

3 讨论

近年来职业性 DMLT 是严重危害作业工人的职业病,一些研究发现患者出现的肝脏损伤会有补体在内的免疫性指标异常,提示 DMLT 的发病过程中补体激活可能起着重要的作用。肝脏是补体产生的重要器官,约 90% 的 C3 是由肝脏产生。C3 经 3 个途径均活化 C3a 及 C3b, C3a 在体内迅速转换为 C3a-desArg, C3b 与其他补体成分一起经一系列步骤形成攻膜复合物 C5b-9^[6]。C4 经活化途径活化后转化为 C4a 及 C4b,本研究以 C4b 的基因表达反应 C4 的基因表达情况。

越飞^[7]等发现 DMLT 患者治疗前体内补体含量明显低于治疗后,认为 DMLT 患者病程中可能存在补体活化,从而导致肝脏损伤。本课题组的前期研究发现 TCE 致敏豚鼠肝脏有一定的损伤,且血清中补体 C3、C4 含量降低,补体系统可能被激活。本研究发现 TCE 致敏组小鼠血清 C3a-desArg、C4b 浓度在 24 h 开始升高,与空白对照组、溶剂对照组及相应未致敏组相比差异有明显统计学意义。提示此阶段 C3、C4 可能处于活化状态,7 d 致敏组小鼠血清 C3a-desArg、C4b 开始降低,其中 C4b 已降低到正常水平,这与本实验室前期的肝脏损伤研究一致^[8]。

RT-PCR 研究发现 TCE 处理组小鼠中,24 h、48 h 致敏组 C3、C4b mRNA 表达升高,灰度值统计分析差异有统计学意义 ($P < 0.05$),提示此时肝脏中补体产生量应该增加;但在前期的各项研究中血清补体浓度都明显降低,提示在此阶段可能存在一定程度的补体活化。本研究发现在 TCE 致敏 72 h 组 C3、C4b mRNA 表达明显降低。本课题组前期研究发现 72 h 致敏组肝脏损伤最严重,提示 C3、C4b mRNA 表达的降低可能与肝脏的损伤程度有关。7 d 致敏组 C3、C4b mRNA 表达恢复至正常水平,这与 ELISA 检验结果相一致。

综上所述,本研究通过整体动物实验方法,检测血清中 C3a-desArg 及 C4b 的浓度及肝脏组织中 C3 及 C4b mRNA 表

达,进一步为 TCE 致敏小鼠体内补体激活提供证据。但补体活化的三氯乙烯药疹样皮炎的病程中起什么样的作用,其具体的作用机制是什么,如激活的补体最后形成膜攻击复合物 C5b-9 (MAC)^[9],MAC 是否在肝脏损伤中起到一定的作用,还需要做进一步的研究。

参考文献:

- [1] 刘移民,艾宝民,王致. 我国三氯乙烯职业危害研究十年回顾 [J]. 中国工业医学杂志,2007,20 (2): 120-121.
- [2] 夏丽华,丘创逸,张莹,等. 三氯乙烯药疹样皮炎的研究概况 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2006,24 (12): 764-766.
- [3] Tang Xiaojiang, Que Bingling, Song Xiangrong, et al. Characterization of liver injury associated with hypersensitive skin reactions induced by trichloroethylene in the guinea pig maximization test [J]. J Occup Health, 2008, 50: 114-121.
- [4] Singhal R, Ganey P E, Roth R A. Complement activation in cetaminophen-induced liver injury in mice [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012, 341 (2): 377-385.
- [5] Naoki Inagaki, Hiroichi Nagai. Analysis of the mechanism for the development of allergic skin inflammation and the application for its treatment: mouse models for the development of remedies for human allergic dermatitis [J]. J Pharmacol Sci, 2009, 110: 251-259.
- [6] Hertle E, van Greevenbroek M M, Stehouwer C D. Complement C3: an emerging risk factor in cardiometabolic disease [J]. Diabetologia, 2012, 55 (4): 881-884.
- [7] 越飞,曾泽明,李森华,等. 三氯乙烯药疹样皮炎患者体内补体等变化情况观察 [J]. 中国职业医学,2007,34 (6): 448-449.
- [8] 朱启星,徐辉,冷静,等. 三氯乙烯致敏豚鼠肝脏损害研究 [J]. 癌变·畸变·突变,2011,23 (5): 344-348.
- [9] 赵志伶,曹书华,王勇强. 膜攻击复合物 C5b-9 对创伤失血性休克大鼠肝损害的影响研究 [J]. 中国危重病急救医学,2011,23 (3): 158-161.

3-硝基-1,2,4-三唑-5-酮染毒大鼠病理学观察

Pathological observation on 3-nitro-1,2,4-triazol-5-one (NTO) exposed rat

孙苑菡,杜文霞,王玉玲,张延巍,邢亚飞,许俊卿

SUN Yuan-han, DU Wen-xia, WANG Yu-ling, ZHANG Yan-wei, XING Ya-fei, XU Jun-qing

(中国兵器工业集团第五二一研究所,陕西 西安 710065)

摘要: 探讨新型含能材料 3-硝基-1,2,4-三唑-5-酮 (NTO) 对大鼠主要脏器的亚慢性毒作用。将 NTO 以食用植物油为溶剂分为 0、250、500、1000 mg/kg 剂量组给大鼠经口灌胃。染毒 90 d,每周 5 d,每天 1 次。染毒结束处死大鼠,取心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸、子宫观察其病理改变。结果显示,NTO 染毒大鼠病理改变为肝细胞水肿、肝窦充血、

炎细胞浸润、中央静脉扩张、点状坏死;肾脏病变表现为小球系膜细胞增生、近端小管水肿、炎细胞浸润、细部小管细胞增生纤维化;睾丸曲细精管变细,间隙较大,仅可见基底膜单层细胞,未见向管腔内分化的初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞及精子,间质水肿。250、500、1000 mg/kg 剂量组睾丸系数低于对照组。提示 NTO 对大鼠的肝脏、肾脏、睾丸有一定的毒作用。

关键词: 新型含能材料; 3-硝基-1,2,4-三唑-5-酮 (NTO); 病理改变

中图分类号: R99; TQ086.5

文献标识码: B

收稿日期: 2012-01-16; 修回日期: 2012-05-31

基金项目: 兵器“十一五”预研支撑项目 (62301100401)

作者简介: 孙苑菡 (1981-),男,工程师,主要从事卫生毒理研究和职业卫生评价。

文章编号: 1002-221X(2013)01-0037-03

随着国防科技工业的迅速发展,许多新型含能材料应运而生,3-硝基-1,2,4-三唑-5-酮(NTO)作为下一代高性能火炸药的原材料基础,是其中具代表性的产品。NTO是一种能量接近黑索今,感度相当于三硝基甲苯(TNT)的高能低感炸药,其相对分子质量为130,外观为微黄色晶体,熔点261℃,微溶于甲醇、丙酮,不溶于水。因其良好的化学特性,中国、法国、美国、俄罗斯等国家均已做了大量的研究工作,在中国以NTO作为含能催化剂原料在推进剂中已获得应用。目前国外只有少量毒性报道^[1],国内尚无相关报道。为保护NTO研究和生产人员身体健康,我们对大鼠进行了NTO亚慢性毒性实验,以全面观察其对大鼠主要脏器的毒作用。

1 材料与方法

1.1 材料

NTO 纯品由中国兵器工业集团公司第二〇四研究所研制提供;溶剂采用食用植物油;实验选用体重(130~150)g SPF(无特定病原体)级健康SD大鼠96只,由第四军医大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号[SYXK(陕)2008-002],实验动物使用许可证号[SYXK(陕)2008-005]。

1.2 方法

按照卫生部2005版《化学品毒性鉴定技术规范》^[2],将大鼠随机分为4组,每组24只。以植物油为溶剂配制NTO剂量250 mg/kg(1/20 LD₅₀半数致死量)、500 mg/kg(1/10 LD₅₀)、1000 mg/kg(1/5 LD₅₀)组经口灌胃染毒,每天1次,每周5 d,连续9 d;对照组用等量植物油,操作方法同染毒组。染毒结

束后处死大鼠,取其心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸、子宫进行肉眼大体观察、称重并计算脏器系数,常规石蜡包埋切片、HE(苏木精)染色、光镜观察其病理改变。

1.3 统计学分析

数据采用SPSS13.0统计软件包进行分析。计量资料不同组间采用单因素方差分析的方法进行分析,各组两两比较采用Dunnett比较对照组和各染毒组的差异。体重分析采用重复测量的方法。计数资料采用 χ^2 检验对数据进行分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况和体重变化

250、500、1000 mg/kg 剂量组大鼠在染毒第2周起开始出现出汗现象;染毒3周后500、1000 mg/kg 组大鼠出现精神萎靡、反应迟钝、不进食,持续30 min后症状出现好转;染毒第9周出汗症状减轻。500、1000 mg/kg 剂量组雄性体重增长明显低于对照组体重增长,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 大体解剖

NTO 各染毒组肉眼可见少数心脏质地较硬;肺部颜色较暗,有结节;子宫轻度水肿;肝颜色淡,轻度水肿;肾脏表面有结节;睾丸萎缩、充血。

2.3 脏器系数

250、500、1000 mg/kg 剂量组睾丸系数与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)见表1。其余脏器与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。(脏器系数=脏器质量/体重 $\times$ 100%)。

表1 染毒90 d NTO 大鼠各剂量组脏器系数($\bar{x} \pm s$)

剂量(mg/kg)	动物数	心	肝	脾	肺	双肾	脑	子宫/睾丸(双)
1000	雌(11)	3.32 $\pm$ 0.29	30.89 $\pm$ 2.26	1.86 $\pm$ 0.18	4.41 $\pm$ 0.45	6.04 $\pm$ 0.38	6.94 $\pm$ 0.50	2.38 $\pm$ 0.46
	雄(10)	2.97 $\pm$ 0.39	31.65 $\pm$ 3.83	1.81 $\pm$ 0.36	3.44 $\pm$ 0.38	6.10 $\pm$ 0.42	4.66 $\pm$ 0.67	2.39 $\pm$ 0.38*
500	雌(11)	3.19 $\pm$ 0.30	30.66 $\pm$ 1.93	1.84 $\pm$ 0.16	4.36 $\pm$ 0.68	6.05 $\pm$ 0.41	6.82 $\pm$ 0.60	2.30 $\pm$ 0.93
	雄(11)	3.00 $\pm$ 0.33	30.26 $\pm$ 3.12	1.64 $\pm$ 0.28	3.55 $\pm$ 0.28	6.05 $\pm$ 0.33	4.59 $\pm$ 0.27	3.04 $\pm$ 0.40*
250	雌(11)	3.31 $\pm$ 0.49	32.22 $\pm$ 4.78	1.88 $\pm$ 0.25	4.35 $\pm$ 0.57	6.13 $\pm$ 1.11	7.12 $\pm$ 1.01	2.15 $\pm$ 0.66
	雄(11)	3.01 $\pm$ 0.31	33.33 $\pm$ 2.80	1.72 $\pm$ 0.20	3.51 $\pm$ 0.30	6.52 $\pm$ 0.36*	4.60 $\pm$ 0.30	5.49 $\pm$ 0.95*
对照	雌(11)	3.06 $\pm$ 0.30	29.46 $\pm$ 2.27	1.87 $\pm$ 0.39	4.25 $\pm$ 0.40	5.85 $\pm$ 0.37	6.80 $\pm$ 0.50	2.23 $\pm$ 0.62
	雄(12)	2.91 $\pm$ 0.26	32.24 $\pm$ 3.22	1.64 $\pm$ 0.20	3.49 $\pm$ 0.40	6.05 $\pm$ 0.41	4.32 $\pm$ 0.42	7.56 $\pm$ 0.55

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

2.4 病理组织学改变

染毒90 d后,对大鼠心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸、子宫进行病理组织学检查。对照组肝小叶中央静脉结构正常,肝细胞索及肝细胞结构清晰完整,细胞排列紧密、核仁明显。250 mg/kg 组肝细胞水肿、嗜酸性变;500、1000 mg/kg 组肝小叶结构紊乱,肝细胞水肿、嗜酸性变、空泡变性、肝窦充血、中央静脉扩张、点状坏死。

对照组肾脏组织结构完整,肾小体断面为完整的圆形,毛细血管位于肾小体中央且结构完好,肾小囊腔明显。近曲小管管径较粗,管腔较小,管壁上皮细胞结构正常,细胞游离面可见刷状缘、远曲小管腔面规则,细胞排列紧密,核仁明显。染毒组500、1000 mg/kg 组肾脏病变主要表现为小球系

膜细胞增生、近端小管水肿。

对照组睾丸结构正常可见曲细精管排列紧密、睾丸间质细胞丰富,曲细精管中可见各级精母细胞和正常的成熟精子,各级生精细胞沿曲细精管呈现同心层状有规则的排列。250、500、1000 mg/kg 组睾丸曲细精管变细,间隙较大,仅可见基底膜单层细胞,未见向管腔内分化的初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞及精子,间质水肿。其他脏器无明显病理改变。

3 讨论

3.1 NTO 属近年来研制成功的新型含能材料之一,在航天和兵器行业具有广泛的应用前景,有必要对其毒性进行系统的研究。

3.2 本实验室进行的NTO大鼠急性经口LD₅₀雌、雄性均大

于 5000 mg/kg, 与文献报道相一致^[3], 依据我国急性毒性分级标准, NTO 属低毒化学物质。

3.3 实验结果显示, 长期接触 NTO 可导致肝、肾、睾丸等脏器组织发生明显的病理学改变。据报道, 国外 NTO 亚慢性毒性研究结果表明, 30、100、315、1000 mg/kg 剂量组饲料消耗和体重均有改变, 在 315、1000 mg/kg 组发现睾丸萎缩, 显微镜下观察所有剂量组均有睾丸组织结构改变^[4]。本次研究结果显示, 中、高剂量组雄性体重增长明显低于对照组, 说明 NTO 对大鼠生长有影响作用。低、中、高剂量组大鼠睾丸系数与对照组比较明显降低, 具有剂量-效应关系; 睾丸病理变化较为明显。本实验研究发现睾丸的病理改变与脏器系数降低互相支持, 脏器系数的变化可旁证病理组织学改变的可能性, 也是寻找毒物作用靶器官的重要线索^[5]。提示 NTO 对大鼠睾丸可产生毒性作用。睾丸改变与文献报道相一致, 为 NTO 毒性作用的主要靶器官之一。

3.4 肝脏和肾脏是化学毒物作用的主要靶器官。亚慢性毒性实验表明, 肝脏、肾脏是 NTO 毒性作用的主要靶器官, 低、

中、高剂量组都有明显肝细胞水肿, 中、高剂量组肝窦充血、中央静脉扩张、点状坏死高于对照组。肾小球系膜细胞增生、近端小管水肿说明肝肾组织病理改变与 NTO 剂量有着明显的剂量-效应关系。在本实验条件下 NTO 对大鼠肝脏、肾脏和雄性大鼠的生殖系统有一定的毒作用。

参考文献:

- [1] 熊贤锋, 王晓峰, 王亲会. 含 NTO 的 TNT 基炸药研究 [J]. 含能材料, 2001, 9 (2): 70-72.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 化学品毒性鉴定技术规范 [S].
- [3] London. A Toxicological Study of 3-Nitro-1, 2, 4-triazol-5-one [S]. Los Alamos National Laboratory Report LA-11461-MS. 1988.
- [4] Gunda Reddy, Jian Songb, Paul Kirbyb. Genotoxicity assessment of an energetic propellant compound, 3-nitro-1, 2, 4-triazol-5-one (NTO) [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2011, 719 (1-2): 35-40.
- [5] 孙建新, 安娟, 连军. 影响实验动物脏器重量及脏器系数因素分析 [J]. 实验动物科学, 2009, 26 (2): 49-51.

纳米氧化铈对小鼠肝肾功能的慢性影响

Survey of chronic effect of nano cerium oxide on hepatic and renal functions in mice

焦欢, 冯昶, 范广勤, 陈陵

JIAO Huan, FENG Chang, FAN Guan-qin, CHEN Ling

(南昌大学公共卫生学院, 江西 南昌 330006)

摘要: 将健康成年雄性昆明小鼠 50 只, 每组 10 只随机分组, 设立阴性对照组、普通氧化铈组、不同剂量纳米氧化铈组。灌胃 8 周后检测相关指标。结果表明, 肝 GSH-Px、肾 GSH-Px、ALT、BUN、Scr 在部分组别发生改变 ($P < 0.05$), 其他指标无明显改变 ($P > 0.05$)。提示纳米氧化铈经口染毒可引起肝肾功能损伤, 其机制可能与氧化应激无关。

关键词: 纳米氧化铈; 肝肾损伤; 小鼠

中图分类号: R992 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)01-0039-03

许多研究结果表明, 纳米颗粒可以穿过机体各种屏障, 到达各组织器官, 对机体造成损伤^[1]。目前研究多为急性、亚急性染毒, 以呼吸道染毒及肺损害多见, 而消化道染毒, 尤其是慢性消化道染毒报道较少。纳米氧化铈由于其特有的结构特性而具有特殊的性能, 在功能陶瓷、抛光、紫外线吸收等方面得到了广泛的应用^[2]; 目前有关纳米氧化铈生物效应研究甚少。本次实验拟就纳米氧化铈经消化道染毒对小鼠肝、肾功能的慢性影响展开研究。

1 材料与方法

收稿日期: 2012-06-28; 修回日期: 2012-09-10

基金项目: 江西省教育厅科技项目 (GJJ09110); 江西省卫生厅科技项目 (20073181)

作者简介: 焦欢 (1986—), 女, 研究生, 主要从事环境化学与健康效应研究。

1.1 实验材料

健康成年雄性昆明小鼠 50 只 (18~22 g), 南昌大学医学院实验动物科学部提供 (合格证号: 赣动 96021)。纳米氧化铈 (纯度 99.99%、粒径 10~30 nm, 长沙亚光), 普通微米氧化铈 (纯度 99.99%、粒径 0.5 μm , 上海国药), 羧甲基纤维素钠 (CMC, 上海振华), 丙二醛 (MDA) 试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒、乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒、丙氨酸转氨酶 (ALT) 试剂盒、天冬氨酸转氨酶 (AST) 试剂盒、血尿素氮 (BUN) 试剂盒、尿酸 (UA) 试剂盒与血肌酐 (Scr) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。722 型分光光度计 (江西博力仪器设备有限公司), 快速混匀器 (常州国华电器有限公司), 普通离心机 80-1 (上海手术器械厂), 恒温水浴箱 (上海医疗器械七厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物处理 小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只 (体重相差 ± 2 g)。实验组按照纳米氧化铈不同剂量分为低剂量组 (100 mg/kg)、中剂量组 (500 mg/kg)、高剂量组 (2000 mg/kg)。对照组分为阴性对照组和普通氧化铈组。阴性对照组给予羧甲基纤维素钠水溶液; 普通氧化铈组给予 100 g/L 微米氧化铈羧甲基纤维素钠悬液。均以 0.02 ml/g 做灌胃处理。每日 1 次, 每周 6 次, 周日停止灌胃, 连续灌胃 8 周。

1.2.2 样本检测 动物麻醉后行腹股沟动脉取血, 取血后立即取小鼠肝脏、肾脏做称重记录, 并制备肝肾组织匀浆。