

文章编号:1004 - 616X(2001)02 - 0109 - 03

论著 ·

## 沙林中毒所致姊妹染色单体异常交换频率的分析

曹根发<sup>1</sup>, 市川 真仁<sup>2</sup>

(1. 苏州大学预防医学系, 江苏 苏州 215007; 2. 日本医科大学)

**摘要:**目的:探讨沙林对人类染色体的影响。方法:在沙林毒性气体事件中,检测了8名暴露者、49名对照者的外周血淋巴细胞姊妹染色单体交换频率(SCE)并进行了统计学分析。结果:暴露组的SCE为 $(4.916 \pm 1.480)$ /细胞,对照组为 $(3.766 \pm 0.620)$ /细胞,经Cochran *t* test 单尾检验,  $P < 0.05$ , 呈现弱阳性结果。结论:阳性结果的主要原因是3名症状严重的暴露者的SCE偏高,这可能与在抢救治疗过程中过量使用阿托品(疑为致畸性药物)有关,沙林估算量和阿托品摄入量之比为1.95, 1.25。但最终还需一些符合逻辑的、合理的实验和更长时间的暴露人群追踪调查的结果来作定论。对有机磷杀虫剂中毒病人的治疗应尽可能地交替和复合使用特效解毒药和胆碱脂酶复能剂,尽量减少可能由治疗药物产生的负面影响。

**关键词:**沙林;阿托品;淋巴细胞;姊妹染色单体交换;暴露量

中图分类号:R99;R136.3<sup>+</sup>6

文献标识码:A

### ANALYSIS OF ABNORMAL FREQUENCY OF SISTER-CHROMATID EXCHANGES FOR SARIN EXPOSED VICTIMS

CAO Gen-fa, YICHIGAWA Makoto

*(Department of Preventive Medicine, Suzhou University, Suzhou 215007, China)*

**Abstract : Purpose :** To study sarin toxicity effect on human chromosomes. **Methods :** Frequency of sister-chromatid exchanges (SCEs) was measured in lymphocytes of 8 victims of Tokyo sarin tragedy and 49 controls and statistical analysis was employed. **Results :** The mean frequency of exposure group was  $(4.916 \pm 1.480)$ /cell. The slightly significant difference was found as compared with the mean frequency  $(3.766 \pm 0.620)$ /cell of control (Cochran *t* test, one tail,  $P < 0.05$ ). **Conclusion :** The positive result may probably be due to an excess of atropine (a possible teratogenicity) during emergency treatment of by three victims with severe symptoms. Proportion was 1.95, 1.25 between dose accumulated of atropine and dose estimated of sarin. A finally conclusion requires logical and authentic experiments and more long-term epidemiological investigation. In the treatment of organophosphorus pesticide poisoning, a compound and alternate application of special alexipharmic and cholinesterase reactivating agent must be emphasized in order to reduce the possible side effects of drugs as much as possible.

**Key words :** sarin; atropin; lymphocyte; SCE; dose exposed

为了探讨沙林对人类染色体的影响,对8名暴露者和49名对照者进行了检测和对照比较。该检测报告已在日本救急医学会灾害医疗检讨委员会举办的《东京地下铁沙林事件中毒研讨会》的中间报告中提

及<sup>1</sup>。姊妹染色单体交换频率(SCE)偏高的原因是沙林,还是治疗过程中使用了阿托品所致,还需要作更进一步的探讨。尽管该事件已事隔5年有余,但该案件的分析研究对3794名暴露负伤者,特别是740

收稿日期:2000-06-05;修订日期:2000-11-08

作者简介:曹根发(1952- )男,江苏省苏州市人,教师,1995~1998日本医科大学客座研究员,从事卫生毒理研究。

名<sup>2</sup> 入院治疗者的最终评判以及有机磷杀虫剂中毒的临床抢救和愈后的评价都具有一定的参考意义。

1. 材料与方法

1.1 对象 暴露组 8 名(入院治疗的患者),对照组 49 人(来自于工人,日医大的学生、教师及作者本人)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 无菌条件下,采取暴露组和对照组受检者的外周血。每培养单位含 0.5 ml 全血、5ml RPMI 1640 培养液体,含 10 %胎牛血清(fetal bovine serum, FBS, Difco),同时加入最终浓度为 2 % (V/V)的植物凝血素(phytohemagglutinin, PHA, Difco),置于二氧化碳培养箱内,于 37 的条件下培养 24 h,加入最终浓度为 9 mg/ml 的 5-溴脱氧尿苷(bromodeoxyuidine, BrdU, Sigma),在暗环境中继续培养 48 h。

1.2.2 染色体的制备和评判标准 培养至最后 3 h 加入秋水仙素(colchicine, Sigma)最终浓度为 0.2 μg/ml,培养终止后收集分裂中期淋巴细胞,用 0.075 mol/L KCl 低渗溶液进行处理,用固定液(methanol/acetic acid, 3:1)洗涤 3 次,然后制片、干燥,用 Sörenson's 缓冲液配制的 Hoechst 33258 染液分染 20 min,同时置于紫外线灯下照射。此后,用常规 Gemsa 染色,显微镜下观察分析。分析标准:每 1 病例分析 30 个中期分裂相细胞,计数时每 1 末端的交换算作 1 次交换,长臂和短臂中间发生的交换算作 2 次交换。

1.2.3 统计处理 对照组和暴露组两组数据通过 F 检验(SPSS),再以 Cochran t test<sup>3</sup> 单尾试验进行比较。同时设立 95 %置信区间的正常值范围,以便于个别送检样品参照对比。

2 结果与讨论

统计检验结果显示 8 名暴露者与 49 名对照者之间的 SCE(图 1)的均值具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。这个差异主要是由于暴露组中 3 名临床症状较重的患者所造成的(图 2)。对照组中有 1 人的数据脱离 95 %置信区间上限,经调查发现此人曾有 2 次较重的苯中毒病史。

众所周知,沙林与有机磷杀虫剂一样对生物体内的胆硷脂酶具有特异的亲和力,其亲和力要比有机磷杀虫剂高出几十倍,甚至几百倍,它们的临床治疗也

表 1. 暴露组与对照组间 SCE 的统计比较

Table 1. Comparison of SCE between exposure and control groups

group	case (No.)	cell observed (No.)	chromosome observed (No.)	SCE/cell ( $\bar{x} \pm s$ )
control	49	1 187	54 602	3.766 ±0.620
exposure	8	240	11 040	4.916 ±1.480*

\*  $P < 0.05$  (one-tailed Cochran t test, exposure group vs. control group)



图 1. 沙林被暴露者外周血淋巴细胞的 SCE

Figure 1. SCE of peripheral blood lymphocytes from exposed victims to sarin

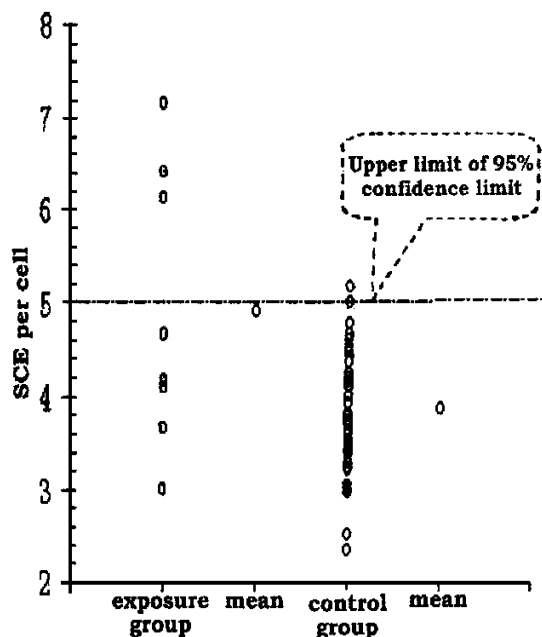


图 2. 暴露组与对照组的统计图

Figure 2. Statistics graph of exposure and control groups

大同小异。吸入沙林后所产生的神经系统效应,其医学生物学意义远比致畸、致突变、致癌重要得多。但是,对于暴露生存者后一种效应仍然应该给予重视。

鉴于沙林作用于生物体的靶是乙酰胆碱酯酶 (AChE), 当出现 SCE 的升高现象时, 我们首先检查了暴露者进入“急救中心”后的医学处置。为了抗有机磷中毒对于症状比较严重的暴露者都使用了不同量的阿托品, 其中暴露者 A 和暴露者 B 累计使用总量分别为 159.44 mg 和 42.50 mg。这个剂量在抗有机磷酸酯类中毒治疗中是比较大了。对于阿托品, Arcuri 和 Gautieri 曾在 1973 年用高于临床常用剂量的 1 500 倍的量处理了妊娠的小白鼠, 发现仔鼠骨骼的畸形发生率增高<sup>4</sup>。尔后, Heinonen 等和 Jick 等分别在 1977 年和 1981 年对曾在怀孕期间使用过阿托品的妇女作了回顾性调查, 在这些儿童中先天性畸形的发生率并不高。1985 年 Watanabe 等用临床常用剂量的 4 倍量处理了妊娠的大白鼠, 结果观察到仔鼠的行为异常<sup>4</sup>。以后, 世界卫生组织把阿托品一类的药物列为致畸、致突变可疑性药物。

有机磷酸酯类杀虫剂对生物体的致畸、致突变作用似乎是不容置疑的。作为沙林这个有机磷类化合物以及它与 AChE 结合失活后所产生的副产品化合物和加水反应所生成的其他的化合物, 也具有直接的或间接的(通过肝脏代谢活化)对基因起作用的可能性。在这方面还没有更多的资料可以参考。作者通过摄入量来作了一些分析, 沙林的吸入量是借助“I-CRP”的新肺模型<sup>5</sup>来估算的。根据投毒的方式是以两种化学液体临时混合后散发进入空气中的, 所以假设为气溶胶比较适合。另外设定, 标准人<sup>6</sup>的空气吸入量为  $7.5 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{min}$ , 化合物为可溶性。沙林半致死剂量  $\text{LD}_{50} = 100 \text{ mg}/\text{min} \cdot \text{m}^3$ ; 气溶胶粒径 (MMAD) 为  $0.5 \sim 5.0 \mu\text{m}$  (因为不能确定当时气溶胶产生时的粒径, 因此将它设定在  $0.5 \sim 5.0 \mu\text{m}$  范围内分别计算, 再取其均值)。表 2 中所给出的是每分钟沉积量和每分钟的转移量。另外, 还有 1 个很重要的参数, 即暴露时间, 暴露时间是根据“地下铁”运行 1 个站点所需时间来确定的, 估计在 3 min 左右。根据表 2 所示的不同粒径气溶胶在鼻咽部 ( $D_{N-P}$ ) 和支气管、气管 ( $D_{T-B}$ ) 以及肺部 ( $D_P$ ) 每分钟的沉积量而计算出的平均值  $0.56 \text{ mg}/\text{min}$ , 如果在这个半致死浓度环境当中滞留 3 min 即可能有 1.68 mg 的沙林沉积在呼吸系统中, 同时又以  $0.0111 \text{ mg}/\text{min}$  的速度从呼吸系统向体液转移。随着呼吸系统内沉积量的减少, 向体液内转移的速度也会相应的减慢。此估算法的基本点即环境浓度。这个浓度定位在半致死浓

度上是偏大些, 事实上以投毒方式来看在这个特定环境中整个空间不可能均匀地达到半致死浓度。而另外一方面, 沙林要比空气重, 在空气不流通的环境中, 它总是沉积在底层, 因此不能排除少数人能够吸入较高浓度沙林的可能性。偏高估算的目的是与阿托品的摄入量作比较。表 3 列出 2 名暴露者沙林吸入估算量与阿托品摄入量的对比。沙林吸入量是很小的, 并且这个量全部进入体液内需要 2~3 h 左右, (暴露者在这期间的神经系统症状最为严重)。从摄入量来分析, 阿托品的因素不能排除。

表 2. 沙林经呼吸系统向体内转移量的估算

Table 2. Estimation of sarin transfer to body fluid via respiratory system

(MMAD, $\mu\text{m}$ )	aerosol diameter					mean
	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0	
fraction deposited $D_{N-P} + D_{T-B} + D_P$	0.53	0.63	0.77	0.87	0.97	0.75
dose deposited (mg/min) $D_{N-P} + D_{T-B} + D_P$	0.39	0.47	0.58	0.65	0.73	0.56
dose transferred to body fluid ( $\times 10^{-3} \text{ mg}/\text{min}$ )	5.40	8.30	10.70	14.40	16.70	11.10

表 3. 沙林吸入估算量与阿托品累积摄入量的比较

Table 3. Comparison of doses between sarin inspired and accumulated intake of atropine

	estimation dose	atropine dose	recovery time	sarin atropine
	of sarin inspired (mg)	accumulated (mg)	of pupil (h)	
victim A	1.68	159.44	72.50	1 95
victim B	1.68	42.50	69.50	1 25

另外, 对于沙林合成过程中所产生的副产物二异丙基甲基磷 (diisopropyl methylphosphonate, DIMP), 二乙基甲基磷 (diethyl methylphosphonate, DEMP) 和乙烷异丙基甲基磷 (ethyl isopropyl methylphosphonate, EIMP) 引起的 SCE 升高, 在使用试管内实验方法和 S9 活化被试物时是否要设立阳性对照和阴性对照, 以便对数据加以校正, 这些都是实验设计上所必须考虑的。少量的沙林能否使暴露者发生恶性病变甚至遗传方面的改变, 还需一些符合逻辑的、合理的实验和更长时间的暴露人群追踪调查的结果来作定论。

对于有机磷杀虫剂中毒的病人在临床上应尽可能能地交替选择、复合使用特效解毒药, 并使用一些胆碱酯酶复能剂。

(致谢: 南正康 主任教授及日本医科大学为实验提供了场所和方便)

文章编号:1004 - 616X(2001)02 - 0112 - 03

论著 ·

## 仙华胶囊抗突变作用的研究

夏 勇,徐彩菊,傅剑云,郑云燕

(浙江省疾病预防控制中心,浙江 杭州 310009)

**摘要:**目的:研究仙华胶囊是否具有抗突变效应。方法:设 190 mg/kg bw、380 mg/kg bw、1 130 mg/kg bw 3 个剂量组和 1 个致突变物对照组,每组昆明种小鼠 10 只。采用小鼠骨髓细胞微核试验、小鼠睾丸染色体畸变试验和 Ames 试验进行研究。结果:与致突变物对照组比较,仙华胶囊对环磷酰胺诱发的小鼠骨髓细胞微核的发生、对丝裂霉素 C 诱发的小鼠睾丸细胞染色体的畸变以及致突变物对菌株 TA100 和 TA98 的致突变作用均有明显的抑制作用,对致突变物有灭活作用。结论:仙华胶囊具有一定的抗突变作用。

**关键词:**仙华胶囊;抗突变作用;Ames 试验;微核试验;染色体畸变试验

中图分类号:R28; R965.2

文献标识码:A

仙华胶囊是以菝葜、茯苓、薏苡仁、大枣等多种具有抗肿瘤作用的中药材<sup>1,2</sup>为原料,根据中医调衡理论研制成的中药保健产品。临床实践表明:该产品对恶性肿瘤有缓解作用,并能明显改善患者的症状。但对该产品可能存在的抗突变作用尚缺乏系统的研究。我们按照文献<sup>3</sup>的方法,采用 Ames 试验、小鼠睾丸染色体畸变试验和小鼠骨髓细胞微核试验对仙华胶囊的抗突变作用进行了实验研究。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材 料

**受试物** 仙华胶囊产品粉末由国内某单位提供,用蒸馏水配制成各个剂量。

**实验动物** 雄性清洁级昆明种小鼠 80 只,由浙江省药检所实验动物中心提供,体重 25~28 g,合格证号为医动字第 22-9601017。

**试验菌株** 采用组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌 TA100 和 TA98(上海市劳研所提供)。经生物学鉴定合格后进行试验。

#### 1.2 方 法

**1.2.1 Ames 试验** 采用平板掺入法。设低剂量组(1 000 μg/皿 + 致突变物)、中剂量组(5 000 μg/皿 + 致突变物)、中高剂量组(20 000 μg/皿 + 致突变物)、高剂量组(40 000 μg/皿 + 致突变物)、阴性对照组(蒸馏水)和致突变物对照组,致突变物:柔毛霉素(DRN)、叠氮化钠(NaN<sub>3</sub>)、2-氨基芴(2-AF),用 3 种方法进行试验。方法 1(受试物直接灭活致突变物):同时加入 0.1 ml 致突变物、0.1 ml 受试物和 0.5 ml 磷酸盐缓冲液,加或不加 S<sub>9</sub>,于 37℃ 水浴,预培养 20 min,再加入 0.1 ml 菌液;方法 2(受试物抑制致突变物对菌株的致突变作用):同时加入 0.1 ml 受试物、0.1 ml 致突变物、0.1 ml 菌液和 0.5 ml 磷酸盐缓冲

收稿日期:2000 - 08 - 28;修订日期:2000 - 11 - 28

作者简介:夏 勇(1968 - ),男,浙江省人,主管技师,学士,从事天然食品抗突变研究。

### 参 考 文 献:

- 1 南 正康. サリン代谢物质の生物学的モニタリング情报から毒性机序や后遗症などを推定できるであろうか. ジンボジウム. サリン事件の中毒学 J. 中毒研究,1997,10:48~58.
- 2 前川和彦. 东京地下铁“サリン”事件の急性期中毒情报 J. 中毒研究,1997,10:38~41.
- 3 Hayes AW. Principles and methods of toxicology M. 3rd ed. Boston:Raven press, 1994. 232~233.
- 4 Friedman JM. Teratogenic effects of drugs: A resource for clinicians (TERIS) M. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1985. 120~121.
- 5 ICRP. ICRP publication 30 part 1: Limits for intake of radionuclides by workers M. Vienna:ICRP, 1979.
- 6 ICRP. ICRP publication 23: Report of task group reference man M. Vienna: ICRP, 1975.