

· 调查报告与分析 ·

低浓度砷暴露者皮肤损害及 DNA 氧化损伤*

徐文超¹, 李勇¹, 李云云¹, 张晶¹, 马智峰¹, 马宁², 马彩凤¹, 云奋¹, 裴秋玲¹

摘要:目的 探讨女性慢性低浓度砷(As)暴露者皮肤损害情况及与 DNA 氧化损伤的关系。方法 选择山西大同某村长期饮水型低 As 暴露女性 54 人(病例组)和经济水平相近的邻村女性 18 人(对照组)作为研究对象,测定当地水 As 及研究对象体内尿 As 水平;并测定尿中 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)水平。结果 低 As 暴露组人群体内尿 As 平均水平为(13.99 ± 4.65) μg/gCr,尿 8-OHdG 平均水平为(8.61 ± 4.51) ng/mgCr,均高于对照组($P < 0.05$);尿中 8-OHdG 与尿 As 水平呈正相关($r = 0.893, P < 0.05$);尿中 8-OHdG 水平与水 As 暴露程度呈正相关($r = 0.847, P < 0.05$);尿 8-OHdG 水平较高者发生皮肤损害的危险性是较低者的 2.838 倍($OR = 2.838, P < 0.05$)。结论 低浓度砷 As 暴露可致机体产生 DNA 氧化损伤;尿 8-OHdG 可作为一个稳定的 As 致氧化损伤生物标志物。

关键词:低浓度砷(As)暴露;皮肤损害;8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG);氧化损伤

中图分类号: R 599.1; R 114

文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2013)04-0573-03

Correlation between skin lesion and DNA oxidative damage in women exposed to low concentration arsenic

XU Wen-chao*, LI Yong, LI Yun-yun, et al(* Department of Health Toxicology, College of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi Province 030001, China)

Abstract: Objective To explore the correlation between skin lesion and DNA oxidative damage in the women exposed to low concentration arsenic. **Methods** Fifty-four female cases exposed to arsenic in drinking water and 18 females controls were investigated. The urine samples were collected from the females and measured for urinary total arsenic and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG). **Results** The average total urinary arsenic was 22.90 ± 6.41 μg/gCr and the average content of 8-OHdG was 11.78 ± 2.95 μg/gCr for the chronic arsenic exposure, both of them were significantly higher than those of the control. Significant positive correlations were found between urinary 8-OHdG and total arsenic($r = 0.893, P < 0.05$) as well as urinary 8-OHdG and the grade of skin lesion($r = 0.847, P < 0.05$). The level of urinary 8-OHdG was associated with an increased risk of skin lesion in arsenic exposed cases (odds ratio = 2.838, $P < 0.05$). **Conclusion** A clear dose-response relationship was observed between low arsenic exposure and skin lesion. The results suggest low arsenic exposure could lead to oxidative DNA damage and 8-OHdG can be used as a stable biomarker for arsenic-induced oxidative damage.

Key words: low arsenic exposure; skin lesion; 8-OHdG; oxidative damage

慢性饮水型砷(arsenic, As)中毒因其波及面广,影响人数众多,后果严重,已成为中国乃至世界备受关注的公共卫生问题之一。研究表明,氧化应激可能是慢性饮水 As 中毒致小鼠机体损伤的机制^[1],体内外试验也发现 As 暴露可诱导 DNA 氧化损伤^[2-3]。8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG)是活性氧自由基攻击 DNA 鸟嘌呤第 8 位碳原子产生的一种氧化性加合物,是活性氧基团引起的 DNA 氧化损伤修饰产物之一,在多种与氧化损伤关系密切的疾病中,均可发现 8-OHdG 水平增高^[4]。本研究通过比较山西大同某村慢性饮水型低浓度 As 暴露女性人群与对照女性人群皮肤损伤情况、尿中总 As 水平及尿中 8-OHdG

含量,探讨长期低浓度饮水 As 暴露女性皮肤损害和 DNA 氧化损伤的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 于 2011 年,选择山西省大同市某村作为调查点,该地区居民日常饮用水 As 浓度范围为 1.01 ~ 196.45 μg/L,平均浓度为 33.63 μg/L,中位数为 29.85 μg/L。选取平均年龄(37.0 ± 4.2)岁女性居民作为研究对象,参照文献[5]分为高暴露组(水 As ≥ 50 μg/L)15 人、中暴露组(水 As 30 ~ 49 μg/L)19 人、低暴露组(水 As 10 ~ 29 μg/L)20 人,共 54 人;在经济水平相近的邻村选择年龄段相近的非饮水型 As 暴露健康女性 18 人作为对照组,年龄(38.0 ± 3.8)岁。由经过培训的皮肤科医生参照标准^[5]确定 As 中毒性皮肤损害。使用自行设计调查表,进行临床体检、流行病学调查。一次性采集当地居民井水、患者晨尿分别装入经过 3% 酸洗的洁净塑料试管中,迅速放入 4 °C 冰箱, -80 °C 冰箱冻存,待测。

* 基金项目: 山西省留学人员科研资助项目(2009-45); 山西省科技攻关项目(2006031087-11)

作者单位: 1. 山西医科大学公共卫生学院毒理教研室, 山西太原 030001; 2. 日本铃鹿医疗科学大学

作者简介: 徐文超(1986-), 男, 江苏常州人, 硕士在读, 研究方向: 环境毒理学。

通讯作者: 裴秋玲, E-mail: 924969007@qq.com

1.2 主要仪器与试剂 AF-610A 型原子荧光光谱仪、As 特种空心阴极灯(北京瑞利分析仪器公司); 1-14 小型台式离心机(德国 Sigma 公司); Bio-rad680 酶标仪(美国 Bio-rad 公司); 8-OHdG 检测试剂盒(日本老化制御研究所); 盐酸、硼氢化钾、硫脲、抗坏血酸、高氯酸、浓硝酸均为优级纯(北京化工厂)。

1.3 水 As 及尿总 As 检测 水样处理:取 1 mL 水样于比色管中,加入 2.5 mL 硫脲-抗坏血酸混合试剂,用盐酸定容至 10 mL。尿样处理:将尿样 1 mL 加硝酸、高氯酸混合液(1:3)1 mL,95 °C 热消解 3h,直至液体无色透明,再加入 2.5 mL 硫脲-抗坏血酸混合试剂,用盐酸定容至 10 mL。用原子荧光光谱仪检测。所有样品的各项指标均进行平行测定,每批样品测定时均以标准溶液做标准曲线,并做加标回收率(97%~101%)试验和空白对照试验。用苦味酸法检测尿中肌酐(creatinine, Cr)水平,以 Cr 校正后的数值作为尿中总 As 终值,单位为 $\mu\text{g/gCr}$ 。

1.4 尿中 8-OHdG 检测 尿样从 -80 °C 冰箱取出,室温解冻,2 000~5 000 g 离心 10~15 min,取上清 100 μL ,采用 8-OHdG 试剂盒进行检测,每个样本做 2 个平行样,以酶联免疫吸附法在酶标仪上进行测定。用 Cr 进行校正,单位为 ng/mgCr 。

1.5 统计分析 采用 SPSS 13.0 统计软件,以 Fisher's 精确概率法分析研究人群特征;以单因素方差分析比较尿 As 及尿 8-OHdG 水平差异,以最小有意义差异 t 检验(LSD- t)进行两两比较;以 Pearson 相关分析尿 As 与尿 8-OHdG 水平之间的相关性;以单因素 logistic 回归分析尿中 8-OHdG 水平与皮肤损害关系。

2 结果

2.1 调查对象基本特征 As 暴露组人群与对照组人群之间吸烟($P=0.584$)、饮酒($P=0.161$)、进食肉类($P=0.367$)、进食蔬菜($P=0.584$)等生活习惯差异均无统计学意义。

2.2 As 暴露人群尿 As 与尿 8-OHdG 水平(表 1) As 暴露组人群尿 As 及尿 8-OHdG 值均高于对照组($t=2.3803, 3.0298, P<0.05$);高 As 暴露组人群尿 As 及尿 8-OHdG 值均高于中、低 As 暴露组($t=3.5485, 3.3564, 2.9678, 3.0377, P<0.05$)。

2.3 尿 8-OHdG 水平与皮肤损害关联性(表 2) 在排除日常饮食习惯、年龄等可能混杂因素前提下,将 54 名饮水 As 暴露人群按尿中 8-OHdG 水平由低到高分 3 组(每组 18 人),采用单因素 logistic 回归模型对尿 8-OHdG 水平与皮肤损害的关联性进行

分析,结果显示,尿中 8-OHdG 水平较高者发生皮肤损害的危险性是较低者的 2.838 倍($OR=2.838, P<0.05$)。

表 1 不同 As 暴露人群尿 As 及 8-OHdG 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别($\mu\text{g/L}$)	人数	尿 As ($\mu\text{g/gCr}$)	8-OHdG (ng/mgCr)
对照组	18	4.61 \pm 2.38	2.09 \pm 0.97
砷暴露组 10~29	20	13.99 \pm 4.65 ^a	8.61 \pm 4.51 ^a
30~49	19	21.37 \pm 6.33 ^{ab}	11.46 \pm 1.80 ^{ab}
≥ 50	15	36.80 \pm 8.87 ^{abc}	16.42 \pm 2.32 ^{abc}

注:与对照组比较, a $P<0.05$;与 10~29 $\mu\text{g/L}$ 砷暴露组比较, b $P<0.05$;与 30~49 $\mu\text{g/L}$ 砷暴露组比较, c $P<0.05$ 。

表 2 尿 8-OHdG 水平与皮肤损害关联性($n=18$)

8-OHdG 水平(中位数, $\mu\text{g/L}$)	范围($\mu\text{g/L}$)	皮损人数	构成比(%)
4.68	1.279~6.412	7	38.9
7.94	6.484~10.098	12	66.7
11.07	10.125~15.253	15	83.3

2.4 尿 8-OHdG 与水 As、尿 As 的关系 将水 As 暴露程度进行分级,并与校正后的尿 8-OHdG 进行 Spearman 等级相关分析显示,尿中 8-OHdG 水平与水 As 暴露程度呈正相关($r=0.847, P<0.05$);Cr 校正后尿中 8-OHdG 与尿 As 水平呈正相关($r=0.893, P<0.05$)。

3 讨论

国内外研究发现,水 As 暴露水平、尿 As 水平与体内 8-OHdG 值均呈正相关^[6-8]。在高浓度饮水 As 暴露情况下,细胞中活性氧自由基产生增多^[9],未及时发现清除的自由基影响到 DNA 的甲基化过程^[10],最终对机体产生严重氧化损伤。本研究结果显示,低砷饮水暴露(平均浓度为 33.63 $\mu\text{g/L}$),女性人群体内 8-OHdG 水平与 As 体内、外暴露程度均呈正相关,即在低浓度水 As 暴露下,女性暴露者体内也会发生氧化损伤,并且氧化损伤发生的风险会随 As 暴露水平的增加而增大。但 Carrie 等^[11]对孟加拉国巴布纳地区(水 As 平均浓度为 64.7 $\mu\text{g/L}$)的 97 例女性样本进行研究表明,尿 8-OHdG 值与水 As 暴露水平无明显关系,可能与 2 个地区人群的研究背景不同有关。

本研究结果还显示,随着体内 8-OHdG 水平升高,皮肤发生损害的危险性明显增加。提示可通过检测暴露者体内 8-OHdG 水平辅助推断人体 As 中毒程度。尿 8-OHdG 浓度与 As 暴露水平和特异性的皮肤损伤之间存在明确的剂量反应关系,表明低浓度 As 暴露($<50 \mu\text{g/L}$)仍可导致机体 DNA 氧化损伤,氧化应激可能是低浓度慢性 As 中毒的可能

机制之一。在扩大样本量、控制干扰因素和分层研究基础上,尿 8-OHdG 可作为一个稳定的 As 致氧化损伤的生物学标志物。

参考文献

- [1] 蒋玲,李玲,吴君,等. 氧化应激致慢性水砷暴露小鼠肝损伤作用[J]. 中国公共卫生,2008,24(5):593-595.
- [2] Yamauchi H,Aminaka Y,Yoshida K,et al. Evaluation of DNA damage in patients with arsenic poisoning: urinary 8-hydroxydeoxyguanine[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2004,198(3):291-296.
- [3] Schwerdtle T,Walter I,Mackiw I,et al. Induction of oxidative DNA damage by arsenite and its trivalent and pentavalent methylated metabolites in cultured human cells and iso-lated DNA[J]. Carcinogenesis,2003,24(5):967-974.
- [4] Wu LL,Chiou CC,Chang PY,et al. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics[J]. Clin Chim Acta,2004,339:1-9.
- [5] 卫生部. WS/T 211-2001 地方性 As 中毒诊断标准[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2001.
- [6] Reiji K,Takashi K,Tetsuro A,et al. Urinary 8-hydroxy-20-deoxyguanosine in inhabitants chronically exposed to arsenic in groundwater in Cambodia[J]. Journal of Environmental Monitoring,2006,8:293-299.
- [7] Fujino Y,Guo X,Liu J,et al. Chronic arsenic exposure and urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in an arsenic-affected in Inner Mongolia,China[J]. J Exposure Anal Environ Epidemiol,2004,15:147-152.
- [8] Basu A,Som A,Ghoshal S,et al. Assessment of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of individuals susceptible to arsenic induced toxicity in West Bengal, India[J]. Toxicol Lett,2005,159(1):100-112.
- [9] De Vizcaya-Ruiz A,Barbier O,Ruiz-Ramos R,et al. Biomarkers of oxidative stress and damage in human populations exposed to arsenic[J]. Mutat Res,2009,674:85-92.
- [10] Smith AH,Steinmaus CM. Health effects of arsenic and chromium in drinking water: recent human findings[J]. Annu Rev Public Health,2009,30:107-122.
- [11] Carrie VB,Molly LK,Paul JC,et al. GSTM1 and APE1 genotypes affect arsenic-induced oxidative stress;a repeated measures study[J]. Environmental Health,2007,6(39):188-196.

收稿日期: 2012-02-15

(解学魁编辑 韩仰欢校对)

· 调查报告与分析 ·

吉林地区 2011—2012 年中小學生尿碘监测结果分析

曹志友¹,王爽²,刘琳¹,齐佳悦¹,王丹¹,李伟¹

关键词:尿碘;监测;中小學生

中图分类号: R 195

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2013)04-0575-02

机体因缺碘而导致的一系列障碍被统称为碘缺乏病(Iodine deficiency disorders,IDD),中国是受IDD严重威胁的国家之一。缺碘可引起脑发育障碍而导致轻度智力落后,包括精神运动发育障碍在内的轻度神经、精神损害以及亚临床甲低,成为严重影响人口素质、阻碍发展的社会问题。随着IDD的被控制,对各种人群尤其是对中小學生碘营养状况的监测已成为主要问题。从20世纪70年代起开始实施以食盐加碘为主的综合防治措施,IDD病情逐年减轻,2000年实现了消除IDD阶段目标。为了解中小學生体内碘营养水平,评价碘盐加碘浓度,于2011年6月—2012年6月对吉林省吉林市10个县(市、区)中小學生尿碘进行了随机抽样监测,现将监测结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 在吉林地区按东、西、南、北、中5个方

位,每个方位抽取2个县(市、区),每个县(市、区)分别抽取1所小学和1所中学,共20所学校,在每所小学和中学中,随机抽取8~15岁中小學生100人(男、女生各50人)共2000人进行尿碘监测。

1.2 方法 集中采集8~15岁儿童的任意1次尿样,盛放尿液的聚乙烯瓶须经无碘处理,每份尿液不少于10 mL,当天放入温度4℃冰箱冷藏,避免冷冻尿样。采用砷钼催化分光光度测定法(WS/T 107-2006)测定尿碘,依据文献中的评估中小學生碘营养水平的流行病学参考标准^[1],尿碘中位数<100 μg/L为碘缺乏,100~199 μg/L为理想碘营养状态,200~299 μg/L为超过足够量,≥300 μg/L为碘过剩。尿碘统一由通过质控考核的吉林市地方病防治所检测,检测人员须经吉林省疾病预防控制中心和吉林医药学院实验中心联合培训。

1.3 统计分析 采用SPSS 13.0软件计算尿碘中位数、百分比等。

2 结果

本次共检测中小學生尿样2000份,尿碘范围为26.3~896.8 μg/L,中位数为278.8 μg/L。尿碘

作者单位: 1. 吉林医药学院直属医院,吉林 吉林 132013; 2. 吉林医药学院实验中心

作者简介: 曹志友(1967-),男,山东嘉祥人,副主任医师,本科,主要从事健康教育和疾病预防控制工作。

通讯作者: 李伟,E-mail:904205853qq.com