

专论与综述

氟化物的亚细胞效应

王 英 彦

(北京市环境保护科学研究所)

摘要 氟化物诱发生物有机体体内或体外的毒理学效应。本文简要地综述氟化物对有机体的不同亚细胞组分：酶、胶原、染色体、线粒体、膜和蛋白质合成的影响。

关键词 氟化物；亚细胞效应。

氟对生物有机体存在危害性影响。在进入人体内后，自身经历复杂的代谢过程，同时对体内不同的生命物质产生各种影响。氟化物(F^-)的亚细胞效应研究是从亚细胞水平探讨 F^- 对不同物质的影响。目前，这项研究已达到一定的广度和深度。鉴此，本文就氟化物亚细胞效应研究中的一些基础问题进行简要的综述。

一、与生物效应有关的化学特征

氟化物的任何生物效应与氟的化学特征密切相关。在周期表中，氟(F_2)位于卤族之首。氟原子(F)的电子排布是 $[He]2s^2 2p^5$ ，氧化态-1，配位数1，总是一价。电离能很高，因在小原子中电子被牢牢吸住；激活能也就很高。强氧化剂，低序的 F 可取代高序的卤原子。反应活性高，因 $F-F$ 键能较低。由此决定氟具有以下的与生物效应有关的化学特征。

1. 根据共价键半径的大小， F 是第二最小的取代基， $C-F$ 键强度与 $C-H$ 键极为相近。在生物活性化合物中， F 与 H 在酶受体位点的空间效应上相似。

2. 因 $C-F$ 键强度大于 $C-H$ 键，故氟引入有机物中时，热和氧化作用的稳定度增高，导致 $C-F$ 键的生物稳定。

3. 电负性高。氟改变电性，影响邻近功能团或分子构成（通过氢键形式或是极间作用）。

4. 氟的存在增加分子的亲水性，提高具生物活性的 F^- 在体内的吸收率和迁移率，致使此类化合物在靶组织中含量增高。

二、抑制酶活性的机理

氟在生物系统中几乎能与所有金属离子构成复合物，因它是有力的配位体。掺入生物复合物，取代其它离子配位体，例如 OH^- 离子，致使酶与底物错位，最终使酶失去活性。目前说明此类机理的示例是(1) F^- 抑制过氧化物酶的过程。氟代过氧化物酶是在 F^- 作用下形成的氟化酶(Fluorid enzyme)或称氟抑制细胞色素C过氧化物酶(F^- inhibited cytochrom C peroxidase)。氟化酶晶体的X射线分析表明，它与正常的过氧化物酶存在如下的异同(图1)。(1)两者的分子结构基本上没有变化。(2)过氧化物酶含有 Fe^{2+} ，在pH中性时，与 OH^- 离子络合。当酶接触 F^- 时， F^- 便占有络合位置，挤掉水分子，即在该酶的活性中心—— Fe^{2+} 上， F^- 取代原来的 $O-Fe^{2+}$ 形成 $F-Fe^{2+}$ ，此时 Fe^{2+} 附近的质子数增多或铁与原子间距离缩短。(3)随此，在过氧化物酶的周围原先

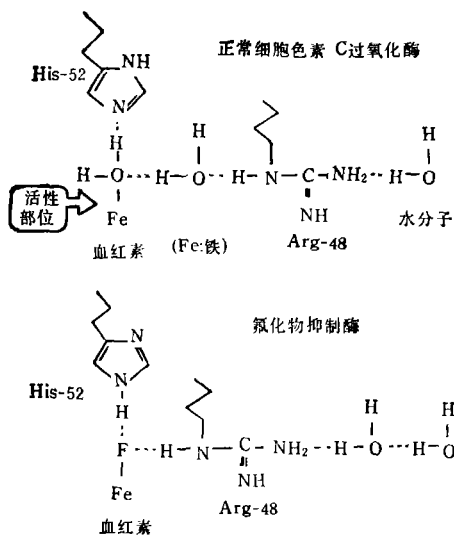


图 1 氟化物和过氧化物酶

存在的氢键网络被 F^- 破坏,使 Fe^{2+} 不再能与其它形成强有力的氢键的基团发生联络,而形成 $O-H\cdots F$ 或 $N-H\cdots F$ (虚线表示氢键)新的氢键联系。(4)酶中精氨酸残基 (Arg-48) 向氟原子移位约 $2\text{ \AA}$,以优化形成胍基与氟原子的氢键,而组氨酸残基 (His-52) 则移位约 $0.5\text{ \AA}$,使咪唑基与氟原子搭成氢键。因此, F^- 抑制酶活性不是通过改变酶的基本分子结构,而是通过改变酶分子形状或构型而发生的。其原因是氢键尽管比 $C-H$ 化学键脆弱,但是一旦形成网络体系,如 DNA 那样能起不小的保护活性的作用。(2) 与痕量的铝或铍在机体内形成新型的磷酸类似物: $[AlF_x^{(3-x)}] (x=1-6)$ 或 $[BeF_x^{(2-x)}] (x=1-4)$ 。它们对磷酸核苷酸与蛋白质结合部位具高度亲和力,及还能生成焦磷酸酯类似物。由此 F^- 对所有的 ATP 酶和磷酸酯酶以及 G 蛋白质产生影响,干扰在许多酶中负责能量和信号传递的磷移换过程^[1-3]。

三、胶原-氟作用的靶位

胶原是由三条多肽链拧成的三重螺旋,分子间以共价键交联,定向排列的原胶原构成。甘氨酸,脯氨酸和羟脯氨酸,及赖氨酸和

羟赖氨酸是胶原蛋白中的重要氨基酸组分,占氨基酸残基总量的三分之二。按照化学结构,胶原可分为 I、II、III、和 IV 等四型,各型均有一定的分布。在 F^- 作用下,胶原纤维的规则性下降,不同片段增厚不一,取向紊乱。骨骼培养物吸收减弱。尤以新生胶原受累最重。 F^- 致使胶原形态学变化外,还阻抑胶原蛋白合成,胶原数量普遍减少,羟脯氨酸和赖氨酸也随之减少,相反,脯氨酸却增多。上述的阻抑作用对不同型胶原具有选择性。胶原纤维不仅是软硬组织的重要结构成分,而且也是器官细胞间质中的共同物质,因此 F^- 累及胶原的后果是危害各种器官组织的结构和功能。目前,有些学者主张胶原是有机体内氟作用的靶位。其理由是(1) F^- 降低胶原纤维中氢键的形成。胶原中形成氢键的关键性基团是羟基,它是脯氨酸在脯氨酸羟化酶催化下生成。羟化酶的主要辅助因子是维生素 C。 F^- 导致维生素 C 代谢异常,由此降低羟化酶活性,促使胶原中无足量的羟基去形成氢键。另因维生素 C 是甾类脱氢酶的重要辅酶之一,因此 F^- 还危及甾类物质的合成。(2) F^- 降低胶原的交联程度。饱和的多肽-醛基是胶原分子两端的赖氨酸或羟赖氨酸残基经氧化生成的交联前体。它与分子内另一条肽链相近的醛基发生醇醛缩合反应,使这两条肽链共价交联,增强胶原纤维的坚韧性。 F^- 降低铜和铜依赖的赖氨酸氧化酶活性,致使胶原中饱和醛基减少造成胶原纤维交联不足。由于以上两方面的 F^- 作用,导致胶原分子结构稳定性的下降,原胶原易被降解,出现尿中排泄胶原肽。(3) F^- 能使有机体内钙含量减少,而钙是水解原胶原的胶原酶的激活剂,因此 F^- 能抑制胶原的分解代谢^[3-5]。

四、对染色体的损伤

氟化物的生物效应研究中存在实验结果互相矛盾的现象。除酶、生物膜等外,细胞遗

传效应、染色体损伤研究中尤其突出。在整体实验中, F^- 不诱发动植物细胞的染色体畸变(主要是单体型断裂和裂隙),姐妹染色单体互换(SCE),微核和程序外DNA合成(UDS),以及不延迟细胞周期动力学过程,也不诱发小鼠卵细胞染色体损伤。在离体实验中, F^- 诱发动植物细胞染色体损伤,如染色体畸变,SCE,微核和UDS,以及延迟细胞周期动力学过程。用L5178Y小鼠淋巴瘤细胞前向突变检测确定在胸腺嘧啶激酶位点上突变体集落经 F^- 处理后增多,表明在该系统中已发生染色体畸变。 F^- 除诱发人外周血白细胞的染色体断裂和裂隙外,还诱发无着丝点碎片,非整倍体和多倍体的结构畸变。洋葱根尖细胞发生染色体畸变外,还发生后期延迟和桥。 F^- 诱发小鼠、绵羊和牛的卵母细胞后期延迟发生率偏低,出现极体I(PBI)抑制和重排碎片。诱致小鼠睾丸细胞染色体损伤。以上事实反映同类指标在整体与离体的实验中结果会异同并存。在离体实验中,人外周淋巴细胞在0.25—8.0mmol F^- 浓度范围内染色体畸变,而在1.0—4.0mmol F^- 浓度范围内SCE和UDS率不增加;叙利亚仓鼠胚细胞的UDS在10—40 μ g/ml F^- 处理4—8h时不增加,在12h后随剂量增加而增加,反映在相同的染毒途径下,染色体效应也不尽相同。当 F^- 与辐射联合处理小鼠成熟精子时隐性致死率明显地上升, F^- 单独处理时无影响,表明两种不同因素起了协同作用。当 F^- 与乙烯亚胺类物质联合处理时,后者使培养的人体细胞染色体单体断裂,等位断裂和易位的效应大大地减弱。 F^- ,重铬酸钾,丝裂霉素C和秋水仙素等各自单独处理时,诱发蚕豆根尖细胞产生微核,但是当 F^- 分别地与后三者之一联合处理时微核效应被减弱,由此表明发生了拮抗作用。 F^- 对染色体损伤出现如此矛盾现象,可能与 F^- 对蛋白质/DNA合成等产生的影响有关。目前,最新的实验结果表明与 F^- 作用于细胞

周期不同阶段有关。即大多数细胞在 G_2 期对 F^- 敏感,畸变细胞增多,而在 G_2/S 期则不发生畸变细胞增多现象。 F^- 对多氯联苯诱导大鼠肝微粒体组分(S_9)混合功能氧化酶活性,进而活化外源性物质损伤染色体上没有影响^[6-11]

五、对线粒体的影响

F^- 诱致线粒体和完整细胞能量活动发生组织学和功能性的变化。线粒体如图2所示是细胞呼吸和产生与贮存能量的场所。 F^- 可破坏线粒体膜的完整性,结果使与膜结合的琥珀酸脱氢酶受抑制,细胞色素的活性也遭强烈的抑制。在有氧或无氧糖酵解过程中,尤其存在磷酸时, F^- 以氟磷酸离子(Fluorophosphate ion)形式强烈地抑制烯醇化酶,损害Kreb's环和电子传递系统,导致3-和2-磷酸甘油脂的堆积,柠檬酸盐产量的大减,ATP生成的下降。ATP是在 Na^+ 、 K^+ ATP酶, Mg^{2+} ATP酶和 H_2CO_3 ATP酶催化下由ADP和AMP合成。 F^- 减弱 Na^+ 、 K^+ 经线粒体膜的运动,降低 Na^+ 、 K^+ ATP酶含量,以及提高或降低 Mg^{2+} ATP酶,终使ATP酶活性遭到阻抑。并且该阻抑作用随着ATP在膜上位置不同而敏感度不一。当 F^- 直接损伤肌肉的线粒体时,会促使其释放磷酸肌酸激酶,也使由ADP和磷酸肌酸转变为ATP的过程受阻。 F^- 抑制线粒体间质的焦磷酸盐酶,阻碍从无机焦磷酸的水解,造成焦磷酸盐的累积,使间质中的酰基-乙基辅酶A合成酶遭抑制,结果降低ADP和ATP的水平。存在 F^- 时,组织氧消耗似呈双相曲线:在组织匀浆或线粒体制品中活性先明显地上升而后缓慢地下降。氧耗则呈直接下降的单相曲线。添加 Mg^{2+} 后可使被 F^- 降低的氧耗,依赖 Mg^{2+} ATP酶和线粒体膜运动恢复到正常状态。 F^- 强烈地抑制游离脂肪酸不需酰基肉碱的氧化。 Ca^{2+} 是cAMP的激活剂,在线粒体内累积, F^- 降低 Ca^{2+} 含

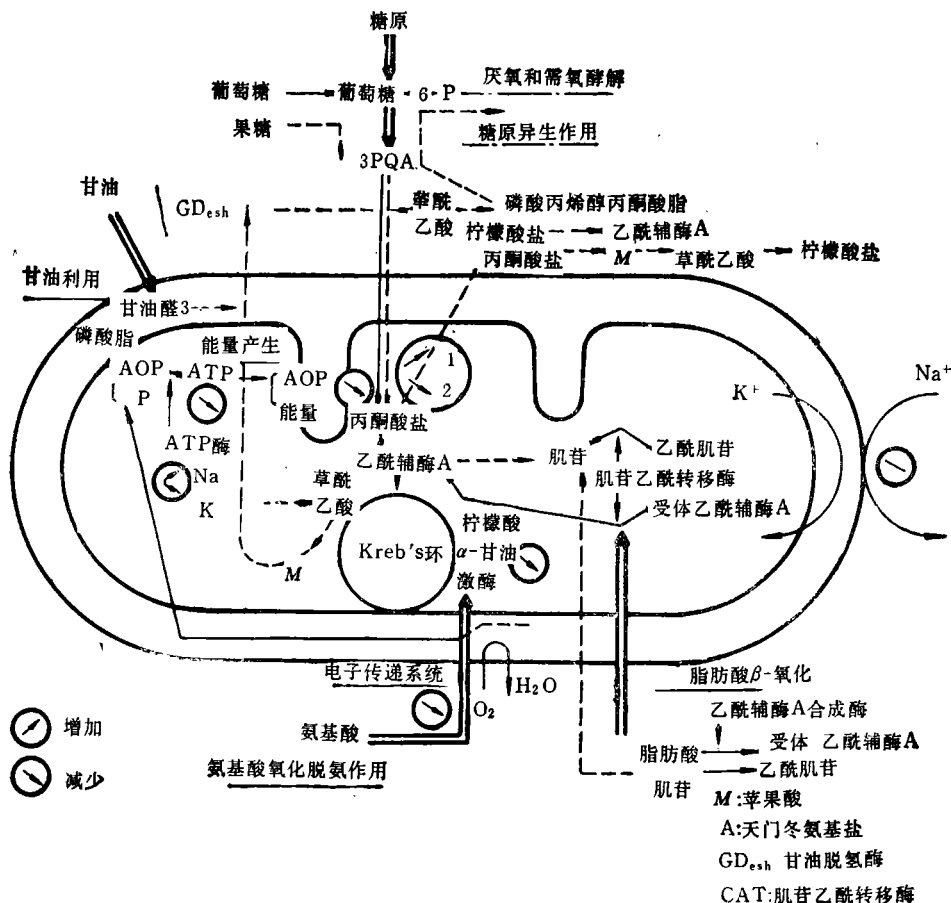


图2 氟化物与线粒体活性

量,影响与氧化磷酸化有关的许多过程。 F^- 诱发多形核中性白细胞呼吸爆发时产生超氧阴离子 O_2^- 和羟自由基 $\cdot OH$,这些活性氧自由基都来自 O_2^- ,消耗的 O_2 来自细胞外,同时经磷酸己糖支路利用葡萄糖。以上是需 Ca^{2+} 的过程。 F^- 能单独地使肝发生病理变化,但是不使因四氯化碳中毒的大鼠肝损伤加重^[3,5,11,12]。

六、生物膜的效应

在 F^- 过量时, F^- 在人血红细胞膜内发生累积,消耗钙,出现膜棘。 F^- 增强通透性,使磷酸肌酸激酶大量穿过细胞膜进入血液,影响磷酸肌酸代谢。 F^- 抑制细胞膜上的钠泵活。抗 F^- 细胞产生对 F^- 的遗传适应性:膜通透性对 F^- 发生适应性变化,或谓

膜形成“泵”,机械地抽出 F^- 。促发膜透性和膜结合酶变化的主要原因是 F^- 引发生物膜不饱和脂肪酸氧化和脂质过氧化,并且以上作用随着器官种类和染毒途径不同存在差别。 F^- 促使人血红细胞膜流动性轻度增加,并具有时间动力学和温度效应。 F^- 影响膜上的 NADA-细胞色素 P450-还原酶外,还引起游离巯基变化,并对人血红细胞膜蛋白的巯基结合位置性质产生显著的影响,并具剂量效应关系。在与重铬酸钾、丝裂霉素 C 和秋水仙素联合处理时, F^- 对膜蛋白巯基结合位置性质的影响呈现协同效应,也具有剂量效应关系。 F^- 在细胞膜上没有象激素那样固定的结合部位,它是通过膜内侧的腺苷酸环化酶 (Ac) 影响第二信号系统-环-3',5'-磷酸腺苷 (图3)。例如 F^- 使整体

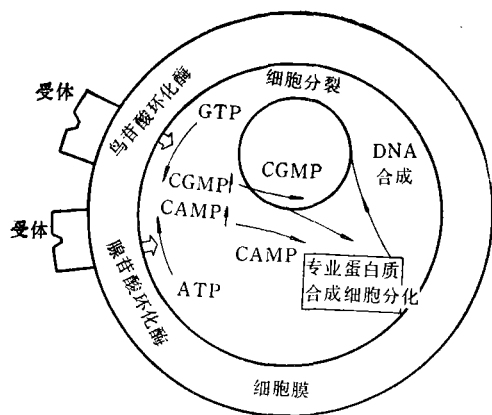


图3 氟化物和生物膜

动物的心、肝、肺、颌下腺和骨骼中 Ac 和 cAMP 含量同步增高或减少,随之尿中 cAMP 也增加或减少,但是骨骼肌中仅有 cAMP 含量变化,而 Ac 含量则不变。F⁻ 对 Ac 的影响是通过以下三种方式中的一种产生: (1) 直接激活或抑制; (2) 作用于 Ac 分子的催化区; (3) 阻抑磷酸二酯酶,结果造成 cAMP 降解为一磷酸腺苷的过程发生变化。F⁻ 的作用一般比激素强数倍,因在任意的 ATP 浓度下 Ac 均被激活,使反应速度增加达 20 倍左右,而在正常状态下 ATP 转变为 cAMP 是缓慢的,其中 Ac 活性增减决定于非活化(磷)或活化(二磷)存在的形式。以上种种效应在离体实验中不明显。F⁻ 刺激坐骨神经—缝匠肌发生非低钙性骨骼肌兴奋,此因末梢神经的质膜内层 Ac 被激活,胆碱酯酶受到抑制和运动终板对乙酰胆碱敏感性增强所致。F⁻ 增强完整细胞 Ac 活性指示细胞膜的完整性。F⁻ 使血清球蛋白降低白蛋白升高; ATP 酶和碱性磷酸酶大大地减少, cAMP 浓度变化,膜蛋白磷酸化等活动减弱,以及葡萄糖经膜转运受阻等一系列变化均指示膜通透性在 F⁻ 影响下发生了变异。因此, Ac-cAMP

系统对 F⁻ 是敏感的。在个体发育中上述的敏感性还与靶组织功能状态有关,即 F⁻ 能作用于较早形成的 Ac 活化部位,而激素受体却较迟地形成。至于膜的鸟苷环化酶(Gc),环-3',5'-磷酸乌苷系统,迄今尚无充分的证据确定 F⁻ 的影响。不过,已知 F⁻ 对与 Ca²⁺ 进出和与 cAMP 有关的细胞膜,及从膜输入胞内介质中糖蛋白“内化”(Internalization)产生影响^[3,5,12-21]。

七. 对蛋白质合成的影响

F⁻ 引致有机体血清总蛋白,白蛋白,唾液酸含量降低,氨基多糖升高。如图 4 所示,在骨中, F⁻ 使蛋白聚糖(基础物质)增加。在亚细胞水平, F⁻ 使核内 mRNA 减少。通过阻滞蛋白质合成启动降低蛋白质合成,而此过程与 RNA 转录活动有关。另外 F⁻ 虽使 80s 核糖体与 40s 或 60s 核糖体亚基脱离,但不影响已启动的蛋白质肽链延长过程。蛋白质合成受阻导致蛋白质含量减少,随之影响下一周期 DNA 合成的启动,使核内 DNA 减少,细胞分裂减慢,生长停滞。多核糖体部分地遭到裂解, rRNA 减少, RNA 酶则增加。DNA 吸收胸腺嘧啶,和 RNA 吸收尿嘧啶的能力下降。刺激多肽合成的核蛋白体转译发生变化。线粒体 ATP 因 F⁻ 减少而将降低透明浆氨基酸活化和氨酰 tRNA 的功能值。由此可知,蛋白质合成抑制发生于不同的水平:核、核蛋白,线粒体和透明浆。另外蛋白质在骨中发生分解代谢,同时矿质过多地排除(尽管发生相关的矿化作用)。F⁻ 对骨、齿、肝、肾、胰和胶原产生影响体现代谢过程的紊乱,由此造成亚细胞水平的功能障碍。F⁻ 在有机体内发生的影响可能是: (1) 直接的, (2) 通过在不同水平上毒性复合物 F-H 发生的, 或者 (3) 通过氨基-F-H 发生的, (4) 特别是通过降低蛋白质合成发生的^[12,22]。

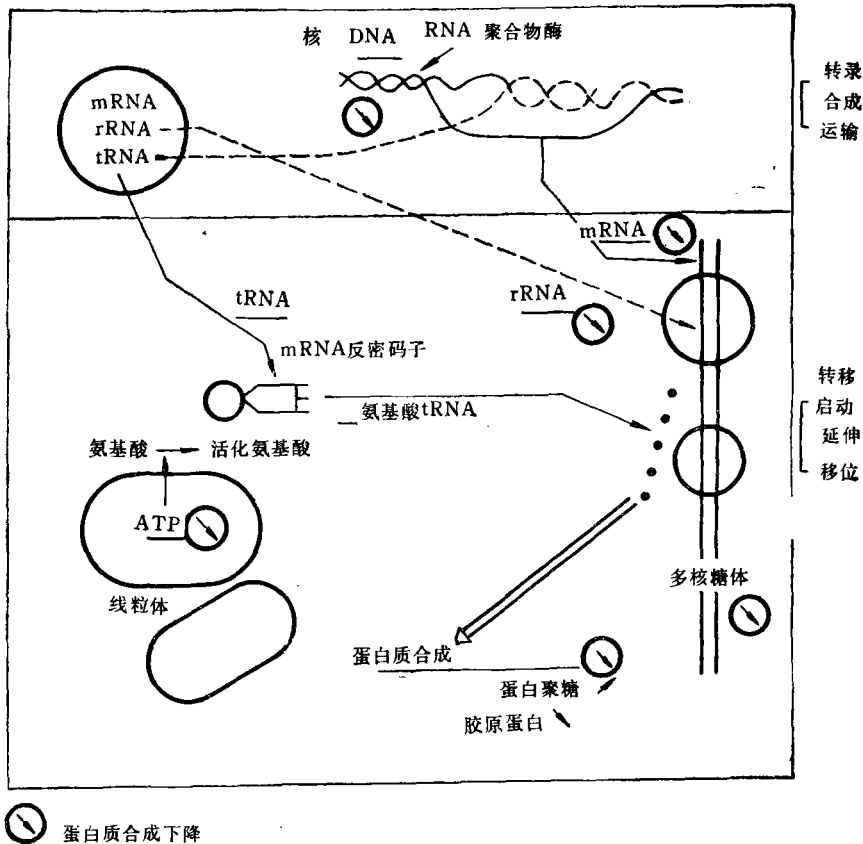


图4 氟化物与蛋白质合成

主要参考文献

- [1] Editorial, *New Scientist*, **105**, 20(1985).
- [2] Chabre, M., *TIBS*, **15**, 6(1990).
- [3] Строчкова, Л. С. и др., *Усп. Современ. Биол.*, **96**, 211(1983).
- [4] Bély, M. et al., *Fluoride*, **21**, 28(1988).
- [5] 贺代杰, *国外医学卫生学分册*, **3**, 145(1983).
- [6] Aardema, M. J., *Mut. Res.*, **223**, 191(1989).
- [7] 贺维顺等, *环境科学学报*, **3**(3), 94(1983).
- [8] 刘爱华等, *环境科学学报*, **4**(4), 387(1984).
- [9] 王英彦等, *中华劳动卫生职业病杂志*, **5**(5), 276(1987).
- [10] 王英彦等, *环境科学学报*, **6**(2), 240(1986).
- [11] 王英彦等, *环境科学*, **9**(1), 18(1988).
- [12] Elsair, J. et al., *Fluoride*, **21**, 93(1988).
- [13] 王英彦等, *环境科学学报*, **10**(3), 304(1990).
- [14] Susheela, A. K. et al., *14th Conference of ISFR*, p. 47, Morioks, Japan. 1985.
- [15] Saying, R. M. et al., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **37**, 70(1986).
- [16] 李小洁等, *环境化学*, **8**(1), 13(1989).
- [17] 王英彦等, *中国环境科学*, **9**(4), 256(1989).
- [18] 李小洁等, *环境科学学报*, **8**(4), 453(1988).
- [19] 李小洁等, *环境化学*, **8**(3), 27(1989).
- [20] 王英彦等, *生物物理学报*, **5**(1), 24(1989).
- [21] Mille, G. W. et al., *14th conference of ISFR*, p. 41, Morioks, Japan. 1985.
- [22] Shayiq, R. M. et al., *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 33(1986).

(收稿日期: 1990年3月5日)

Effects of Fluorides on Subcells. Wang Ying-yan (Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection): *Chin. J. Environ. Sci.*, **12**(1), 1991, pp. 69—74

This article reviews the effects of fluorine on various subcellular systems: enzyme, collagen, chromosome, mitochondria, membrane and the system in synthesis.

Key Words: fluoride, subcell, effect.

A Research on the Formulas of the Integrated Assessment of Environmental Quality. Li Ren-lei (Harbin University of Science and Technology, Harbin): *Chin. J. Environ. Sci.*, **12**(1), 1991, pp. 75—79

This paper makes a comparison of the formulas which have been already applied on the regional integrated assessment of environmental quality, i. e. indexization. Ten or less assessing factors are chosen in a region and each one will be divided into six grades. By the equal dividing indexization, a score is given for each factor, from which pollution situation is thus evaluated, and the integrated goal is ascertained.

Key Words: integrated assessment, environmental quality, indexization.

Integrated Assessment of Boiler Flue Gas on Air Quality Using Sulfur Dioxide and Total-Suspended Particulate (TSP) as Control Factors. Dai Ji-sen et al. (Division of Sanitary Science, Hunan Medical University, Changsha): *Chin. J. Environ. Sci.*, **12**(1), 1991, pp. 79—82

This article presents a case study in which SO₂ and TSP were used as control factors for assessing the impact of boiler flue gas on air quality. Conventionally, the pollutant SO₂ appears to be the only factor in the assessment concerned, however, smoke dust pollution will always be neglected. So, it has been showed in the case study that combining SO₂ with TSP in the assessment was of much accuracy.

Key Words: sulfur dioxide, total suspended particulate, boiler flue gas.

An Investigation on Natural Radioactive Levels and Their Distribution in Liangshan Region, Sichuan Province. Tang Wen-hao (Liangshan Prefectural Monitoring Station of Environmental Protection, Sichuan Province): *Chin. J. Environ. Sci.*, **12**(1), 1991, pp. 82—86

By means of radioactive chemical analysis and FT-620 environmental γ -radiation dosimeter, natural radionuclides in rocks of the earth's crust series, mines, soil and water were investigated in Liangshan region. Moreover, the indoor and outdoor γ -radiation doses in air and cosmic ray were also detected. On these basis, the background levels of natural radiation in the environment and their distribution have been investigated, the radiative doses absorbed by local residents evaluated, and the mutual relationship discussed.

Key Words: natural radioactive levels, distribution, Liangshan region of Sichuan Province.

The Levels of Radioactivity in Building Materials and Its Sendout to Local Resident in Liuzhou Area. Zeng Xianfeng (Station of Sanitation and Antiepidemic Station of Liuzhou Prefecture, Guangxi Zhuang Autonomous Region): *Chin. J. Environ. Sci.*, **11**(6), 1990, pp. 86—89

Reported in this paper is an investigation on radioactive levels in building materials, from which the doses accepted by local residents were estimated in Liuzhou area, Guangxi Zhuang Autonomous Region. It has been found that the specific activity (²²⁶Ra, ²³²Th, ⁴⁰K) in coal-slag-made bricks is the highest, exceeding the limit value, and that of limestone is the lowest. The radioactive levels in order are coal-slag-made brick > clay brick $\approx$ earth > cement > concrete products > limestone. It has been estimated that the effective dose equivalent to the local residents from coal-slag-made bricks is 3.98 mSv/a, and those from other building materials are 0.23—1.01 mSv/a, equal to or slightly higher than background level.

Key Words: radioactive level, building materials, Liuzhou area.

Manual Method for Retrieval of the Literature of Environmental Science and Technology.

Xue Gu-wen (Shandong Professional College of Hydraulic Engineering, Tai'an): *Chin. J. Environ. Sci.*, **12**(1), 1991, pp. 90—92

Considering the lack of computer-retrieving system on professional literature at vast majority of libraries in China, a manual method for retrieving the literature of environmental science and technology has been presented in this article, in which some reference books and serial publications at home and abroad are introduced. It has also been discussed how to find out the ways and steps in retrieving the data and informative books concerned by the professionals' own hands.

Key Words: manual method, retrieval of literature, environmental science and technology.