

TNT及其代谢物致白内障发病机理的研究

周安寿 张金松 史晓 朱秀安 张纯 李来玉

摘 要 为了探讨 TNT晶体损害的机理,对 TNT及其代谢物致眼晶体损害进行了动物实验研究。结果表明,在球结膜下注射 2-A或 4-HA后,半小时内眼前房水内即可测得其代谢物的存在,以 1.5~2小时含量最高,72小时已几乎不可检出。而对照组与自身对照眼其测得结果为 0。其眼晶体裂隙灯下观察显示,于染毒后 1个月北京鸭眼晶体开始出现混浊,在晶体前囊下可见由散在点状混浊组成片状,呈灰白色并略带棕色混浊,从赤道部延伸到瞳孔区,其晶体混浊检出率明显高于对照组。恒河猴组无 1例晶体混浊。

关键词 白内障 晶体混浊 TNT及其代谢物

Study on the Mechanism of Cataract Induced by TNT and its Metabolites Zhou An-shou*, Zhang Jinsong, Shi Xiaoyi, et al.* Institute of Occupational Medicine, Chinese Academy of Preventive Medicine. Beijing 100050

Abstract An experimental study on the lenticular lesion of animal eyes induced by TNT and its metabolites is reported. The result showed that in the anterior chamber of eyes in experimental animals, the metabolites of TNT, the 2-A and 4-HA, could be detected 30 minutes after subconjunctival injection. One and half to 2 hours after injection, the value of TNT metabolites reached its peak. No TNT metabolites could be found at 72 hours after injection. After intoxicated for 1 month, the eyes of the Beijing duck were examined with slit-lamp and showed clouding of the lens. Under the anterior capsule the lens showed scattered small dots of clouding to form gray patchy opacity with slight brown discoloration, starting from equator extending to the pupil. The detect rate of lens opacity was significantly higher than control. There was no lenticular opacity in experimental rhesus group.

Key words Cataract, Lenticular opacity, TNT and its metabolites

三硝基甲苯 (Trinitrotoluene, TNT) 职业接触对作业工人健康的危害,尤其是眼晶体的损害,以其混浊形态上的特异性,已得到普遍承认,然而 TNT晶体损害机理至今不明,许多学者为此进行了大量的探讨研究工作,特别是通过动物实验研究,以便阐明这种损害的特征及表现,从而外推人类 TNT中毒

白内障的发病机理^[1-3]。1990年,在国家自然科学基金资助下,我所与北京医科大学第三医院共同承担了“三硝基甲苯白内障的机理研究”课题,预期目标在于建立 TNT中毒白内障实验动物模型,在此基础上作进一步研究,现就本研究部分结果进行总结分析。

1 材料与方法

预实验组: 取雄性恒河猴 2只、北京鸭 4只,分别用 TNT代谢产物 2-A和 4-HA(溶于丙酮)一侧球结膜下注射染毒(猴 100mg,北京鸭 60mg),染毒前取两眼房水及空白静脉

国家自然科学基金资助项目 (38970757)

作者单位: 100050北京 中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所(周安寿、张金松、史晓),北京医科大学第三医院眼科(朱秀安、张纯),广东省职业病防治院(李来玉)

血, 染毒后 0.5° (1.5°) 2° (3°) 4° 6° 8° 12° 24° 48° 72° 96° 分别取两眼房水及静脉血。将取出的房水注入塑料离心管内, 立即放入液氮冷冻, 然后取出存放于 - 20℃ 以下冰箱中, 待用高效液相分析。

恒河猴实验组: 取恒河猴 12 只, 共分 3 组, 其中对照组 4 只, 50mg/kg TNT 灌胃组 4 只 (其中 2 只一眼球结膜下同时注射 4-HA 100mg 染毒, 每周 1 次), 150mg/kg TNT 灌胃组 4 只 (其中 2 只一眼球结膜下同时注射 2-A 100mg 染毒, 每周 1 次)。每周灌胃 3 次, 连续染毒观察时间 3 个月。染毒总剂量: 50mg/kg TNT 灌胃组为 13.5~18.0g (4-HA 500~700mg); 150mg/kg TNT 灌胃组为 40.5~56.0g (2-A 700~800mg) 染毒前分别用托品酰胺散瞳在裂隙灯下进行晶体检查记录, 染毒结束时散瞳复查晶体。

北京鸭实验组: 选北京鸭 Z1 系选育 28 只, 共分 4 组; 4-A 染毒组 7 只, 2-A 染毒组 7 只, 2, 4-DA 组 7 只及对照组 7 只。均为 15 日龄购进, 体重 850~2100g 不等。饲养 1 个

月后, 给药前散瞳检查晶体, 45 日龄开始染毒给药。分别于一只眼球结膜下注射 20% 浓度的 4-A 2-A 及 2, 4-DA, 每周 1 次, 每次 0.2~0.3ml/40~60mg, 每周散瞳观察晶体变化。染毒时间为 4 个月。染毒总剂量: 4-A 组为 640~830mg/只; 2-A 组为 540~800mg/只; 2, 4-DA 组为 520~770mg/只。

恒河猴实验组及北京鸭实验组均在染毒结束后 1 周复查晶体, 处死动物并取眼球组织进行检测。TNT 代谢产物均为我所自行合成, 主要包括:

- (1) 4 氨基-2 硝基甲苯, 简称 4-A;
- (2) 4-羟氨基-2, 6 二硝基甲苯, 简称 4-HA;
- (3) 2-氨基-4, 6 二硝基甲苯, 简称 2-A;
- (4) 2, 4-二氨基-6 硝基甲苯, 简称 2, 4-DA

每一种代谢产物及 TNT 原粉均建立高效液相分析标准曲线图, 所取生物样品均用高效液相仪进行分析检测, 以标准曲线作对照。

2 实验结果

2.1 预实验组

结果见表 1~3

表 1 北京鸭 2-A 组不同时间房水含量测定结果

编号	不同时间 (小时) 及测定值 ($\mu\text{g/ml}$)									对照眼
	0	2	4	6	8	10	24	48	72	
1	0	20.696	8.730	5.088	7.277	5.435	0.569	0.375	0.240	0.008
2	0	17.900	6.509	5.407	1.805	7.595	4.613	1.249	0.838	0.000

表 2 北京鸭 4-HA 组不同时间房水含量测定

编号	不同时间 (小时) 及测定值 ($\mu\text{g/ml}$)									对照眼
	0	2	4	6	8	10	24	48	72	
3	0	47.839	18.167	10.427	8.284	1.930	1.347	0.37	0.37	0
	0	5.618	2.266	2.658	1.875	0.549	0.026	0	0	0
4	0	68.124	2.545	3.593	2.877	2.177	0.810	1.740	0.877	0
	0	8.502	1.576	0.956	1.696	0.284	0.007	0	0.089	0

注: 由于 4-HA 进样后有两个峰, 故将两峰数据结果均列出

表 3 猴眼前房水不同时间 2-A 与 4-HA 含量测定结果

编号	不同时间 (小时) 及测定值 ($\mu\text{g/ml}$)										对照眼
	0	1/2	1.5	3.0	6	12	24	48	72	96	
1 (2-A)	0	2.275	5.602	1.650	0.397	0.332	0.272	0.141	0.142	0.023	0
2 (4-HA)	0	3.185	5.667	2.979	1.438	4.890	3.490	0.362	0.084	0	0
	0	28.547	20.529	3.254	0.237	0.510	1.329	0.527	0	0	0

上述表 1~ 3 结果显示, 在球结膜下注射 2-A 或 4-HA 后, 半小时内眼前房水内即可测得其代谢物的存在, 以 1.5~ 2 小时含量最高, 随着时间延长, 其含量逐渐下降, 至 72 小时几乎只能检测到极少量, 96 小时检测为 0 而对照眼均未检测到相应的染毒物质。空白静脉血及不同时间静脉血样品检测均为 0

2.2 恒河猴实验组

2.2.1 所有实验猴染毒给药前晶体散瞳检查正常, 实验结束时散瞳复查晶体均未见混浊。

2.2.2 实验室生物样品分析检测结果表明:

(1) 眼前房水检测结果阴性; (2) 5 只实验动物在眼色素膜、晶体、玻璃体等眼球混合组织中检测到少量代谢物, 其中 3 只检测到 4-A, 3 只检测到 2-A, 2 只同时检测到 4-A, 2, 6-DA 和 2, 4-DA 及 4-A 和 2-A, 余均未检出; (3) 部分实验动物静脉血样品可检出少量 TNT 及不同代谢物 (表 4)。

表 4 静脉血 TNT 及代谢产物测定结果

	含量 ($\mu\text{g/ml}$)	检出动物数 (只)
2A	4.752~ 21.102	6
4A	2.312	1
TNT	0.288	1
2, 4-DA	0.318~ 1.106	8
2, 6-DA	0.104~ 0.106	3

2.3 北京鸭实验组

全部实验组与对照组北京鸭眼组织 TNT 及其代谢产物均未检出。

眼晶体观察结果表明, 于染毒后 1 个月晶体开始出现混浊, 随着时间延长, 晶体混浊逐渐加重, 在晶体前囊下可见由散在点状混浊组成片状, 为灰白色略带棕色混浊形态, 混浊部位从赤道部伸延至瞳孔区, 其中以 2-A, 2, 4-DA 染毒组出现晶体混浊眼数最多, 分别为 6/7 和 5/7, 其次为 4-A 组, 对照组有 2 只眼晶体出现混浊。

3 讨论

3.1 关于中毒途径

为了探讨 TNT 白内障的发病机理, 国内外不少作者为此作了许多探索性研究, 试图通

过不同染毒途径模拟实验性 TNT 中毒白内障模型^[1,4], 包括: TNT 制剂的皮下注射、皮肤涂抹、门静脉注射、灌胃、喂饲、吸入、点眼及眼前房注射等都没有获得阳性结果, 前苏联学者 Pen Kou 及 Shershevskaya (1964) 甚至将 TNT 颗粒直接注入兔和豚鼠的玻璃体内, 一天后观察到晶体的广泛损害, 但这很难说是 TNT 对晶体的直接损害, 很可能是玻璃体穿刺对晶体的损伤所致。我们曾试图用 TNT 代谢产物球结膜下离子导入法进行染毒, 但由于 TNT 代谢产物不溶于水, 仅溶于丙酮及甲醇, 故未能如愿。由于甲醇对视神经毒性明显, 从而选择丙酮为溶剂, 于球结膜下注射染毒。实验观察表明, 球结膜下注射后半小时前房水即可检测出染毒物, 1.5~ 2 小时达高峰 (见表 1~ 3), 说明经结膜吸收是 TNT 中毒的重要途径之一。

3.2 关于 TNT 中毒性白内障模型与实验动物的选择

到目前为止, 有关报道建立 TNT 白内障动物模型所用实验动物有: 兔、猴、小鼠、大鼠、豚鼠、猫、狗、鸡、鸽等, 均未成功。1989 年黄莉莉等^[3]的大白鼠 TNT 白内障模型复制实验结果认为系 TNT 中毒性白内障改变, 但阳性率仅为 6 (只) / 28 (只), 且实验动物有老龄化问题 (> 15 月)。由于本实验研究以实验动物眼晶体为靶目标, 因此, 要求实验动物既要易于模拟出实验性白内障模型, 又要便于用生物显微镜对动物晶体进行观察, 因而必须考虑实验动物的生存年限 (动物龄), 又由于建立实验性 TNT 白内障模型慢性实验一般要求在 3 个月以上或 1~ 2 年甚至数年以上。根据以上几条原则, 我们先后用大白鼠、兔、猴及北京鸭等进行了预实验。以大白鼠和兔作为实验对象已被许多学者多次采用, 均无满意结果, 故最后选择恒河猴和北京鸭作为本次实验观察对象。实验观察结果表明, 恒河猴实验组无一实验猴有晶体混浊改变, 说明恒河猴不是 TNT 及其代谢产物致白内障模型的理想实验

动物。而北京鸭 Z1系选育实验组在染毒 1 个月后即开始出现晶体混浊, 实验组 晶体混浊明显高于对照组, 但其混浊形态、色泽以及改变规律与人的 TNT 白内障不完全相同。因此, 实验鸭晶体混浊改变是否为 TNT 及代谢产物所致, 尚需进一步验证。

3. 3 关于染毒剂量

本实验经球结膜下注射染毒仅为 LD_{50} 的 $1/5 \sim 1/20$, TNT 灌胃为 $1/6 \sim 1/16$ (TNT 实验动物 LD_{50} 为 $820 \sim 1\,006\text{mg/kg}$)^[5,6]。而北京鸭实验组虽然所用染毒剂量较恒河猴要低得多, 但却观察到晶体的混浊改变, 这说明可能与染毒途径及敏感实验动物有关。

4 参考文献

- 1 全国劳动卫生和职业病学术会议资料汇编. 人民卫生出版社 (内部发行), 1960
- 2 三硝基甲苯职业中毒调研资料汇编. 煤炭工业部科技情报研究所, 1986年
- 3 黄莉莉, 等. 三硝基甲苯中毒性白内障动物模型的建立及其发病机理的初步研究. 生物化学杂志, 1989, 5 (4): 375
- 4 王丽文, 等. 白兔三硝基甲苯染毒后晶状体的病理组织学观察. 眼外伤与职业性眼病杂志, 1984, (3): 148
- 5 刘凤巧, 等. 三硝基甲苯 (TNT) 对大鼠形态与生化致畸作用的研究. 工业卫生与职业病, 1989, 15 (3): 131
- 6 吴执中. 主编. 职业病 (上、下册). 第一版. 北京人民卫生出版社, 1983.

(收稿: 1997-05-14)

急性敌稗中毒两例报告

庞境义 耿丽君 李庆友

敌稗属酰胺类除草剂, 有关敌稗引起急性中毒报道甚少。现将两例误服敌稗后引起急性中毒病例报告如下。

1 典型病例

〔例 1〕女, 29岁。自服敌稗原液约 100ml, 约 20 分钟后, 出现头痛、恶心、呕吐、胃部灼痛。被家人发现后, 立即送县医院抢救。查体, $T36.7^{\circ}\text{C}$, $P136$ 次/分, $R26$ 次/分, $BP16/12\text{kPa}$, 意识清。全身皮肤苍白, 口唇及四肢指 (趾) 端发绀。双侧瞳孔等大对称, 对光反射存在。颈软。心肺未见异常。腹平软, 肝脾肋下未触及。四肢肌力和肌张力正常。生理反射存在, 病理反射未引出。

实验室检查, 血 $WBC9.8 \times 10^9/L$, $N0.67$, $L0.31$, $Hb122\text{g/L}$, $K^+2.3\text{mmol/L}$, $Na^+132.2\text{mmol/L}$, $Cl^-93.9\text{mmol/L}$, $BUN3.9\text{mmol/L}$, $SALT59\text{IU/L}$ 尿常规, $WBC4\sim6/HP$, $RBC2\sim3/HP$, 蛋白 (+) 心电图示窦速, ST段低平。入院诊断: 敌稗中毒。入院后立即吸氧, 清水洗胃, 10%葡萄糖液 40ml 加入美蓝 40mg 静注, 每 6 小时一次, 3 天后紫绀消失后停药。同时给予能量合剂 (10%葡萄糖液 20ml ATP40mg, CoA100U, 细胞色素 C30mg) 静脉注射, 抗感染, 维持

水电解质平衡, 维生素 $C4\text{g}$ 加 10% 葡萄糖液 500ml 静滴。住院治疗 10 天后痊愈出院。

〔例 2〕男, 22岁, 误服敌稗约 150ml, 10 分钟后出现头痛、恶心、呕吐、躁动不安, 谵语。约 2 小时后入院。体检, $T36.2^{\circ}\text{C}$, $P120$ 次/分, $R18$ 次/分, $BP12/8\text{kPa}$, 谵妄。全身皮肤苍白, 口唇及四肢末端紫绀, 两肺呼吸音粗, 心率 120 次/分, 律齐, 未闻杂音。腹平软, 肝脾未触及, 神经系统检查无阳性体征。

实验室检查, 血 $WBC10.2 \times 10^9/L$, $N0.72$, $L0.28$, $Hb116\text{g/L}$, $SALT80\text{IU/L}$, $BUN8.2\text{mmol/L}$ 尿常规, 蛋白 (++) , $RBC5\sim10$ 个/HP, $WBC8\sim16$ 个/HP 心电图正常。入院诊断: 敌稗中毒。入院后立即吸氧, 洗胃, 硫代硫酸钠 1.28g, 每 8 小时静注 1 次, 治疗 5 天。同时给予维生素 $C4.0\text{g}$ 能量合剂, 抗感染, 维持水电解质平衡。治疗一周后临床症状消失, 肝功能, 尿常规恢复正常。共住院 9 天, 痊愈后出院。

2 讨论

敌稗中毒机理未明, 但已知敌稗在体内经酸碱作用可分解为 3, 4-二氯苯胺和丙酸。3, 4-二氯苯胺可引起高铁血红蛋白血症, 高铁血红蛋白的三价铁离子能与羟基牢固结合, 从而使血红蛋白失去携氧功能, 造成组织缺氧, 致心、肝、肾脏器受损。以上两例, 由于抢救及时, 应用特殊解毒药物美蓝或硫代硫酸钠等静注, 辅以氧疗、能量合剂等, 疗效较佳。

作者单位: 063500 河北省滦南县医院 (庞境义、耿丽君), 华北煤炭医学院劳动卫生教研室 (李庆友)

(收稿: 1995-09-10 修回: 1996-01-10)