水平结果

分组	人数	1-OHP(μmol/L 肌酐)
接触组	80	3.65 ± 1.51
对照组	80	1.62 ± 1.05
t		4.527
P		0.000 1

表 3 2 组血浆中单胺类神经递质检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

分组	人数	NE(ng/ml)	AD(ng/ml)	DA(ng/ml)	5-HT(ng/ml)
接触组	80	37.81 ± 25.99	11.43 ± 11.91	104.44 ± 52.80	10.46 ± 10.77
对照组	80	18.44 ± 12.24	8.03 ± 5.61	52.17 ± 32.21	4.53 ± 4.98
t		3.014	1.153	4.104	2.233
P		0.005	0.256	0.001	0.032

表 4 尿中 1-OHP 水平与血浆中单胺类神经递质关系

因变量	R^2	F	自变量	β	t	P
1-OHP	0.766	12.305	NE	0.520	2.208	0.043
			AD	-0.079	-0.383	0.707
			DA	0.490	3.183	0.006
			5-HT	0.417	2.584	0.021

3 讨 论

煤焦生产过程中会产生大量的焦炉逸散物,焦炉逸散物包含多环芳烃、苯系物、CO 等多种化学物质。陈波[6]等研究发现炉顶工总 PAHs 和 B[a]P 的时间加权平均浓度(8 h.TWA)比对照组分别高 270 倍和 102 倍。并且在 PAHs 职业暴露等级评定中以 B[a]P 当量浓度来精确描述 PAHs 的接触特性[7],本研究通过检测也发现接触组焦炉工人作业环境中 B[a]P 浓度明显高于对照组,并且从炉底到炉顶浓度逐渐升高,而且都超过了职业卫生标准。有研究表明尿中 1-OHP 作为个体 PAHs 暴露的评价非常有价值[8],本次研究选择了 1-OHP 作为接触指标,结果显示尿液中 1-OHP 水平明显高于对照组,与环境检测结果相一致,因此说明接触组吸收入体内的 PAHs 较对照组多,产生的毒性也相对较大。

B[a]P 是分子结构中含有 5 个苯环的亲脂性碳氢化合物,容易聚集在含脂质成分较多的神经组织,其化学结构与理化特性提示其具有神经毒性。David 等报道,B[a]P 染毒的动物,其中枢和外周神经组织中 B[a]P 及其代谢产物均可达到较高的浓度,表明 B[a]P 及其代谢物除易于被吸收进入外周神经组织外,还极易透过血脑屏障进入中枢神经组织[9]。袁海燕等发现 BaP 能透过血脑屏障到达脑组织,主要分布和贮存于纹状体,具有一定的中枢神经毒性[10]。大量实验和人群资料表明,以 B[a]P 为代表的 PAHs 具有一定的神经毒性,其中最为突出的是影响暴露者的学习记忆能力。聂继盛等发现相对于对照组工人,焦炉工学习、记忆力、听感觉等方面能力有所下降[11]。而研究表明学习记忆机制与递质和神经肽[12]有关。单胺类神经递质则是在中枢神经系统内一大类与学习记忆相关的物质。有研究发现小鼠腹膜内注射 B[a]P,可引起下丘脑和纹状体内 NE、DA 和 5-HT 增多,且在同一脑区 DA,5-HT 和它们的主要代谢产物 DOPAC 和 5-HIAA 含量均增高,表明 B[a]P 可改变多个脑区生物胺的水平[13]。本课题组前期研究也发现初断乳雄性 Wistar 大鼠分为 5 组:空白对照组、溶剂对照组、B[a]P 高浓度组、中浓度组和低浓度组。每周 5 次定时腹腔注射,连续 13 周(90 d),B[a]P 暴露组 NE、DA、DOPAC 和 5-HT 都较对照组显著增加($P<0.05$),随着 B[a]P 剂量的增加各指标有增加的趋势,且各剂量组间差别有显著性意义($P<0.05$)[14]。

在本次研究中发现接触组血浆中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 水平明显高于对照组,AD 无变化,说明 PAHs 可能对接触人群血浆中单胺类神经递质的改变有影响,通过尿中 1-OHP 水平和各个单胺类神经递质的多元回归分析得出,NE、DA、5-HT 与 1-OHP 存在回归关系,进一步说明了 PAHs 可能导致接触人群血浆中单胺类神经递质的升高,从而产生神经毒性,导致接触人群的学习记忆能力下降,因此接触组的临床表现还在继续随访中。至于 PAHs 导致血浆中单胺类神经递质升高的机制目前还不清楚,有待于进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Knafla A, Phillipps K A, Brecher R W, et al. Development of a dermal cancer slope factor for benzo[a]pyrene[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2006, 45(2): 159-168.

[2] Enomoto M, Tierney W J, Nozaki K. Risk of human health by particulate matter as a source of air pollution-comparison with tobacco smoking[J]. J Toxicol Sci, 2008, 33(3): 251-267.

[3] Harkltis P, Tzirna P, Marselos M, et al. Alterations in brain neurotransmitters in B(a)P exposed rats: Role of D2 receptors. Review of clinical phannacology and pharmacokinetics[J]. Iniemational Edition, 2004, 18(1): 117-120.

[4] 工作场所空气有毒物质测定多环芳香烃化合物. 中华人民共和国卫生部.GBZ/T 160.44-2004.北京:人民卫生出版社.2006.

[5] 李晓华,冷曙光,郭 君,等.改良的高效液相色谱法测定尿中 1-羟基芘[J].卫生研究,2003,32(6):616-617.

[6] 陈 波,郑力行,潘举升,等.某焦化厂职业接触多环芳烃焦炉工某些酶活性的变化[J].卫生研究,2006,35(3):264-268.

[7] 陈 波,郑力行,胡云平,等.焦炉工职业性多环芳烃暴露特征的研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,2004,22(5):327-330.

[8] 王 劲,闰卫利,郜舟顺,等. 尿中 1-羟基芘作为焦炉工多环芳烃暴露监测指标研究[J].职业卫生与病伤,2006,21(1):8-9.

[9] Moir D, Viau A, Chu I, et al. Pharmacokinetics of benzo [a]pyrene in the rat[J]. J Toxicol Environ Health, 1998, 53(7): 507-530.

[10] 袁海艳, 汤 艳, 程淑群, 等. 14C 苯并[a]芘在 SD 大鼠纹状体的动态分布研究[J].重庆医科大学学报,2009,34(6):20-22.

[11] 聂继盛,张红梅,孙建娅,等.焦炉作业工人神经行为功能改变的特征分析[J].中华预防医学杂志,2008,42(1):25-29.

[12] Unni V K, Zakharenko S S, Zablow, et al. Calcium release from presynaptic ryanodine-sensitive storesis required for long-term depression at hippocampal CA3-CA3 pyramidal neuron synapses[J]. J Neuro Sci, 2004, 24(3): 9612-9622.

[13] Jayasekala S, Sharma R P, Drown D B. Effects of benzo[alpyrene on steady-state levels of biogenic amines and metabolizing enzymes in mouse brain regions[J]. Ecotoxicol Environ saf, 1992, 24(1): 1-12.

[14] 程淑群. 苯并[a]芘对大鼠学习记忆的影响及其机制研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2009.

(责任编辑:冉明会)