

- Mars [J]. *Adv Space Res* 1989, 9 (6): 155-158.
- [4] Lu WQ, Chen XN, Yue F, et al. Studies on the in vivo and in vitro mutagenicity and the lipid peroxidation of chlorinated surface (drinking) water in rats and metabolically competent human cells [J]. *Mutat Res* 2002 15 513 (1-2): 151-157.
- [5] Marsteinstredet U, Wiger R, Brunborg G, et al. Apoptosis in HL-60 cells induced by 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2[5H]-furanone (MX) [J]. *Chem Biol Interact* 1997, 106 (2): 89-107.
- [6] Bombail V, Aw D, Gordon E, et al. Application of the comet and micronucleus assays to butterfish (*Pholisgunnellus*) erythrocytes from the firth of forth, scotland [J]. *Chemosphere* 2001, 44 (33): 383-392.
- [7] Mouron SA, Golijow CD, Dubut FN. DNA damage by cadmium and arsenic salts assessed by the single cell gel electrophoresis assay [J]. *Mutat Res* 2001, 498 (1-2): 47-55.
- [8] Park JH, Lee BJ, Lee SK, et al. Genotoxicity of drinking water from three Korean cities [J]. *Mutat Res* 2000, 466 (2): 173-178.
- [9] Aylon F, Garcia-Vazquez E. Micronuclei and other nuclear lesions as genotoxicity indicators in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf* 2001, 49 (3): 221-225.
- [10] Rodel PM, Terra NR, Erdtmann B. Evaluation of basal micronucleus frequency and hexavalent chromium effects in fish erythrocytes [J]. *Environ Toxicol Chem* 2001, 20 (6): 1320-1324.
- [11] Saleha Banu B, Danadevi K, et al. Genotoxic effect of monocrotophos to sentinel species using comet assay [J]. *Food Chem Toxicol* 2001, 39 (4): 361-366.
- [12] Pandrangi R, Petras M, Ralph S, et al. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp [J]. *Environ Mol Mutagen* 1995, 26 (4): 345-356.

1,2,4-三氯苯对小鼠心脏、肝脏和肾脏抗氧化系统的影响

刘军¹, 王路², 金焕荣³, 范来富⁴

(1. 沈阳市卫生监督所, 辽宁 沈阳 110014; 2. 沈阳市疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110031; 3. 沈阳医学院, 辽宁 沈阳 110034; 4. 中国医科大学公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 探讨1,2,4-三氯苯(1,2,4-TCB)对小鼠心脏、肝脏和肾脏抗氧化系统的影响。方法 经皮下注射染毒,分为1 382.2、2 764.4、4 146.6 mg/kg低、中、高3个剂量,测定心、肝、肾脏中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总巯基(T-SH)、非蛋白巯基(NP-SH)、蛋白巯基(P-SH)及脂质过氧化物(LPO)的含量。结果 心脏检测示低剂量组NP-SH含量显著高于对照组;肝脏检测示中、高剂量组LPO含量显著增高,GSH-Px活力和NP-SH含量显著低于对照组,高剂量组SOD活力增高,与对照组相比差异有显著性;肾脏检测示3个剂量组GSH-Px活力有所降低,与对照组相比差异有显著性,低剂量组NP-SH含量显著低于对照组。结论 1,2,4-TCB可使小鼠心、肝和肾脏脂质过氧化作用增强,并相应地引起抗氧化酶活力和抗氧化物质含量的变化。

关键词: 1,2,4-三氯苯; 脂质过氧化物; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 巯基; 小鼠

中图分类号: O625.21 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2006)03-0165-03

Effects of 1,2,4-trichlorobenzene on anti-oxidation system of heart, liver and kidney in mice

LIU Jun¹, WANG Lu², JIN Huan-rong³, FAN Lai-fu⁴

(1. *Shenyang Municipal Institute of Public Health Inspection, Shenyang 110014, China*; 2. *Shenyang Center for Disease Control and Prevention, Shenyang 110031, China*; 3. *Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China*; 4. *School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China*)

Abstract Objective To explore the effects of 1,2,4-TCB on anti-oxidation system of heart, liver and kidney in mice. **Method** The mice were divided into three experimental groups and given 1 382.2 mg/kg, 2 764.4 mg/kg and 4 146.6 mg/kg of 1,2,4-TCB respectively by subcutaneous injection, then measure the activities of SOD, GSH-Px and the levels of T-SH, NP-SH, P-SH and LPO in heart, liver and kidney. **Result** The heart measurement showed that the NP-SH level in low dosage group was higher than that of control group; the liver measurement showed that LPO level in high and middle dosage groups were obviously increased, the GSH-Px activity and the NP-SH level were decreased, the SOD activity in high dosage group was risen compared with control group; while the kidney measurement showed that the GSH-Px activity in all the three experiment groups were decreased and there was some lower of the NP-SH level seen only in low dosage group. **Conclusion** 1,2,4-TCB could enhanced the lipid peroxidation in heart, liver and kidney of mice and thereby induced the change of the anti-oxidase activity and anti-oxidant content.

Key words: 1,2,4-trichlorobenzene (1,2,4-TCB); Lipid peroxides (LPO); Superoxide dismutase (SOD); Glutathione peroxidase (GSH-Px); Sulfhydryl group; Mice

收稿日期: 2005-11-03; 修回日期: 2005-12-30

作者简介: 刘军(1968-),女,副主任医师,现从事卫生监督工作。

国内外学者对1,2,4-三氯苯(1,2,4-TCB)的毒性研究表明,1,2,4-TCB主要经消化道吸收,也可经口和皮肤吸收,吸

收后通过诱导肝微粒体酶, 形成氧化中间产物^[2,3]。1, 2, 4-TCB 代谢很快^[4], 且在体内有明显蓄积作用^[5,6], 它的毒性主要集中在血液、脑、肝脏、肾脏^[7,8]以及皮肤^[9], 尤以中枢神经抑制和肝肾损害症状为重^[10,11]。随着活性氧自由基与疾病关系研究的进展, 揭示出自由基与多种毒物损伤存在着密切关系。本研究通过测定1, 2, 4-TCB 急性染毒小鼠心、肝、肾脏中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、巯基 (SH) 及脂质过氧化物 (LPO) 含量的变化, 探讨 1, 2, 4-TCB 对抗氧化系统的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用健康昆明种小鼠, 体重 (25±3) g, 雌雄各半, 均来自中国医科大学动物中心。动物室温度 18~24℃, 相对湿度 45%~55%, 饲料由动物中心提供, 实验前观察 3 d, 染毒后正常进食、饮水。

1, 2, 4-TCB 分析纯 北京市旭东化工厂提供。缓冲液、黄嘌呤、黄嘌呤氧化酶、盐酸羟胺、羟胺-O-磺酸液、盐酸萘乙二胺、对氨基苯磺酸, 分析纯, 日本株氏会社提供。还原型谷胱甘肽 (GSH), 分析纯, 日本和光株氏会社提供; 二硫双硝基苯甲酸 (DTNB), 分析纯, 美国 Sigma 公司提供。硫代巴比妥酸 (TBA), 分析纯, 上海试剂二厂提供; 四乙氧基丙烷 (1, 1, 3, 3-TEP), 分析纯, 日本和光株氏会社提供; 正丁醇, 分析纯, 沈阳试剂一厂提供。三氯乙酸 分析纯, 沈阳试剂一厂提供。

722 型分光光度计, 上海第三分析仪器厂制造。LxJ-II 型离心机, 上海医用分析仪器厂制造。三用电热恒温水浴箱, 北京长安科学仪器厂制造。分析天平。

表 1 小鼠心脏中 LPO、SOD、GSH-Px、T-SH、NP-SH 和 PB-SH 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg)	LPO ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (NU/mg 蛋白)	GSH-Px (U/mg 蛋白)	T-SH ($\mu\text{mol/g}$)	NP-SH ($\mu\text{mol/g}$)	PB-SH ($\mu\text{mol/g}$)
对照组	0.90±0.27	93.70±21.56	14.25±3.78	5.18±1.92	0.68±0.29	4.50±1.90
1 382.2	1.05±0.45	96.00±13.18	10.52±3.09	6.38±1.76	0.99±0.20*	5.40±1.72
2 764.4	0.92±0.26	99.92±16.04	10.81±4.16	5.58±1.49	0.86±0.20	4.71±1.46
4 146.6	1.10±0.38	103.34±34.91	12.96±4.05	5.06±0.84	0.76±0.22	4.30±0.83

与对照组比较 * $P < 0.05$

表 2 小鼠肝脏中 LPO、SOD、GSH-Px、T-SH、NP-SH 和 PB-SH 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg)	LPO ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (NU/mg 蛋白)	GSH-Px (U/mg 蛋白)	T-SH ($\mu\text{mol/g}$)	NP-SH ($\mu\text{mol/g}$)	PB-SH ($\mu\text{mol/g}$)
对照组	2.97±1.15	209.30±38.63	14.07±6.50	6.02±2.34	1.45±0.29	4.57±2.24
1 382.2	3.01±0.86	232.70±32.34	5.25±4.50	6.92±2.77	1.58±0.85*	5.34±2.50
2 764.4	3.23±1.88*	236.67±46.89	3.37±3.28*	3.42±2.13	0.39±0.27**	3.02±2.24
4 146.6	3.68±0.40*	301.21±42.83*	2.55±1.39*	3.99±2.11	0.53±0.35**	3.46±2.22

与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 小鼠肾脏中 LPO、SOD、GSH-Px、T-SH、NP-SH 和 PB-SH 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg)	LPO ($\mu\text{mol/g}$)	SOD (NU/mg 蛋白)	GSH-Px (U/mg 蛋白)	T-SH ($\mu\text{mol/g}$)	NP-SH ($\mu\text{mol/g}$)	PB-SH ($\mu\text{mol/g}$)
对照组	1.00±0.18	92.95±8.75	10.16±3.14	4.66±1.55	0.49±0.15	4.17±1.46
1 382.2	0.83±0.32	94.72±10.59	5.35±0.79*	5.90±1.70	0.23±0.07*	5.66±1.71
2 764.4	1.03±0.16	96.75±15.06	5.59±1.19*	5.62±1.17	0.42±0.12	5.20±1.14
4 146.6	1.03±0.11	92.61±8.59	5.46±1.59*	5.73±1.10	0.48±0.10	5.25±1.11

与对照组比较 * $P < 0.05$

3 讨论

国内的流行病学调查结果表明: 车间接触 1, 2, 4-TCB 的工

1.2 方法与观察指标

小鼠 40 只, 随机分为 3 个实验组和 1 个对照组, 每组 10 只, 雌雄各半, 染毒方式为皮下注射, 染毒剂量分别为 1 382.2、2 764.4、4 146.6 mg/kg, 对照组注射生理盐水。染毒 24 h 后, 以乙醚麻醉, 断脊髓处死后, 解剖取心、肝、肾冰冻保存, 测定前冰浴中制取匀浆。

LPO 测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法^[12], SOD 活力测定采用亚硝酸盐 (Nitrite-Ki) 法^[13], GSH-Px 活力的测定采用 DTNB 法^[14], 总巯基和非蛋白巯基含量的测定采用 Ellman's 法^[15], 蛋白质含量的测定采用双缩脲法。

1.3 统计分析

Excel 软件进行实验数据整理, SPSS10.0 Windows 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 并进行组间的 Q 检验 (Student-Newman-Keuls 法); 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

小鼠心、肝和肾脏中 LPO、SOD、GSH-Px、T-SH、NP-SH 和 PB-SH 的测定, 结果见表 1、2 和 3。

由表 1 可见, 心脏低剂量组 NP-SH 含量显著高于对照组。

由表 2 可见, 肝脏中、高剂量组的 LPO 含量显著增高, 与对照组相比差异具有显著性; 高剂量组 SOD 活力增高, 与对照组相比差异有显著性; 中、高剂量组 GSH-Px 活力明显下降, 与对照组相比差异有显著性; 中、高剂量组 NP-SH 含量显著低于对照组。

由表 3 可见, 肾脏的低、中、高 3 个剂量组 GSH-Px 活力有所降低, 与对照组相比差异有显著性; 低剂量组 NP-SH 含量显著低于对照组。

人大部分出现神经衰弱症状, 表现为失眠、头晕、记忆力减退^[17,18]。本实验结果显示, 在给小鼠皮下注射一次 1, 2, 4-TCB

24 h 后, 肝脏中、高剂量组 LPO 含量明显高于对照组, 说明 1, 2, 4-TCB 可使小鼠体内脂质过氧化作用增强, 这与 1, 2, 4-TCB 的代谢过程有关, 它能诱导肝脏的药物代谢酶, 生成环氧化物, 微粒体中的药物代谢酶发挥作用的同时可能与生成 ROS 有关, 主要引起肝脏肿大、呈灰白色等改变。

肝脏中、高剂量组的 LPO 含量明显增高的同时, GSH-Px 活力显著下降, NP-SH 含量显著下降, SOD 活力显著升高, 因为肝脏是 TCB 重要的生物转化器官, 也是抗脂质过氧化损伤的中心器官, 又是 SOD、GSH-Px 含量最高的器官, 在肝脏中, GSH-Px 活性很高, GSH-Px 主要在胞浆和线粒体基质中, GSH 的分布与 GSH-Px 相似^[19]。1, 2, 4-TCB 在肝脏的解毒、代谢过程中消耗了大量的 GSH^[19], 引起 GSH-Px 活力和 NP-SH 含量的显著下降。同时为了保护机体免受 ROS 的损伤, 在高剂量时 SOD 活力代偿性显著升高。这一结果也说明在肝脏中发挥抗氧化作用的主要是 GSH-Px。

本实验还显示肾脏中各剂量组 SOD 活力与对照组相比差异无显著性, 而 GSH-Px 活力却显著下降, 说明在肾脏中发挥抗氧化作用的物质主要是 GSH-Px 和与其作用相同的同工酶或其他抗氧化酶^[19], 在肾脏中还存在着其他抗氧化物质, 如金属硫蛋白等。1, 2, 4-TCB 或其代谢产物可能与 GSH 的巯基活性中心结合, 导致 GSH 大量消耗, 也可能是其抑制 GSH-Px, 导致其活力大量降低。

参考文献:

[1] 刘庆余, 成毅萍. 环境化学 [M] . 1995. 58-61.

[2] Smith EN, Carlson GP. Vairous phamacokinetic parameters in relation to enzyme-inducing abilities of 1, 3, 4-trichlorobenzene and 1, 2, 4-trichlorobenz [J] . J Toxicol Environ Health, 1980, 6 (4): 737.

[3] Kato Y, Yamada S, Sato M, et al. Role of 2, 3, 5-trichlorophenyl methylsulfone, a metabolite of 1, 2, 4-trichlorobenzene, in the induction of hepatic microsomal drugmetabolizing enzymes by 1, 2, 4-trichlorobenzene in rats [J] . Toxicol Appl pharmacol, 1993, 122 (2): 214-217.

[4] Williams RT, Hiron PC, Penwick AG. Species variation in the metabolism of some organic halogen compounds [J] . In Ecological Toxicology Research, 1991, 10: 106-108.

[5] Nichol AW, Elsbury S, Rousseaux CG. Porphyrin accumulation in sheep bones associated with 1, 2, 4-trichlorobenzene [J] . Bull Environm Contam Toxicol, 1981, 27: 72-78.

[6] Chaisuksant Y, Yu Q, Connell DW. Effect of halobenzenes on growth rate of fish (Gambusia affinis) [J] . Ecotoxicol Environ Saf, 1998, 32 (2): 120-130.

[7] Smith CG, Cragg ST, Wolf GF. Subacute toxicity of 1, 2, 4-trichlorobenzene (TCB) in subhuman primates [J] . Fed Proc, 1978, 37: 248.

[8] Watanabe FG, Kociba RJ, Hefner REJ, et al. Subchronic toxicity study of 1, 2, 4-trichlorobenzene in experimental animals [J] . Toxicol Appl Pharmacol, 1978, 45 (1): 332.

[9] Powers MB, Goate WB, Lewis TR. Repeated topical applications of 1, 2, 4-trichlorobenzene [J] . Arch Environ Health, 1975, 30: 165-167.

[10] 殷昌硕. 三氯苯的毒理学研究 [J] . 工业卫生与职业病, 1984, 10 (3): 8-9.

[11] Den Besten C, Vet JJ, Besselink HT, et al. The liver, kidney and thyroid toxicity of chlorinated benzenes [J] . Toxicology and Aplzied Pharmacology, 1991, 111 (1): 69-81.

[12] 陈顺志. 关于三种 TBA 显色方法的比较 [J] . 临床检验杂志, 1984, 2 (4): 9-11.

[13] 季建平. 超氧化物歧化酶超微量快速测定法 [J] . 南京铁道医学院学报, 1991, 10: 5.

[14] 夏弈明, 朱莲珍. 血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法 [J] . 卫生研究, 1987, 16 (4): 29-33.

[15] Jozef Sedlak, Raymond H, Lindsay. Estimation of total protein bound and nonprotein sulphydryl groups in tissue with Ellman's reagent [J] . Analytical Biochemistry, 1968, 25: 192-205.

[16] 陈瑗, 周枚. 自由基医学 [M] . 北京: 人民军医出版社, 1991. 58-61.

[17] 范来富, 李冰, 郭晓英, 等. 三氯苯对工人健康影响的卫生学调查 [J] . 中国工业医学杂志, 2000, 13 (3): 171-172.

[18] 岳葆芳, 吴学霖. 三氯苯作业工人的健康状况调查 [J] . 中华劳动卫生职业病杂志, 1995, 13 (2): 95-96.

[19] Aronsson AC, Mannstäl E, Mannervik B, et al. A zinc metallo enzyme of mammals and yeast [J] . Biochem Biophys Res Commun, 1987, 81: 1235-1240.

卫生部批准发布 8 项国家职业卫生标准

2006 年 3 月 13 日卫生部发布公告 (卫通 [2006] 5 号) 批准发布了 4 项强制性国家职业卫生标准, 4 项推荐性国家职业卫生标准, 这些标准将于 2006 年 10 月 1 日起实施。自实施之日起, GBZ3-2002、GBZ21-2002、GBZ24-2002 废止。标准编号及名称见表 1 和表 2。

表 1 强制性国家职业卫生标准

标准号	标准名称
GBZ3-2006	职业性慢性锰中毒诊断标准 (代替 GBZ3-2002)
GBZ21-2006	职业性光接触性皮炎诊断标准 (代替 GBZ21-2002)
GBZ24-2006	职业性减压病诊断标准 (代替 GBZ24-2002)
GBZ169-2006	职业性放射性疾病诊断程序和要求

表 2 推荐性国家职业卫生标准

标准号	标准名称
GBZ/T170-2006	核事故场外医学应急计划与准备
GBZ/T171-2006	核事故场内医学应急计划与准备
GBZ/T172-2006	牙釉质电子顺磁共振剂量重建方法
GBZ/T173-2006	职业卫生生物监测质量保证规范

(黄金祥供稿)