

# 地方性砷中毒膜毒理和砷致血管疾病機理之研究

馬恒之<sup>1</sup> 夏雅娟<sup>1,\*</sup> 武克恭<sup>1</sup> 于廣軍<sup>1</sup> 秦月鮮<sup>1</sup>

侯少範<sup>2</sup> 楊林生<sup>2</sup> 李德珠<sup>2</sup>

HENG-ZHI MA<sup>1</sup>, YA-JUAN XIA<sup>1,\*</sup>, KE-GONG WU<sup>1</sup>, GUANG-JUN YU<sup>1</sup>, YUE-XIAN QIN<sup>1</sup>,

SHAO-FAN HOU<sup>2</sup>, LIN-SHENG YANG<sup>2</sup>, DE-ZHU LI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 內蒙古地方病防治研究所, 內蒙古呼和浩特市健康街41號

Inner Mongolia Institute for Endemic Disease Control and Research, No. 41, Jian-Kang Street, Huhhot, Inner Mongolia.

<sup>2</sup> 中國科學院地理研究所

Institute for Geography, Chinese Sciences Academy.

\* 通訊作者Correspondence author.

**目標:** 本文從細胞膜毒理學角度探討砷致小腦血管疾病的機理。**方法:** 以原子吸收法測定病人血砷, 顯微鏡觀察細胞膜及血管變化以及血液流變學。**結果:** 砷中毒病人血砷為 $0.11 \pm 0.055 \mu\text{g/mL}$ , 紅細胞膜 $0.101 \pm 0.050 \mu\text{g/mg}$ 膜蛋白; 電子顯微鏡觀察到紅細胞膜損傷和異形紅細胞增多; 高砷暴露的家畜血管內皮細胞排列紊亂; 光學鏡下可以看到小血管內皮細胞腫脹, 血管壁纖維蛋白樣變性, 血管數量減少。紅細胞膜上的損傷, 引起紅細胞免疫功能下降; 血液流變學的變化, 細胞膜ATPase活性下降, 紅細胞電泳速度減慢。紅細胞膜和血管內皮的損傷又造成微循環變化, 甲皺微循環的變化與病人心電圖變化關係密切, 球結膜的變化與病人的腦血管關係密切, 這些變化可能是砷中毒遠期效應的原因。通過給病人補硒, 提高GSH-Px活性, 紅細胞膜得到修復, 微循環改善, 症狀緩解; 同樣, 用改善微循環的治療辦法, 也可以使病人症狀好轉, 用排砷治療, 同樣有治療效用。**結論:** 砷對細胞膜的直接毒害可能是砷中毒發病機理中的重要環節。(中華衛誌 1999; 18(附冊 1): 82-86)

**關鍵詞:** 地方性砷中毒、電子顯微鏡、紅細胞、毒理學、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 、微循環、血液流變學。

## Study for membrane toxicology and vascularpathy mechanism due to endemic arsenism

**Objectives:** This report studied and discussed angiocardiorpathy and cerebro-vascularpathy mechanism due to arsenic in cell membrane toxicology. **Methods:** It is assayed by atomic absorption method to measure arsenic in blood, observed the cell membrane and blood vessel configurations and hemorrheology by microscope. **Results:** Patients' arsenic contents are  $0.11 \pm 0.055 \mu\text{g/mL}$  in blood and  $0.101 \pm 0.050 \mu\text{g/mg}$  membrane protein in RBC membrane. Erythrocyte membrane damage, heterotypic erythrocyte increase, and livestock's endodermis cell sequence irregularity in high-level arsenic area are found under electron microscope. Capillary endodermis cell swelling, vascular wall fibrinoid degeneration, and blood vessel decrease are observed under light microscope,  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity in erythrocytic membrane is lower, and erythrocyte electrophoretic mobility slows down. The damage of erythrocytic membrane and endodermis cell induces micro-circulation change, the change of nail fold micro-circulation is closely relative to electrocardiogram, the change of bulbar conjunctive micro-circulation is closely relative to cerebrovascular symptoms. All these changes may be the reason of arsenism long-effect in arsenism. Treatment by increasing Selenium to patients may raise GSH-Px activity, restore membrane, better micro-circulation, relieve symptoms. The symptoms also be relieved under better circulation and eliminate arsenic. **Conclusions:** Arsenic damages membrane directly may be an important chain in arsenism pathology mechanism. (*Chin J Public Health. (Taipei): 1999;18(suppl 1):82-86*)

**Key words:** endemic arsenism, electron microscope, erythrocyte, toxicology,  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ , micro-circulation, hemorrheology.



## 前 言

地方性砷中毒可引起心、腦血管和末梢血管循環障礙，已被大量資料報導證實，既往的調查資料[1]顯示心電圖異常率高達80%，其中缺血型佔75%；腦電圖異常率為39.5%；雷諾氏症佔69.3%。在智利青年中(小於40歲)尤為高發，除了出現了心肌梗塞外，還看到手指足趾壞疽[2]。在台灣地方性砷中毒地區，由於病人肢端血液循環障礙，引起肢端壞死，而將其稱為「烏腳病」[3]等等，但砷致血管疾病仍缺乏一種合理的解釋，更無特別有效的治療方法。本文基於對砷是一種全身性疾病，多組織、多器官、多部位損傷，它必然有一個受損傷的共同靶位，這個靶位就是細胞膜和酶的損傷的認識，而提出下面一個模式：砷→靶器官→結構損傷和功能障礙→一系列臨床表現

這裡所指的靶器官是指靶位細胞膜和酶。砷易與巰基和硫鍵結合，凡是有巰基和硫鍵豐富的部位，都可成為靶位。皮膚和指甲等含有角蛋白，頭髮含有豐富的酪氨酸，所以這些部位富含的砷也多[4]。同時，由於砷在體內形成自由基，造成脂質過氧化，引起損傷是重要原因之一。因此，我們從細胞膜毒理學角度對地方性砷中毒機理進行了探討。

## 材料與方法

- (一) 病人診斷標準和病情分類：按內蒙地方性砷中毒專家諮詢組制定的病人診斷標準和分類分度進行判斷[5]採取砷中毒病區病人及與病人生活環境相似的非病區的健康人作為對照，一律採取肘靜脈血作為實驗材料。
- (二) 生物樣品含砷量測定：全血、血清、細胞膜、胞漿砷含量以原子吸收法測定。
- (三) 紅細胞免疫黏附活性(RCIA)和紅細胞膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性測定，按材料[6,7]方法進行，谷胱甘肽過氧化物酶測定按常量法測定。
- (四) 紅細胞電泳測定：用無錫分析儀器廠生

產的YXDY型血液黏度、細胞電泳兩用儀測定。

- (五) 紅細胞電子顯微鏡標本製作，按常規方法以戊二醛固定，環氧樹脂包埋，超薄切片等常規製作標本，以Hitachi-1600型掃描和透射電鏡觀察。
- (六) 微循環檢查，計分評定標準按田牛氏[8]方法進行。
- (七) SOD：以上海第二軍醫大學提供放光試劑盒。
- (八) 硒維康：由北京天賜福有限公司提供口服膠囊，劑量 $100\text{ }\mu\text{g/粒}$ 。

## 結 果

- (一) 血液各成份的含砷量測定結果為：砷中毒病人血液為 $0.11\pm 0.055\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，紅細胞膜 $0.101\pm 0.050\text{ }\mu\text{g/mg}$ 膜蛋白，胞漿為 $0.0012\pm 0.0007\text{ }\mu\text{g/mg Hb}$ ，正常人全血砷參考值為 $0.002\text{-}0.007\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，血清為 $0.0043\pm 0.002\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，尚未見到關於細胞膜正常人和地方性砷中毒砷含量報導。
- (二) 電子顯微鏡觀察看到細胞膜受損，掃描電鏡下主要特徵為紅細胞表面凹凸不平，棘樣變；透射電鏡下膜結構鬆散，邊緣不齊，缺損或模糊。紅細胞膜損傷按膜損傷輕重劃分，病情輕的病例每十個紅細胞中有兩個細胞受損，病情中度和重度病例每十個紅細胞中有5-9個細胞受損不等，損傷程度與病人病情成正相關，與胞膜的含砷量相關，即胞膜含砷量越高，胞膜損傷越嚴重。戶檢農民家飼養的飲用高砷水8年以上的羊，電子顯微鏡下可見血管內皮細胞排列紊亂。
- (三) 紅細胞免疫功能低下，我們以紅細胞免疫黏附試驗劃分標準，以1:4(+)作為正常界限，對照人群紅細胞免疫黏附(1:4以上)為94%(17/18)，地方性砷中毒病人僅為30%(11/36)。
- (四) 血液流變學的變化：我們以病人體外血栓形成試驗作為綜合指標來反應血液流變學的變化，結果是：血栓高的29人中

微循環障礙的25人；血栓高的微循環無障礙的4人；血栓正常20人中微循環重度異常的10人，輕度異常8人，大致正常的2人；說明地方性砷中毒的病人血管病變包含了微血管障礙和血液流變學異常兩部份。

- (五) 細胞膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性下降，正常人為 $6.32 \pm 1.21$ 活性單位，地砷病人為 $4.03 \pm 1.09$ 活性單位，兩者具有顯著性差異，谷胱甘肽過氧化物酶GSH-Px正常人為 $114.9 \pm 20.1$ ，而病人為 $73.6 \pm 22.8$ ，兩者有顯著性差別。測定25例病人紅細胞的SOD平均為794.32，其中，中重度病人下降更為明顯，與健康對照組相比(正常參考標準為1127.48)，兩者有顯著性差異。
- (六) 紅細胞電泳速度改變，正常對照為18秒/cm，地方性砷中毒病人為 $34.21 \pm 6.7$ 秒/cm，兩者有非常顯著性差異。
- (七) 光學顯微鏡下可見血管內皮腫脹，透明樣變性，管腔狹窄。
- (八) 紅細胞和血管內皮的損傷又造成病人微循環變化，微循環變化總的情況是：甲皺微循環清晰度差；血管袢排列以數量減少，管袢短，變細，畸形為主；流態與病人病情密切相關：重度病人血流為粒緩和粒擺的佔91%，中度病人佔66%，輕度病人佔37.5%。而病區的非病人僅僅為16.7%。甲皺微循環改變與心電圖關係極為密切，60例心電圖正常的病人流態為粒緩和的16例，佔26.6%；69例心電圖異常的病人流態為粒緩和粒擺的35例，佔50.7% ( $P < 0.05$ )，表明心電圖異常和甲皺微循環之間有密切關係。

病人球結膜微循環改變與心電圖和腦神經症狀(我們主要以頭痛作為觀察指標)之間關係如下：有頭痛症狀的40人，微血管紊亂33例，佔82.5%，紅細胞聚集的33例，佔82.5%，流速為粒緩和的37例佔92.5%，未見有粒擺，而無頭痛症狀的23例病人，表現血管紊亂的僅1例，佔4.3%，沒有紅細胞聚集現象，流速為粒緩和1例，佔4.3%，兩者相比有顯著性差異 ( $P < 0.01$ )；檢查有頭痛和心電圖異

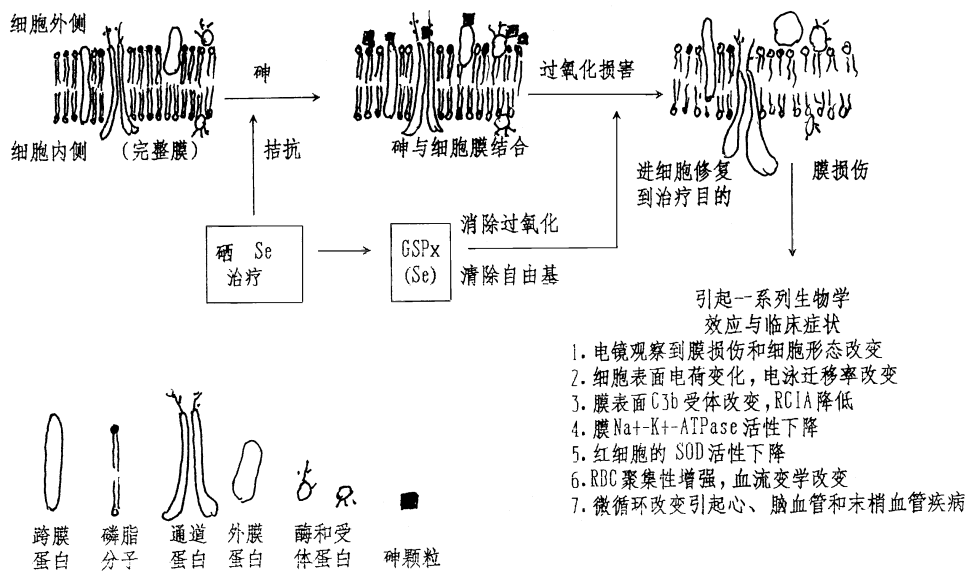
常同時存在的病人15例，球結膜血管紊亂15例，佔100%，紅細胞聚集的11例，佔73%，血流為粒緩和的11例，粒擺的2例，共佔86%；與無頭痛的人相比， $P < 0.01$ ，有非常顯著性差異，但與僅有頭痛症狀的人相比， $P > 0.05$ ，無顯著性差異，表明球結膜微循環變化與頭痛症狀之間有密切關係。且甲皺微循環的變化與病人心電圖變化關係密切，球結膜的變化與病人的腦血管症狀關係密切。

- (九) 有機硒治療病人，因為谷胱甘肽過氧化物酶(GSH-Px)是含有硒的酶，具抗脂質過氧化作用，它對細胞膜具有保護作用。以硒治療三個月效果表現在五個方面：
- (1) 血硒增加，投藥前病人血硒由原來的 $0.029 \mu\text{g/mL}$ 增加為 $0.118 \mu\text{g/mL}$ ，(2) 砷水平下降，血砷由投藥前的 $0.0625 \mu\text{g/mL}$ ，降為 $0.0186 \mu\text{g/mL}$ ；尿砷由原來的 $1.078\text{mg/L}$ 降為 $0.046\text{mg/L}$ ；髮砷由 $4.75 \mu\text{g/g}$ 降為 $1.75 \mu\text{g/g}$ ；(3) 酶活性的提高，谷胱甘肽過氧化物酶由原來的73.6增加為110.2； $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 總活性由原來的4.61活力單位增加為7.91；(4) 電子顯微鏡檢查可以看到紅細胞膜明顯的修復；微循環改變，症狀緩解；(5) 病人的自覺症狀、體徵、實驗室檢查的客觀指標綜合判定，硒治療獲得100%的近期效果。

## 討 論

通過上述一系列實驗結果，充分證明砷的細胞毒作用。砷對細胞膜的損害，以及造成疾病的過程，我們可以用模式(圖一)來說明。

砷與細胞膜的結合或穿過細胞的過程或砷直接毒害作用造成膜結構的改變和損傷的機制是相當複雜的，我們分析：細胞膜主要由脂類(磷脂)和蛋白組成，其中包括過膜蛋白，內膜和外膜蛋白，骨架蛋白，受體蛋白和各種酶蛋白等，而這些蛋白中，又有很多含有巰基和硫鍵，因而容易和砷結合，有可能促進脂質的過氧化[9]。脂質在過氧化的過程中，可以不斷的產生自由基，進一步加重對細胞的損傷，已有作者證明脂質過氧化對



地方性砷中毒 紅細胞膜損傷引起疾病模式圖

組織和血管的損傷[10]。我們觀察到膜損傷，且損傷程度與病人病情是一致的；當RBC膜受到損傷時，其表面C<sub>3b</sub>受體的數量則會減少，結構也會發生改變，因為RCIA的基礎是RBC膜表面的C<sub>3b</sub>受體，故膜的損傷直接影響RCIA，這意味著機體清除免疫複合物和有毒物質免疫減弱；Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase是細胞膜標誌酶和重要的離子通道，膜受損或結構發生變化使其功能發生障礙，細胞內外離子平衡失調，細胞表面結構的變化，勢必引起細胞表面電荷的變化，一方面細胞電泳時間延長，聚集程度增加，另一方面紅細胞變應性和可塑性下降，這些變化的結果導致血流變學和微循環障礙，病人體外血栓明顯高於正常人(可能是阻塞性動脈炎的主要原因)。地方性砷中毒的病人RCIA、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase電泳時間與健康對照比較都有顯著性差異，說明砷中毒病人不僅紅細胞結構受損而且功能也發生變化。

砷既可以對紅細胞造成毒害和損傷，同樣也可以對其他細胞，包括血管內皮細胞及組織細胞造成毒害和損傷，病理光學顯微鏡及電鏡觀察都見到了小血管內皮細胞的損傷，內皮細胞排列紊亂和血管管腔變窄

[11,12]，這可能是引起閉鎖性動脈炎的原因。RCIA和其他免疫活性細胞功能降低，可能是砷致癌的免疫方面的原因。紅細胞及血管內皮細胞結構和功能改變造成血液流變學和微循環障礙，可能是心、腦血管疾病及肢端壞死的根本原因，同樣可以圓滿的解釋了地方性砷中毒的病人為什麼表現為閉鎖性和阻塞性動脈炎。

針對砷的致病機制的上述認識，我們從修復和保護細胞膜以及改善微循環角度，反過來驗證我們的設想是否正確。一是投硒治療(硒維康)，二是改善循環治療，我們知道，硒不僅是砷拮抗劑，而且是谷胱甘肽過氧化物酶的活性成份[4]，大量資料已證明其對保護細胞膜有重要作用，我們的結果恰恰也證明了這種作用，電子顯微鏡觀察到紅細胞的修復，微循環改善，以及其他觀察指標，也有非常顯著的變化；單純改善微循環的治療，也收到一定的治療效果，但紅細胞膜修復不好，且療效不鞏固，主要是血液流變學指標下降不大，這也從另一個角度證明了砷的細胞毒性及膜毒性效應。因而提示砷對細胞膜的直接毒害可能是地方性砷中毒發病機理中重要環節。



## 致 謝

本文得到國家自然科學基金贊助。

## 參考文獻

1. 馬恒之、王風岐、郭曉娟等：飲水型地方性砷中毒臨床特點。中國地方病學雜誌1995；地方性砷中毒論文專輯。
2. Zaldivar R et al. A morbid condition involving cardio-vascular, broncho-pulmonary, digestive and neural lesions in children and young adults after dietary arsenic exposure, Zbl Bakt I Abt orig B 1980;170:44.
3. 聯合國環境規劃署國際勞工組織世界衛生組織：砷的環境衛生標準。北京：人民衛生出版社，1985；P109。
4. 陳清等編著：微量元素與健康。北京：北京大學出版社，1989。
5. 內蒙地方性砷中毒專家諮詢組：地方性砷中毒診斷標準。內蒙地方病防治研究1993；18：47。
6. 夏雅娟、于廣軍、武克恭等：地方性砷中毒病人紅細胞免疫功能研究。中國免疫學雜誌1993；9(增刊)：149。
7. 夏雅娟、馬恒之、于廣軍：地方性砷中毒病人紅細胞膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性研究。內蒙地方病防治研究雜誌1994；19(增刊)：25。
8. 田牛、李向紅編著：微循環檢查手冊。北京：人民衛生出版社，1992。
9. 黃天祥、魯風洲：腐植酸金屬複合物對小鼠肝和腎的脂肪酸代謝酶的作用。內蒙地方病防治研究雜誌1994；19(增刊)：25。
10. Goto Y：Lipid peroxides as a cause of vascular disease in lipid peroxides in Biology and Medicine. Academic Press, NY/London. 1982;259-303.
11. 夏雅娟、馬恒之、武克恭等：地方性砷中毒組織病理學研究。中國地方病學雜誌1995；地方性砷中毒論文專輯。
12. 馬恒之、夏雅娟、武克恭等：地方性砷中毒組織的電子顯微鏡觀察。中國地方病學雜誌1995；地方性砷中毒論文專輯。

Taiwan Public Health Association  
台灣公共衛生學會

