

1, 1-二氨基-2, 2-二硝基乙烯对小鼠精原细胞染色体畸变的影响

Effect of 1, 1-diamino-2, 2-dinitroethylene (FOX-7) on chromosome aberration of spermatogenic cells in mice

高永超¹, 王鸿¹, 孙超², 刘志永¹, 岳红¹, 夏洁芳¹, 牛浩¹, 高俊宏¹

(1. 兵器工业卫生研究所生物效应与毒理研究室, 陕西 西安 710065; 2. 第四军医大学第一附属医院妇产科生殖医学中心, 陕西 西安 710000)

摘要: 为评价 1, 1-二氨基-2, 2-二硝基乙烯 (FOX-7) 对小鼠精原细胞染色体畸变的影响, 以 348.22 mg/kg、139.29 mg/kg、69.64 mg/kg 剂量染毒小鼠, 同时设阴性对照组 (4% 淀粉溶液) 和阳性对照组 (40 mg/kg 的环磷酰胺), 制备小鼠睾丸精原细胞染色体标本, 观察染色体畸变类型和畸变率。结果显示阳性对照组、高剂量染毒组小鼠睾丸精原细胞染色体畸变率显著高于对照组 ($P < 0.05$), 提示高剂量的 FOX-7 可能会引起小鼠精原细胞染色体畸变。

关键词: 1, 1-二氨基-2, 2-二硝基乙烯 (FOX-7); 精原细胞; 染色体畸变

中图分类号: R994.3 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2017)02-0117-02

DOI: 10.13631/j.cnki.zgggxyx.2017.02.012

1, 1-二氨基-2, 2-二硝基乙烯 (FOX-7) 为第三代新型不敏感含能材料的代表之一, 于 1998 年首次合成^[1]。FOX-7 具有较高的热性能和反应性能, 在火炸药、固体推进剂以及发射药领域具有广阔的应用前景。人体摄入 FOX-7 后, 在胃酸作用下体内会分解产生多种 FOX-7 的衍生物, 其毒性数据还未完全了解^[2]。前期研究结果显示^[3], FOX-7 对大鼠和小鼠急性经口 LD₅₀ 分别为 995.63 mg/kg 和 696.44 mg/kg。亚急性经口毒性结果表明, 140 mg/kg FOX-7 染毒组雄性大鼠睾丸体积缩小, 病理组织学检查发现睾丸曲细精管萎缩, 可见 FOX-7 对睾丸有一定的损伤作用^[4]。本研究旨在探讨 FOX-7 对小鼠睾丸精原细胞染色体畸变的影响, 为其生产过程中的安全性评价提供必要的科学依据。

1 材料与方法

选择健康 SPF 级雄性昆明小鼠 60 只, 7~12 周龄, 体重 (30±5) g, 由西安交通大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(陕)2012—006。饲养于 SPF 级动物房内鼠笼饲养系统 (IVC), 动物房合格证号: SYXK(陕)2016—005, 温度 (23±3)℃, 相对湿度 55%~65%, 12 h 明暗交替, 灭菌全价营养颗粒饲料喂食, 自由摄食、饮水。

适应性饲养 1 周后, 染毒前停食 12 h, 不限制饮水。依据本实验室前期小鼠急性经口毒性试验结果 (FOX-7 的 LD₅₀

为 696.44 mg/kg), 将 FOX-7 (纯度 98%, 西安近代化学研究所) 以 4% 淀粉溶液配制成 6.96、13.93、34.82 g/L 的 FOX-7 溶液进行后续实验。将小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 3 个染毒剂量组分别为 348.22 mg/kg、139.29 mg/kg、69.64 mg/kg, 其中高剂量组分 A、B 两个亚组, A 组于末次染毒后 24 h 处死取材, B 组为末次染毒后 48 h 处死取材, 另设阴性对照组 (4% 淀粉溶液) 和阳性对照组 (环磷酰胺 40 mg/kg)。采用间隔 24 h 染毒 2 次, 于末次染毒后 24 h 处死动物。处死前 3 h 腹腔注射秋水仙素 5 mg/kg。取双侧睾丸, 剥除被膜, 分离曲细精管至 10 ml 离心管, 经低渗、固定、离心、软化, 制备细胞悬液, Giemsa 染色 10 min。每只动物观察 100 个分散良好的中期分裂相细胞, 即每个剂量组观察 1 000 个细胞, 镜检记录染色体畸变细胞数和畸变类型。

采用 SPSS 13.0 软件进行方差分析和 LSD 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

染毒后, 阳性对照组和高剂量染毒组小鼠出现不同程度的精神萎靡、消瘦, 进食量和活动量减少, 由于 B 组处死时间较 A 组晚 24 h, 因此消瘦情况较 A 组明显, 原因可能为高剂量 FOX-7 对小鼠有一定的蓄积毒性作用。与溶剂对照组比较, 染毒后 FOX-7 高剂量 B 组小鼠体重降低 9.97%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 FOX-7 染毒对小鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s$) g

组别	剂量 (mg/kg)	动物数	染毒前	染毒后
溶剂对照组	0	10	29.19±2.97	32.50±2.63
低剂量染毒组	69.64	10	28.23±3.56	30.95±3.74
中剂量染毒组	139.29	10	30.29±2.61	32.11±2.63
高剂量染毒	A 组	10	31.61±1.76	32.42±3.32
	B 组	10	28.89±3.07	29.26±3.61*
阳性对照组	40	10	30.01±3.27	30.59±2.07*

注: *, 与溶剂对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 小鼠精原细胞染色体情况

阳性对照组小鼠精原细胞染色体畸变率为 10.8%, FOX-7 染毒高剂量 A、B 两组小鼠精原细胞染色体畸变率分别为 4.2%、4.1%, 较阴性对照组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

(下转第 158 页)

收稿日期: 2016-10-11; 修回日期: 2017-03-10

基金项目: “十二五”预研项目 (YY70104)

作者简介: 高永超 (1987—), 男, 兽医师, 从事生物效应与毒理学研究。

通信作者: 高俊宏, 副主任医师, E-mail: gaoping2285@126.com。

该问题在地市级和民营职业健康体检机构中更为普遍。

作为一名合格的主检医师，不仅能对个体体检结果、职业禁忌证、疑似职业病做出正确的判定，还要具备对整体体检结果综合分析评价的能力。而短期培训很难甚至无法达到上述要求。以噪声为例，很多主检医师对听力检查结果、传导性聋、感音神经性聋、混合性耳聋以及其听力学特性知识掌握不够，对主客观观测听检查结果诠释不清，对夸大性听力损失或伪聋的鉴别能力不足^[2,3]。因此，体检机构主检医师专业重点化是保证职业体检质量的必要手段。

5 噪声职业禁忌证和噪声性听力损失的判定有误

《GBZ188 技术规范》中噪声作业禁忌证第 1 条指出，各种原因引起的感音神经性听力损失（500 Hz、1 000 Hz 和 2 000 Hz 任一频率的纯音气导听阈>25 dB）即为噪声作业禁忌。在实际工作中常遇到只要 500 Hz、1 000 Hz 或单纯 2 000 Hz 任一听力频率下降≥30 dB 就作为职业禁忌，而忽略了“各种原因引起的感音神经性听力损失”这一定义。由此可见体检技术人员对各种感音神经性听力损失的听力学特征了解不够。

岗前体检中，将听力损失以高频为主但尚未达到噪声作业禁忌证第 2 条者也作为职业禁忌证处理，实际上该群体的听力损失是由既往噪声接触导致，而非感音神经性听力损失。在岗期间体检中也存在将噪声对听力的影响当成职业禁忌的问题。

对噪声敏感的判定问题，现单位噪声工作时间近一年，高频段听力损失≥65 dB HL，在没有上岗前听力检查资料的前提下，不能轻易判定噪声易感者。

6 噪声体检听力检查的个体结论欠科学

《GBZ188 技术规范》总则将职业健康检查个体结论报告中的个体结论分为 a) 目前未见异常；b) 复查；c) 疑似职业病；d)

职业禁忌证；e) 其他疾病或异常。而目前几乎所有体检机构对噪声体检中的单纯高频段听力损失的个体体检结论都是“其他疾病或异常”。我们认为这一结论并非科学合理。噪声性听力损失特点是早期以高频段下降为主，随着噪声作业工龄的延长，在缺乏个体防护的情况下，听力损失将逐渐累及语言频率。《GBZ188 技术规范》中个体结论第 5 种的解释是“除目标疾病之外的其他疾病或某些检查指标的异常”。因此对单纯高频听力损失的个体结论尚需《GBZ188 技术规范》修订过程中予以考虑。

对于纯音听力检查，尤其是单纯高频段听力损失，目前临床耳科尚无评判标准。职业健康体检机构对单纯高频听力损失的评判起点都是以较差耳，3 000 Hz、4 000 Hz、6 000 Hz 任一频率听力损失≥30 dB 为界，无论听力损失多少，结果均简单描述为高频听力损失。其后果是因为无高频段听力损失程度之分，对企业而言，无法确定重点监管监护对象；对职业体检机构，无法进行职业健康监护的量化评价。

开展职业健康监护的目的，不仅是早期发现职业病、职业健康损害和职业禁忌证，还要跟踪观察职业病及职业健康损害的发生、发展规律及分布情况等，以期为完成《国家职业病防治规划》提供科学依据。希望广大职业健康体检机构正视本文所列举的相关问题并在修订技术规范时予以考虑。

参考文献：

[1] 姜泗长，顾瑞．临床听力学 [M]．北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1999：4，123，129.
[2] 韩德民，许时昂．听力学基础与临床 [M]．北京：科学技术文献出版社，2004：89-114.
[3] 高文元，迟放鲁，贺秉坤．临床听觉生理学 [M]．北京：人民军医出版社，2004：491-494.

(上接第 117 页)

表 2 FOX-7 对小鼠精原细胞染色体的影响 (n=10)

组别	剂量 (mg/kg)	观察细胞 (个)	染色体畸变类型				细胞畸变率(%)
			断裂	易位	环状	微小体	
溶剂对照组	0	1 000	10	0	5	0	1.5
低剂量染毒组	69.64	1 000	11	0	5	0	1.6
中剂量染毒组	139.29	1 000	15	0	4	0	1.9
高剂量染毒 A 组	348.22	1 000	35	0	7	0	4.2 *
B 组	348.22	1 000	36	0	5	0	4.1 *
阳性对照组	40	1 000	78	2	11	17	10.8 *

注：*，与溶剂对照组比较，P<0.05。

3 讨论

哺乳动物睾丸精原细胞染色体畸变试验是通过检测受试样品诱发哺乳动物生殖细胞染色体畸变的能力，评价受试样品的致突变性及其强度。染色体畸变只有在细胞分裂中期进行观察分析，不同阶段的生殖细胞对化学致突变物质敏感性不同，一般情况下精原细胞后期对化学诱导剂敏感性最高^[5]。

本文中所选用的实验方法源自中华人民共和国《化学品毒性鉴定技术规范》(卫生部 2005 年)，哺乳动物精原细胞染色体畸变试验是我国对化学品等进行雄性生殖细胞遗传毒性安全性评价的标准方法^[6]。该标准中提到由于供试物可能影

响细胞周期动力学，因此建议最高剂量组在末次处理后 24 h 和 48 h 采样并分析。通过本次试验发现，阳性对照组小鼠睾丸染色体畸变率较阴性对照组明显升高，高剂量染毒 B 组小鼠体重较染毒前有所降低，高剂量染毒 A 组和 B 组小鼠精原细胞染色体畸变率均高于溶剂对照组，提示 FOX-7 在 348.22 mg/kg 剂量下对雄性小鼠生殖系统可能有一定损害，其生殖遗传毒性应引起重视。

参考文献：

[1] 刘国涛，刘少武，于慧芳．含 FOX-7 发射药的燃烧性能 [J]．火炸药学报，2012，35 (2)：82-85.
[2] Nair U R, Asthana S N, Rao A S. Advances in high energy materials [J]. Defence Science Journal, 2010, 60 (2)：137-151.
[3] 高俊宏，王鸿，刘志永，等．1,1-二氨基-2,2-二硝基乙烯的急性毒性研究 [J]．中国工业医学杂志，2015，28 (2)：120-121.
[4] 卢青，张盼红，高俊宏，等．1,1-二氨基-2,2-二硝基乙烯对大鼠亚急性经口毒性研究 [J]．环境与健康杂志，2016，33 (3)：263-266.
[5] White-Cooper H, Bausek N. Evolution and spermatogenesis [J]. Philos Trans R Soc Lond Biol Sci, 2010, 1546 (365)：1465-1480.
[6] 中华人民共和国卫生部、中国国家标准化管理委员会．哺乳动物精原细胞染色体畸变试验 [S].