

克山病环境病因的化学机制探讨

——生物地球化学环境中 Mo 的多元函数关系

朱梅年

(中国科学院地球化学研究所)

克山病环境病因的假说自提出到现在已经有十多年了。通过十年的调查和研究,这一假说已被越来越多的人所接受,而且明显地集中注意到以下三个方面:

1. 病区环境(包括水、土、粮)和克山病人人体中 Mo 的缺乏与发病的相关关系;
2. 病区环境和克山病人人体中 Se 的缺乏与发病的相关关系;
3. 病区 NO_3^- 和 NO_2^- 过剩而引起的亚硝酸盐中毒与克山病的相关关系。

这三个因素无论从外环境调查、动物试验、病理鉴定以及人群防治等各个方面,都显示出与克山病的明显相关。可是,这三个因素在环境中是彼此孤立地作用于生物和人体呢?还是它们之间可能存在着某种联系?以及它们对于生物体的作用只是简单的加减关系呢?还是复杂的函数关系?为了回答这些问题,我们分析对比了十年来有关克山病研究工作中各方面的资料。用化学和生物化学

的理论加以研究,从而探讨在病区的生物地球化学环境中,多因子间的相互促进和相互制约的多元函数关系。并力图用辩证的方法解释病区环境中的生物地球化学作用。从化学反应机制的角度,为深入研究克山病病因提出新的假设。

一、植物中钼的生化作用及其与生物地球化学环境中相关因子的多元关系

克山病病区环境中的水、土、粮都有 Mo 含量偏低趋势,克山病病人的血液中 Mo 含量也明显低于正常人,这已被大量的调查数据所证实。而 Mo 作为心肌代谢中发挥重要作用的心肌黄酶及一系列脱氢酶的活性中心^[1],如果长期缺乏,必然导致心肌细胞营养代谢障碍,造成局部心肌坏死*。所以,体内的缺 Mo 状态很可能是克山病发病的主要原因。

在正常情况下,Mo 进入人体主要是通

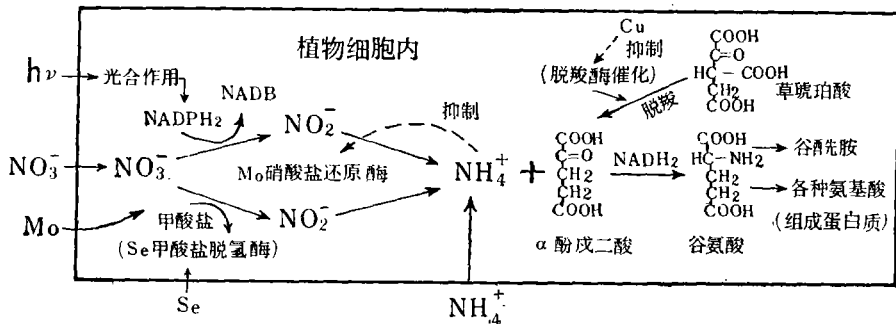


图1 Mo在植物细胞内的生化关系图

* 蒋九余“克山病的分子生物学模型”,中国科学院地球化学研究所,1978。

过植物传送的。所以我们首先要研究 Mo 在植物中的行为。从生物化学理论和近代分子生物学的成果^[2,3]，我们可以导出一个 Mo 与其它因子在植物细胞内的相关关系图，见图 1。

我们可以把图 1 所示的生物化学过程作为一个化学反应式来讨论。大家都知道，按照化学理论的规律，一个化学反应要进行到底，必须具备以下四种条件：

1. 反应生成沉淀；
2. 反应产生挥发性气体；
3. 反应生成难离解的化合物(如 H_2O)；
4. 产物迅速的消耗或被不断移走。这种情况常常存在于生物化学反应中。

现在，我们回过头来讨论上述反应顺利进行的条件。首先看作用物一方的相关因子：

1. NO_3^- 还原反应的关键是需要 Mo 酶的催化。Mo 进入植物的量与外环境的关系取

决于三个因子：① 地质环境，特别是土壤中 Mo 的背景值；② 土壤的 pH 值；③ 土壤中磷酸盐和有机质的含量。苏联 B. П. 巴仁柯等研究证明，在酸性土壤或土壤中含较多 PO_4^{3-} 、有机质时，钼的可吸收性大大下降。这正是克山病区的地球化学特征。所以，病区的环境条件不利于植物对 Mo 的吸收。

2. NO_3^- 还原反应必须通过辅酶 II ($NADPH_2$) 传递电子，而辅酶 II 在植物体中是通过光合作用合成的^[4]。能否提供充分的辅酶 II，取决于日照条件，也就是光量子($h\nu$)数。对于日照时间短，强度弱的地区，将不利于 NO_3^- 还原反应的顺利进行。

3. NO_3^- 还原反应同时也通过甲酸盐传递电子，这个过程需要含 Se 甲酸盐脱氢酶参加^[5]。在克山病区显著缺 Se 的条件下，是不利于这个反应进行的。

接下来，我们再讨论化学反应物一方：

NO_3^- 还原的产物是 NH_4^+ 。根据前面所

表 1 粮食中 Mo、Cu 含量及 Cu/Mo

地区	病情	Mo(ppm)			Cu(ppm)			Cu/Mo		
		稻 米	小 麦	玉 米	稻 米	小 麦	玉 米	稻 米	小 麦	玉 米
四川	病 区	0.37	0.16		3.22	5.89		8.7	37.0	
	非病区	0.40	0.92		2.33	5.02		5.8	5.5	
陕西	病 区		0.58	0.34		5.71	1.30		9.9	3.8
	非病区		0.91	0.31		4.72	1.27		5.2	4.1
东北	病 区		0.37	0.26		5.45	1.81		14.7	7.0
	非病区		0.51	0.35		4.95	1.96		9.7	5.6
总计	病 区	0.37	0.37	0.27	3.22	5.75	1.57	8.7	15.6	5.8
	非病区	0.40	0.86	0.35	2.33	4.37	1.56	5.8	5.1	4.7

表 2 农作物中 NO_3^- 、 NO_2^- 含量 (ppm)

成 份 \ 品 种		白 菜	芹 菜	洋 白 菜	南 瓜	麦 面	荞 面	蚕 豆
NO_3^-	病 区	2427	2427	194	485	73.0	24.3	48.5
	非 病 区	48	16	120	40	7.5	12.5	2.5
NO_2^-	病 区	12	55	11	3	2.4	2.59	0.27
	非 病 区	0.9	0.95	0.3	0	0.02	0.01	0.005

说化学反应进行完全的必备条件之四, 反应生成的 NH_4^+ 必须迅速不断地消耗掉, 该反应才能顺利进行下去。而 NH_4^+ 的消耗又取决于不断提供与之反应的 α 酮戊二酸。在代谢循环中, α 酮戊二酸是通过草琥珀酸脱羧产生的。这个反应必须有含 Mg 的脱羧酶催化, 而这个酶又受 Cu 的严重抑制^[7]。在克山病区的酸性土壤中, 铜变得异常活泼, 易于被植物吸收。全国克山病地学调查的结果表明, 病区粮食中铜的含量普遍偏高(表 1)。过量的 Cu 势必抑制脱羧酶的活性, 从而降低了 α 酮戊二酸的生成, 间接阻碍了 NH_4^+ 向谷氨酸的转化, 在植物体内造成 NH_4^+ 的积累。近代分子生物学的成果证明, 这种产物的积累, 反过来会抑制或破坏 Mo 硝酸盐还原酶^[4]。结果是植物对 Mo 的吸收因抑制而减少(表现为 Cu/Mo 比值增高)(表 1), 而 NO_3^- 和 NO_2^- 含量则因为还原反应受阻造成体内有较多的蓄积(表 2)。我们从表 1 和表 2 的数据可以看出这种现象在克山病区是普遍存在的。

概括以上的讨论, 可以得出几点看法:

1. 植物对 Mo 的吸收和利用与生物地球化学环境中 pH、 PO_4^{3-} 、Se、Cu、日照强度等变量间存在着多元函数关系, 克山病区的总的趋势是不利于植物对 Mo 的吸收, 这就是病区粮食 Mo 含量偏低的原因。

2. 病区粮食和蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐含量偏高, 而蛋白质相对偏低, 是由于病区生物地球化学条件抑制了含 Mo 硝酸盐还原酶活性的结果;

3. 可以说明为什么在稻谷扬花季节(正是日光充足时期)通过喷洒钼酸铵溶液(Mo 被叶子直接吸收并催化 NO_3^- 的还原, 促进谷氨酸的合成)可以提高稻米中蛋白质含量和降低硝酸盐和亚硝酸盐含量的机理。

二、人体中钼的生物活性与外环境中相关因子的多元函数关系探讨

在心肌细胞的代谢循环中, 由于克山病人细胞内 Mo 酶这一环被破坏, 从而中断了细胞的正常代谢, 造成心肌细胞从内向外的逐步坏死^[2], 这很可能是克山病的致病基础。所以我们有必要进一步讨论 Mo 在人体细胞内的作用及其与外环境的相关关系。

Mo 是作为酶的成份作用于人体的, 也就是说, 作为一种生物催化剂而起作用。那么人体对于它的需要量就应该是十分有限的。正如我们所熟悉的无机催化剂一样, 在理想状态下, 它们应是不消耗的。只有当某些可使催化剂中毒或老化的杂质存在时, 才有必要作少量的补充和更新。国外有资料指出^[6], 正常人体内含 Mo 总量不超过 9 毫克, 而每日需要量约为 0.12 毫克。Mo 在人体中的摄取试验证实了这一点(表 3)。

西安医学院对健康人每日膳食、粪便、尿中钼的含量进行了测定*, 表 3 中所列“体内积存量”可近似代表健康人每天需要补充 Mo 的数量, 这个数值大约是每日 0.1 毫克左右。

在苏联, M. T. 柯洛米采娃等^[7], 对儿童进行了严格控制条件的钼摄入试验。其结果

表 3 健康人对 Mo 的摄取量数据(毫克/日)

地 区	组 别	日 摄 取 量 (全膳食)	尿 排 泄	粪 排 泄	体 内 积 存
西 安	儿 童	0.612	0.121	0.415	0.076
	成 人	0.661	0.096	0.450	0.115
苏 联	儿 童	0.160	0.132—0.139		0.014
	成 人	0.172—0.185			0.040—0.046

* 西安医学院克山病研究室: “克山病病区居民膳食、粪及尿中铜、钼的测定”, 《哈尔滨医科大学学报》, 4, 1974.

表 4 人血中部分微量元素含量 (微克%)

元 素	Cu		Mn		Zn		Mo	
病 情	非 病 区	病 区	非 病 区	病 区	非 病 区	病 区	非病区	病 区
例 数	28	11	26	10	28	11	28	12
中 值	107	127	2.67	2.76	520	560	1.24	0.76

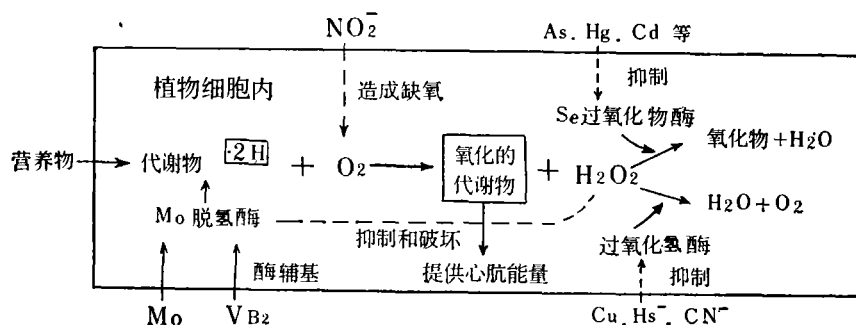


图 2 心肌细胞内 Mo 的生化关系图

表明,健康儿童每日补充Mo的下限量仅0.014毫克。同样,B. H. 阿列克谢等^[7]对成年人也作了 Mo 摄入试验。从数据看来,正常人每人每日需要补充 Mo 的量也在 0.1 毫克以下。

这样看来,健康人对 Mo 的每日需要量约为 0.12 毫克的说法,也许是可信的。如果根据这个数值计算,全国克山病区每日主食中 Mo 的含量(1974 年全国克山病病因地学联合调查组资料报道的平均值为 0.32 毫克/日)虽然比非病区每日主食中 Mo 含量(0.66 毫克/日)显然偏低,但也应该是够了。然而,这与克山病病人血液中 Mo 含量明显偏低的体内缺 Mo 事实相矛盾(表 4)。这只能假设在病区环境中存在着某些因子,它们进入人体后,将抑制或破坏 Mo 的生理机能,从而表现出克山病人体内的缺 Mo。换句话说,Mo 在病人体内没有正常的发挥作用就被排泄了。正如缺钙儿童体内缺乏丁种维生素而阻碍了钙的吸收和利用一样。为了说明这一点,以下我们就从 Mo 的生化机制来探讨体内相对缺 Mo 与外环境中各因子间的相关关系。

根据近代生物化学的基本原理和近期成

果,我们同样可以作出心肌细胞内 Mo 与各种因子的相关示意图,见图 2。

我们仍然把图中所示关系作为一个化学反应式来讨论。显然,这个反应正常进行的条件是:

1. 外环境能供给必须量的 Mo 和 V_{B2} (作为酶的辅基),而这些因素在克山病区都是相对缺乏的。
2. 不可有过量的亚硝酸盐摄入,以保证体内血红素供氧正常,但病区水、土、粮中 NO_2^- 含量较高(见表 2)对上述反应是不利的;
3. 反应的产物 H_2O_2 必须迅速分解或消耗,而在病人体内这是难于做到的,我们将着重讨论这一点。

根据近年来分子生物学中提出的诱导与抑制理论^[4](简单地说,就是反应物的过剩可以诱导催化酶的合成,而产物的积累又反过来抑制催化酶的活性),细胞内 H_2O_2 的积累,一方面使反应不能正常进行,另外更重要的是,它对生物细胞有毒性,还能反过来破坏含 Mo 的脱氢酶。

在正常情况下,体内含铁的过氧化氢酶

表5 粮食中部分微量元素含量 (ppm)

品 种	小 麦		玉 米		稻 米	
病 情	病 区	非 病 区	病 区	非 病 区	病 区	非 病 区
样 品 数	7	8	10	8	6	1
Zn	25.70	23.63	18.36	17.35	23.64	22.54
Fe	44.13	44.95	25.95	28.72	10.50	8.61
Mn	38.59	34.65	5.50	5.69	20.63	20.73
Cu	5.75	4.37	1.57	1.56	3.31	2.33
Mo	0.37	0.86	0.27	0.33	0.37	0.40
Se	0.0136	0.0174	0.0104	0.0159	0.0133	0.0223

十分活跃,一分子酶可以每分钟分解 260 万个 H_2O_2 分子的高速度、解除体内 H_2O_2 的毒性。而当有硫化氢、氰化物以及过量的铜进入人体后,过氧化氢酶就受到强烈地抑制^[5],从而造成细胞内 H_2O_2 的毒性积累,使 Mo 脱氢酶抑制或破坏。换句话说,就是 Mo 酶在细胞内的作用受生物地球化学环境中硫化氢、氰化物和铜等因子控制。由于病区大多为强还原环境,水、土中硫化氢较大量存在,病区的一些蔬菜(如卷心白、芹菜等)含氰化物也较高,病区粮食中 Cu 的含量又显著高于非病区(见表 1、表 5),所以,这些因子很可能是造成克山病人体内钼不能发挥重要作用,或者说是造成体内缺钼的主要原因。

细胞内 H_2O_2 的另一条出路是通过近年来发现的一种含 Se 的谷胱甘肽过氧化物酶的催化^[3],使某些底质氧化并生成水(这个反应的重要性在于克服了 H_2O_2 对细胞膜的过氧

化破坏,所以最新的成果认为微量 Se 在体内是起保护细胞膜的重要作用^[3]。如果增加 Se 的摄入量,将有利于 Mo 酶活性的增强。所以口服亚硒酸盐预防克山病的人群中,发钼含量也随血 Se 含量的增高而增高。由于病区粮食中 Se 的含量显著偏低(见表 5)使 Mo 的生化作用也受到限制。另外,Se 过氧化物酶又可以被来自外环境的 As、Cd、Hg、Tl、Sb、Ge 等元素强烈抑制或破坏^[3,6]。根据 Moxon 和 Parizek 等的研究,与 Se 等分子量的 Cd、Hg 及其一半量的 As,都可以将 Se 的作用完全抑制。这种抑制的结果、同样会增加 H_2O_2 在体内的积累毒性,反过来也影响 Mo 酶的正常功能。所以,人体内 Mo 的作用又受到外环境中 As、Cd、Hg、Sb、Ge 等因子的间接控制,而这些元素在病区的地球化学条件下又都是相当活跃的。根据 A.П. 维诺格拉多夫的研究,Cd 和 As 在酸性潮湿土壤

表6 土壤中某些元素的平均含量

元 素	Cu	Mo	As	Ge	Tl	Cd	Sb	Hg	Se
含量(%)	2×10^{-3}	3×10^{-4}	4×10^{-4}	$n \times 10^{-4}$	$n \times 10^{-5}$	5×10^{-5}	$n \times 10^{-5}$	$n \times 10^{-6}$	1×10^{-6}

表7 东北呼盟南永胜(病区)机井水部分分析数据

元 素	Se	Zn	Cu	Tl	As
含量微(克/升)	0.5	35	2	0.8	1.2

中是非常活动的,易于被植物吸收(这正是克山病区的土壤特征)。另外,Ge、Tl、Hg等在土壤中的平均含量一般都比Se的含量为高(表6)所以这些元素的生化作用是不能忽视的。遗憾的是,我们早年对各病区的野外调查中,没有对这些元素予以注意,以致所有的病区调查报告中,都没有看到这些元素的分析数据。现仅有东北呼盟南永胜(病区)机井水的分析数据可供参考(表7)。

1974年全国克山病地学联合调查组发现病区粮食中Zn含量普遍高于非病区(见表5)。虽然没有调查Cd,但正如A.Π.维诺格拉多夫指出那样:“Cd迁移的全部历史都和Zn密切相关,Zn/Cd是有一定比例关系的”^[8]。因此,我们可以设想,病区粮食中Cd的含量可能和Zn一样普遍偏高,As也可能有类似规律。

讨论到这里,我们可以把Mo在人体的生物活性与外环境中的各相关因子,表示为一种多元函数的关系。若用A代表Mo在人体中的生物活性,用 s, t, u, v, w, x, y, z 分别代表来自外环境的 V_{B_2} 、Se、 NO_2^- 、 HS^- 、 CN^- 、Cu、As、Cd等(当然,具体到某一个病区并不是所有变量都存在,起主要作用的可能只有一两个)。

则

$$A = f(s, t, u, v, w, x, y, z)$$

或者用全微分表示:

$$dA = \frac{\partial A}{\partial s} ds + \frac{\partial A}{\partial t} dt + \frac{\partial A}{\partial u} du + \\ + \dots + \frac{\partial A}{\partial z} dz.$$

由于变量较多,又缺乏大量模拟试验数据,目前只能表示出这种函数相关性,尚无法推导出这个多元函数的经验公式。

三、讨 论

围绕着Mo在植物和人体细胞中化学反应机制的探讨,我们认为:

1. 克山病水土病是一个包含着多种因子、复杂的矛盾集合体。而Mo很可能是主要矛盾和矛盾的主要方面。也就是说,体内的缺钼状态很可能是克山病发病的内因和基础。

2. 虽然克山病区外环境和粮食中钼的背景值偏低,但造成克山病人体内缺Mo的主要原因是由于外环境中存在着多种干扰Mo吸收和发挥作用的因子(对于每一个病区可能是不一样的)其中以Cu、 NO_2^- 、As、Cd的过剩和Se的偏低为主。所以可以这样设想,Mo酶在克山病人体内经常处于被破坏的条件下,并没有发挥应有的作用。西安医学院和中国科学院地理所的试验数据^[8]都证明克山病人的尿排钼量比非病人高3—5倍,这可能标志着病人体内Mo酶的惊人的破坏和分解?

3. 在探讨克山病病因时,需要全面地分析病区各种因子间的相互作用,并针对不同地区的特点,找出该地区的主要不利因子,从而制定防治措施。如在酸性土壤病区,应设法改良土壤,提高土壤的pH值,则可大大降低土壤中Cu、As、Cd等的活性,从而克服它们的不利作用。而在中性或偏碱性土壤的病区,则须设法提高土壤的氧化还原电位,使其有利于固定Cu、As、Cd和降低 NO_2^- 的含量,以减少植物对它们的过量吸收。总之,考虑到控制干扰因子的作用比单一地在病区加某一种元素,从原理上分析,可能对克山病的防治更为有利。

4. 在病区农作物扬花季节,通过喷洒钼酸铵的稀溶液(一般是万分之五),使叶子直接吸收钼(它可不受土壤条件的限制),这对提高农作物的Mo/Cu比值,促进作物中 NO_2^- 和 NO_3^- 的向氨基酸转化,对于作物质量的改善(特别是对粮食中 V_{B_2} 成份的有效提高)是有显著成效的。因而在预防克山病方面也是十分有益的。故应在病区予以重视和推广。

参 考 文 献

- [1] M. 狄克松等, 酶, 上海科技出版社, 1964.
 [2] Burris, R. H., *Ann. Rev. Plant Physiol.* **17**, 155—184 (1966).
 [3] Diplock, A. T.: *Critical Review in Toxicology*, **4** (3) 271—329 (1976).
 [4] C. A. 普顿斯, 植物生理学的分子探讨, 科学出版社,

1977 年.

- [5] E. S. 威斯特: 生物物理学, 科学出版社, 1960 年.
 [6] Schroeder, H. A., *J. of Chronic disease*, **23**, 481—499 (1970).
 [7] Коломийцева, М. Т., Микроэлементы в сельском хозяйстве и медицина, 183—191, 1968.
 [8] 中国地理学会自然地理专业委员会编, 生物地球化学与植物—土壤元素交换, 科学出版社, 1965 年.

尿中十种化学成分的意义及正常值*

杜应秀 汤凤庆 方翠娥等

(广东石油化工科研协作组)

尿中某些化学成分的分析及正常值的确定, 在职业病防治和评价环境质量方面都是重要的基础工作。为此我们对广州郊区农民进行了尿中十种成分的测定, 其测定方法及尿量见表 1。

被检者 459 人, 于前一晚六时至次日晨六时留 12 小时尿。化验离开始留尿时间约 17 小时。各项目的测定均取自同一尿样。尿量不够时, 只测定其中的数项, 故各项目测定的总例数不一致。

资料统计处理除计算均值 ($\bar{x}$)、标准差

表 1 尿液各成分的测定方法及尿量

项 目	测 定 方 法	尿量 (毫升)
1. 尿铅	原子吸收分光光度法	0.05
2. 尿汞	无火焰原子吸收法	2.0
3. 尿氟	氟离子选择性电极法	25.0
4. 尿 δ -ALA	离子交换树脂法	1.0
5. 尿 CP	紫外分光光度法	15.0
6. 尿酚	对硝基苯胺比色法	10.0
7. 尿马尿酸	次亚溴酸盐比色法	1.0
8. 尿 17-KS	间二硝基苯比色法	10.0
9. 尿 5-HIAA	1-亚硝基-2-萘酚比色法	3.0
10. 尿 VMA	紫外分光光度法	5.0

表 2 尿 中 十 种 化 学 成 分 的 正 常 值

	尿 铅 (毫克/升)	尿 汞 (毫克/升)	尿 氟 (毫克/升)		尿 δ -ALA (毫克/升)	尿 CP (微克/升)	尿 酚 (毫克/升)	尿 马 尿 酸 (毫克/升)	尿 17-KS		尿 5-HIAA (毫克/升)	尿 VMA (毫克/升)
			已知量 加入法	标准 曲线法					男 (毫克/升)	女 (毫克/升)		
N	78	459	191	232	468	438	542	466	206	328	468	468
$\bar{x}$	0.024	0.0029	1.00	1.04	4.65	38.69	31.03	485	11.64	11.73	3.61	2.12
SD	0.017	0.0025	0.67	0.58	3.03	27.6	20.4	183	8.5	8.4	2.00	1.27
SE	0.002	0.00012	0.05	0.04	0.14	1.31	0.88	8.5	0.59	0.46	0.10	0.06
Md	0.010	0.0022	0.82	0.91	3.84	33.17	34.52	114	9.78	9.72	3.24	1.80
5% 位数	—	—	—	—	—	—	—	—	3.07	3.23	1.72	0.60
95% 位数	0.082	0.0083	2.47	2.25	10.37	90.02	66.06	571	26.13	26.52	7.41	4.75
$\bar{x} + 2SD$	0.058	0.0079	2.34	2.20	10.71	93.89	71.87	551	28.73	28.53	7.62	4.67

* 参加本文工作的还有文剑明、陈玲玢、谷孝芝、冯苏妹、严渭庆、梁立文、陈建成、吴银娇、钟银英等同志。