

预防型抗氟剂 (I 型-1) 急性毒性和致突变性研究

张海谋, 刘克俭, 鲁翠荣, 穆雅笙, 陈荣安

(同济医科大学职业医学研究所, 湖北 武汉 430030)

摘要: 目的 探讨预防型抗氟剂 (I 型-1) 的急性毒性和致突变效应。方法 小鼠灌胃, 计算 LD_{50} ; 小鼠骨髓细胞微核试验; 小鼠精子畸形试验。结果 预防型抗氟剂 (I 型-1) LD_{50} 为 1 814mg/kg; 染毒组 PCE 微核率与阴性对照组无显著差别; 高剂量组精子畸形率显著高于阴性对照组。结论 预防型抗氟剂 (I 型-1) 属低毒类物质, 对小鼠骨髓细胞染色体无损伤效应, 高剂量对生殖细胞可能产生影响。

关键词: 预防型抗氟剂 (I 型-1); 急性毒性试验; 致突变试验

中图分类号: O612.7 文献标识码: A 文章编号: 1002-211X(2000)02-0073-03

Experimental study on the acute toxicity and mutagenesis of a preventive anti-fluoride (I-1)

ZHANG Hai-mou, LIU Ke-jian, LU Cui-rong, MU Ya-sheng, CHEN Rong-an

(Institute of Occupational Medicine, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Objective** To research the acute toxicity and mutagenesis of a preventive anti-fluoride agent (I-1). **Method** Calculate the LD_{50} P. O. of preventive anti-fluoride (I-1) in mice, make the micronucleus test of mice's marrow cell and deformity test of mice's sperm. **Result** LD_{50} of preventive anti-fluoride (I-1) P. O. was 1 814mg/kg, there was no significant difference in micronucleus rate between preventive anti-fluoride (I-1) group and control group, but the deformity rate of sperm in highdose preventive anti-fluoride (I-1) group was significantly higher than that of control group. **Conclusions** preventive anti-fluoride (I-1) belong to a low toxicity compound, it wasn't harmful to chromosome of mice's marrow cells, but reproductive cell might be affected by high-dose preventive anti-fluoride (I-1).

Key words: preventive anti-fluoride (I-1); Acute toxicity test; Mutagenesis test

我国的氟病患者 (包括地方性和工业性氟病) 人数众多, 因此迫切需要研制有效的抗氟剂加以防治。预防性抗氟剂 (I 型-1) [PAA (I-1)] 是在动物实验基础上配置而成的, Anbin Huang 已探讨其预防动物氟中毒的效果^[1]。为了以后应用于现场接氟人群, 拟进行该制剂的毒性鉴定。本研究包括前期的急性毒性实验和致突变实验。

1 材料与方法

1.1 PAA (I-1) 的配置

根据药效学实验^[1], 为达到最好的抗氟效果, 抗氟剂中 B^{3+} 和 Zn^{2+} 比例为 1:1, 即 $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 和 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 的质量比为 2:1。按照该质量比将两者混溶于蒸馏水, 用稀硫酸调节 pH 至 6.0, 混合液呈透明无色, 即为 PAA (I-1) 应用液。

1.2 急性毒性实验

1.2.1 预实验 选取成年健康昆明种小鼠 40 只, 体

质量 18~22g, 雌雄各半 (同济医科大学实验动物中心提供, 以下小鼠来源同此)。

查阅文献 [2], 硼砂、硫酸锌 LD_{50} 分别为 2 000 mg/kg、1 891mg/kg (小鼠经口)。假设混合后硼锌间互为独立作用, 并根据它们在抗氟剂中的比例, 则 PAA (I-1) 的 LD_{50} 预期值为 1 962mg/kg。以该预期值为中间剂量, 按剂量对数差 0.1 上下各推 4 组。经口染毒 (灌胃)。结果显示 PAA (I-1) 对小鼠的绝对致死量和最大耐受量分别为 3 350mg/kg 和 1 060mg/kg。

1.2.2 正式实验 实验动物及染毒途径同预实验。

70 只小鼠被随机分为 7 个剂量组, 每组 10 只, 雌雄各半。根据抗氟剂的绝对致死量和最大耐受量, 组距 = $(\lg 3\,350 - \lg 1\,060) / (7 - 1) = 0.083$; 具体剂量分别为 3 350、2 766、2 283、1 885、1 556、1 284、1 060mg/kg。

观察时间为 14 天, 观察指标包括中毒症状、死亡时间与死亡数、实验小鼠 (特别是死亡小鼠) 的病理学检查。

1.3 致突变实验

1.3.1 小鼠骨髓细胞微核实验 选用成年健康昆明

收稿日期: 1999-08-16; 修回日期: 1999-10-05

基金项目: 国家“九五”科技攻关项目资助 (96-906-04-02)

作者简介: 张海谋 (1973—), 男, 武汉人, 硕士, 主要从事工业

种小鼠 40 只, 体质量 20~25 克, 随机分成 5 组, 每组 8 只, 雌雄各半。

根据受试物的 LD₅₀, 低、中、高染毒组分别按 200、400、800mg/kg 剂量经口(灌胃)给予 PAA (I-1); 阳性对照组用环磷酰胺溶液(50mg/kg)腹腔注射; 30 小时后加强 1 次。阴性对照组自由饮食。第 2 次染毒 18 小时后颈椎脱臼处死小鼠, 取两侧股骨, 冲洗骨髓, 离心(1 000r/min, 5min), 涂片、固定、染色、镜检, 每片计数 800 个嗜多染红细胞(PCE), 计算其微核发生率。

1.3.2 精子畸形实验 实验动物、染毒剂量及分组同微核实验。

染毒组经口(灌胃)给予 PAA (I-1), 24 小时 1 次, 连续 5 次; 阳性对照组用环磷酰胺溶液(50mg/kg)腹腔注射, 24 小时 1 次, 连续 2 次; 阴性对照组自由饮食。观察时间为 30 天。

颈椎脱臼处死小鼠, 分离两只附睾, 剪碎过滤, 离心滤液(1 000r/min, 5min), 涂片、固定、染色、镜检, 每组计数 1 000 个精子, 计算其精子畸形率。

2 结果

2.1 急性毒性实验

2.1.1 中毒症状 各组小鼠灌胃后, 出现程度不等的抑制状态, 表现为少动、闭眼、抱团、萎靡不振等。其中低剂量组 48 小时后逐渐恢复, 随着剂量增加, 小鼠表现为呼吸急促、大小便失禁、双后肢无力, 瘫痪直至死亡。

2.1.2 死亡时间与死亡数 48 小时内各组陆续有小鼠死亡(随着剂量增加, 出现首只死亡小鼠的时间逐渐提前), 48 小时后无继续死亡小鼠。

2.1.3 PAA (I-1) LD₅₀及其 95%可信限的计算(寇氏法^[3]) 见表 1。

LD₅₀=1 814mg/kg
LD₅₀95%可信限为1 559~2 110mg/kg

表 1 PAA (I-1) LD₅₀ 计算表

剂量 (mg/kg)	剂量对数 (X)	受试 动物数	死亡 动物数	死亡率	P _i +P _{i+1}	P _i (1-P _i)
1 060	3. 0253	10	0	0. 0	0. 2	0. 00
1 284	3. 1086	10	2	0. 2	0. 6	0. 16
1 556	3. 1919	10	4	0. 4	0. 9	0. 24
1 885	3. 2752	10	5	0. 5	1. 3	0. 25
2 283	3. 3585	10	8	0. 8	1. 6	0. 16
2 766	3. 4418	10	8	0. 8	1. 8	0. 16

3 350	3. 5251	10	10	1. 0	/	0. 00
-------	---------	----	----	------	---	-------

2.1.4 病理解剖观察(肉眼) 死亡小鼠一半出现肺瘀血, 少数出现肝瘀血和肾瘀血; 多数小鼠存在肠胀气; 其他主要脏器未见明显异常。14 天后处死未死亡小鼠, 主要脏器未见明显异常。

2.2 致突变实验

2.2.1 小鼠骨髓细胞微核实验 从表 2 可见, 各染毒组 PCE 微核率和阴性对照组无显著差别。

表 2 各组小鼠骨髓 PCE 微核率

组 别	PCE (个)	微核 (个)	PCE 微核率 (%)
阴性对照组	6 400	4	0. 625
低剂量组	6 400	4	0. 625
中剂量组	6 400	5	0. 781
高剂量组	6 400	6	0. 938
阳性对照组	6 400	27	4. 219 *

* 与其他组比较 P<0. 05.

2.2.2 精子畸形实验 从表 3 可见, 高剂量组精子畸形率显著高于阴性对照组, 而中、低剂量组和阴性对照组间无显著差别。

表 3 各组小鼠精子畸形率

组 别	精子总数 (个)	畸形精子数 (个)	精子畸形率 (%)
阴性对照组	1 000	17	17
低剂量组	1 000	15	15
中剂量组	1 000	25	25
高剂量组	1 000	41	41 *
阳性对照组	1 000	58	58 *

* 与阴性对照组比较 P<0. 01.

3 讨论

本试验所得 PAA (I-1) LD₅₀ 为 1 814mg/kg, 根据我国外来化合物急性毒性分级标准^[3], 属低毒类。该 LD₅₀ 值可为后面进行的致突变试验和慢性毒性试验提供染毒剂量水平的设计依据。根据联合作用系数法^[3], K=1 962/1 814=1. 1, 故硼砂和硫酸锌之间的联合作用类型为相加作用。文献报道硫酸锌对机体的急性毒性作用主要表现为胃肠道粘膜刺激作用^[4], 而急性硼中毒以神经抑制为主^[5], 本研究显示 PAA (I-

1) 兼具两者的毒性特点。从病理结果可知 PAA (I-1) 急性毒作用的靶器官主要是肺、肝、肾等。

目前尚无人报道硼锌混合物的致突变效应, 但其单独作用的研究早已开展。李宁^[4]报道小鼠经口染毒硫酸锌 58.25mg/kg 后, 骨髓细胞及精原细胞染色体畸变率均增高。张德荣^[9]认为锌化物可诱发体外人淋巴细胞染色体畸变。给小鼠注入硼砂 117×10^{-5} , 出现生殖障碍^[9]。给狗食含硼 1 170 μ g/g 的饲料, 38 周后出现睾丸退化、精子生长停止等状况^[7]。Anbin^[1]报道连续 6 个月给予大鼠硼锌混合物 (10mg B³⁺ / (kg·d) + 10mg Zn²⁺ / (kg·d)), 具有明显拮抗骨氟蓄积的作用。本研究显示 200~800mg/kg PAA (I-1) 对骨髓细胞染色体无损伤效应; 低、中剂量 PAA (I-1) 对精子畸形率无影响, 高剂量 (略低于最大耐受量) 组精子畸形率明显高于阴性对照组, 因此现场研究中 PAA (I-1) 的剂量问题有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Anbin Huang. Effects of borax and zinc administration on fluoride concentration in rat bone determined by abrasive micro-sampling technique [J]. Aichi-Gakuin Dent Sci, 1998, 11: 1~9.
- [2] 国家环境保护局有毒药品管理办公室、化工部北京化工研究院环境保护研究所. 化学品毒性、法规: 环境数据手册 [M]. 第一版. 北京: 中国科学出版社, 1992.
- [3] 刘毓谷. 卫生毒理学基础 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1997.
- [4] 李宁, 董辛尧, 董进, 等. 锌化物的毒性研究 [J]. 中国公共卫生学报, 1991, 10 (5): 229.
- [5] Robert J. Weir J, Russells F. et al. Toxicologic studies on borax and boric acid. Toxicology and Applied Pharmacology, 1972, 23: 351~364.
- [6] 张德荣. 金属毒理学手册 [M]. 第一版. 成都: 四川科技出版社, 1985. 532.
- [7] 朱莲珍. 人和动物的微量元素营养 [M]. 第一版. 青岛: 青岛出版社, 1994. 721.

急性 CO 中毒迟发脑病 1 例报告

韩 萍¹, 林丽明²

(1. 锦州市职业病防治研究所 121013; 2. 锦州市中心医院 121004)

最近我所收治 1 例急性 CO 中毒迟发脑病患者, 现报告如下。

1 病例介绍

陆某, 男, 52 岁, 某海港集团公司临时工 (锅炉工)。该患者工作的锅炉房面积狭小, 仅约 8~9 平方米, 室内有一面窗, 但常年不开, 距锅炉不足 1 米处放置一张床, 工人食宿、值班均在锅炉房内。室内无机械通风, 自然通风不良。

1998 年 3 月 27 日晚, 该患值夜班, 约 10 点钟压炉后关好门窗便上床睡觉, 第 2 天早晨约 4 时 30 分起来通炉, 觉头晕、头疼、恶心、无力, 瘫倒在床上, 直到早晨 8 时来人接班才发现其已昏迷, 大小便失禁。即刻送往当地医院抢救治疗, 经吸氧 (鼻导管给氧), 糖皮质激素、能量合剂等治疗, 约 5 个小时后意识转清, 醒后能正确回答问题, 活动正常, 除略觉头晕外, 无其他不适。第 2 天患者及家属要求出院, 经医生同意办理出院手续。出院后未继续用药, 并于 6 天后到附近一工厂打工。出院半个月后患者出现行为异常、发呆、问话不答、记忆丧失、大小便失禁等表现。后经头颅 CT 检查发现脑白质变性, 确定与急性 CO 中毒有关。于脑病发生后约一个半月才由单位送入我所住院治疗。

入院查体: T 36.9℃, P 88 次/分, R 21 次/分, BP 15/9kPa; 走路不稳, 呈痴呆状态, 反应迟钝, 问话不语, 远近记

忆均丧失, 计算力、理解力、定向力均差, 对家人不认识。双侧瞳孔等大正圆, 对光反射存在, 心肺无异常; 腹软、肝脾未触及; 肌力、肌张力正常, 双侧膝反射活跃, 双侧巴氏征 (±)。头颅 CT 示双侧侧脑室前、后角周围及半卵圆中心区脑髓质密度减低。血、尿常规及肝功能正常。既往身体健康。

诊断: 急性 CO 中毒迟发脑病。经高压氧治疗 2 个月, 短疗程应用糖皮质激素、脑细胞活化剂, 改善脑微循环, 给予血管扩张剂及 B 族维生素, 并加强心理治疗及心理护理。通过上述治疗约 2 个月, 记忆力基本恢复, 大小便能自理, 回答问题较准确, 可以进行简单计算, 但定向差 (包括方向、地点)。住院 3 个月后复查头颅 CT 正常, 脑电图正常。

2 讨论

关于急性 CO 中毒迟发脑病报道较多, 但锅炉房内发生急性 CO 中毒并不多见。通过此病例的介绍, 应吸取以下教训: (1) 值班室应与锅炉房分开, 锅炉房应有足够的面积, 还应有良好的通风, 以避免中毒的发生; (2) 对急性重度 CO 中毒, 应给予系统、彻底治疗, 不宜停药过早; (3) 昏迷苏醒后, 应强调充分休息, 不应过早活动, 更不应从事体力劳动, 以避免机体耗氧量增加, 大脑进一步缺氧; (4) 一旦发生迟发脑病, 应及时给予相应的处理和救治, 切勿拖延; (5) 应加强对基层医务人员卫生工作的宣传和业务培训。