

· 专题交流 ·

单甲脒盐酸盐原药的亚慢性毒性研究

王晓军, 王静, 姜文玲, 杨友润, 刘英华

(天津市卫生防病中心, 天津 300011)

摘要: 目的 研究 85% 单甲脒盐酸盐原药对大鼠的亚慢性经口毒性。方法 分别用含 625、125、25、0 mg/kg 85% 单甲脒盐酸盐原药的饲料, 给大鼠连续喂饲染毒 3 个月, 观察一般表现、体重、进食量, 实验结束时测定血常规 7 项、血生化 11 项、尿常规及生化 8 项, 取脏器称重计算脏器质量系数并进行病理组织学检查。结果 实验期间, 对照组和低剂量组动物无异常发现; 高、中剂量组动物活动减少, 烦躁, 眼鼻血性分泌物, 会阴部污秽, 皮肤破损或溃烂, 体重、进食量下降, 体重增长缓慢。实验结束时, 高剂量组雌雄动物尿素氮 (BUN)、碱性磷酸酶 (ALP) 升高, 胆碱酯酶 (ChE) 降低; 雄性动物天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 升高, 总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、血糖 (GLU) 降低。中剂量组雌雄动物总蛋白 (TP)、血糖 (GLU) 降低。高、中剂量组部分动物尿蛋白呈阳性。高剂量组动物脑、心、肝、肾、肾上腺及雄性睾丸脏器质量系数均高于对照组; 中剂量组雌性动物脑、肾及雄性动物脑、肝及睾丸脏器重量系数均高于对照组。病理检查显示高剂量组部分动物可见肝细胞肿胀, 细胞内有小圆形空泡, 肝窦结构受压, 中剂量组部分雌性动物周边性肝细胞内小圆形空泡。结论 85% 单甲脒盐酸盐原药影响动物食量、营养状况, 引起行为改变、抗感染能力减低, 体重和食物利用率下降, 部分生化指标 (TP、ALB、GLU、BUN、ALP、ChE) 及部分脏器质量系数改变, 且能造成部分动物肝脏损害。该药喂饲染毒最大无作用剂量, 雌性大鼠为 2.34 mg/kg, 雄性大鼠为 1.59 mg/kg。

关键词: 农药; 单甲脒盐酸盐; 亚慢性毒性

中图分类号: R595.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2006)03-0160-03

Study on subchronic toxicity of a pesticide N' -(2,4-dimethylphenyl)- N' -methylformamidine hydrochloride (DMAH) in rats

WANG Xiao-jun, WANG Jing, JIANG Wen-ling, YANG You-run, LIU Ying-hua

(Tianjin Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China)

Abstract Objective To study the oral subchronic toxic effects of 85% N' -(2,4-dimethylphenyl)- N' -methylformamidine hydrochloride (DMAH) in rats. **Method** Four groups of rats were fed with foodstuff containing 85% DMAH in the doses of 625, 125, 25 and 0 mg/kg respectively for 3 months observing general behavior, body weight, food consumption etc. At the end of experimental period, blood samples were collected for routine and biochemical assays, meanwhile, the 8 h urine samples were collected for routine and biochemical assays; the internal organs were also taken for calculating their organ coefficients and doing histopathological examinations. **Result** During experimental period, no obvious abnormality could be found in the low dose and control groups, but there were some symptoms, such as diminished activity, fidget, bloody secretion from nose and mouth, defilement round perineal area, damaged or ulcerated skin, reduction of body weight and food consumption, were observed in median and high dose groups. At the end of the experiment, the blood urea nitrogen (BUN), alkaline phosphatase (ALP) and aspartate aminotransferase (AST, only in males) were obviously risen in the rats of high dose group ($P < 0.01$ or < 0.05), and the total protein (TP), albumin (ALB), glucose (GLU), cholinesterase (ChE, only in females) were lowered in the median and high dose groups ($P < 0.05$). The urine protein showed positive results in some animals of median and high dose groups. The organ coefficients such as brain, heart, liver, kidney, adrenal gland and testes in high dose group and in medium dose group (only brain, kidney for female rats and only brain, liver, testes for male rats) were higher than that of controls. Pathological examination showed that in high dose group, the circular vacuole, swelling and compressed hepatic sinusoid of liver cells in some animals were found; while in median dose group, only little circular vacuoles of peripheral liver cells could be seen. **Conclusion** 85% original DMAH could affect animal appetite, nutrition condition and behavior, decrease anti-infection potential, reduce body-weight and food coefficient, induce abnormality of biochemical indices (TP, ALB, GLU, BUN, ALP, ChE), organ coefficients and liver damage in some rats. The 90 day oral no-observed adverse effect levels (NOAEL) of 85% DMAH in rats were 2.34 mg/kg for female rats, and 1.59 mg/kg for male rats.

Key words: Pesticide; N' -(2,4-dimethylphenyl)- N' -methylformamidine hydrochloride (DMAH); Subchronic toxicity

收稿日期: 2006-01-10; 修回日期: 2006-03-13

作者简介: 王晓军 (1969-), 女, 天津人, 助理研究员, 从事卫生毒理学和生殖毒理学工作。

单甲脒是 20 世纪 80 年代由我国科学工作者合成并投产的有机氮杀螨杀虫剂, 其商品形式是单甲脒盐酸盐。该农药对蚜虫、红蜘蛛等害虫有较好的毒杀作用, 目前国内已大量生

产和使用。为明确其亚慢性毒性效应，并为农药毒理学安全性评价提供资料，特进行本实验研究。

1 材料与方法

1.1 材料

二级 Wistar 种大鼠，体重 70~90 g，由军科院实验动物中心提供，合格证号：SCXK-(军)2002-001 04004。按体重随机分为 4 组，每组 20 只，雌雄各半。85% 单甲脒盐酸盐原药为黄色粉末，由天津某农药公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 染毒剂量及方法 参照 GB15670-1995 农药登记毒理学实验方法，参考本实验室对 85% 单甲脒盐酸盐原药的大鼠急性经口毒性、大鼠蓄积毒性实验结果，设高、中、低 3 个给药组，分别用含 625、125、25 mg/kg 85% 单甲脒盐酸盐原药的饲料喂饲 3 个月。另设一个空白对照组，饲以普通饲料。动物单笼饲养，各组动物均自由饮水，其他饲养条件一致。根据动物饲料实际消耗量和大鼠体重换算出染毒剂量，高、中、低 3 个给药组雄性动物 85% 单甲脒盐酸盐原药摄入剂量为 56.86、8.19、1.59 mg/kg，雌性动物摄入剂量为 78.11、12.30、2.34 mg/kg。

1.2.2 检查项目 每天观察动物的一般表现，每周记录动物进食量和体重。于给药 90 d 实验结束时用八联尿试纸，测定大鼠尿中潜血、亚硝酸盐、pH 值、尿胆原、胆红素、蛋白质、葡萄糖、酮体，试纸购自高尔宝生物技术有限公司；摘眼球取血，测定血常规和血生化，血常规采用 BECKMAN COULTER A^C-TDIFF 全自动细胞计数仪测定大鼠全血红细胞、白细胞、血小板和血红蛋白，光镜计数白细胞分类，血生化用 Vitalab

Selectra 2 型全自动生化分析仪，测定大鼠血清中 AST、ALT、ALP、BUN、TP、ALB、GLU、TBI、CRE、CHO、ChE，所用试剂盒均购自北京中生物高技术有限公司；颈椎脱臼处死动物，对所有动物进行系统尸解，对器官进行肉眼大体观察，剖解取出脑、心、肝、肾、脾、肺、肾上腺、甲状腺、胸腺、睾丸（和附睾）、卵巢、子宫、胃、十二指肠、胰腺、膀胱留待进一步病理组织学检查，称量其中脑、心、肝、肾、脾、肺、肾上腺、睾丸的脏器湿重并计算脏器质量系数。

1.3 统计方法

数据均采用 SPSS 10.0 for WINDOWS 中单因素方差分析进行统计。

2 结果

2.1 一般情况

染毒期间高、中剂量组动物食量下降，少动呈萎靡状；高剂量组染毒自第 3 周、中剂量组自第 4 周起个别动物眼鼻伴有血性分泌物，第 5 周起动物出现躁动、兴奋、易怒，第 7 周起皮肤破损、会阴污秽、背毛蓬松。上述症状以高剂量组明显，中剂量组次之。染毒末期，高剂量组部分动物及中剂量组个别动物腹、尾、后肢和耳缘皮肤溃烂。低剂量组、对照组动物的外貌、活动、一般表现等均未见明显异常。

2.2 对体重、进食量及食物利用率的影响

自实验第 2 周起，各染毒组体重增长速度较对照组缓慢，进食量较对照组减少，有明显的剂量-反应关系，即高剂量组动物程度最重，中剂量组次之，与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$)，这种情况持续至实验结束 (表 1)。

表 1 85% 单甲脒盐酸盐原药对体重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

g

组别	n	染毒前	染毒后					
			2周	4周	6周	8周	10周	12周
高剂量组	♂ 10	81.6±4.4	101.9±14.1**	157.9±29.4**	201.2±43.1**	225.0±54.0**	251.6±63.7**	255.2±67.4**
	♀ 10	81.6±4.2	95.7±5.4**	127.2±6.6**	151.3±8.7**	164.2±11.3**	179.1±11.4**	191.2±14.2**
中剂量组	♂ 10	81.5±4.3	153.4±8.6**	209.7±16.2**	262.2±18.3**	299.8±17.8**	335.0±23.6**	350.6±23.8**
	♀ 10	81.8±4.7	116.2±3.9**	160.3±4.3**	185.1±7.3**	203.6±11.5**	219.3±12.5**	224.0±10.8**
低剂量组	♂ 10	81.5±4.5	177.0±11.2	275.6±9.5	342.5±16.0	388.8±21.5	428.0±27.0	440.4±27.3
	♀ 10	81.7±4.1	147.7±7.5	191.4±6.7	218.7±8.8	244.9±8.8	256.9±9.2	263.1±6.8
对照组	♂ 10	81.5±4.5	180.3±8.7	279.9±7.9	348.9±14.7	399.9±14.6	440.4±17.9	452.7±15.9
	♀ 10	81.7±4.5	150.5±7.8	196.5±8.8	223.5±13.3	250.4±14.8	265.1±16.8	272.3±16.2

与对照组比较，* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ，下表同。

2.3 脏器湿重及系数

各组动物脏器重量系数检测结果表明：高剂量组动物肝、心、肾、脑、肾上腺及雄性睾丸脏器质量系数均高于对照组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)；中剂量组雌性动物肾、脑，雄性动物肝、脑及睾丸脏器质量系数均高于对照组 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$) (表 2)。

2.4 对血液学指标的影响

血液学检查全血红细胞、白细胞、血小板、血红蛋白和白细胞分类等各项指标给药各组及对照组结果均在本单位检

测正常值范围内。

2.5 对血液生化学指标的影响

血液生化学检查结果显示高剂量组雌雄动物 BUN、ALP 升高 ($P < 0.01$)；雄性动物 AST 升高 ($P < 0.05$)，TP、ALB、GLU 均低于对照组，差异有显著性 ($P < 0.01$)；雌性动物 ChE 低于对照组，差异有显著性 ($P < 0.01$)。中剂量组雌雄动物 TP、GLU 降低，与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)，见表 3。

2.6 对尿液生化指标的影响

表 2 对部分脏器质量系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	脑/体	心/体	肝/体	肾/体	肾上腺/体	睾丸/体
高剂量组	♂ 10	0.716±0.317**	0.405±0.083**	3.90±0.98*	0.818±0.254*	0.021±0.005*	0.875±0.206*
	♀ 10	0.886±0.124**	0.428±0.055*	3.83±0.81*	0.815±0.097**	0.034±0.008*	
中剂量组	♂ 10	0.488±0.046**	0.315±0.035	2.90±0.11**	0.603±0.071	0.016±0.004	0.877±0.063**
	♀ 10	0.735±0.062**	0.394±0.044	2.98±0.13	0.707±0.058*	0.026±0.010	
低剂量组	♂ 10	0.405±0.033	0.298±0.024	3.06±0.21	0.610±0.061	0.015±0.005	0.721±0.059
	♀ 10	0.631±0.047	0.366±0.036	3.06±0.22	0.675±0.041	0.024±0.007	
对照组	♂ 10	0.406±0.021	0.297±0.037	3.20±0.21	0.617±0.077	0.014±0.006	0.729±0.029
	♀ 10	0.605±0.064	0.376±0.049	3.22±0.36	0.656±0.039	0.023±0.009	

表 3 对部分血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AST (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	BUN (mmol/L)	GLU (mmol/L)	ALP (U/L)	ChE (U/L)
高剂量组	♂ 10	181±36*	63.4±6.4**	31.2±1.8**	10.96±1.61**	2.71±0.93**	163±40**	306±56
	♀ 10	160±56	61.1±7.5**	29.6±2.4**	13.56±3.58**	3.11±1.22**	170±56**	513±162**
中剂量组	♂ 10	161±27	68.4±3.9**	32.4±1.3	8.89±1.87	3.11±0.35**	137±34	313±45
	♀ 10	132±30	67.7±4.8*	32.9±2.2	7.25±1.13	3.56±0.52**	80±8	947±229
低剂量组	♂ 10	142±8	72.8±5.1	32.8±1.3	8.97±1.65	3.78±0.47	117±22	325±74
	♀ 10	134±18	72.6±4.2	34.4±1.4	8.67±1.83	4.39±0.65	77±9	1107±150
对照组	♂ 10	153±20	76.2±4.8	33.5±1.6	8.70±1.22	4.17±0.72	110±27	313±69
	♀ 10	132±26	72.7±4.0	34.0±10.5	8.54±1.97	4.87±0.33	88±18	1035±300

部分动物呈尿蛋白阳性, 其中高剂量组雄 5/10、雌 5/10, 中剂量组雄 3/10、雌 1/10, 其他指标未见明显异常。

2.7 对病理组织学的影响

肉眼大体观察未见异常。镜下检查可见高剂量组及对照组动物肺脏偶见轻度间质炎症变化, 部分动物肝脏汇管区血管及胆管周围存在少量小圆形细胞浸润, 个别动物肾及胃黏膜下可见少量小圆形细胞浸润, 高剂量组发生例数及病变程度与对照组相比无明显差别。高剂量组 15/20 (雄 7, 雌 8) 动物可见肝细胞肿胀、细胞内有小圆形空泡, 肝窦结构受压, 中剂量组 8/20 (均为雌性) 周边性肝细胞内小圆形空泡。其他被检脏器未见改变。

3 讨论

文献报道脘类农药是神经性毒物, 急性中毒病例可见中枢神经系统受累症状^[1]。本研究给大鼠连续喂饲染毒 3 个月 85% 单甲脘盐酸盐原药, 观察到高、中剂量组动物实验期间出现躁动、兴奋、烦躁、易怒等行为改变, 而脑的病理组织学检查未见改变。

高剂量组动物血清碱性磷酸酶、天门冬氨酸氨基转移酶升高; 高、中剂量组动物脏器质量系数高于对照组; 病理检查显示高剂量组部分动物可见肝细胞肿胀、细胞内有小圆形空泡, 肝窦结构受压, 中剂量组部分雌性动物周边性肝细胞内小圆形空泡均提示 85% 单甲脘盐酸盐原药可引起动物肝脏损害。这与文献报道单甲脘在大鼠体内吸收后 90% 经血液

转运至肝脏中进行代谢转化后随尿排出^[2], 内脏残留量分析显示肝脏是其主要代谢器官^[3]的结果相一致。

研究结果显示反映肾功能状况的指标出现阳性结果, 如引起血清尿素氮升高、尿液检查尿蛋白阳性、肾脏器质量系数增加等, 尽管病理检查未见明显肾脏损害, 但仍提示我们注意肾脏保护。另有文献报道单甲脘染毒的鱼脑组织中胆碱酯酶活力降低^[4], 提示单甲脘可能对胆碱酯酶具有抑制作用。本实验结果显示雌性动物血清胆碱酯酶活力降低, 且存在剂量-反应关系, 而雄性动物却未显示酶活力降低, 单甲脘盐酸盐对胆碱酯酶的抑制作用是否存在性别差异还有待进一步实验观察。另外两种性别动物血糖降低, 并且存在剂量-反应关系, 长期接触 85% 单甲脘盐酸盐原药是否影响糖代谢还需进一步的研究。经对以上实验结果综合分析, 85% 单甲脘盐酸盐原药 90 d 喂饲染毒最大无作用剂量雌性大鼠为 2.34 mg/kg, 雄性大鼠为 1.59 mg/kg。

参考文献:

[1] 周志俊, 胡云平, 匡兴亚, 等. 职业接触脘类农药对心血管功能的影响 [J]. 中华预防医学杂志, 1999, 33 (3): 140-142.
 [2] 竺迺愷, 杜秀英, 夏晔娟, 等. 单甲脘在大鼠体内的吸收、代谢和排出的研究 [J]. 环境化学, 1995, 14 (3): 230-233.
 [3] 竺迺愷, 杜秀英, 夏晔娟, 等. 单甲脘及单甲脘盐酸盐的急性毒性 [J]. 农药, 1994, 23 (5): 32-33.
 [4] 徐镜波, 何春光, 孙刚. 单甲脘农药对鱼脑胆碱酯酶活性的影响 [J]. 环境化学, 1998, 17 (1): 55-59.