

· 研究简报 ·

高压氧对乙醇灌胃小鼠微核细胞率变化的影响

李璋 曹能 白莹 曹文婷

【摘要】目的 研究高压氧(HBO)治疗对乙醇所致小鼠股骨骨髓嗜多染红细胞微核细胞率变化的影响,探讨 HBO 对乙醇所致小鼠遗传物质损伤的治疗作用。方法 将 45 只雄性小鼠分为对照组、模型组和 HBO 组,每组 15 只,对照组生理盐水灌胃,模型组乙醇灌胃,HBO 组乙醇灌胃并进行 HBO 处理。取小鼠股骨骨髓制备嗜多染红细胞玻片,光镜观察并统计分析微核细胞率。结果 模型组与对照组间微核细胞率差异有统计学意义($P < 0.01$);HBO 组与对照组间微核细胞率差异有统计学意义($P < 0.05$);HBO 组微核细胞率虽大于对照组,但小于模型组,与模型组间差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 HBO 治疗有降低由于乙醇作用而使小鼠嗜多染红细胞微核细胞率增加的效应,提示 HBO 治疗可能有减轻乙醇对小鼠遗传物质损伤的作用。

【关键词】 高压氧; 乙醇; 嗜多染红细胞; 微核; 小鼠

日常生活中,大量饮酒者普遍存在,而长期大量饮酒可导致急、慢性乙醇中毒,引起神经系统等全身多器官损害^[1]及遗传损伤^[2-3]。近年来,乙醇中毒者的康复治疗需求日益增长。高压氧(hyperbaric oxygenation, HBO)治疗是临床治疗的重要组成部分^[4],也是治疗乙醇、一氧化碳、毒鼠强等化学物质中毒的有效方法之一^[5-9]。但 HBO 治疗能否减轻由于酒精中毒所造成的遗传物质影响鲜见报道。本研究以雄性 ICR(institute for cancer research)小鼠为实验对象,用乙醇灌胃并进行 HBO 处理,观察小鼠骨髓嗜多染红细胞及其微核细胞,统计分析 HBO 治疗对乙醇所致小鼠嗜多染红细胞微核细胞率变化的影响,探讨 HBO 治疗对乙醇所致小鼠遗传物质损伤的治疗作用。

微核是由染色体损伤而形成的无着丝粒断片,在有丝分裂后期仍然留在细胞质中形成的小核,含微核细胞的多少与染色体损伤程度相一致,因此小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验(micronucleus test, MNT)是常用的遗传毒理学试验之一^[10]。

材料与方法

一、仪器与试剂

YLC0.5/1A 型婴儿 HBO 舱(中国船舶工业总公司 701 研究所);35%乙醇(北京红星股份有限公司)、小牛血清、Giemsa 染液、甲醇、二甲苯、中性树胶等。

二、方法

将 45 只雄性 ICR 小鼠(昆明医学院动物科饲养室提供,10~13 周龄,体重 30~35 g)分为对照组、模型组和 HBO 组,每组 15 只。对照组用生理盐水灌胃(16 ml/kg 体重);模型组用 35%乙醇灌胃(16 ml/kg 体重);HBO 组乙醇灌胃剂量与模型组相同,等待 30 min,待血乙醇浓度达到 0.869 mg/ml 后^[11],放入 HBO 舱。洗仓 3 min,升压 20 min,治疗压力 0.18 MPa,稳压

40 min,减压 20 min^[12],稳压阶段持续换气,舱内氧浓度 80%~85%,每日 1 次,连续治疗 10 d^[13]。颈椎脱位法处死小鼠,取其股骨骨髓细胞^[14],常规涂片,甲醇固定,吉姆萨染色,二甲苯透明,中性树胶封片,油镜观察、双盲法阅片、计数^[15-16]。

三、统计学分析

采用 SPSS 14.0 版统计软件进行统计学分析,数据均以($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

每只小鼠统计 1000 个股骨骨髓嗜多染红细胞,记录含有微核的细胞数,计算微核细胞率(以‰表示)^[17]。对照组和 HBO 组微核细胞率与模型组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),HBO 组与对照组间的微核细胞率差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 1。

表 1 3 组小鼠股骨骨髓嗜多染红细胞微核细胞率比较(‰, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	微核细胞率
对照组	15	3.33 ± 1.35 ^a
模型组	15	7.53 ± 2.41
HBO 组	15	4.73 ± 1.58 ^{ab}

注:与模型组比较,^a $P < 0.01$;与对照组比较,^b $P < 0.05$

讨 论

酒成分中 98%~99% 为乙醇水溶液,1~2% 为其他醇类、酯类等微量香味成分等^[18]。消化道吸收的乙醇,90%~98% 自门静脉进入肝脏中代谢,在乙醇脱氢酶参与下脱去 2 个氢原子形成乙醛,乙醛在乙醛脱氢酶作用下,氧化成乙酸,乙酸最终分解成水和二氧化碳,仅 2%~10% 的乙醇经尿、汗、呼气排出^[19]。除乙醇自身的毒性外,乙醇代谢产物中的活性氧、乙醛、氢离子等积累可使饮酒者出现酒精中毒临床症状^[20]。乙醇及其代谢产物攻击细胞膜,并渗透到细胞核中,致细胞核中的部分 DNA 乙烯化及氧化损伤,当 DNA 断裂为核酸片断,细胞分裂时则残留于细胞质中形成微核,微核细胞率的高低与 DNA 损

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.04.016

作者单位:650010 昆明,昆明医学院第二附属医院高压氧科(李璋);云南师范大学生物能源持续开发利用教育部工程研究中心、云南省生物物质能与环境生物技术重点实验室(曹能);昆明学院初等教育系(白莹);云南师范大学生命科学学院(曹文婷)

通信作者:曹能,Email:wy2057729@163.com

伤程度相一致^[21]。

本研究发现,模型组与对照组间微核细胞率差异有统计学意义($P < 0.01$),表明乙醇及其代谢产物对小鼠骨髓细胞核 DNA 有一定损伤作用。HBO 组微核细胞率与对照组的差异有统计学意义($P < 0.05$)。HBO 组微核细胞率虽大于对照组,但小于模型组,与模型组间差异有统计学意义($P < 0.01$),显示 HBO 治疗有降低由于乙醇及其代谢产物作用而使小鼠骨髓嗜多染红细胞中微核细胞增加的效应。其原因可能是在小鼠血乙醇高浓度期间(0.869 mg/ml ~ 1.065 mg/ml)^[11]给予 HBO 处理,提高了小鼠各组织氧分压,增加氧含量,促进机体代谢,加快乙醇及其代谢物的分解;改善肝肾功能,加强解毒和排泄能力^[5],减少乙醇中间代谢产物乙醛、氧自由基、氢离子等的累积,降低乙醇对机体的毒性影响,使骨髓嗜多染红细胞的母细胞核中 DNA 乙烯化程度降低及氧化损伤减轻,无着丝粒染色体断片减少,进而显示出 HBO 组微核细胞率低于模型组,提示 HBO 治疗可能有减轻乙醇对小鼠遗传物质损伤的作用。

从表 1 看出,HBO 组的微核细胞率大于对照组,2 组间的差异有统计学意义,提示 HBO 治疗不能完全消除乙醇对小鼠遗传物质的影响。如何进一步地提升 HBO 治疗的效果,还有待后续研究。

参 考 文 献

- [1] 李晓裔. 慢性酒精中毒性神经病患者皮肤交感反应分析. 中华物理医学与康复杂志,2007,29: 446-447.
- [2] 汤宜朗. 酒精中毒可改变大脑的遗传信息. 中国药物依赖性杂志,2001,10:77.
- [3] 贾亚利,朱达利,董长垣,等. 烟草和酒精联合应用对遗传物质损伤的研究. 武汉大学学报(医学版),2004,25:511-513.
- [4] 丁新华,尤春景. 高压氧治疗的临床应用. 中华物理医学与康复杂志,2006,28:644-646.
- [5] 高春锦,杨捷云,翟晓辉. 高压氧医学基础与临床. 北京:人民卫生出版社,2008:208-228.
- [6] 刘松贤,王伟,李景春. 急性重度酒精中毒采用高压氧与血液透析+血液灌流治疗的探讨. 适用心血管病杂志,2010,18:503.
- [7] 孟娟,张禹,杨晨,等. 高压氧综合救治急性一氧化碳中毒致迟发性脑病的临床体会. 中华航海医学与高气压医学杂志,2009,16:318-319.
- [8] 迪丽迭,尔岳荣. 高压氧综合治疗急性一氧化碳中毒 1260 例分析. 中华航海医学与高气压医学杂志,2007,14: 249-250.
- [9] 李厚成,张红梅,宁红平,等. 高压氧综合治疗 42 例毒鼠强中毒恢复. 中华航海医学与高气压医学杂志,2008,15: 33.
- [10] 李宏. 微核试验的研究进展. 安徽农业,2009,37:2864-2866.
- [11] 王新月,田德禄,孙承琳. 解酒口服液防治小鼠急性酒精中毒的实验研究. 中国医药学报,1998,13:34-36.
- [12] 贾敏,袁琨. 高压氧治疗突发性耳聋的疗效观察. 中国康复,2010,35: 210-211.
- [13] 池莉平,简洁莹,刘锐. 苯诱导小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的研究. 中国热带医学,2007,7:1490.
- [14] 李兰芳,佟继明,解丽君,等. 复方消经痛胶囊致突变性研究. 癌变畸变突变,2010,22:62-64.
- [15] 杨建一,高宝珍,李莉,等. 雷公藤多甙对雄性小鼠生殖细胞毒性的研究. 癌变畸变突变,2008,20:393-395.
- [16] 董菊,唐萌,王姝. 牛黄解毒片的遗传毒性研究. 癌变畸变突变,2009,21:477-485.
- [17] 王晶,张长杰,顾旭东,等. 脉冲电磁场对大鼠骨骼肌急性挫伤后触诱发痛的影响. 中华物理医学与康复杂志,2010,32:6-8.
- [18] 汤道文,谢玉球,朱法余,等. 白酒中的微量成分及与白酒风味技术发展关系. 酿酒科技,2010,191:78-81.
- [19] 翟红梅,肖颖,肖霄,等. 酒在人体内的代谢及酒精中毒. 石家庄学院学报,2010,12:27-29.
- [20] 戴惠玲. 乙醇中毒和解毒的医化学机制. 药理与毒理,2009,16:38-39.
- [21] 金艳花,杨康鹏,金梅花,等. 酒精依赖患者戒酒前后平均微核细胞频率的改变. 延边大学医学学报,2004,27:283-284.

(修回日期:2010-08-17)

(本文编辑:阮仕衡)

· 消息 ·

2011 年江苏省物理医学与康复医学学术会议

2011 年江苏省物理医学与康复医学学术大会将于苏北徐州召开。大会邀请了国内外著名康复医学、康复工程、康复管理和相关学科的专家,将展示进步和成绩,交流实践经验,研讨热点问题,形成共识。同期将举办江苏省首次康复治疗师职业技能大赛和首届全国康复设备科研转化研讨会,还将举办 PT/OT 教育国际化进程研讨会。欢迎全省及全国的专家和同道参加本次大会。

会议时间:2011 年 7 月 22 至 24 日;会议地点:徐州市开元名都大酒店;会议网址:www.jsprm.org;投稿方式:电子邮件投递(jarm@carm.org.cn);截止日期:2011 年 5 月 31 日;联系人:高秋野,电话:025-83318752。