

铅对肾上腺皮质细胞线粒体的氧化损伤

杨杏芬, 庄志雄, 魏青, 凌莉, 范瑞泉, Shen HM, Ong CN

(中山医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室, 广东 广州 510089)

摘要:【目的】研究铅对肾上腺皮质细胞氧化应激和线粒体功能的影响, 为了解其肾上腺皮质毒作用机制提供依据。

【方法】原代分离培养豚鼠肾上腺皮质细胞, 以 0、6.25、12.5、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅(PbAc)处理细胞, 观察 PbAc 诱导肾上腺皮质细胞活性氧(ROS)产生和线粒体损伤作用。ROS 检测采用荧光分光光度法, 线粒体膜电位(MMP)和细胞存活状态采用 Rh123 和 PI 双标记、流式细胞术检测, 细胞 ATP 水平采用化学发光法测定。【结果】PbAc 染毒后肾上腺皮质细胞 ROS 形成水平随剂量增加而增加, 具有剂量效应关系 $\hat{y} = 4.16 + 10.21 \times 1g(x + 1)$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.641$; 线粒体膜电位呈剂量依赖性降低, Rh123 的平均荧光强度(MFI)在 6.25 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 各剂量组依次为 1.01, 0.94, 0.96, 0.95 和 0.91, 与对照组(1.35)比较具有显著性差异 ($P < 0.01$); 染毒后细胞死亡率轻度增加, 与对照组(1.02%)比较, 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 PbAc 组分别为 3.16% 和 3.40%, 差异具有显著性 ($P < 0.05$); ATP 水平降低与 PbAc 剂量之间存在剂量效应关系 [$\hat{y} = 212965.7 - 51592.5 \times 1g(x + 1)$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.568$], 剂量和时间对 ATP 水平的影响呈协同抑制作用 ($P < 0.01$)。【结论】线粒体氧化应激诱导肾上腺皮质细胞毒性可能是 PbAc 毒作用机制之一, 线粒体损伤是铅致肾上腺皮质毒作用的早期细胞和分子事件。

关键词: 铅; 肾上腺皮质; 氧化应激; 线粒体; ATP; 细胞毒性

中图分类号: R114 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)01-0014-05

Mitochondria Oxidative Damage of Adrenocortical Cells Induced by Lead Acetate *in vitro*

YANG Xing-fen, ZHUANG Zhi-xiong, WEI Qing, LING Li,
FAN Rui-quan, SHEN Han-ming, ONG Choon-nam

(Department of Toxicology and Occupational Health, School of Public Health, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089, China)

Abstract: 【Objective】To study the effect of lead acetate on mitochondria oxidative stress and functional alteration of adrenocortical cells. 【Methods】Male guinea pig fasciculata-glomerulosa (FG) cells were dispersed and primarily cultured as the testing system. The changes in the formation of reactive oxygen species (ROS) and the mitochondria damage were observed when the cells were incubated with lead acetate at different dosages of 0, 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$. The indices and their corresponding detecting methods included: ① ROS (fluorescence spectrometry); ② Mitochondria membrane potential (MMP) and dead cells rate [flow cytometry with dual-labeling of rhodamine 123 (Rh123) and propidium iodide (PI)]; ③ ATP level (chemoluminescence assay). 【Results】The formation of ROS in adrenocortical cells was increased in dose-dependent manner after lead acetate incubation [$\hat{y} = 4.16 + 10.21 \times 1g(x + 1)$, $P < 0.01$, $R^2 = 0.641$]; MMP decreased as the dose of PbAc increased. The mean fluorescent intensity (MFI) of Rh123 dropped from 1.01 to 0.91 as the dosage increased from 6.25 $\mu\text{mol/L}$ to 100 $\mu\text{mol/L}$, which were significantly lower than that of the control

收稿日期: 2000-07-28

基金项目: 国家自然科学基金(39570614)、卫生部人才基金(9806)资助

作者简介: 杨杏芬(1962-), 女, 广东广州人, 副教授, 医学博士; Shen HM, Ph. D.; Ong CN, Ph. D., Professor, National University of Singapore (COFM)

(1.35, $P < 0.01$); Dead cells rate appeared to be slightly increased. Dead cells rates in the groups of 50 $\mu\text{mol/L}$ and 100 $\mu\text{mol/L}$ PbAc were 3.16% and 3.40% respectively when compared with the control (1.02%, $P < 0.05$); ATP levels tended to decrease, resulting from the synergistic inhibition by the dose and incubation period of PbAc. The regression analysis showed that dose-effect relationship existed between the decreased ATP and the increased dosage of PbAc [$\hat{y} = 212965.7 - 51592.5 \times 1g(x + 1)$, $R^2 = 0.568$, $P < 0.01$]. 【Conclusion】 This study demonstrated that cytotoxicity of adrenocortical cells induced by lead acetate is probably attributed to mitochondria oxidative stress. Mitochondria damage might be the early cellular and molecular event in toxic effect of lead on adrenal cortex.

Key words: lead; adrenal cortex; oxidative stress; mitochondria; ATP; cytotoxicity

线粒体在维持细胞内离子平衡、能量代谢以及对外界因素的应激方面发挥着重要的作用。线粒体又是许多外源性化合物最敏感和最早受到累及的损伤靶点,特别是氧化损伤中主要的靶细胞器^[1]。既往研究证实铅可引起造血系统、神经系统、免疫系统和生殖内分泌系统的疾病,然而迄今对铅的毒作用机制仍未完全清楚,铅的肾上腺皮质毒作用效应和机制研究甚少。为了探讨铅对豚鼠肾上腺皮质细胞线粒体的氧化损伤作用,本实验通过研究细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平与线粒体功能之间的关系,探讨铅致肾上腺皮质细胞氧化损伤的机制,为深入了解 Pb^{2+} 的毒作用机制提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

体重为(600 ± 20)g 健康雄性豚鼠[Dunkin Hartley (albino) from Interfauna U. K. Ltd. England]由新加坡国立大学和中山医科大学实验动物中心提供。每次试验取豚鼠 10 ~ 12 只,取出双侧肾上腺汇总,按以下方法进行肾上腺皮质细胞分离,分离得到的细胞按一定浓度放入培养板中培养,每一处理组设平行样,并重复试验 3 次。

1.2 主要试剂和仪器

胶原酶(type 1A)、DNA 酶(DNase I)、小牛血清白蛋白(BSA)为 Sigma 公司产品;培养基 DMEM、胎牛血清(FCS)、青链霉素为 Gibco BRL 产品;醋酸铅(PbAc)为上海化学试剂四厂产品,纯度 > 99%;罗丹明 123(Rh123)、噻唑蓝(MTT)购自 Sigma 公司;二乙酰二氯化荧光素(DCFH-DA)购自美国 Molecular Probes 公司;ATP 测定采用 Lumi-Kleen 测试盒和 Lumi-one Model A 可携式

发光仪;主要仪器还有 Bio-tek 酶标仪、EPICS ELITE 流式细胞仪和 F-3010 荧光分光光度计。

1.3 肾上腺皮质细胞分离与培养^[2]

于上午 8:00 ~ 9:00 采用 CO_2 气体吸入麻醉豚鼠,以 75%酒精消毒局部皮肤后,迅速剖开腹部,分离及取出双侧肾上腺,立即置入灭菌 D-Hank's 液中,在无菌操作台进行以下步骤:剔除包膜后,纵向剪开肾上腺,剔除髓质,剪碎,于含胶原酶(2.5 mg/mL)、DNase(2 $\mu\text{g/mL}$)和 15 g/L BSA 的培养基中,37 °C 摇动水浴 20 min,以 200× g 4 °C 离心 10 min 后弃上清,于含 15 g/L BSA 的无血清培养基中重悬,37 °C 水浴 5 min 后,离心弃上清,重悬于含 25 g/L BSA 的 D-Hank's 液中,37 °C 摇动水浴 15 min 后,反复轻柔吹打分散细胞后, Falcon 尼龙网过滤,以 200× g 4 °C 离心 10 min,然后用含青、链霉素和 120 mL/L 胎牛血清的培养基重悬、离心,如此反复 3 次。最后用含 120 mL/L 胎牛血清的培养基重悬,调整细胞浓度培养过夜,并用台盼蓝染色检测存活率。肾上腺皮质细胞形态表现为细小饱满圆形或椭圆形、折光性强,而且台盼蓝染色存活率达 95% 以上时进行实验。

1.4 ROS 形成的测定^[3]

培养的肾上腺皮质细胞以 PBS 洗涤后,调整细胞浓度为 $4 \times 10^5/\text{mL}$,分别加入 0、6、25、12.5、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ PbAc 于 37 °C 孵育,细胞悬液同时加入 DCFH-DA 负载使其终浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 。在染毒 15 min、30 min 和 45 min,以荧光分光光度计(激发波长 485 nm、发射波长 530 nm)测定平均荧光强度(MFI)。

1.5 线粒体膜电位(MMP)测定

1.5.1 染毒方法 将 24 孔板培养的肾上腺皮质细胞以 200× g 离心弃上清后,加入不含 FCS 的纯 DMEM 培养基,分别以 0、6、25、12.5、25、50 和 100

$\mu\text{mol/L}$ PbAc 处理 1 h 进行剂量效应关系研究。

1.5.2 MMP 测定^[4] 染毒后离心, 加入 PBS 缓冲液 0.5 mL 混匀, 然后加入 Rh123 溶液 12.5 μL (0.2 mg/mL), 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min, 然后离心, PBS 缓冲液洗一次, 流式细胞仪测定平均荧光强度 (MFI), 激发波长 488 nm, 发射波长 525 nm, 每份样品计数 10 000 个细胞。

1.6 死亡细胞率(DCR)测定

1.6.1 染毒方法 培养细胞用 PBS 洗涤后重悬于无血清培养基, 调整细胞浓度为 $4 \times 10^5/\text{mL}$, 分别加入 0、6.25、12.5、25、50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ PbAc 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中处理 1 h 进行剂量效应关系研究。

1.6.2 碘化丙啶荧光强度及死亡细胞百分率测定^[4] 染毒结束后样品离心, PBS 洗后重悬, 以 10 ng/mL 碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min, 流式细胞仪测定, 每份样品计数 10 000 个细胞。激发波长为 488 nm, 发射波长为 675 nm。根据 PI 平均荧光强度 (MFI) 及各区域细胞的比例来评价细胞死亡率。

1.7 细胞 ATP 水平测定

采用根据 ATP 化学发光测试系统设计的 Lumi-Kleen 测试盒和 Lumi-one Model A 可携式发光仪进行测定, 以自身前后对照进行时间动态测量, 染毒剂量为 50、100 和 200 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间设 0、15、30 和 60 min。ATP 信号以相对发光单位 (relative light units, RLU) 记录, 每 10 s 记录 1 次, 共 6 次, 结果以记录 1 min 的 RLU 积分值表示 (RLU/min)。

1.8 统计分析

采用 SPSS for windows (8.0) 建立数据库和进行 ANOVA、析因分析、直线相关和回归分析。

2 结果

2.1 PbAc 诱导肾上腺皮质细胞 ROS 形成

PbAc 染毒 15、30 和 45 min, 见 ROS 形成水平随着剂量增加而增加, 回归方程为 $\hat{y} = 4.16 + 10.21 \times 1g(x+1)$ ($R^2 = 0.641$, $P < 0.01$), 说明不同剂量 PbAc 处理对 ROS 形成的影响存在显著性差异。析因分析发现 PbAc 剂量和染毒时间均对 ROS 形成产生影响 ($P < 0.01$), 然而二者之间未见交互作用 ($P > 0.05$)。方差分析提示无论

那一时间点, ROS 形成水平在各剂量组间存在不同 ($F = 16.6$, $P < 0.01$)。两两比较提示 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 组与对照组、6.25 $\mu\text{mol/L}$ 、12.5 $\mu\text{mol/L}$ 、25 $\mu\text{mol/L}$ 组之间均存在显著性差异 ($P < 0.05$), 而且 6.25 $\mu\text{mol/L}$ 与 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 之间也存在显著性差别 ($P < 0.05$, 见表 1)。

表 1 不同剂量 PbAc 处理肾上腺皮质细胞 ROS 形成水平的变化

Table 1 The effect of Lead Acetate on the ROS formation of adrenocortical cells in guinea pigs ($\bar{x} \pm s$)

C_{PbAc} ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	MFI of ROS		
	15 min	30 min	45 min ²⁾
0 ¹⁾	11.2 \pm 3.0	27.6 \pm 2.3	50.0 \pm 5.4
6.25	10.0 \pm 1.6	22.3 \pm 1.3	38.5 \pm 4.1
12.50	20.6 \pm 7.6	55.9 \pm 9.4	89.6 \pm 13.6
25.00	15.8 \pm 3.0	45.0 \pm 7.7	77.2 \pm 10.9
50.00	31.8 \pm 2.3	96.3 \pm 10.0	154.3 \pm 16.2
100.00	37.9 \pm 4.9	96.0 \pm 10.7	144.8 \pm 15.5

Factorial Analysis: 1) Dose effect; $F = 16.60$, $P = 0.000$; 2) Time effect; $F = 45.17$, $P = 0.000$; Interaction (dose and time); $F = 2.06$, $P = 0.055$

2.2 PbAc 对线粒体膜电位(MMP)的影响

反映线粒体膜电位的 Rh123 平均荧光强度 (MFI) 随着 PbAc 染毒剂量的增加有一定的降低趋势, 统计学分析表明: 各组之间存在统计学差异 ($F = 3.313$, $P < 0.01$), 两两比较提示对照组与各个剂量组之间有统计学差异 ($P < 0.01$, 见表 2)。

表 2 不同剂量 PbAc 处理肾上腺皮质细胞 MMP 和死亡细胞百分率的变化

Table 2 The effect of Lead Acetate on mitochondrial membrane potential (MMP) and dead cells rate of adrenocortical cells ($\bar{x} \pm s$)

C_{PbAc} ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	MFI of PI	Dead cells rate	MFI of MMP
0	0.505 \pm 0.082	1.02 \pm 0.28	1.35 \pm 0.14
6.25	0.657 \pm 0.060	1.75 \pm 0.70	1.01 \pm 0.07 ²⁾
12.50	0.622 \pm 0.032	1.95 \pm 0.26	0.94 \pm 0.06 ²⁾
25.00	0.647 \pm 0.020	2.20 \pm 0.22	0.96 \pm 0.08 ²⁾
50.00	0.770 \pm 0.055	3.16 \pm 0.33 ¹⁾	0.95 \pm 0.07 ²⁾
100.00	0.730 \pm 0.024	3.40 \pm 0.24 ¹⁾	0.91 \pm 0.07 ²⁾

Compared with the control, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

ANOVA: MFI of PI; $F = 242.48$, $P = 0.000$; Dead cells rate; $F = 175.31$, $P = 0.000$; MFI of MMP; $F = 3.31$, $P = 0.019$

2.3 死亡细胞率(DCR)的变化

在 6.25 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, PbAc 染毒 1 h 后 PI 平均荧光强度(MFI)和死亡细胞率随着剂量增加呈轻微增加。死亡细胞百分率在 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 组呈现增加 ($P < 0.05$)。PI 平均荧光强度、死亡细胞率与 PbAc 对数剂量之间存在线性相关关系 ($r = 0.944, P < 0.01$)。

2.4 PbAc 对细胞 ATP 水平的影响

在细胞悬液中分别加入 50、100、200 $\mu\text{mol/L}$

PbAc 后, 以自身前后对照进行时间动态测量(0、15、30、60 min), 以相对发光值(RLU/min)表示的细胞 ATP 水平表现随 PbAc 剂量增加而降低, 回归分析表明剂量与 ATP 水平的变化之间存在剂量效应关系: $\hat{y} = 212965.7 - 51592.5 \times \lg(x + 1)$ ($R^2 = 0.568, P < 0.01$); 析因分析结果显示染毒剂量和时间均对细胞 ATP 水平产生影响 ($P < 0.01$), 而且二者之间存在交互作用 ($P < 0.01$), 表现为协同抑制作用(见表 3)。

表 3 不同剂量 PbAc 处理后肾上腺皮质细胞 ATP 水平的变化

Table 3 The alteration of ATP level in adrenocortical cells induced by Lead Acetate ($\bar{x} \pm s, \text{RLU}/\text{min}$)

$C_{\text{PbAc}} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	0 min	15 min	30 min	60 min ²⁾
0 ¹⁾	224 823 \pm 5 869	218 965 \pm 1 347	213 887 \pm 8 841	211 708 \pm 2 963
50	154 707 \pm 7 166	51 100 \pm 3 877	66 682 \pm 791	105 708 \pm 7 128
100	210 281 \pm 3 251	62 016 \pm 1 373	82 011 \pm 1 349	96 160 \pm 3 560
200	123 278 \pm 6 695	93 339 \pm 3 157	78 446 \pm 661	76 216 \pm 726

Factorial Analysis; 1) Dose effect; $F = 2.017, P = 0.000$; 2) Time effect; $F = 525, P = 0.000$; Interaction (dose and time); $F = 132, P =$

0.000

3 讨论

3.1 铅诱发肾上腺皮质细胞氧化性应激

氧化应激在外源性化合物引起的细胞毒性中发挥着重要的作用。既往研究表明, 400 $\mu\text{mol/L}$ Pb^{2+} 可以引起人成纤维细胞的脂质过氧化代谢产物的增加⁸, 铅引致的细胞肿胀、表面结构的改变可能与 GSH 的消耗有关⁹。 Pb^{2+} 能增加谷氨酸诱导神经细胞的氧化性应激, 引起氧自由基的产生增加和 GSH 的消耗, 认为氧化应激所致的细胞氧化还原功能的失调可能是铅毒性作用的机制之一¹⁰。

荧光探针 DCFH-DA 可以快速地通过细胞膜进入细胞, 在细胞内酯酶作用下释放出 DCFH。当细胞内存在 ROS 时, DCFH 立即被氧化成具有荧光的 DCF, 其荧光强度与细胞内的 ROS 生成量成正比。本研究体系中, 6.25 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ PbAc 能浓度依赖性地升高肾上腺皮质细胞 ROS 的水平, ROS 变化与 PbAc 浓度密切相关。目前已知肾上腺皮质激素的合成分泌过程所经历的部位特异性羟化反应受特异性细胞色素 P450 同工酶催化, 而细胞色素 P450 作为 ROS 的重要来源, 对肾上腺皮质毒作用以及化学物的活化代谢过程起着重要的作用¹¹。由此提示 PbAc 加强肾上腺皮质细胞 ROS

产生, 如超氧阴离子、羟基自由基、过氧化氢等, 可能是铅的肾上腺皮质细胞毒性的主要原因之一。

3.2 线粒体氧化损伤介导铅的肾上腺皮质细胞毒性

线粒体是细胞内产生 ROS 的主要场所, 也是氧化损伤最先打击的靶器官。线粒体功能的改变往往表现为膜电位降低和膜的不稳定性, 当线粒体膜受到损伤时, 膜电位就会降低, 甚至消失。而线粒体膜的稳定对于维持细胞的存活至关重要⁹。然而, 迄今尚未见有关铅对肾上腺皮质细胞线粒体功能影响的文献报道, 本研究从线粒体氧化损伤的角度来探讨 Pb^{2+} 对肾上腺皮质细胞的毒性作用机制。

Rh123 是一种亲脂性阳离子荧光素。作为一种慢反应的膜电位探针, 它能顺利通过活细胞的胞膜和线粒体膜。进入细胞后, 由于线粒体膜固有的负电位差, 可选择性地富集在线粒体上, 富集的量取决于线粒体膜电位的高低, 一定的膜电位形成一定的荧光值, 荧光值的高低反映线粒体膜的受损状况和损害程度¹¹。本研究发现反映线粒体膜电位的 Rh123 荧光强度随着 PbAc 染毒剂量增加呈一定的降低, 各组间存在差异。

氧化磷酸化的化学渗透学说的中心要点是: 在线粒体内膜存在着一个巨大的电化质子梯度, 这个梯度是线粒体呼吸与磷酸化之间的专性联系。它由两部分组成: $\Delta\Psi$ (MMP, 膜电位) 和 ΔpH (pH

differential)。在大多数情况下,膜电位在电化质子梯度中起主要作用。因此,研究膜电位的变化对了解氧化磷酸化机制也有着重要的意义。根据 Mitchell 的化学渗透学说^[12],ATP 的合成要靠电子呼吸链不断供给质子,维持一个强大的电化质子梯度,并经线粒体的另一个质子泵-ATP 合成酶的作用将能量转换用于合成 ATP。若是电子传递链不能不断地提供质子,或 ATP 酶的活性受抑制,则 ATP 合成就会发生障碍。

在本实验中,铅在低浓度就已造成线粒体膜电位不同程度的降低,而且引起肾上腺皮质细胞 ATP 合成水平降低,剂量和时间均对其产生影响,两者之间还存在协同抑制作用,并最终引起细胞死亡率增加,提示铅可能通过某些机制影响 ATP 的生成,最后导致细胞死亡。在 PbAc 整体动物实验中,我们发现电镜下肾上腺皮质细胞普遍存在线粒体肿胀、嵴消失的现象^[13],提示线粒体内膜通透性增高。线粒体内膜的通透性增高,有可能造成质子渗透逆流,形成短路,不能建立一个强大的电化质子梯度,也就不能有效地驱动 ATP 合成酶合成 ATP,即为氧化与磷酸化的脱偶联。

PbAc 作用后 15 min 即可见肾上腺皮质细胞 ROS 升高,随后引起 MMP 和 ATP 减低,并最终导致细胞损伤甚至死亡。基于细胞和分子损伤事件发生的时间性及它们之间内在的生理病理联系,提示线粒体氧化损伤介导肾上腺皮质细胞毒性可能是 PbAc 的毒作用机制之一。它们进入肾上腺皮质细胞,引发活性氧(ROS)增加,产生氧化应激损伤,造成线粒体结构、功能改变,出现线粒体膜电位降低、线粒体内膜通透性明显增加,可能通过抑制线粒体呼吸电子链,造成氧化及磷酸化作用脱偶联,导致能量代谢紊乱,并进一步导致细胞损伤甚至死亡。

参考文献:

- mitochondrial membrane potential as an indicator of cytotoxicity [J]. *Fund Appl Toxicol*, 1991, 16(3): 435.
- [2] 杨杏芬,庄志雄,魏青. 氯化镉影响肾上腺皮质细胞分泌功能的研究 [J]. *中国职业医学*, 1999, 26(6): 1.
- [3] Shen H M, Ong C N, Shi C Y. Involvement of reactive oxygen species in aflatoxin B1-induced cell injury in culture rat hepatocytes [J]. *Toxicology*, 1995, 99(1-2): 115.
- [4] Darzynkiewicz Z, Robinson J P, Crissman H A. *Methods in Cell Biology. Vol 41: Flow Cytometry Part A* [M]. 2nd Ed. U. S. A.: Academic Press 1994. 15.
- [5] Thomas J A, Colby H D. *Endocrine Toxicology* [M]. 2nd Ed. U. S. A.: Taylor & Francis 1996. 35 ~ 47.
- [6] Colby H D. Adrenal gland toxicity: Chemically induced dysfunction [J]. *J Am College Toxicol*, 1988, 7(1): 45.
- [7] Ribelin W E. The effects of drug and chemicals upon the structure of the adrenal gland [J]. *Fund Appl Toxicol*, 1984, 4(1): 105.
- [8] Dominguez M C, Sole E, Goni C, *et al.* Effect of aluminum and lead salts on lipid peroxidation and cell survival in human skin fibroblasts [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1995, 47(1-3): 57.
- [9] Tang H W, Yan H L, Hu X H, *et al.* Lead cytotoxicity in primary cultured rat astrocytes and Schwann cells [J]. *J Appl Toxicol*, 1996, 16(3): 187.
- [10] Naarala J T, Loikkanen J J, Ruotsalainen M H, *et al.* Lead amplifies glutamate-induced oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 1995, 19(5): 689.
- [11] Enrenberg B, Montana V, Wei M D, *et al.* Membrane potential can be determined in individual cells from the Nernstian distribution of cationic dyes [J]. *Biophys J*, 1988, 53(5): 785.
- [12] 尼古拉斯 D G, 著, 张玉中, 阎一林, 译. *生物力能学* [M]. 北京: 科学出版社, 1987. 4 ~ 6.
- [13] 魏青, 杨杏芬, 陈铁江, 等. 重金属的肾上腺皮质代谢与机制研究 I: 铅对肾上腺皮质激素合成与调控的毒作用 [J]. *中国职业医学*, 1999, 26(3): 1.

[1] Rahn C A, Bombick D W, Doolittle D J. Assessment of

(编辑 刘清海)

热烈祝贺

我校卫生学院凌文华教授获 2000 年度国家杰出青年基金资助(A 类资助 80 万元),其研究计划为“动脉粥样硬化病理机制和营养防治研究”。