

• 临床研究 •

三氧化二砷治疗急性早幼粒性白血病患者骨髓和血液中砷分布的临床检测

石瑞平, 郭树霞

郑州人民医院 血液肿瘤科, 河南 郑州 450000

摘要: **目的** 检测使用三氧化二砷 (As_2O_3) 治疗急性早幼粒细胞性白血病 (APL) 后患者骨髓和血液中砷的浓度, 分析砷暴露及暴露时间对机体的影响。**方法** 对 30 名砷暴露患者及 28 名非砷暴露患者进行调查, 对 30 名暴露者, 其中包括砷暴露 1 年半以上 (13 人)、一年半以内 (17 人) 以及未暴露组进行调查研究; 同时随机抽取 7 名暴露者, 采用氢化物发生原子吸收分光光度法检测骨髓和血液中砷代谢产物, 对其骨髓和血液中砷浓度进行对比。**结果** 7 例暴露组患者的骨髓与血液中砷浓度对比, 骨髓砷浓度 (7.99 ± 0.15) $\mu\text{g/L}$; 血液中的砷浓度 (7.98 ± 0.15) $\mu\text{g/L}$, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 同时对暴露一年半以上, 暴露一年半以内及对照组进行单因素分析 t 检验的方法, 其两两之间进行比较发现暴露一年半以上组与暴露一年半以内组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 两个暴露组与对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** As_2O_3 治疗 APL, 砷可以到达骨髓并进行缓慢代谢, 且在骨髓中的代谢与在血液中基本相同, 随着暴露时间间隔的延长砷浓度有下降趋势。

关键词: 三氧化二砷; 急性早幼粒细胞性白血病; 砷浓度; 骨髓; 血液

中图分类号: R286.3

文献标志码: A

文章编号: 1674 - 5515(2012)03 - 0242 - 03

Clinical detection of arsenic distribution in bone marrow and blood after As_2O_3 used for acute promyelocytic leukemia patients

SHI Rui-ping, GUO Shu-xia

Department of Hematology and Oncology, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To detect arsenic concentration in the bone marrow and blood after As_2O_3 used for in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL), and to analyze the effects of arsenic exposure and exposure time on the body. **Methods** Thirty arsenic exposed patients including arsenic exposure (13) more than a year and a half and those within a year and a half (17) and 28 non-arsenic exposed patients were investigated, investigated 30 exposed persons. Meanwhile, 28 patients with bone marrow and blood arsenic concentration were compared. Seven exposed patients were randomly selected to compare arsenic concentration in the bone marrow and blood by hydride generation atomic absorption spectrophotometry in the detection of bone marrow arsenic metabolites. **Results** The arsenic concentration of bone marrow was (7.99 ± 0.15) $\mu\text{g/L}$ and that of the blood was (7.98 ± 0.15) $\mu\text{g/L}$, with no significant difference ($P > 0.05$). At the same time, patients exposed to more than a year and a half, exposure to less than a year and a half, and the control group were compared between any two by univariate analysis, t test method, and the results showed that difference between any two groups were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** When As_2O_3 are used for APL, arsenic could reach the bone marrow and to slow metabolism; Arsenic metabolisms in the bone marrow and in blood metabolism are basically the same, with the extension of exposure time interval the concentration of arsenic shows a downward trend.

Key words: As_2O_3 ; acute promyelocytic leukemia (APL); arsenic concentration; bone marrow; blood

砷是国际肿瘤机构确认的人类致癌物, 除职业性及饮水性砷暴露外, 目前随着砷在医学中发挥的作用越来越大, 药物性砷暴露对人体的损害也越来越受到关注^[1]。砷是一种原生质毒物, 具有很高的

毒性。砷多以硫化物的形式广泛存在于自然界, 切具有较强的亲和力。砷元素不溶于水, 在潮湿的空气中易被氧化生成三氧化二砷 (As_2O_3), 又名亚砷酐, 俗称砒霜。砷化合物中最常见的无机三价砷有

收稿日期: 2012-03-05

作者简介: 石瑞平 (1984—), 女, 硕士, 研究方向: 血液系统疾病的诊断与治疗。Tel: (0371)67077002

三氧化二砷和亚砷酸钠。我国学者在应用 As₂O₃ 治疗急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 方面, 取得了瞩目的成绩。关于 As₂O₃ 在体内的代谢, 主要研究其在血液及尿液中的代谢, 本实验主要研究砷在骨髓中的代谢及蓄积情况, 为临床治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 对象 收集我院自 2010 年 2 月至 2010 年 12 月使用 As₂O₃ (哈尔滨医科大学附属第一医院制药厂提供) 治疗的 APL 患者 30 例为暴露组以及 28 例未使用 As₂O₃ 治疗的 APL 患者为对照组, 两组患者均处于完全缓解期, 且病情无差异; 其中 30 例暴露组患者包括暴露时间 (从首次使用 As₂O₃ 开始算起) 一年半以上的 17 例患者与暴露在一年半以内的 13 例患者。随机抽取暴露组内 7 例患者, 对其骨髓与血液中的砷浓度进行对比分析, 其中暴露一年半以上 3 例, 暴露一年半以内 4 例。暴露组中 30 名患者使用亚砷酸及 MA (米托蒽醌+阿糖胞苷) 或 DA (柔红霉素+阿糖胞苷) 交替进行规范化疗, 治疗一年半以上者半年一次进行复查及使用亚砷酸进行巩固治疗; 非暴露组则使用维甲酸及 MA 或 DA 交替进行规范化疗。

1.1.2 标本的采集与保存 按照知情同意原则, 每次复诊化疗前抽取受试对象骨髓液 2 mL 及血液 2 mL 置于肝素抗凝管内, 保存在 -20℃ 冰箱中待测。

1.1.3 试剂与仪器 氢氧化钠 (日本和光纯药工业株式会社, 质量分数 99%)、盐酸 (北京化学试剂研究所, BV3 级)、硼氢化钠 (日本和光纯药工业株式会社, 质量分数 98%), 8-OHdG 检测试剂盒 (Japan Institute for the Control of Aging 公司)。酶标仪 (Lab Systems Multiscan Ascented 公司), 低温高速离心机 (Sigma 公司), 721 型分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司), ASA—2SP 型砷分析用前处理装置、AA—6800 型原子吸收分光光度计、CA—1112 型冷却水循环系统、SRAF—16C 型电磁炉、C—R8A 型色谱打印机均由日本岛津公司提供, 载气为氦气。

1.2 方法

1.2.1 骨髓液及血液处理与测定 测定前取 1 mL 样品加入 2 mol/L 氢氧化钠 2 mL, 100 °C 加热 3 h, 每隔 1 h 震荡混匀一次。无机砷 (iAs)、甲基砷酸盐 (MMA)、二甲基砷酸盐 (DMA) 在上述消化处理后形态不发生改变。消化后, 暴露组及对照组骨髓液

用品用去离子水稀释至 10 mL 待测。以 1% 盐酸和 10% 硼酸钠为反应液, 通过氢化物发生法, 用原子吸收分光光度法测定待测样品中的砷含量^[2-4], 该方法测定 3 种形态砷化物检测限均为 1 ng。

1.2.2 统计分析 用 SPSS16.0 统计软件对数据进行单因素分析的 *t* 检验和配对 *t* 检验。

1.3 不良反应

观察用药期间有无砷中毒的临床症状以及其他不良反应。

2 结果

2.1 骨髓与血液中砷浓度无差异

随机抽取的 7 例暴露组患者的骨髓与血液中砷浓度对比测定结果表明骨髓中的砷浓度 (7.99 ± 0.15) μg/L; 其血液中的砷浓度 (7.98 ± 0.15) μg/L, 对两者进行配对 *t* 检验, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。7 例患者中第 7 例为化疗中, 其他 6 例为再次入院后的化疗前期完全缓解期。见表 1。

表 1 7 例患者骨髓及血液中砷浓度的比较
Table 1 Arsenic concentration of bone marrow and blood in seven patients

患者	砷浓度/(μg·L ⁻¹)	
	骨髓	血液
1	2.32	2.30
2	2.24	2.40
3	2.40	2.44
4	1.98	2.03
5	2.63	2.43
6	2.46	2.54
7	41.88	41.72

2.2 骨髓中砷的蓄积效应

砷暴露组暴露情况在一年半以上、一年半以内以及对照组中的骨髓砷质量浓度分别是 (1.65 ± 0.18)、(2.57 ± 0.25)、(0.26 ± 0.89) μg/L, 利用单因素分析 *t* 检验方法对其进行两两比较, 结果任两组之间 *P* 值均小于 0.05, 差异均有统计学意义。

2.3 不良反应的观察

对暴露组 30 例患者进行临床观察, 结果均未出现明显的慢性砷中毒临床症状; 同时发现 27 例患者出现血常规异常, 16 例患者肝功能异常, 5 例患者有轻度皮肤色素沉着、干燥等表现。上述患者中出现的不良反应均未影响正常生活及工作。

3 讨论

As₂O₃ 是原浆毒物质, 与巯基 (-SH) 有高度亲

和力, 若与一些含巯基的酶(如丙酮酸脱氢酶、磷酸酯酶、细胞色素氧化酶及脱氧核酸聚合酶等)结合后, 酶的活性受到抑制, 将直接影响细胞的代谢、氧化过程以及 DNA 的合成与修复, 甚至导致细胞凋亡^[5]。急性早幼粒细胞白血病出现特异性染色体 t(15; 17)(q22; q21) 改变, 产生 PML-RAR α 融合蛋白, 使骨髓中的早幼粒细胞失去进一步分化成熟的能力而停滞在早幼粒阶段。序列分析发现 PML 基因内富含编码半胱氨酸残基区域, 而此区域正是三价砷的作用位点^[6]。哈尔滨医科大学第一附属医院 1992 年起单用 As₂O₃ 治疗 APL 取得良好效果, 它可诱导 APL 患者获得完全缓解, 且仅有很少的不良反应及轻微的骨髓抑制^[2]。

目前国内外对于砷在体内的药动学研究甚多, 对砷蓄积方面的研究较少, 而在骨髓中检测砷浓度来评估砷的骨髓蓄积量尚无报道。倪建华等^[7]运用 As₂O₃ 静滴治疗 APL, 进行药动学分析, 发现静滴开始后 4 h 才达到高峰, As₂O₃ 在血浆或体内的分布与消除相对较快, 且在血浆中无蓄积倾向; 随着用药时间的延长, 发、指甲砷水平持续增加, 用药 1 周后, 24 h 尿砷排泄量趋于稳定, 停药后三者含砷量均呈下降趋势。停药后 1~2 月, 末梢组织中砷浓度仍未完全降至正常, 在一定程度上反映了砷的蓄积作用。Yoshino 等^[8]研究 APL 完全缓解期后巩固治疗期患者外周血及血浆砷浓度, 发现血浆中的砷浓度随着时间的延长而减少, 因此认为详细研究砷在血液中的药动学及药代学有重要作用, 同时还认为砷的代谢产物对 APL 亦有作用。Fukai 等^[9]在患者应用 As₂O₃ 35 d 诱导缓解治疗后, 间隔 55 d, 使用 As₂O₃ 行巩固治疗, 在巩固治疗的第 4、5 天, 检测血清及尿液中的砷浓度, 来观察砷的药动学, 结果发现血清中砷的浓度在纳摩尔水平范围内可以达到治疗 APL 的效果, 故研究多次使用 As₂O₃ 导致砷的蓄积情况意义重大, 有助于指导临床治疗。

关于应用 As₂O₃ 治疗期间的不良反应报道较多, 郝良纯等^[10]对 As₂O₃ 治疗 APL 进行了 7 年随访, 发现在治疗期间主要不良反应包括高白细胞综合征、胃肠道反应、肝功能损害等, 但患者多能耐受; 治疗中未见急性砷中毒发生, 且随访期间未见到明显不良作用。少见肝功能衰竭, 仅吴楠等^[11]报道使用 As₂O₃ 后, 个别患者最终死于肝衰竭。偶见造成骨髓坏死, 仅周晋等^[12]报道的一例患者自行使用

As₂O₃ 巩固治疗致骨髓坏死和肝损害。实验中对患者进行临床观察, 所见不良反应均较轻, 不影响患者的正常工作和生活。

本研究显示, 患者多次使用 As₂O₃ 治疗后, 骨髓及血液中砷浓度的差异无统计学意义, 亚砷酸进入体内后会分布到骨髓中, 同时在骨髓中迅速达到峰值, 随即被缓慢代谢, 与 As₂O₃ 在血液中的代谢基本相同, 且患者使用 As₂O₃ 间隔时间越长, 骨髓中的砷浓度越低, 即砷被代谢的越彻底, 提示砷在骨髓中有一定的蓄积作用, 但蓄积量较小, 对患者的生活质量并没造成影响, 同时也说明使用 As₂O₃ 治疗 APL 安全性比较高。

由此可见, 应用 As₂O₃ 治疗 APL 时, 砷可以到达骨髓并进行缓慢代谢, 且砷在骨髓中的代谢与血液中基本相同; 随着暴露时间间隔的延长, 骨髓砷浓度有下降趋势。暴露组 30 例患者进行临床观察, 均未出现明显慢性砷中毒的临床症状, 同时出现的不良反应均未影响患者的正常生活及工作。

参考文献

- [1] Xu Y, Wang Y, Zheng Q, *et al.* Clinical manifestations and arsenic methylation after a rare subacute arsenic poisoning accident [J]. *Toxicol Sci*, 2008, 103(2): 278-284.
- [2] Pi J, Yamauchi H, Kumagai Y, *et al.* Evidence for induction of oxidative stress caused by chronic exposure of Chinese residents to arsenic contained in drinking water [J]. *Environ Health Perspect*, 2002, 110(4): 331-336.
- [3] 许珺辉, 王洪玮, 郭新彪, 等. 高效液相色谱-氢化物发生-原子荧光法检测不同形态的砷 [J]. *中华预防医学杂志*, 2004, 38(2): 111-113.
- [4] Devesa V, Del Razo L M, Adair B, *et al.* Comprehensive analysis of arsenic metabolites by pH-specific hydride generation atomic absorption spectrometry [J]. *J Anal At Spectrom*, 2004, 19: 1460-1467.
- [5] Mucenski M L, McLain K, Kier A B, *et al.* A function c-myc gene is required for normal murine fetal hepatic hematopoiesis [J]. *Cell*, 1991, 65(4): 677-689.
- [6] Sumner R, Crawford A, Mucensk M, *et al.* Initiation of adult myelopoiesis can occur in the absence of c-Myb whereas subsequent development is strictly dependent on the transcription factor [J]. *Oncogene*, 2000, 19(30): 3335-3342.

(下转第 277 页)