

卟啉作为人体早期砷暴露生物标志的研究

邓国栋^{1,2,3}, 郑宝山^{1*}, 翟城^{1,2}, 王建平⁴, Ng Jack C.⁴

(1. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025; 4. National Research Centre for Environmental Toxicology, The University of Queensland, QLD 4108, Australia)

摘要:采用氢化物发生原子吸收分析了贵州省燃煤污染型砷中毒区和非砷中毒区(对照)居民尿样中砷浓度,采用高效液相色谱法分析了卟啉浓度,考察了燃煤污染造成的人体砷暴露与尿液中卟啉排泄改变的关系,寻求慢性砷中毒早期健康效应的生物标志物。结果显示,与对照组相比,砷暴露组尿卟啉Ⅲ(uroporphyrin-Ⅲ)和粪卟啉Ⅲ(coproporphyrin-Ⅲ)显著增高($p < 0.01$, $p < 0.01$),粪卟啉Ⅰ(coproporphyrin-Ⅰ)比对照组增高,但不显著;不同性别组间比较,对照组和暴露组的中龄(20~40岁)群体尿液中,尿卟啉Ⅲ的浓度在男性和女性群体之间呈显著性的差异($p < 0.01$),其它年龄组中,这一指标在不同性别群体之间未见显著性差异;不同年龄分层比较,低龄组(<20岁)尿卟啉Ⅲ和粪卟啉Ⅲ比对照显著增高($p < 0.01$, $p < 0.01$),中龄组(20~40岁)和高龄组(>40岁)粪卟啉Ⅲ比对照显著增高($p < 0.05$, $p < 0.05$);此外,砷暴露组尿液中砷与总粪卟啉和总卟啉呈正相关($r = 0.623$, $r = 0.549$)。结果表明,人体砷暴露会导致尿液中卟啉排泄的改变,提示卟啉有可能作为慢性砷中毒早期健康效应的生物标志。

关键词: 砷; 卟啉; 尿; 煤; 慢性砷中毒; 效应标志物; 贵州

中图分类号: X18 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)05-1147-06

Porphyrins as the Early Biomarkers for Arsenic Exposure of Human

DENG Guo-dong^{1,2,3}, ZHENG Bao-shan¹, ZHAI Cheng^{1,2}, WANG Jian-ping⁴, Ng Jack C.⁴

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 4. National Research Centre for Environmental Toxicology, The University of Queensland, QLD 4108, Australia)

Abstract: To investigate the effects of arsenic exposure on porphyrins excretion profiles in human, porphyrins were measured by HPLC and total arsenic by HG-AAS in urine samples collected from arsenicosis-endemic areas and control sites in Guizhou Province. Analytical data showed that urinary uroporphyrin-Ⅲ and coproporphyrin-Ⅲ were significantly elevated in arsenic-exposed group compared with those in control group, while urinary coproporphyrin-Ⅰ was not significantly higher in arsenic-exposed group than that in control group. Not any significant difference was found in porphyrins between the male and female except for 20~40 years age group. As far as age was concerned, arsenic-exposed group of <20 years showed significant increases in uroporphyrin-Ⅲ and coproporphyrin-Ⅲ compared with the control group of <20 years. Similarly, arsenic-exposed groups of 20~40 years and >40 years also showed significant increases in coproporphyrin-Ⅲ compared with corresponding age groups of control. Besides, there were positive correlations between the urinary arsenic and total coproporphyrin, and total porphyrin. The effects of arsenic exposure were associated with increased porphyrins excretion, which was suggested that porphyrins were possible to be used as biomarkers of early health effect due to arsenicosis.

Key words: arsenic; porphyrin; urine; coal; arsenicosis; effect biomarker; guizhou

许多研究表明,在人体内的卟啉或其血红素生物合成途径中的产物可以作为多种有毒金属暴露的特殊生物指示物,尿液中的卟啉浓度已用作铅和汞暴露的诊断依据^[1,2]。有关砷能影响人和动物体内血红素的合成已有报道^[3~5], Wu 等研究指出,砷毒对大鼠 DNA 损伤前就有卟啉变化^[6],由此提出血液和尿中卟啉是砷中毒敏感的生物标志物。但现场实地系统研究人体砷暴露与卟啉改变的关系在国内外尚报道较少。位于中国西南的贵州省蕴藏有丰富的煤碳资源,但在该省西南部一些地区,特定的地质原因导致所产煤中砷含量过高^[7~9]。自上世纪 70 年代

起当地村民使用本地所产的高砷煤代替木材作为燃料,导致砷中毒的流行^[10~12],这种燃用高砷煤而导致砷中毒在世界上其它地区尚未报道。目前,还未找到有效的方法治疗砷中毒,较早地发现过量的砷暴露,对于控制其对身体机能的影响和防止癌变是重要的^[13,14]。本文系统研究了上述煤砷中毒区人群砷暴露与卟啉代谢改变的关系,旨在进一步探讨砷的

收稿日期: 2006-06-30; 修订日期: 2006-10-16

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(40133010)

作者简介: 邓国栋(1972~),男,博士研究生,主要研究方向为环境化学与健康, E-mail: dengguodong2@163.com

* 通讯联系人, E-mail: zhengbs@hotmail.com

毒作用机制, 为寻求砷中毒早期健康效应的生物标志物提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 样品收集

兴仁县雨樟镇位于贵州省西南部(见图 1), 当地居民习惯于室内敞灶燃用高砷煤而导致砷中毒的流行. 根据 1991 ~ 1994 年抽样调查资料, 当地居民所用煤中砷含量范围 40.8 ~ 3 360.9 mg/kg, 2001 年该镇总人口为 28 926 人, 同期砷中毒病例高达 2 100 余人^[15].

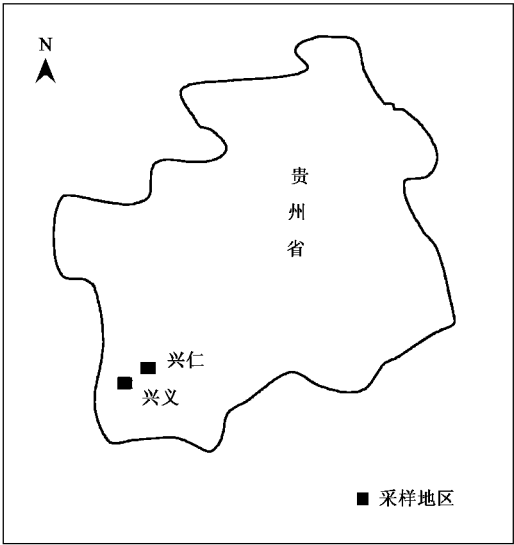


图 1 采样地区分布

Fig.1 Distribution of sampling sites in Guizhou Province

在当地居民中, 分低龄、中龄和高龄(< 20 岁, 20 ~ 40 岁和 > 40 岁) 3 个年龄段, 共收集了 113 份晨尿作为砷暴露组尿样, 从兴义附近的村民中收集了 30 份晨尿作为对照组尿样, 这里所产的煤中仅含少量的砷, 当地居民中未发现砷中毒患者. 尿样被保存在 1%(体积比)的盐酸中用于卟啉的分析, 无酸保存的用于肌酐分析.

1.2 卟啉分析

卟啉类物质分析测定方法参照文献[3]. HPLC 系统(LC-10A, Shimadzu, Japan), 反相柱(Radialpak, Novapak C18, 8 mm × 100 mm, Waters associates, USA). 卟啉分离采用浓度梯度洗脱, 通过极性不断减小的洗脱溶液(梯度洗脱控制器), 从柱上将吸附的各种卟啉分别洗脱下来, 采用荧光检测器检测(Perkin-Elmer, LC-240, USA), 激发波长 395 nm, 发射波长 614 nm. 各种卟啉的浓度计算是通过测量峰

高, 代入标准曲线的方法计算出.

尿样的实验室前处理包括如下步骤: - 80 ℃ 贮存的尿样解冻至室温, 每 750 μL 尿样和 50 μL 浓盐酸加入试管中, 彻底混合, 在黑暗中保持 30 min 到 1 h 让蛋白质沉淀和卟啉原转化为卟啉. 在台式超速离心机上 13 200 r/min 离心 10 min, 取 40 μL 上清液进样, HPLC 分析.

1.3 尿液中总砷的测定

尿样中总砷的测定采用澳大利亚昆士兰州卫生检测标准方法(QSE-MTM-004.R1, Queensland Health Scientific Services), 尿样先采用三酸消化法进行消化, 其中硝酸(HNO₃): 高氯酸(HClO₄): 硫酸(H₂SO₄) = 9:2:2, 氢化物发生-原子吸收光谱法(HG-AAS)测定总砷.

1.4 尿液中肌酐的测定

尿液中肌酐的测定是采用 The Roche Unimate 7 CREA 试剂盒(F. Hoffman-La Roche Ltd., Basel, Switzerland), 该方法的原理是基于 Jaffe 反应, 即肌酐与苦味酸在碱性溶液中反应形成一种红黄色的复合物, 颜色的深浅与肌酐的浓度成正比, 分光光度法在 500 nm 下加以测定.

1.5 统计分析

采用 SPSS 统计软件, Student's *t*-test.

2 结果与分析

分析了尿液中总砷浓度和本方法可定量检测的总卟啉、尿卟啉Ⅲ和总粪卟啉、粪卟啉Ⅰ和粪卟啉Ⅲ的浓度, 本实验所测卟啉和砷含量均用尿肌酐值进行校正, 即以含每 g 肌酐的尿中卟啉或砷含量计. 相对于对照组, 砷暴露人群尿样中各类卟啉的浓度普遍增加, 增加程度与年龄、性别和卟啉种类有关.

2.1 不同的性别和年龄的尿液中砷浓度

砷暴露组中男性和女性平均尿砷浓度都比对照组相应群体高; 砷暴露组低龄(< 20 岁)男性和女性群体与同组年长的相应群体相比, 平均尿砷浓度都是最高的(见表 1); 在暴露组和对照组中, 年龄大小与尿砷水平二者都呈负相关, 提示低龄群体日常的砷暴露可能比其年长的群体相对强度更高.

2.2 尿液中卟啉浓度与砷浓度的相关性

研究表明, 相对于对照组, 砷暴露组尿液中卟啉组成的改变与砷水平之间呈正相关, $r = 0.623$ (总粪卟啉), $r = 0.549$ (总卟啉). 上述结果说明体内砷与卟啉二者之间存在某种联系, 这与理论推测的结果相一致(见表 1 和表 2).

表 1 砷暴露组和对照组尿样中总砷、总粪卟啉和总卟啉浓度¹⁾

Table 1 Distribution of contents for total arsenic, coproporphyrin and porphyrin in urines from coal burning arsenic exposed and control residents					
分组	年龄/岁	<i>n</i>	总砷/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	总粪卟啉/ $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$	总卟啉/ $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$
男性砷暴露	< 20	29	212.52 ± 43.85 * *	84.26 ± 33.17	95.03 ± 34.25
	20 ~ 40	13	128.15 ± 44.04	26.13 ± 4.57	33.03 ± 4.90
	> 40	13	74.18 ± 14.16 *	29.64 ± 6.68	40.92 ± 8.54
	总数	55	160.47 ± 26.68	57.61 ± 17.86	67.58 ± 18.48
男性对照	< 20	9	78.35 ± 14.70	30.25 - 14.90	37.55 - 16.66
	20 ~ 40	3	42.16 ± 7.59	20.85 - 8.69	27.32 - 10.84
	> 40	4	37.09 ± 7.53	34.61 - 10.22	41.25 - 11.73
	总数	16	61.25 ± 9.71	29.57 - 8.67	36.56 - 9.72
女性砷暴露	< 20	31	236.08 ± 43.39 * *	48.32 ± 8.29 *	60.66 ± 8.60 *
	20 ~ 40	13	212.13 ± 54.40	43.79 ± 11.31	55.55 ± 12.14
	> 40	14	208.16 ± 102.23	46.30 ± 9.89	57.99 ± 10.59 *
	总数	58	223.31 ± 35.75 * *	46.82 ± 5.55 *	58.87 ± 5.83
女性对照	< 20	8	79.88 ± 5.04	29.16 ± 4.11	35.99 ± 5.02
	20 ~ 40	2	27.51	23.60 ± 10.55	31.01 ± 13.25
	> 40	4	49.21 ± 2.25	11.33 ± 3.98	16.38 ± 4.07
	总数	14	66.41 ± 6.01	23.27 ± 3.48	29.67 ± 4.05
总体砷暴露	< 20	60	224.09 ± 23.11 * *	65.59 ± 16.61 *	77.27 ± 17.13 *
	20 ~ 40	26	171.82 ± 17.82 * *	34.96 ± 6.23	44.29 ± 6.80
	> 40	27	143.65 ± 28.11	38.28 ± 6.16	49.77 ± 6.94 *
	总数	113	192.18 ± 22.46	52.07 ± 9.12 *	63.11 ± 9.44 * *
总体对照	< 20	17	79.07 ± 32.59	29.74 ± 7.89	36.81 ± 8.87
	20 ~ 40	5	38.50 ± 12.99	21.95 ± 5.85	28.79 ± 7.32
	> 40	8	43.15 ± 12.11	22.97 ± 6.72	28.81 ± 7.43
	总数	30	63.56 ± 5.92	26.63 ± 4.86	33.34 ± 5.47

1) * 表示暴露组和对照组差异显著($p < 0.05$), * * 表示暴露组和对照组差异极显著($p < 0.01$)

2.3 不同的年龄和性别的尿液中尿卟啉浓度

与对照组相比,砷暴露组尿液中尿卟啉的浓度较高,其中增幅较大的是低龄(< 20 岁)和高龄(> 40 岁)群体(见表 2).对照组和暴露组的中龄(20 ~ 40 岁)群体尿液中,尿卟啉的浓度在男性和女性群体之间呈显著性的差异($p < 0.01$),这可能是由于女性呆在室内的时间更长一些,因此相对于男性有更大的机率暴露于室内空气中的砷.而其它年龄组中,这一指标在不同性别群体之间未见显著性差别.

2.4 不同年龄和性别的尿液中粪卟啉Ⅰ和粪卟啉Ⅲ浓度

与对照组中同一年龄段群体相比,暴露组尿液中粪卟啉Ⅰ和粪卟啉Ⅲ浓度($\bar{x} \pm s$)都呈增加趋势,其中,粪卟啉Ⅲ浓度在低龄(< 20 岁)群体中相对增长最为明显,但男性高龄(> 40 岁)群体不太敏感,尤其对于粪卟啉Ⅰ;而不同的性别之间,尿液中粪卟啉Ⅰ和粪卟啉Ⅲ浓度无显著性差异(见表 2).

2.5 不同年龄和性别的尿液中总粪卟啉和总卟啉浓度

与相同年龄段对照组相比,暴露组尿液中总粪卟啉和总卟啉浓度都呈增加趋势,其中的低龄群体(总粪

卟啉和总卟啉浓度)和高龄群体(总卟啉)相对增幅更大;上述这些指标的增长主要是由暴露组女性群体的相对增长造成的,但不同的性别群体之间,尿液中总粪卟啉和总卟啉浓度并无统计学意义上的差异(见表 1).

2.6 不同年龄和性别的尿液中总粪卟啉/尿卟啉Ⅲ和粪卟啉Ⅲ/粪卟啉Ⅰ

与对照组的同一年龄段群体比较,砷暴露组男性低龄群体尿液中总粪卟啉/尿卟啉Ⅲ值呈显著性的增加,而砷暴露组男性高龄群体相对于对照组和对照组相应女性群体,这一指标则呈现显著性降低.砷暴露组低龄群体(男性和女性)中总粪卟啉/尿卟啉Ⅲ值与对照组相应群体比较呈显著性增加.3 个年龄段的不同性别群体之间,粪卟啉Ⅲ/粪卟啉Ⅰ值无显著性差异.砷暴露组 3 个年龄段的男性群体,粪卟啉Ⅲ/粪卟啉Ⅰ值相对于对照组相应群体呈增加,但砷暴露组的女性低龄群体和中龄群体相对于对照相应群体,这一指标则呈降低(见表 3).

2.7 不同病情程度的尿液中卟啉和砷浓度

研究结果显示,根据皮肤症状所划分的不同病情程度群体之间,未见尿液中砷和卟啉浓度呈规律性变化(见表 4).

表 2 砷暴露组和对照组尿样中尿卟啉、粪卟啉Ⅰ、粪卟啉Ⅲ浓度¹⁾

Table 2 Distribution of contents for uroporphyrin, coproporphyrin-Ⅰ and coproporphyrin-Ⅲ in urines from coal burning arsenic exposed and control residents

分组	年龄/岁	<i>n</i>	尿卟啉Ⅲ/nmol·g ⁻¹	粪卟啉Ⅰ/nmol·g ⁻¹	粪卟啉Ⅲ/nmol·g ⁻¹
男性砷暴露	< 20	29	10.77 ± 1.27	35.93 ± 12.49	48.33 ± 21.16
	20 ~ 40	13	6.89 ± 0.39	15.93 ± 2.95	10.20 ± 2.06
	> 40	13	11.29 ± 2.46	19.20 ± 4.40	10.44 ± 3.20
	总数	55	9.98 ± 0.91 *	27.25 ± 6.67	30.36 ± 11.40
男性对照	< 20	9	7.30 ± 1.88	15.14 ± 8.53	15.11 ± 6.64
	20 ~ 40	3	6.47 ± 2.16	14.43 ± 7.92	6.41 ± 0.87
	> 40	4	6.63 ± 1.78	23.79 ± 6.85	10.82 ± 4.08
	总数	6	6.98 ± 1.16	17.17 ± 5.17	12.41 ± 3.86
女性砷暴露	< 20	31	12.59 ± 2.04 *	19.90 ± 2.32	28.43 ± 6.53 *
	20 ~ 40	13	11.76 ± 1.15	19.23 ± 3.75	24.57 ± 7.86
	> 40	14	11.69 ± 11.17 *	19.55 ± 3.08 *	26.75 ± 7.45 *
	总数	58	12.19 ± 1.15 * *	19.67 ± 1.64 *	27.16 ± 4.24 * *
女性对照	< 20	8	7.31 ± 1.00	15.67 ± 2.90	13.50 ± 3.12
	20 ~ 40	2	7.41 ± 2.71	13.89 ± 8.48	9.71 ± 2.07
	> 40	4	5.05 ± 1.01	6.43 ± 2.32	4.90 ± 2.50
	总数	14	6.68 ± 0.73	12.77 ± 2.24	10.50 ± 2.13
总体砷暴露	< 20	60	11.71 ± 1.22 * *	27.65 ± 6.19	38.04 ± 10.75 *
	20 ~ 40	26	9.33 ± 0.77	17.58 ± 2.36	17.38 ± 4.23 *
	> 40	27	11.49 ± 1.31	19.38 ± 2.60	18.90 ± 4.38 *
	总数	113	11.11 ± 0.74 * *	23.36 ± 3.40	28.72 ± 5.93 * *
总体对照	< 20	17	7.31 ± 1.07	15.39 ± 4.58	14.35 ± 3.70
	20 ~ 40	5	6.85 ± 1.48	14.21 ± 5.10	7.73 ± 1.15
	> 40	8	5.84 ± 0.99	15.11 ± 4.69	7.86 ± 2.48
	总数	30	6.84 ± 0.70	15.12 ± 2.93	11.52 ± 2.25

1) * 表示暴露组和对照组差异显著(*p* < 0.05); * * 表示暴露组和对照组差异极显著(*p* < 0.01)

表 3 总粪卟啉/尿卟啉Ⅲ和粪卟啉Ⅲ/粪卟啉Ⅰ¹⁾

Table 3 Ratios of total coproporphyrin/uroporphyrin-Ⅲ and coproporphyrin-Ⅲ/coproporphyrin-Ⅰ

分组	年龄/岁	<i>n</i>	总粪卟啉/尿卟啉Ⅲ	<i>n</i>	粪卟啉Ⅲ/粪卟啉Ⅰ
男性砷暴露	< 20	29	6.16 ± 1.24 *	29	1.46 ± 0.27
	20 ~ 40	13	3.58 ± 0.44	13	0.70 ± 0.11
	> 40	13	2.76 ± 0.44	13	0.64 ± 0.11
	总数	55	4.75 ± 0.69	55	1.08 ± 0.16
男性对照	< 20	9	3.24 ± 0.61	9	1.22 ± 0.29
	20 ~ 40	3	3.07 ± 0.28	3	0.66 ± 0.21
	> 40	4	5.31 ± 0.61 *	4	0.51 ± 0.14
	总数	6	3.73 ± 0.43	6	0.94 ± 0.19
女性砷暴露	< 20	31	4.27 ± 0.59	31	1.02 ± 0.23
	20 ~ 40	13	3.54 ± 0.55	13	1.29 ± 0.21
	> 40	14	3.92 ± 0.90	14	1.16 ± 0.24
	总数	58	4.02 ± 0.40	58	1.24 ± 0.11
女性对照	< 20	8	4.07 ± 0.47	8	1.26 ± 0.17
	20 ~ 40	2	3.08 ± 0.30	2	0.97 ± 0.44
	> 40	4	2.81 ± 1.43	4	1.17 ± 0.46
	总数	14	3.57 ± 0.46	14	1.06 ± 0.18
总体砷暴露	< 20	60	5.18 ± 0.68 *	60	1.36 ± 0.16
	20 ~ 40	26	3.56 ± 0.34	26	0.99 ± 0.13
	> 40	27	3.36 ± 0.51	27	0.91 ± 0.14
	总数	113	4.38 ± 0.39	113	1.16 ± 0.10
总体对照	< 20	17	3.63 ± 0.38	17	1.13 ± 0.18
	20 ~ 40	5	3.07 ± 0.18	5	0.79 ± 0.20
	> 40	8	4.06 ± 0.86	8	0.84 ± 0.26
	总数	30	3.65 ± 0.31	30	0.99 ± 0.13

1) * 表示暴露组和对照组差异显著(*p* < 0.05), * * 表示暴露组和对照组差异极显著(*p* < 0.01)

表 4 不同的砷中毒症状和砷暴露时间, 尿液中砷、尿卟啉、粪卟啉 I、粪卟啉 III 和总卟啉¹⁾

Table 4 Concentrations of arsenic, uroporphyrin, coproporphyrin- I, coproporphyrin- III and total porphyrin in the urines from control villagers and exposed villagers who have no observable, light, medium or severe skin lesions

分组	年龄段/岁	平均年龄/岁	n	总砷/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	尿卟啉 III/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	粪卟啉 I/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	粪卟啉 III/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	总卟啉/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
轻度 ²⁾	10 ~ 76	34	16	108 ± 20 *	12 ± 1 * *	22 ± 4 *	30 ± 8 *	64 ± 12 *
中度 ²⁾	7 ~ 58	37	11	159 ± 64 *	10 ± 1 *	21 ± 4	20 ± 6	51 ± 9
重度 ²⁾	26 ~ 61	46	23	115 ± 26 *	10 ± 1 *	19 ± 2	17 ± 4	46 ± 6
轻度以上 ²⁾	10 ~ 76	40	50	122 ± 19 * *	11 ± 1 * *	20 ± 2	22 ± 3 *	53 ± 5 *
可疑 ²⁾	0.7 ~ 50	12	63	247 ± 34 * *	11 ± 1 * *	26 ± 6	34 ± 10 * *	71 ± 16 *
对照	5 ~ 82	25	30	63 ± 6	7 ± 1	15 ± 3	11 ± 2	33 ± 5

1) * 表示暴露组和对照组差异显著($p < 0.05$), * * 表示暴露组和对照组差异极显著($p < 0.01$); 2) 砷中毒皮肤症状的划分根据文献[16]

3 讨论

本研究通过了解燃煤污染造成的人体砷暴露对尿液中卟啉组成的影响,进而探讨将卟啉作为一种砷暴露早期健康效应标志物的潜在可能性.研究发现砷暴露组中卟啉浓度会发生改变,这种改变与尿液中砷的浓度相关.本研究中,所测的尿液中各种卟啉最显著的增长出现在砷暴露组的低龄和高龄群体(特别是高龄的女性).过度砷暴露与尿液卟啉排泄的改变呈正相关,证实过量的砷摄入会影响血红素的生物合成.无论对照组或砷暴露组,低龄的男性和女性群体相对于其它年龄段群体,尿液中的砷浓度都最高,并且与对照组相应性别和年龄段群体相比,砷暴露组男性较大年龄段(20 ~ 40 岁, > 40 岁)群体尿砷浓度较高,但比暴露组低龄的男性群体低.相对于对照和暴露组男性群体,暴露组女性群体都有较高的尿砷浓度.上述现象可能是由于年龄较大的男性一般要在室外呆更长的时间以从事农业生产,在室内从事家务和照顾小孩主要由成年女性承担,所以女性和未成年人呆在室内的时间相对更长一些,人体摄入砷的机率相对更大.这是由于当地习惯室内使用敞灶燃烧高砷煤炊事及取暖,造成室内空气受到严重污染,据周代兴等对当地民居室内外空气中砷浓度分别进行测定后发现,室内空气污染以厨房中最为严重,平均砷浓度达到 0.455 mg/L,而室外 200 m 处空气中平均砷浓度为 0.002 mg/L,二者相差数百倍^[17].

值得注意的是,相对于对照组,暴露组女性群体某些卟啉指标会发生更大的改变.在本研究范围内,由于暴露于燃煤污染造成的高砷环境,总粪卟啉/尿卟啉 III 和粪卟啉 III/粪卟啉 I 表现为增加,这一现象与先前对墨西哥饮水型砷暴露居民的研究结果^[18]一致,也与啮齿动物有关砷暴露的实验结果^[3]一致.在本次研究中,发现总粪卟啉浓度在暴露组低龄群

体中呈显著性增加.

目前,为了诊断人体慢性砷中毒,通常会采用流行病学调查慢性砷中毒的一些症状(如皮肤损伤)和一些体内剂量的生物标志(如尿液和头发中的砷).其中,诊断慢性砷中毒最可靠的依据是典型的皮肤损伤,但对于绝大多数人来说,砷暴露后要经历较长时间的潜伏期,才出现典型的皮肤损伤症状.但这一症状的出现也表明对机体所造成的损伤无法逆转.因此,找到一种健康效应标志预警砷暴露对人的早期损伤是非常重要的.在本研究中,发现较高浓度的卟啉出现在低龄暴露组的尿液中,说明可以利用卟啉作为一种早期砷暴露的健康效应标志.

目前已报道有 200 多种酶系统会受到砷毒的影响^[19,20],其中包括抑制类卟啉原氧化酶和血红素合成酶,这些酶就有可能用于砷暴露的健康效应标志物.许多研究表明,在人体内的卟啉或其血红素生物合成途径中的产物可以作为许多有毒金属暴露的特殊生物指示物.一些血红素生物合成途径中的酶已证明特别容易受体外某些金属的影响.在肝和肾中或体外实验中,血红素生物合成途径中的第 2 种酶,δ-氨基乙酰丙酸脱水酶(ALAD),其活性会被银、铁、锰、铜、锌所抑制^[21],体内的铅也有相同作用^[22,23].由于铅能抑制 ALAD 活性,利用卟啉和其它血红素的前体作为铅暴露的诊断依据很早就被人们所认识到,而且这种抑制作用会影响到血红素生物合成途径的其它位点^[22].本研究表明,砷能改变人卟啉排泄的组成,能抑制血红素生物合成,砷暴露组卟啉浓度表现为增加,并且与尿砷水平呈正相关,这一现象说明砷与酶活性改变的关系.

4 结论

尿砷水平和卟啉浓度二者呈正相关,说明砷能够影响血红素生物合成而导致尿液卟啉组成的改变;砷暴露组各个年龄段(< 20 岁, 21 ~ 40 岁, > 40

岁)尿液中的卟啉含量相对于对照组都呈增加;在研究对象中,妇女、低龄(<20岁)和高龄(>40岁)群体尿液中卟啉平均含量比相应的对照更高,他们可能是砷中毒的高危人群;暴露组低龄人群相对于对照,尿卟啉和粪卟啉Ⅲ显著性增加,说明这些种类的卟啉都有可能用作慢性砷暴露的早期健康效应标志物.

致谢:衷心感谢贵州省黔西南州卫生防疫站全体工作人员协助收集样品,澳大利亚国家环境毒理研究中心(National Research Centre for Environmental Toxicology, Brisbane, Australia)对样品的分析提供资助.

参考文献:

[1] Woods J S, Fowler B A. Altered regulation of mammalian hepatic heme biosynthesis and urinary porphyrin excretion during prolonged exposure to sodium arsenate[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1978, **43**: 361 ~ 371.

[2] Bowers M A, Aicher L D, Davis H A, *et al.* Quantitative determination of porphyrins in rat and human urine and evaluation of urinary porphyrin profiles during mercury and lead exposures[J]. *Lab Clin Med*, 1992, **120**: 272 ~ 281.

[3] Ng J C, Qi L, Moore M R, *et al.* Porphyrin profiles in blood and urine as a biomarker for exposure to various arsenic species[J]. *Cellular and Molecular Biology*, 2002, **48**: 111 ~ 123.

[4] Garcia-Vargas G G, Del-Razo L M, Cebrian M E, *et al.* Altered urinary porphyrin excretion in a human population chronically exposed to arsenic in Mexico[J]. *Hum Exp Toxicol*, 1994, **13**: 839 ~ 847.

[5] Hernandez-Zavala A, Garcia-Vargas G G, Cebrian M E, *et al.* Chronic inorganic arsenic exposure alters heme metabolism, in Humans[A]. In: Chappell W R, Abernathy C O, Caldron R. *Arsenic Exposure and Health Effects IV* [C]. New York: Elsevier Science, 2001. 221 ~ 230.

[6] Wu H, Manomlanii K, Lam P K, *et al.* Urinary arsenic speciation and porphyrins in C57Bl/6J mice chronically exposed to low doses of sodium arsenate[J]. *Toxicol lett*, 2004, **154**(2): 149 ~ 157.

[7] 丁振华,郑宝山,Finkelman R B, 等. 黔西南高砷煤的分布及地球化学特征研究[J]. *地球化学*, 2000, **29**(5): 490 ~ 494.

[8] 郑宝山,龙江平,周代兴. 贵州高砷煤所致地方性砷中毒[J]. *内蒙古地方病防治研究*, 1994, **19**(增刊):41 ~ 43.

[9] 郑宝山,张杰,余孝颖,等. 高砷煤所致砷中毒的环境地球

化学研究[J]. *中华公共卫生杂志(台湾)*, 1996, **15**(3 suppl.): 44 ~ 48.

[10] Zheng B S, Zhang J, Ding Z H, *et al.* Issues of health and disease relating to coal use in southwestern China[J]. *International Journal of Coal Geology*, 1999, **40**: 119 ~ 132.

[11] Ding Z H, Zheng B S, Long J P, *et al.* Geological and geochemical characteristics of high arsenic coals from endemic arsenosis areas in southwestern Guizhou province, China[J]. *Applied Geochemistry*, 2001, **16**: 1353 ~ 1360.

[12] 姚多喜,支霞臣,郑宝山. 煤燃烧过程中 5 种微量元素的迁移和富集[J]. *环境化学*, 2004, **23**(1): 31 ~ 37.

[13] IPCS(International Programme on chemical safety), *Environmental Health Criteria 224. Arsenic and Arsenic compounds* (Second Edition)[R]. World Health organization, Geneva. 2001. 1 ~ 521.

[14] Ng J C, Wang J P, Shraim A. Review-A global health problem caused by arsenic from natural sources[J]. *Chemosphere*, 2003, **52**: 1353 ~ 1359.

[15] Liu J, Zheng B S, Aposhian H V, *et al.* Chronic arsenic poisoning from burning high-arsenic-containing coal in Guizhou, China[J]. *Environ Health Perspect*, 2002, **110**: 119 ~ 122.

[16] 王连方. 地方性砷中毒工作标准探讨[J]. *地方病通报*, 1994, **9**(1): 46 ~ 50.

[17] 周代兴,刘定南,朱绍廉,等. 高砷煤污染引起慢性砷中毒的调查[J]. *中华预防医学杂志*, 1993, **27**(3): 147 ~ 150.

[18] Hernandez-Zavala A, Del-Razo L M, Garcia-Vargas G G, *et al.* Altered activity of heme biosynthesis pathway enzymes individuals chronically exposed to arsenic in Mexico[J]. *Arch Toxicol*, 1999, **73**: 90 ~ 95.

[19] Li J H, Rossman T G. Mechanism of comutagenesis of sodium arsenite with *N*-methyl-*N*-nitrosourea[J]. *Biol Trace Elem*, 1989, **21**:373 ~ 381.

[20] Lee C, Wang S F, Yu M C, *et al.* NiO chloride inhibits the DNA repair of UV-treated but not methyl methanesulfate-treated Chinese hamster ovary cells[J]. *Biol Trace Elem Research*, 1993, **37**: 39 ~ 50.

[21] Gibson K D, Neuberger A, Scott J J. The purification and properties of δ -aminolaevulinic acid dehydrase[J]. *Biochem*, 1955, **61**:618 ~ 629.

[22] Sassa, Zalar G L, Kappas A. Studies in Porphyrria VII Induction of uroporphyrinogen-I synthase and expressions of the gene defect of acute intermittent porphyria in mitogen-stimulated human lymphocytes[J]. *Clin Invest*, 1978, **61**: 499 ~ 508.

[23] Beattie A D, Moore M R. Tetraethyl-lead poisoning[J]. *Lancet*, 1972, **1**:12 ~ 15.