

活性发生显著变化并引起精子顶体酶活性以及精子顶体反应率显著下降^[8-9]。综合分析提示,高剂量二氯苯胺进入机体后可能通过影响机体免疫功能以及抑制睾丸中重要酶的活性,影响睾丸以及附睾的结构,最终降低精子的生成和质量。

参考文献:

[1] Giacomazzi S, Cochet N. Environmental impact of diuron transformation: a review [J]. *Chemosphere*, 2004, 56 (11): 1021-1032.
[2] Khan M F, Boor P J, Abock N W, et al. Oxidative stress in the splenotoxicity of aniline [J]. *Fundam Appl Toxicol*, 1997, 35 (1): 22-30.
[3] Guilhemino L, Soares A M, Carvalho A P, et al. Acute effects of 3,4-dichloroaniline on blood of male Wistar rats [J]. *Chemosphere*, 1998, 37 (4): 619-632.
[4] Hong S K, Anestis D K, Ball J G, et al. In vitro nephrotoxicity induced by chlorinated benzenes in renal cortical slices from Fischer 344

rats [J]. *Toxicology Letters*, 2002, 129 (1-2): 133-141.
[5] Avilova G G, Tkatcheva T A, Kapukhina E A, et al. Glucuronides: a possible urinary marker of nephrotoxicity and an indicator of exposure to 2,6-dichloroaniline in rats [J]. *Toxicology Letters*, 1998, 95 (Supplement 1): 189.
[6] 张波. 二氯苯胺对小鼠免疫功能的影响 [J]. *毒理学杂志*, 2006, 20 (6): 394-396.
[7] 张波. 二氯苯胺对小鼠睾丸毒作用酶学研究 [J]. *中国工业医学杂志*, 2006, 19 (6): 365-366.
[8] 卢冉, 张波, 张鑫等. 3,4-二氯苯胺对雄性大鼠顶体酶活性和顶体反应的影响 [J]. *中国工业医学杂志*, 2008, 21 (2): 99-101.
[9] Zhang B, Lin S. Effect of 3,4-dichloroaniline on marker testicular enzymes of rats [J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2009, 22: 40-43.

口服活性炭对溴敌隆急性中毒的疗效研究

Study of therapeutic effect of oral activated charcoal on acute bromadiolone poisoning

王明良¹, 张宏顺², 孟聪申², 谢立璟², 孙承业^{2*}

WANG Ming-liang¹, ZHANG Hong-shun², MENG Cong-shen², XIE Li-jing², SUN Cheng-ye^{2*}

(1 北京市石景山区疾病预防控制中心, 北京 100043; 2 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050)

摘要: 为探索口服活性炭对溴敌隆急性中毒的治疗效果, 将家兔随机分为 4 组, 给予相应处理后观察其死亡情况, 测定血浆溴敌隆含量、PT 和 APTT。结果发现活性炭可显著降低染毒动物血中溴敌隆浓度, 但不能明显改善其中毒症状和死亡情况。

关键词: 溴敌隆; 活性炭; 中毒; 治疗

中图分类号: R595.4 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2010)04-0281-03

活性炭因其具有对多种有毒物质较好的吸附效能、使用方便、无明显副作用、可院前给药等优点^[1-3], 被作为胃肠道毒物清除的主要措施之一。国际化学品安全组织 (IPCS) 针对溴敌隆急性中毒制作的《健康与安全指南》(HSG) 建议, 中毒早期应给予活性炭治疗^[3], 但缺乏相关研究资料的支持。为此, 本课题组通过动物实验, 研究活性炭对溴敌隆急性中毒的疗效。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

溴敌隆母粉, 纯度 98%, 天津市天庆化工有限公司提供, 取 0.2 g 与 DMF 和曲拉通-100 各 2 ml 充分溶解后加蒸馏水稀释成 0.25 g/L 浓度, 染毒备用; 溴敌隆标准品, 纯度 98.5%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司生产, 供制定色谱标准曲线用; GH101 型活性炭粉末, 北京光华晶科活性炭有限公司生

产, 灌胃时加水调制成 10% 悬浊液; 枸橼酸钠, 分析纯, 北京化学试剂公司生产, 配制成 109 mmol/L 水溶液; 乙腈, HPLC 色谱纯, 美国 FISHER SCIENTIFIC 公司生产; PT/APTT 试剂盒 (液体) 及质控血浆, 德国美创公司生产。

雄性家兔, 体重 2.0~2.5 kg, 北京维通利华实验动物技术有限公司提供 [许可证编号: SCXK (京) 2005-0002], 实验前在中国医学科学院药物研究所一级动物房常规饲养 3 d 以适应实验室环境, 动物可自由饮水和进食, 染毒前 24 h 禁食、禁水, 所有动物待染毒和给活性炭 (或清水) 结束后统一恢复饮水和进食。低速台式离心机 DI5-2 (北京时代北利离心机有限公司生产); Coatron M2 双通道半自动凝血仪 (德国德高 TECO 公司生产)。

1.2 溴敌隆染毒剂量的确定

通过预实验确定溴敌隆染毒剂量为 0.5 mg/kg。在该剂量下, 家兔染毒后 24 h 开始出现凝血功能障碍, 5~10 d 出现大量死亡。通过测定家兔血中溴敌隆浓度和凝血功能 (PT 和 APTT), 观察其死亡情况。

1.3 方法与步骤

将 20 只家兔随机分成 4 组, A、B、C 组均给予溴敌隆灌胃染毒 (0.5 mg/kg), 每组 6 只; D 组 2 只, 给予 0.5% 的 DMF 曲拉通水溶液灌胃 (2 ml/kg) 作为溶剂对照组。A 组为早期治疗组, 家兔染毒 15 min 后给予活性炭灌胃治疗; B 组为延迟治疗组, 家兔染毒 2.5 h 后给予活性炭灌胃治疗; C 组为未治疗组, 家兔染毒 2.5 h 后给予等量清水灌胃。

所有家兔分别于染毒前 0.5 h、染毒后 3 d 和 16 d 经耳中央动脉采血测定凝血酶原时间 (PT) 和部分凝血活酶时间 (APTT), 染毒后 24 h 经耳中央动脉采血测定血中溴敌隆浓

收稿日期: 2010-03-10

基金项目: 科技部卫生行业科研专项突发化学中毒事件第一现场处置关键技术研究 (200802020)

作者简介: 王明良 (1982-) 女, 硕士, 医师, 从事职业卫生工作。

* 通讯作者, 研究员, E-mail: pccsun@163.com

度。同时密切观察家兔中毒表现，准确记录其死亡时间。

1.4 血中溴敌隆检测

肝素抗凝血离心 10 min (最大离心力: 1 190× g), 取 1 ml 血浆置于 5 ml 玻璃管中, 加入 2 ml 乙腈, 漩涡振荡器混匀后, 再次离心 10 min 取上清液测定溴敌隆浓度。采用高效液相色谱法测定。色谱条件: 固定相为 C₁₈, Inerstil ODS-3 色谱柱 (ODS dp 5 μm×4.6 mm×25 cm); 流动相为甲醇-水-醋酸 (V:V=94:2.5:0.08), 996 PDA 检测器, 检测波长为 254 nm, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为室温; 进样体积为 10 μl。

1.5 PT、APTT 检测

109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝血 (枸橼酸钠与全血体积比为 1:9) 离心 10 min (2 073× g), 取血浆立即测定。

1.6 统计学分析

表 1 溴敌隆染毒家兔 PT、APTT 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	PT		APTT	
		染毒前 0.5 h	染毒后 3 d	染毒前 0.5 h	染毒后 3 d
A 组	6	14.64±1.74	145.27±99.22 [*]	18.87±6.07	39.15±9.39 [*]
B 组	6	15.87±0.69	152.82±82.23 [*]	19.02±4.08	41.18±9.77 [*]
C 组	6	15.37±2.12	92.72±8.49	17.40±5.28	36.45±7.03

注: 与 C 组比较, ^{*} P>0.05

2.2 家兔血中溴敌隆浓度

染毒后 24 h 采血测定家兔血浆溴敌隆浓度, 经统计检验发现, A 组与 C 组、B 组与 C 组的血中溴敌隆浓度差异均有统计学意义 (单侧 P<0.05), A 组与 B 组差异无统计学意义 (双侧 P>0.05), 见表 2。D 组家兔血中没有测出溴敌隆。

表 2 家兔血中溴敌隆浓度 ($\bar{x} \pm s$) μg/ml

分组	例数	溴敌隆浓度
A 组	6	0.11±0.08 ^{*#}
B 组	6	0.13±0.09 [*]
C 组	6	0.27±0.18

注: 与 C 组比较, ^{*} 单侧 P<0.05 与 B 组比较, [#] 双侧 P>0.05

2.3 家兔死亡情况

A 组、B 组家兔于染毒后 5~14 d 分别死亡 3 只、5 只, C 组家兔于染毒后 8~11 d 死亡 2 只。A 组与 C 组、B 组与 C 组、A 组与 B 组家兔的死亡率经检验差异均无统计学意义 (P>0.05)。

3 讨论

本研究动物实验部分通过预实验确定了 3 个采血时间点测定家兔 PT 和 APTT, 其目的在于分别反映染毒家兔外源性和内源性凝血功能的基本变化趋势: 染毒前 0.5 h 测定 PT 和 APTT 作为正常值, 染毒后 3 d 部分家兔 PT 达到凝血仪检测上限, 染毒后 16 d 家兔凝血功能基本恢复正常, 其后家兔不再死亡, 作为实验终点。实验结果发现, A 组与 C 组、B 组与 C 组家兔染毒后 3 d 其 PT 和 APTT 均值差异均没有统计学意义 (P>0.05), 提示活性炭的应用不能显著改善溴敌隆染毒家兔的凝血功能障碍。另外, 我们发现所有染毒家兔均出现了 PT 和 APTT 延长, 但 APTT 延长幅度较小, 如 A 组家兔染毒后 3 d 其 PT 均值为 145.27 s, APTT 为 39.15 s, 提示抗凝血杀鼠剂中毒可以同时干扰外源性和内源性凝血途径, 但对后者影响

用 SPSS 13.0 进行统计学处理, 计量资料用均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。计数资料采用 Fisher 确切概率法, PT、APTT 和血中溴敌隆浓度采用单因素方差分析, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 家兔 PT 和 APTT 变化情况

本研究测得家兔 PT 和 APTT 正常值分别为 (15.21±1.61) s 和 (18.31±4.41) s。D 组家兔各采血点测得 PT 和 APTT 均不出现延长, 而 A、B、C 各组家兔染毒后 3 d 其 PT 和 APTT 均延长, 到染毒后 16 d 存活家兔凝血功能均恢复正常。

对染毒后 3 d 家兔的 PT 及 APTT 进行单因素方差分析, 两两比较结果发现, A 组与 C 组、B 组与 C 组差异无统计学意义 (P>0.05), 见表 1。

较小。有关资料也显示^[4], 抗凝血杀鼠剂导致的 APTT 延长幅度较 PT 小 (PT 延长 2~6 倍, APTT 延长 2~4 倍)。

本研究预实验过程中曾测定了溴敌隆中毒剂量 (0.2 mg/kg) 染毒家兔的凝血功能, 结果发现家兔染毒后 4 d 的 PT 也达到了仪器检测上限 (+++), 但动物最终全部存活, 14 d 后解剖未见明显的肺出血和其他脏器出血。这说明 PT 作为反映外源性凝血功能障碍的指标非常灵敏, 但在溴敌隆高剂量染毒的动物实验中, 其值与动物的染毒剂量和死亡率相关性差, 提示其作为反映活性炭治疗效果的指标不是很理想。受条件所限, 本研究仍采用 PT 和 APTT 反映家兔凝血功能的变化, 建议将来相关研究可以降低溴敌隆染毒剂量, 使得 PT 延长程度在可测定范围内。

溴敌隆主要以原形储存于肝脏中, 其浓度为血液的 14~46 倍, 并以原形通过粪便排泄^[5]。不过, 体内的化学物还可以通过肝肠循环和肠壁分泌 (血液中的化学物直接通过血管壁分泌回到肠腔) 两种途径回到肠腔而被重吸收^[6]。本研究发现, 尽管活性炭的应用可以降低染毒家兔血中溴敌隆浓度, 但并不能显著改善家兔的凝血功能和死亡情况, 原因有可能是血中溴敌隆通过肝肠循环或肠壁分泌返回肠腔, 而活性炭一次给药无法有效吸附重返肠腔的毒物, 从而造成毒物的重吸收和症状的加重。Tomimaru A 等^[7]研究发现, 不易与血清蛋白结合以及分布容积小的毒物比较容易通过血管壁返回肠腔。由于溴敌隆为高脂溶性化学物, 分布容积大^[8], 也可与血清蛋白结合^[9], 故很难直接通过血管壁返回肠腔, 排除了肠壁分泌的途径。溴敌隆有可能通过肝肠循环回到肠腔, 建议将来开展相关研究探索溴敌隆是否存在肝肠循环。另外, 还可以采用多次给活性炭的方式, 同时监测染毒动物粪便中溴敌隆的浓度, 探索活性炭多次给药能否有效吸附肠腔中的溴敌隆。

参考文献:

[1] Chyka P A, Seeger D, Kienzelok E P, et al. Position paper: Single-dose ac-

- tivated charcoal [J]. Clin Toxicol (Phila), 2005 43 (2): 61-87
- [2] Thakore S, Murphy N. The potential role of prehospital administration of activated charcoal [J]. Emerg Med J 2002 19: 63-65
- [3] International programme on chemical safety Bromadiolone health and safety guide [DB]. <http://www.inchem.org/documents/hse/hse/hse094.htm> 2010-01-05.
- [4] Charles T Eason, Mark Wickstom. Venebrate pesticide toxicology manual (Poisons) [DB]. www.doc.govt.nz/upload/documents/science-and-technical/docs23b.pdf 2010-01-05
- [5] The Thomson Corporation bromadiolone hazard text [DB]. <http://csj.micromedex.com/DATA/TM/TM848.HIM?Top=Yes&> [DB]. 2010-01-05

- [6] Robert W. Derlet M D, Albenson T E, et al. Activated Charcoal Past Present and Future [J]. West J Med 1986 145(4): 493-496
- [7] Tomimaru A, Arimori K, Inotsume N, et al. Effect of activated charcoal and atropine on absorption and/or exsorption of organophosphorus compounds in rats [J]. J Pharm Pharmacol 1996 48: 351-356
- [8] 王迎, 杨仁池, 刘永泽, 等. 抗凝血杀鼠药中毒九例临床观察 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006 24 (6): 379
- [9] Deepa S, Mishra A K. Fluorescence spectroscopic study of serum albumin-bromadiolone interaction: fluorimetric determination of bromadiolone [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2005 38: 556-563

慢性氟中毒大鼠肾脏总抗氧化能力与一氧化氮水平的变化

The changes of total antioxidant capacity and nitric oxide in kidney of rat with fluorosis

孙玉敏, 陈树君, 刘秀丽, 常丽华

SUN Yum-in, CHEN Shu-jun, LIU Xi-li, CHANG Li-hua

(沧州医学高等专科学校医学系内科教研室, 河北 沧州 061001)

摘要: Wistar大鼠分为对照组、低氟组、高氟组。与对照组比较, 染氟组 NO、NOS和 T-AOC均明显降低; 与低氟组比较, 高氟组 T-AOC降低, NO增加, NOS无明显变化。提示氟能使结构型 NOS减少, 从而使 NO含量和 T-AOC降低, 高氟致 T-AOC进一步降低。

关键词: 大鼠; 氟; 一氧化氮; 脂质过氧化

中图分类号: R994.6 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2010)04-0283-02

氟化物是生物圈的自然成分, 氟是地壳中较为丰富的元素, 广泛用于工业制造和医药行业。过量氟可致氟骨症和氟斑牙, 而氟的肾毒性却鲜为人知。有研究认为, 氟中毒大鼠肾脏内氧化系统与抗氧化系统失衡, 氧化应激引起的氧化损伤作用可能是氟致大鼠肾毒性的重要原因之一^[1]。因此, 探讨抗过氧化物物质对氟中毒的影响日益受到重视。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

TU-1800型紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); 37℃恒温水浴锅 (上海一恒科技有限公司); TDL-40B型台式离心机 (北京医用离心机厂生产)。氟化钠 (分析纯, 天津市化学试剂三厂); 冰醋酸 (分析纯, 天津市化学试剂三厂); 总抗氧化能力 (T-AOC)、一氧化氮合酶 (NOS)、一氧化氮 (NO) 测试盒及考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验动物分组与处理

选用健康 2月龄 Wistar雄性大鼠 24只, 体重 180~200 g, 按体重随机分为对照组、低氟组、高氟组, 每组 8只。大鼠

在相同环境中适应性喂养 3 d后, 对照组自由饮用自来水, 低氟组饮用含 100 mg/L氟化钠、高氟组饮用含 200 mg/L氟化钠的自来水。所有大鼠喂以低营养饲料, 成分为面粉 25%、麸皮 20%、玉米粉 52%、食盐 1%、酵母 1%、骨粉 1%, 喂养时间 6个月。

1.3 方法与指标

染毒期间, 每月测定各组大鼠体重。染毒结束后, 各组大鼠均断头处死, 常规解剖检查。取出两侧肾脏, 用生理盐水洗 2~3次, 除去血液, 剥掉表面的结缔组织和脂肪, 称重, 计算肾脏脏器系数。然后将肾脏剪成 0.1 g的小块, 锡箔纸包裹分装, 放入 -40℃的低温冰箱冷冻保存。

于测试前取出肾组织小块, 置于盛放少许液氮的研钵中研碎。然后, 迅速转移至盛放生理盐水的玻璃匀浆器中, 按质量: 体积为 1:9的比例用生理盐水在冰浴下制成匀浆, 以 3 000 r/min离心 10 min (离心半径为 12.5 cm) 后取上清液。采用比色法分别测定各组大鼠肾脏中 T-AOC和 NOS活力, 采用硝酸还原酶法测定 NO的含量。

1.4 统计学分析

结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 1.5 统计软件包, 多个样本均数比较用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 及两两比较 t 检验, 以 $P < 0.05$ 作为判断差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 染毒期间大鼠每月的体重

染氟 6个月期间, 各组大鼠体重逐渐增加, 但各组间比较, 差异均无统计学意义。

2.2 大鼠染毒后的肾脏重量、肾脏系数

与对照组比较, 低氟组和高氟组大鼠肾脏重量及肾脏系数均增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与低氟组比较, 高氟组大鼠肾脏重量及肾脏系数无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

收稿日期: 2009-12-24; 修回日期: 2010-03-11

作者简介: 孙玉敏 (1975-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向: 内科临床与教学科研工作。