

血液胆碱酯酶活性作为生物监测指标应用中的注意事项

李建, 黄发明

摘要: 在有机磷农药急性暴露和慢性接触的不同方式下, 血液胆碱酯酶活性变化呈现不同的规律特征。本文介绍了血液胆碱酯酶活性监测作为替代性生物效应标志, 来反映有机磷农药急性暴露对机体胆碱能神经组织毒性作用的意义及其职业病临床应用价值; 分析了血液胆碱酯酶活性测定值受暴露时点时程、监测时段、病程时相、酶活性再生阶段等多种时间相关因素的影响; 介绍了长期低剂量接触有机磷农药出现胆碱能神经毒性耐受现象时, 血液胆碱酯酶活性特征及其衍生出的相关问题, 以及在职业健康监护实践应用中的注意事项。

关键词: 血液胆碱酯酶活性; 生物监测; 有机磷农药; 职业卫生与职业健康评价

Concerns on Applying Blood Cholinesterase Activity as Bio-Monitoring Indicator LI Jian, HUANG Fa-ming (Jiangsu Lantian Safety Technology Co., Ltd., Nantong, Jiangsu 226004, China). Address correspondence to LI Jian, E-mail: nantonglantian@yeah.net · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: The change pattern of blood cholinesterase activity among organophosphorus pesticides workers varies with acute or chronic exposure manner. In this paper, the significance of blood cholinesterase activity assay, serving as a surrogate effect biomarker to reflect the neurotoxicity in target cholinergic nerve tissues due to acute exposure to organophosphorus pesticides, and its application values in occupational medicine clinical practice were introduced; and multiple time-related influencing factors relevant to this assay such as duration and time point of exposure, monitoring time period, stage of disease course, and phase of enzyme activity regeneration process were also analyzed. Meanwhile, the characteristics of enzyme activity and derived issues in occurrence of cholinergic neurotoxicity tolerance after long-term low-level exposure to organophosphorus pesticides and the considerations of this assay for occupational health surveillance were described.

Key Words: blood cholinesterase activity; biological monitoring; organophosphorus pesticides; occupational health assessment

有机磷农药是强烈的胆碱酯酶活性抑制剂, 也是我国当前及今后相当长一段时期内生产和使用最多的一类杀虫剂^[1]。有机磷农药的胆碱能神经毒性机制主要为其可与体内乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)结合, 使后者不能分解生理性递质乙酰胆碱, 造成局部乙酰胆碱积聚过多, 从而导致胆碱能神经和效应细胞持续兴奋, 出现毒蕈碱样、烟碱样及中枢神经系统中毒症状^[2]。

有机磷农药毒效应靶器官主要是胆碱能神经受靶及其效应细胞。中毒时血液胆碱酯酶活性与毒效应靶器官胆碱酯酶活性相平行, 与中毒临床表现相关性

好^[3-4], 可作为胆碱能神经系统胆碱酯酶活力的理想替代性生物效应标志^[5], 其特异性好, 生物学意义显著, 应用广泛。

1 职业接触者胆碱酯酶活性的特点

胆碱酯酶是生物体内正常的代谢酶, 主要调节体内相关物质的代谢平衡, 从而维持组织细胞的正常生理功能。它的活性受个体遗传背景和机体健康状态等调节, 其基础水平、生理波动范围及代偿能力的差异较大^[6-8]。与自身基础值或正常参照值比较, 血液胆碱酯酶活性显著降低被列为相关毒物接触的职业禁忌证^[9]。

职业接触者胆碱酯酶活性水平受到有机磷农药品种、暴露途径的影响。不同的有机磷农药品种对胆碱酯酶的亲和力不同; 相同剂量的单剂有机磷农药, 相对于中等及以上毒性的品种, 绝大多数低毒性品种的接触者胆碱酯酶活性抑制程度较轻; 混配农药中有

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15568

[作者简介] 并列第一作者。李建(1962—), 男, 学士, 高级工程师; 研究方向: 职业安全与职业卫生; E-mail: nantonglantian@yeah.net。黄发明(1962—), 男, 学士, 高级工程师; 研究方向: 职业安全与职业卫生; E-mail: nantonglantian@yeah.net

[作者单位] 江苏蓝天安全科技有限公司, 江苏 南通 226004

机磷农药的组分及其含量也可影响接触者胆碱酯酶活性;空气中有有机磷农药浓度与接触者血液胆碱酯酶活性水平具有一定关联性,但有机磷农药多是脂溶性油状物质,较难挥发逸散,却容易经皮吸收,皮肤污染是导致血液胆碱酯酶活性下降的主要原因;如果合并吸入农药气溶胶,胆碱酯酶活性抑制程度更为严重。

职业接触者胆碱酯酶活性还呈现依接触剂量(浓度)和/或依时间(包括暴露时间、病程时间、恢复时间)而变动的特点。大量毒理学研究数据和职业流行病学调查表明,在有机磷农药急性和慢性的不同暴露模式下,血液胆碱酯酶活性变化呈现不同的规律:(1)一定时间内接触吸收较大剂量有机磷农药,血液胆碱酯酶活性下降明显,出现不同程度的胆碱能危象症状,且接触剂量(浓度)越大,暴露持续时间越长,则胆碱酯酶活性越低,中毒程度也越严重,其间有很好的相关性^[10-11]。症状之出现主要取决于血液胆碱酯酶活性下降的速度,而非胆碱酯酶活性绝对值^[10]。(2)随着急性中毒病程延长,活性受到抑制的磷酸化胆碱酯酶发生自动催化的脱烷基反应的程度逐渐加深,从原先可以重活化状态逐渐到不再恢复活性的失活状态,胆碱酯酶复能剂丧失疗效,此过程称为“胆碱酯酶老化”^[6, 12]。因此,中毒后期胆碱酯酶活性下降较初期更明显,临床应尽早使用复能剂。(3)有机磷农药急性中毒后,体内“现时批次”的胆碱酯酶活性都受到不同程度的抑制而逐渐老化不能重活化,而血液胆碱酯酶活性恢复依赖于新合成酶再生,因而恢复较慢。因此,此时即使不接触有机磷毒物,胆碱酯酶活性也持续低下,需要等到“下一批次”新合成的胆碱酯酶达到足够数量,胆碱酯酶活性才能恢复正常^[2, 4, 6]。针对这一特点,从职业健康保护角度来说,作业工人急性中毒治愈后1~3个月内不宜接触有机磷农药,应进行胆碱酯酶活性监测,待恢复正常后才能返回工作岗位^[10]。(4)某些品种有机磷农药吸收进入体内后存在肠肝循环,血液胆碱酯酶活性波动明显且低水平迁延,病情有“反跳”^[13],中毒病程延长。这些都提示应加强患者病情监视,适时精准调整临床用药。(5)尽管在目前的生产技术和防护条件下,职业性急性有机磷农药中毒病例较以前大为减少,但长期低剂量职业接触有机磷农药的健康危害效应已成为职业卫生工作者关注的焦点。职业流行病学调查发现,生产性接触导致慢性中毒时,作业工人血液胆碱酯酶活性明显

下降,但临床症状却较少,病情程度亦较轻,明显偏离急性中毒时胆碱酯酶活性与临床表现之间的关联规律^[7, 14-19]。这一现象提示,慢性中毒并不等于急性中毒的轻症表现,不能套用同一诊断标准,此时即使胆碱酯酶活性很低,一般也不用抗乙酰胆碱药物或酶复能剂治疗,主要给予调离和对症治疗。(6)机体在长期低剂量暴露后对低胆碱酯酶活性水平的低反应性,即所谓“耐受”现象^[20-21]。血液胆碱酯酶活性检测也被列入有机磷农药作业工人职业健康监护的常规检测项目^[9]。一个有趣的现象是,相同作业环境中生产操作接触有机磷农药,刚入职新工人较工龄较长老职工血液胆碱酯酶活性下降明显,产生的症状体征也较多;当达到一定工作年限后,胆碱酯酶活性持续较低水平,但症状体征却减少甚至消失,呈现所谓胆碱酯酶活性抑制程度与临床表现严重程度“分离”现象。接触工龄以这种特殊模式与血液胆碱酯酶活性水平相关联。

血液胆碱酯酶活性是有机磷农药接触者的生物监测指标,一方面,它是机体多途径接触有机磷农药综合作用的结果,生产环境接触则是主要原因,其他原因包括食物农药残留、生活环境暴露等;另一方面,空气中毒物浓度水平代表的环境暴露水平不超标并不能直接判断接触者血液胆碱酯酶活性未受抑制,可能还存在皮肤污染吸收或平时非空气采样期间的超标吸入暴露等导致胆碱酯酶活性抑制,应作细致调查甄别,在应用评价时应予充分认识。

2 职业接触者胆碱酯酶活性测定意义

血液胆碱酯酶活性是有机磷农药作业工人最常用的生物监测指标^[22-25],灵敏而特异地反映了有机磷农药接触情况和毒效应强度及其变化过程,因而在职业卫生评价、职业健康保护以及职业中毒临床救治等方面,都有重要的价值。其应用范围包括:有机磷农药职业接触评估、作业环境卫生质量考核、接触人群生物效应危害程度评价、职业健康监护(岗前、在岗、离岗或换岗、职业病筛检、中毒治愈后返岗作业)、危害防控实践指导及职业中毒临床诊断、病情分级、病情进展或恢复情况、用药指导、疗效观察、预后判断、康复处理等。

生产工人在岗定期体检项目监测胆碱酯酶活性,除了要发现胆碱酯酶活性显著降低的显性中毒患者,更重要的意义在于,筛检出胆碱能毒性易感者(检查

有机磷农药接触的健康适岗性,剔除职业禁忌证)或生产操作过程中可能存在的高暴露而出现的早期潜伏的隐性中毒病例,真正实现对接触者健康状态严密地动态监控。

3 血液胆碱酯酶活性测定、监测应用需注意的问题

体内胆碱酯酶有两类:一类是AChE,亦称真性胆碱酯酶,主要分布于红细胞膜及脑灰质部分,能够分解乙酰胆碱;另一类是丁酰胆碱酯酶(butyrylcholinesterase, BuChE),分布于肝脏、血清和唾液腺等组织,分解丁酰胆碱作用较强,而分解丙酰胆碱和乙酰胆碱作用较弱。血液胆碱酯酶包括红细胞AChE和血清(浆)BuChE。有机磷农药中毒时,存在于体内多种组织(包括血液)中的这两类胆碱酯酶活性都能被抑制,从急性毒效应考虑,测定红细胞膜表面的AChE意义更大^[3]。测定时应采用等渗溶液等多种措施防止溶血^[26-28],准确把握酶促反应的取血量、水浴温度和反应时间,避免干扰AChE活性测定结果。测定所得的胆碱酯酶绝对值应与自身基础值或正常参照值比较,计算出胆碱酯酶活性相对值(%),便于应用判断。采样时为避免血液样品被有机磷农药污染,应彻底清洗采血局部皮肤。对接触者生物监测时,应以接触前连续3次测定的平均值作为基线值,并规定在接触终止后2h内采血作为接触后标本^[3-4]。还需要指出的是,中毒救治中密切动态监测血液胆碱酯酶活性十分重要,有利于准确判断病情变化趋势。

有文献报道,血清BuChE活性比红细胞AChE敏感,更易受到有机磷农药抑制,但其活性抑制程度与红细胞或神经组织中的AChE活性抑制程度以及临床中毒症状体征之间的关系并不密切^[4,6]。目前尚不清楚血清BuChE具体的生理作用,推测是BuChE早于AChE,且非特异性地结合于有机磷农药,因此其活性较早受到抑制,但这种酶活性抑制作用缺乏效应特异性,故只能作为接触生物标志。

正确解读胆碱酯酶活性结果,不能只看胆碱酯酶数据结果,需要针对急性中毒救治或低剂量反复接触者的一般健康监护等不同情形,收集接触的有机磷农药品种与种类和含量、操作活动或产生环节、用(产)量、接触时间、接触人数、防护措施与使用情况、环境暴露浓度、皮肤污染情况、生物接触水平、毒物暴露时点时程、血液标本取样与检测时相、临床症状体征特点、关联指标、病程过程、恢复过程、用药情况

甚至背景暴露、基础健康状况等相关资料,有时还需要进一步查询毒物的基本毒理学参数,在此基础上进行综合分析,才能获得全面认识,做出合理解释,得出正确结论(包括个体评价和群体评价)。胆碱酯酶活性正常并不表示一定没有有机磷农药接触,可能因自身遗传因素(如解毒酶活性高等)所致,或胆碱酯酶活性降低也不一定就是有机磷农药暴露引起,有可能是机体生理状态原因或其他毒物接触所致。

应正确应用职业接触者胆碱酯酶活性监测规律,耐受现象提示:新工人对持续接触有机磷农药产生的毒性易感,老工人则耐受。对新、老工人中毒诊断时应分别采用不同的胆碱酯酶活性生物接触限值^[29]:开始接触3个月内的工人任意时间抽血样品的全血胆碱酯酶活性校正值应大于原基础值或参考值的70%,持续接触3个月以上的工人任意时间抽血样品的全血胆碱酯酶活性校正值应大于原基础值或参考值的50%,这是在职业医学临床诊断上体现对新工人的保护。从另一层面来看,耐受现象还提示:老工人胆碱酯酶活性水平低,也隐含着其对后续有机磷农药冲击接触的缓冲抵抗性降低,预示着仍有可能相对容易发生中毒。另外,机体对持续低剂量接触有机磷农药的耐受现象在职业健康监护应用中还引出了一系列新的问题^[20]:首先,正因为新工人易感,所以在职业卫生实践中更应注重加强对新工人的教育和保护措施;其次,还应注意监测胆碱酯酶耐受表象下老工人的其他器官系统实质性损害,包括有机磷农药不通过胆碱能神经途径的直接或间接的毒作用,如非胆碱能的神经毒性、心脏损害、肝脏损伤等,以及耐受形成过程中对体内其他神经递质平衡和酶活性的影响及其表现形式;再有,用胆碱酯酶活性抑制程度来评价慢性中毒患者的病情或产生耐受后的老工人远期危害问题,其临床价值值得怀疑,或者说不合适的,需要寻找新的特异度、灵敏度高的生物效应标志^[2],如血清羧酸酯酶、对氧磷酶、 β -葡萄糖苷酸酶等。

总之,有机磷农药急性暴露后有胆碱酯酶抑制、酶老化、酶再生的不同阶段,引起不同模式的酶活性改变,并导致相应的胆碱能神经毒性变化,关系紧密,特异性强;不同剂量和时间的慢性暴露模式及其相应的机体抗性(调节与耐受)反应下,胆碱酯酶活性三维曲面及其毒性效应和人群毒性反应、血液红细胞AChE和血清BuChE的反应敏感性等相互关系

复杂,应用时应正确认识,综合分析,合理评价。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] 张永年, 李国玉, 焦贤芳. 有机磷农药作业工人血清胆碱酯酶活力分析[J]. 职业与健康, 2006, 22(22): 1938.
- [2] 杨泽云, 杨森. 长期低剂量接触有机磷农药效应标志物研究进展[J]. 环境与职业医学, 2010, 27(7): 443-446.
- [3] 黄金祥. 血液胆碱酯酶活力测定在农药中毒诊治中的意义[J]. 职业与健康, 2004, 20(1): 1-3.
- [4] 孙运光, 周志俊, 顾祖维. 有机磷农药生物标志物的研究进展[J]. 劳动医学, 2000, 17(1): 58-60.
- [5] He FS. Biological monitoring of exposure to pesticides: current issues[J]. Toxicol Lett, 1999, 108(2/3): 277-283.
- [6] 陈嘉, 周志俊, 顾祖维. 乙酰胆碱酯酶研究进展对更新有机磷毒作用机理的认识[J]. 劳动医学, 2001, 18(1): 55-57.
- [7] Singleton ST, Lein PJ, Dadson OA, et al. Longitudinal assessment of occupational exposures to the organophosphorous insecticides chlorpyrifos and profenofos in Egyptian cotton field workers[J]. Int J Hyg Environ Health, 2015, 218(2): 203-211.
- [8] Lefkowitz LJ, Kupina JM, Hirth NL, et al. Intraindividual stability of human erythrocyte cholinesterase activity[J]. Clin Chem, 2007, 53(7): 1358-1363.
- [9] 职业健康监护技术规范: GBZ 188—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 56-57.
- [10] 职业性急性有机磷杀虫剂中毒诊断标准: GBZ 8—2002[S]. 北京: 法律出版社, 2004: 1-5.
- [11] Dyer SM, Cattani M, Pisaniello DL, et al. Peripheral cholinesterase inhibition by occupational chlorpyrifos exposure in Australian termiticide applicators[J]. Toxicology, 2001, 169(3): 177-185.
- [12] Mason HJ, Sams C, Stevenson AJ, et al. Rates of spontaneous reactivation and aging of acetylcholinesterase in human erythrocytes after inhibition by organophosphorus pesticides[J]. Hum Exp Toxicol, 2000, 19(9): 511-516.
- [13] 方克美. 急性有机磷中毒恢复期“反跳”与迟发死亡探讨[J]. 劳动医学, 1989, 6(4): 1-4.
- [14] 魏希文, 王玉学. 有机磷作业工人全血胆碱酯酶活力分析[J]. 工业卫生与职业病, 2004, 30(5): 301.
- [15] 王海华, 肖经纬, 程娟, 等. 有机磷对作业工人红细胞乙酰胆碱酯酶和血清对氧磷酶活力的影响[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(3): 198-200.
- [16] 孙运光, 周志俊, 胡云平, 等. 农药厂生产工人健康监护资料分析[J]. 劳动医学, 2001, 18(4): 222-225.
- [17] 匡兴亚, 周志俊, 马欣欣, 等. 有机磷农药接触工人酯酶活力特征及基因多态对酶活力的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006, 24(6): 333-336.
- [18] 林铮, 黄金祥, 朱秋鸿. 接触对硫磷农药工人监测指标研究[J]. 中国工业医学杂志, 2007, 20(4): 214-217.
- [19] 王静, 韩淑毅, 郑文华, 等. 济南市2家有机磷农药工厂作业工人血清胆碱酯酶检测[J]. 预防医学论坛, 2011, 17(2): 140-142.
- [20] 薛寿征, 孙东红. 持续接触有机磷农药所致耐受性及其机理研究[J]. 国外医学卫生学分册, 1996, 23(2): 70-73.
- [21] 孙运光. 有机磷农药所致耐受的研究进展[J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28(6): 325-329.
- [22] Storm JE, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase[J]. Toxicology, 2000, 150(1/2/3): 1-29.
- [23] Cocker J, Mason HJ, Garfitt SJ, et al. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides[J]. Toxicol Lett, 2002, 134(1/2/3): 97-103.
- [24] Farahat FM, Ellison CA, Bonner MR, et al. Biomarkers of chlorpyrifos exposure and effect in Egyptian cotton field workers[J]. Environ Health Perspect, 2011, 119(6): 801-806.
- [25] Strelitz J, Engel LS, Keifer MC. Blood acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as biomarkers of cholinesterase depression among pesticide handlers[J]. Occup Environ Med, 2014, 71(12): 842-847.
- [26] 全血胆碱酯酶活性的分光光度测定方法 羟胺三氯化铁法: WS/T 66—1996[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 1-3.
- [27] 全血胆碱酯酶活性的分光光度测定方法 硫代乙酰胆碱-联硫代双硝基苯甲酸法: WS/T 67—1996[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 1-6.
- [28] Linhares AG, Assis CRD, Siqueira MT, et al. Development of a method for extraction and assay of human erythrocyte acetylcholinesterase and pesticide inhibition[J]. Hum Exp Toxicol, 2013, 32(8): 837-845.
- [29] 职业接触有机磷磷酸酯类农药的生物限值: WS/T 115—1999[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999: 1.

(收稿日期: 2015-09-24)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 陶黎娟)