

• 实验研究 •

四乙酰基二苄基六氮杂异伍兹烷对大鼠亚急性经口毒性研究

Experimental study on subacute oral toxicity of tetraacetyl dibenzyl hexaaza iso-wurtzitane in rats

岳红¹, 刘志永¹, 高俊宏¹, 王鸿¹, 卢青¹, 张盼红¹, 孙成辉², 宋建伟³

(1. 兵器工业卫生研究所, 陕西 西安 710065; 2. 北京理工大学, 北京 100081; 3. 庆阳化学工业公司, 辽宁 辽阳 111000)

摘要: 按照《化学品毒性鉴定技术规范》, 选择 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 随机分为 4 组, 分别为 250、500、1000 mg/kg 四乙酰基二苄基六氮杂异伍兹烷 (TADB) 染毒剂量组和对照组, 经口连续灌胃 28 d。观察动物一般表现, 进行血尿常规、生化、组织病理学检测, 并计算食物利用率及脏器系数。结果发现 TADB 可致大鼠部分血液指标、肝和肾组织病理改变, 提示 TADB 具有一定的毒性作用。

关键词: 四乙酰基二苄基六氮杂异伍兹烷; 亚急性经口毒性; 大鼠

中图分类号: R994.3 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2014)06-0431-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.06.013

四乙酰基二苄基六氮杂异伍兹烷 (TADB) 是合成新型含能材料 CL-20 的中间体物质, 是一种具有笼状结构的化合物^[1]。对其进行亚急性毒性研究, 可为科研和生产人员的职业安全防护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择健康 SPF 级成年 SD 大鼠 40 只, 6~8 周龄, 雌雄各半, 体重 150 g 左右, 由西安交通大学实验动物中心提供, 合格证号: XK (陕) 2007-001。分笼饲养于空调室内, 室温 (23±3) °C, 相对湿度 50%~60%, 每天光照 12 h, 常规饲料喂养, 自由饮用, 实验前适应性饲养 3 d。

1.2 受试物

TADB 为白色粉末状固体, 由辽宁庆阳化学工业公司提供, 赋形剂采用 3% 淀粉溶液。

1.3 仪器与试剂

AU480 全自动生化分析仪 (Beckman Coulter 公司), XT-1800i 型血液分析仪、UF-500i 尿液有形成分分析仪和 CA-550

血凝仪 (Sysmex 公司), TS-12U 生物组织自动脱水机、BM-VIII 生物组织包埋机和 CS-VI 摊片烤片机 (孝感市宏业医用仪器有限公司), HM325 切片机 (Thermo 公司), CX-21 显微镜 (奥林巴斯), 所用试剂均购自各仪器厂家原装试剂。

1.4 动物分组

按《化学品毒性鉴定技术规范》中亚急性经口毒性实验方法进行。选择健康成年 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 雌雄各半, 随机分为 4 组, 每组 10 只。低、中、高 3 个染毒组分别以 250 mg/kg、500 mg/kg 和 1000 mg/kg TADB 灌胃, 对照组给予相同体积 3% 淀粉溶液灌胃, 连续灌胃 28 d。观察动物一般表现, 体重、进食量, 血尿常规、生化等指标测定, 并进行脏器系数计算和组织病理学检查。

1.5 统计学分析

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。定量资料统计描述采用 $\bar{x} \pm s$ 。两组间比较采用 *t* 检验, 体重随时间变化趋势采用重复测量方差分析。若资料不满足球形对称性检验, 则对自由度进行 Greenhouse-Geisser 校正。

2 结果

2.1 大鼠一般情况

染毒后各组实验动物未出现明显行为和体征改变, 无动物死亡。整个实验期间, 对照组和染毒组动物进食、饮水和粪便基本正常。

2.2 体重变化

各组大鼠在染毒期间体重均呈上升趋势, 而食物利用率则随染毒时间呈下降趋势, 经重复测量方差分析, 仅时间效应有统计学意义, 分组效应以及分组和时间交互效应尚不能认为有统计学意义, 提示 TADB 对实验大鼠的生长发育情况没有明显影响。见表 1。

表 1 TADB 染毒大鼠体重变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

| 分组 | 动物数 | 第 0 天 | 第 7 天 | 第 14 天 | 第 21 天 | 第 28 天 |
|--------|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 对照组 | 10 | 158.05 ± 8.56 | 206.05 ± 26.03 | 244.96 ± 40.97 | 272.72 ± 50.62 | 295.56 ± 57.14 |
| 低剂量染毒组 | 10 | 160.12 ± 10.29 | 203.15 ± 27.00 | 241.99 ± 44.21 | 268.20 ± 57.08 | 290.16 ± 68.16 |
| 中剂量染毒组 | 10 | 162.38 ± 9.43 | 213.32 ± 31.13 | 247.85 ± 49.33 | 274.04 ± 61.17 | 297.02 ± 69.79 |
| 高剂量染毒组 | 10 | 160.52 ± 8.53 | 208.23 ± 31.32 | 241.42 ± 46.97 | 269.64 ± 61.66 | 288.41 ± 69.58 |

2.3 生化指标分析

4 组间 AST、BUN、GLU、LDH、K⁺、离子钙、总钙、pH 的差异有统计学意义, 其余指标与对照组比较, 差异无统计学意义, 见表 2。

收稿日期: 2014-04-02; 修回日期: 2014-07-15

基金项目: 国家“十二五”预研项目 (编号: 004020101)

作者简介: 岳红 (1968—), 女, 高级工程师, 主要从事职业卫生及毒理学研究。

表 2 TADB 染毒大鼠生化指标分析 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

Table with 14 columns: 指标, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值, 指标, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值. Rows include TBIL, TP, ALB, GLB, A/G, ALT, AST, ALP, CHOL, TG, HDL, LDL, VLDL, BUN, Cr, GLU, LDH, K+, Na+, Cl-, Ca2+, TCa, pH, CO2, AG.

注: 与对照组相比, * P < 0.05, ** P < 0.01。

2.4 血液学指标

BAS、PLT、MPV、PCT、PDW 和 ALY (%) 差异有统计学意义, 见表 3。

4 组大鼠间 LYM (%)、EOS (%)、BAS (%)、NEU、

表 3 四组大鼠血液学指标结果分析 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

Table with 14 columns: 指标, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值, 指标, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值. Rows include WBC, LYM(%), MON(%), NEU(%), EOS(%), BAS(%), LYM, MON, NEU, EOS, BAS, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PCT, PDW, ALY(%), LIC(%), ALY, LIC.

注: 与对照组相比, * P < 0.05, ** P < 0.01。

2.5 凝血功能指标

TT 指标在 4 组间差异有统计学意义, 其余指标与对照组比较, 差异无统计学意义, 见表 4。

2.6 脏器系数

各组间肝脏和子宫总体差别有统计学意义, 其余各指标与对照组比较, 差异无统计学意义, 见表 5。

表 4 TADB 染毒大鼠凝血功能结果分析 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

Table with 7 columns: 凝血指标, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值. Rows include RT, INR, APTT, TT.

注: 与对照组相比, * P < 0.05, ** P < 0.01。

表 5 TADB 染毒大鼠脏器系数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table with 14 columns: 脏器, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值, 脏器, 对照组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, F 值, P 值. Rows include 心, 胸腺, 肝, 脾, 肾, 脑, 睾丸, 附睾, 子宫.

注: 与对照组相比, * P < 0.05, ** P < 0.01。睾丸和附睾仅存在于雄性动物, 子宫仅存在于雌性动物, 4 组动物数均为 5 只。

2.7 组织病理学检查

组织病理学检查发现,中、高剂量组肾脏病变主要表现为肾小管细胞肿胀和间质充血水肿,脑病变主要表现为轻度或中度神经元水肿、胶质细胞增生、胶质淤血水肿和炎细胞浸润病变。对照组肾脏和脑组织未见明显病理改变。

3 讨论

本实验室前期实验显示,TADB 大鼠经口 $LD_{50} > 5000$ mg/kg,与文献一致^[2],其急性毒性属微毒物质。本研究结果显示,对照组和实验组在染毒后的体重无明显差异。染毒后各组大鼠未出现明显行为和体征改变,提示 TADB 无明显蓄积作用。脏器系数是反映某一脏器受损的指标,是寻找毒作用靶器官的重要线索之一。本次研究发现,肝脏系数随染毒剂量的增高而降低,而子宫脏器系数随染毒剂量的增高而增高。生化检测结果显示,各组间 AST、BUN、GLU、LDH、 K^+ 、离子钙、总钙、pH、LYM (%)、EOS (%)、BAS (%)、NEU、

BAS、PLT、MPV、PCT、PDW、ALY (%) 和 TT 指标差异显著,且存在一定剂量依赖关系。组织病理学检查发现,TADB 可引起肾和脑组织病变。上述结果提示 TADB 可对大鼠的肝脏、肾脏、脑和血液造成损害。

TADB 作为一种新型化合物,本次研究为综合评价其毒理学效应提供了数据支持。毒理学研究是一个逐步深入的过程,对 TADB 毒性效应及其机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Nielsen A T, Chan M L, Kraeutle C K, et al. Polynitropolyazacaged explosives, Part 7, NWC TP7200 [R]. China Lake: Naval Weapons Center, 1989.
- [2] Robidoux P Y, Sunahara G, Spear P, et al. Effects of dietary administration of CL-20 on Japanese quail *coturnix coturnix japonica* [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2005, 49: 215-222.

过量氟对大鼠骨损伤的影响及硒和维生素 E 干预效果研究

Effect of excessive fluoride on bone damage in experimental rats and antagonistic effect of selenium and vitamin E

李洪波¹, 魏云鹏¹, 吴志伟¹, 王旭²

(1. 沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024; 2. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847)

摘要: 选取 60 只 5~6 周龄的雄性 Wistar 大鼠,随机分为 5 组:对照组、染氟组、维生素 E (VitE) 干预组、硒干预组、VitE + 硒联合干预组。灌胃 12 周后测量各组大鼠血清氟、尿氟含量及血清总碱性磷酸酶 (ALP) 活性,并测量胫骨长度、横径和重量及骨密度 (BMD)。与对照组比较,染氟组大鼠血清氟、尿氟含量和血清 ALT 活性显著增高;全身骨骼和胫骨 BMD 降低;胫骨长度、横径减小,重量减轻。与染氟组比较,单独给予 VitE 干预,大鼠血清氟、尿氟含量和血清 ALT 活性下降。单独硒干预组、VitE + 硒联合干预组大鼠血清氟、尿氟含量和血清 ALP 活性下降;全身骨骼和胫骨 BMD 增高;胫骨长度增长、重量增加。与 VitE 和硒单独干预组相比,VitE + 硒联合干预组上述测定指标改善更为明显。提示 VitE + 硒联合干预对过量氟所致骨损伤有一定的保护作用。

关键词: 氟; 骨损伤; 硒; 维生素 E

中图分类号: R599.9 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2014)06-0433-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.06.014

过量氟摄入可危害牙齿和骨骼,引起骨骼代谢性和病理学改变,最终导致氟骨症。目前对氟中毒的防治尚无特效药物和措施,因此探寻有效的拮抗物质和保护措施已成为当前研究的热点。研究表明,硒和 VitE 对氟骨症的骨损伤有一定的保护作用^[1,2],本研究旨在探讨硒和 VitE 对氟中毒骨损伤的干预效果,探索防治工业性氟病的有效方法。

1 材料与方

收稿日期: 2014-09-10; 修回日期: 2014-10-15

作者简介: 李洪波 (1978—),男,主治医师。

1.1 仪器设备及试剂

氯化钠 (北京化工厂出品),亚硒酸钠 (上海市中港化工贸易有限公司),VitE (上海皓尘生物公司),ALP ELISA 检测试剂盒 (上海研晶生物技术有限公司),骨密度仪 (美国 Hologic 公司),氟离子选择电极 (上海精益医学仪器厂),甘汞电极 (江苏姜堰市华扬水准仪器厂),电子天平 (北京赛多利斯公司)。

1.2 实验动物及分组

60 只体重 100~140 g (平均 120 g) 清洁级雄性 Wistar 大鼠,5~6 周龄,购自辽宁中医药大学实验动物中心 (动物合格证号: 辽实动 2008-0018)。将大鼠随机分为 5 组,每组 12 只,第 1 组为阴性对照组,3 ml 4% 乙醇溶剂灌胃;第 2 组为染氟组,含 100 mg/L F^- 的 3 ml 4% 乙醇溶剂灌胃^[3];第 3 组为 VitE 干预组,用含 100 mg/L F^- 和 50 mg/kg VitE 的 3 ml 4% 乙醇溶剂灌胃^[2];第 4 组为硒干预组,用含 100 mg/L F^- 和 2.0 mg/kg 亚硒酸钠 ($NaSeO_3$) 的 3 ml 4% 乙醇溶剂灌胃^[1];第 5 组为 VitE + 硒干预组,该组大鼠用含 100 mg/L F^- 、VitE 和 $NaSeO_3$ 的 3 ml 4% 乙醇溶剂联合灌胃给药。各组大鼠均自由摄食水,于每日上午固定时间灌胃给药 1 次,实验共进行 12 周。

1.3 动物取材

用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液,后将尿液放至 4 °C 冰箱待测尿氟。采用摘眼球取血法采集血液 3~5 ml,静置 20 min,2 500 r/min 离心 5 min,分离血清于 1.0 ml EP 管中,分组进行标记后于 -80 °C 超低温冰箱中冻存待测。10% 乌拉坦腹腔麻醉后断头处死大鼠,取胫骨,仔细去除附着的肌肉和结缔组织备用。