文章编号: 1001-0580(2008)08-1014-02 中图分类号: R 99 文献标志码: A 【综 述】

溴苯腈毒理学研究进展*

卢中秋[1], 梁欢[1], 胡国新[2]

溴苯腈(Bromoxynil), 化学名称为 3,5- 二溴- 4- 羟基苯甲腈, 属有机氰化物, 是一种具有传导活性的选择性苗后茎叶处理触杀型除草剂[1]。溴苯腈于 1963 年被研究开发, 1994 年后逐步在我国推广应用, 主要通过抑制光合磷酸化反应和电子传递, 特别是抑制光合作用的希尔反应, 使杂草迅速坏死, 除草效果佳。由于溴苯腈使用量大、范围广泛, 在其生产及使用过程中可能发生急性中毒, 目前已有关于溴苯腈急性中毒导致人死亡的报道[2,3], 为了阐明其毒性, 探索有效的解毒方法, 近年来, 我们对溴苯腈急性毒性、毒理及解毒进行了系列研究[4-6]。现结合相关文献报道综述如下。

1 溴苯腈的毒代动力学特点

本实验室[6]建立了气相色谱- 质谱联用(GC- MS)检测血浆溴苯腈浓度的方法, 首次利用丙酸酐衍生化提高色谱的响应稳定性, 并在萃取时加入 pH 值为 1 的 NaCl 溶液以提高回收率, 该法专属性强, 不受血浆样品杂峰干扰, 标准曲线的线性关系良好, 血浆绝对回收率在 85% 以上, 相对回收率在 90%~ 115% 范围内, 样品日内、日间变异系数均< 15%, 适合于检测各种血浆样品的溴苯腈浓度。该实验显示, 兔经口溴苯腈(30 mg/kg)染毒后, 血中达峰时间约为 5.57 h, 吸收半减期为 0.752/h, 说明胃肠道对溴苯腈的吸收较慢, 提示在溴苯腈急性中毒临床处理过程中洗胃环节的必要性及重要性。口服溴苯腈后 6 h 内洗胃可明显减少毒物的吸收, 减轻急性中毒症状。从溴苯腈血浆浓度- 时间曲线来看, 染毒 6 h 后的血浆溴苯腈浓度仍较高, 故建议对口服溴苯腈 6 h 后患者, 积极洗胃以减少毒物吸收。溴苯腈灌胃后 6 h 左右兔血浆浓度达到高峰, 急性中毒病人该段时间的病情应最为危重, 故临床救治该类患者时应加强病情监测及治疗。兔经溴苯腈灌胃后的平均滞留时间约为 16.9 h, 消除半减期约为 11.33 h。根据二级动力学消除原理, 一次用药经过 5 个 $t_{1/2}$ 体内药物量消除 96% 以上, 故临床上对溴苯腈急性中毒病人的救治应持续 3 d 以上。而 Semchuk 等[7]用 GC- MS 检测使用溴苯腈的农民体内的溴苯腈浓度, 并与体质指数(BMI)进行统计分析, 发现溴苯腈倾向分布于脂肪组织, 体内滞留时间与 BMI 正相关。

2 溴苯腈急性毒性及毒理学特点

2.1 溴苯腈急性毒性 已有文献[8]报道, 大鼠溴苯腈急性经口半数致死量(LD_{50})为 190 mg/kg, 兔为 260 mg/kg。本实验[5]显示, 小鼠溴苯腈急性经口 LD_{50} 为 245.6 mg/kg, 根据 WHO 毒物分级, 溴苯腈应属于中等毒性农药。动物实验研究[5,6,9,10]表明, 溴苯腈对眼睛有轻微刺激, 对兔皮肤无刺激作用, 对动物生殖功能无不良影响, 但有致畸作用。孕期母兔摄入溴苯腈 30 mg/kg 以上可导致新生兔颅骨畸形和脑积水, 大鼠孕期口服 30 mg/kg 以上可引起胎儿体重减轻和肋骨形成异常等先天性缺陷, 且随着摄入溴苯腈剂量的增加, 母鼠肝脏占机体重量比增加, 但肾上腺、胸腺、脾脏无此变化。兔经口大剂量溴苯腈急性中毒首先影响呼吸, 导致呼吸频率加快、呼吸困难, 而严重的呼吸困难可导致动脉血氧分压(PaO_2)下降, 造成机体缺氧。小鼠高剂量溴苯腈灌胃染毒后 2 min 即出现中毒症状, 表现为活动减少, 呼吸急促, 10 min 后呼吸困难加剧, 并出现兴奋不安, 四肢搔扒、抽搐, 伴肌无力, 后抽搐反复发作至死亡。而小剂量溴苯腈染毒后小鼠症状轻微, 仅呼吸频率加快, 但活动如常, 30~ 120 min 后呼吸渐平稳[5]。故认为急性溴苯腈中毒后症状出现时间及病情的轻重与摄入剂量直接相关, 高剂量中毒后迅速发病, 且中毒症状严重、死亡率高, 而小剂量染毒后发病缓慢, 且症状轻微。Harrington 等[11]报道的犬急性溴苯腈中毒亦有类似症状。急性溴苯腈中毒患者有发热、出汗、头痛、胸闷、呼吸困难等表现, 严重者出现心动过速、烦躁、意识不清甚至昏迷[2,3]。

2.2 溴苯腈急性中毒的组织病理学变化 光镜观察到小鼠经溴苯腈灌胃后 30 min, 肺组织结构清晰肝叶充血明显, 脑细胞仅轻微水肿。但灌胃后 90 min 肺组织充血、水肿; 肝脏各叶充血明显, 血窦扩张; 部分股四头肌肌纤维发生连续性离断, 部分肌纤维体呈萎缩状; 心肌结构完整[5]。电镜观察到溴苯腈灌胃后 30 min, 小鼠大脑皮质及丘脑核膜间隙扩大, 粗面内质网轻度扩张, 神经细胞线粒体结构松散, 线粒体嵴呈现不同程度的断裂, 部分区域神经元细胞线粒体嵴几乎完全消失, 呈空泡状; 染毒后 90 min 线粒体肿胀进一步加重、线粒体嵴破坏更彻底, 空泡化更严重, 神经纤维发生明显脱髓鞘病变, 神经突起水肿, 但神经突触基本完整。股四头肌在电镜下可见肌原纤维收缩, 肌丝溶解, 结构模糊, 但间质细胞结构清楚[5]。

2.3 溴苯腈急性中毒的生化指标改变 兔经口溴苯腈(30 mg/kg)染毒后 12 h 血清肌酸激酶(CK)达到高峰, 为染毒前 5 倍, 染毒 36h 后 CK 渐降至染毒前水平。但染毒前后肝功能〔总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、直接胆红素(TBIL)、间接胆红素(DBIL)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)〕及全血胆碱酯酶(TChE)、血浆胆碱酯酶(PChE)、血清 LDH 均无显著性变化。溴苯腈急性中毒时血清 CK 的增高, 可能与中毒时呼吸困难、抽搐等导致的骨骼肌缺血、缺氧, 进而诱发和加快细胞凋亡等因素有关。此外, 与骨骼肌抽搐时的机械性作用造成的肌肉损伤也有一定关系。兔溴苯腈急性中毒后, 血浆及全血 ChE 在中毒后各个时间点均无显著变化[5,6], 但有报道溴苯腈急性中毒患者的 ChE 明显降低[2,3], 因中毒患者所在农药厂同时进行有机磷农药的生产, 故考虑这些患者 ChE 的变化可能与其曾生产接触有机磷农药有关。

3 溴苯腈急性中毒可能的机制

溴苯腈可引起全身性中毒表现, 中枢神经系统是其毒作用的主要靶器官之一[4], 溴苯腈进入脑组织后, 迅速抑制氧化磷酸化呼吸偶联反应, 使腺苷二磷酸(ADP)生成三磷酸腺苷(ATP)的反应受阻, 使氧化过程产生的能量无法以高能磷酸键形式储存而转化为热能释出, 导致中枢神经系统生化代谢、病理形态和生理机能改变, 引起运动失调、高热、大汗、惊厥、昏迷和呼吸停止等一系列中枢神经中毒表现[4]。动物急性经口急性中毒可引起脑水肿、线粒体损害。溴苯腈口服后首先

* 基金项目: 浙江省医学扶植重点建设学科计划(07- 04): 浙江省医药卫生科学研究基金计划项目(2007B144)

作者单位: 1. 温州医学院附属第一医院急诊科, 浙江温州 325000; 2. 温州医学院药学院药理教研室
作者简介: 卢中秋(1964-), 男, 浙江人, 主任医师, 硕士生导师, 硕士, 研究方向: 危重症急救的临床与基础研究。

影响呼吸系统,最终急性中毒动物死于缺氧。由于线粒体是机体细胞呼吸和氧化磷酸化的重要场所,在细胞呼吸能量代谢中扮演重要角色。而溴苯腈通过影响氧化磷酸化呼吸偶联导致中毒,同二硝基苯酚、五氯酚影响相同的过程[12],因二硝基苯酚为脂溶性物质,在线粒体内膜中能自由活动,可进入基质侧释放出H^+,返回胞液侧结合H^+,从而破坏了电化学梯度,使呼吸链电子传递过程中泵出的H^+不经ATP合酶(呼吸链复合体V)疏水部分的质子通道回流,导致ADP不能与Pi生成ATP,电子传递与ADP磷酸化两个过程分离。但其仅抑制ATP形成过程,不抑制电子传递过程,使电子传递所产生的自由能以热的形式耗散。推测溴苯腈急性中毒机制之一可能是通过损伤线粒体,影响线粒体呼吸功能,干扰呼吸链,进而造成能量代谢障碍而致病。陈玉熹等[13]研究表明,溴苯腈急性中毒后,黄嘌呤氧化酶(XOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化氢(H_2O_2)氧化酶等均明显升高,提示溴苯腈对机体氧化还原系统有一定影响。

4 溴苯腈急性中毒解毒的实验研究

目前国内外较少有关溴苯腈的特效解毒药,考虑其分子中含有CN^-,而亚硝酸钠($NaNO_2$)硫代硫酸钠($Na_2S_2O_3$)为传统抗无机氰药物,二巯基丙磺钠(Na-DMPS)、N-乙酰半胱氨酸(NAC)等巯基化合物亦有抗氰效果。我们[5,6]采用染毒前单用NAC灌胃、Na-DMPS灌胃、$Na_2S_2O_3$灌胃,以及$Na_2S_2O_3$联用$NaNO_2$腹腔注射、NAC联用Na-DMPS腹腔注射的方法,对溴苯腈中毒小鼠进行保护作用研究。发现除$Na_2S_2O_3$联用$NaNO_2$保护外,经其他药物保护后小鼠中毒症状均有不同程度减轻及延缓。尤以Na-DMPS联用NAC效果最好,可明显延长中毒小鼠的生存时间,显著提高生存率。Na-DMPS单独保护后,小鼠生存率亦提高,存活时间明显延长。NAC保护后中毒小鼠死亡率无明显提高,但其存活时间明显延长,对中毒小鼠有一定保护作用。$Na_2S_2O_3$保护后小鼠死亡时间推迟,但死亡率没有降低;$Na_2S_2O_3$联用$NaNO_2$保护后,中毒小鼠的死亡率及存活时间均无明显改善。经Na-DMPS保护后,溴苯腈急性经口中毒小鼠LD_{50}显著提高,肝、肺、脑组织超微结构损伤明显减轻,肝脏及血浆XOD、CAT、H_2O_2等氧化还原酶值较中毒时明显减低,说明Na-DMPS对经口溴苯腈急性中毒小鼠具有显著的保护作用,但亦发现脑组织匀浆XOD、SOD在Na-DMPS保护前后无明显差异。在采用Na-DMPS治疗溴苯腈急性中毒(灌胃染毒)小鼠的实验中发现,Na-DMPS的治疗并不能显著提高染毒小鼠的生存率[13],Na-DMPS对小鼠溴苯腈急性中毒有保护作用但无治疗作用,Na-DMPS的量效与时效关系值得研究。

Na-DMPS和NAC对溴苯腈急性中毒小鼠有不同程度的保护作用,两者联用时效果更明显,不仅能延长急性中毒小鼠的生存时间,而且显著提高存活率,降低死亡率,其可能机制有[14-16]:(1)溴苯腈急性中毒动物有明显缺氧表现,缺氧可通过多种途径产生大量自由基,对机体造成损害,NAC和Na-DMPS均为含巯基化合物,NAC亦是谷胱甘肽(GSH)的前体,而GSH是机体自身重要的抗氧化剂。而Na-DMPS等巯基化合物对脑内抑制性和兴奋性氨基酸递质及其受体均有影响,能增加脑内氨基丁酸(GABA)与其受体的结合,从而减轻溴苯腈毒性,降低其急性中毒死亡率。(2)溴苯腈急性中毒可引起染毒动物的肝脏脂肪代谢障碍,肝细胞脂肪变性,而NAC参与了机体细胞的还原过程,调节机体肝脏内磷脂代谢,保护肝脏免受毒物的损害,故对溴苯腈急性中毒有一定的保护作用,减缓肝脏等脏器的病变。(3)溴苯腈分子内含CN^-基团,在体内可能解离出CN^-,产生氰毒性,而Na-DMPS可明显减低氰化钠、氰化钾等急性中毒动物的死亡率,解毒作用显著。冯克玉[17]认为,Na-DMPS对氰化物的解毒作用可能是通过加速肝脏硫氰生成酶的生成或增加该酶活性来实现。

5 小 结

溴苯是常用中等毒除草剂,溴苯腈灌胃后6h左右兔血浆浓度达到高峰,平均滞留时间约为16.9 h,消除半减期约为11.33 h,急性中毒的主要表现为发热、出汗、呼吸困难等,严重者出现心动过速、抽搐、昏迷而死亡。主要脏器的病理表现为肌原纤维收缩,肌丝溶解,CK明显升高,肝、肺、脑组织中细胞线粒体损伤,肝脏及血浆的氧化-抗氧化酶系统明显受损,其作用机制是否与细胞线粒体呼吸功能及呼吸链抑制、氧化-抗氧化酶平衡的改变等有关,尚需进一步研究。Na-DMPS和NAC通过调节肝脏及血浆的氧化-抗氧化酶系统的平衡,对经口溴苯腈急性中毒小鼠具有不同程度的保护作用,两者联用时保护效果更明显,但是治疗效果不明显,因此,为寻求有效的治疗方法,进一步采用维生素C等抗氧化物质、超氧化物歧化酶(SOD)抗体、血液净化治疗等多种方法对溴苯腈急性中毒进行实验治疗,可望取得较好的效果。

参考文献

〔1〕 张敏恒,李付刚.含溴农药生产状况与机会(二)[J].精细与专用化学品,2005,13(17):5-9.
〔2〕 张万里,张孚贺,王莉敏,等.急性溴苯腈中毒临床救治的探讨[J].中华劳动卫生职业病杂志,2005,23(5):387-388.
〔3〕 王成维.溴苯腈生产引起工人中毒并致死事故的调查[J].中华劳动卫生职业病杂志,2005,23(5):376-377.
〔4〕 卢中秋,刘晓,胡国新,等.溴苯腈对小鼠的毒性及二巯丙磺钠对其的保护作用[J].中华急诊医学杂志,2006,15(2):124-127.
〔5〕 梁欢,刘晓,卢中秋,等.小鼠溴苯腈中毒的毒理学实验研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,2006,24(8):494-495.
〔6〕 刘晓,卢中秋,何国鑫,等.溴苯腈在兔的血药浓度GC-MS法测定及其药动学研究[J].中国临床药理学与治疗学,2006,11(1):99-103.
〔7〕 Semchuk K, Mcduffie H, Senthilselvan A, et al. Body mass index and bromoxynil exposure in a sample of rural residents during spring herbicide application[J]. J Toxicol Ehviron Health, 2004, 67(17):1321-1352.
〔8〕 张荣.溴苯腈新合成方法[J].化学世界,1995,34(5):21-22.
〔9〕 Kawanishi CY, Hartig P, Bobseine KL, et al. Axial skeletal and Hox expression domain alterations induced by retinoic acid, valproic acid, and bromoxynil during murine development[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2003, 17(6):346-356.
〔10〕 Rogers JM, Francis BM, Barbee BD, et al. Developmental toxicity of bromoxynil in mice and rats[J]. Fundam Appl Toxicol, 1991, 17(3):442-447.
〔11〕 Harrington ML, Moore MP, Talcott PA, et al. Suspected herbicide toxicosis in a dog[J]. J Am Vet Med Assoc, 1996, 209(12):2085-2087.
〔12〕 Flanagan R J, Ruprah M. HPLC measurement of chlorophenoxy herbicides, bromoxynil, and ioxynil in biological specimens to aid diagnosis of acute poisoning[J]. Clin Chem, 1989, 35(7):1342-1347.
〔13〕 陈玉熹,余方宇,卢中秋,等.溴苯腈急性中毒小鼠肝组织氧化-抗氧化酶的改变及二巯丙磺钠的影响[J].实用医学杂志,2007,23(10):1461-1463.
〔14〕 Zhang CY, Zhu T J, Hu GX, et al. Effect of sodium dimercaptopropane sulfonate on antagonism of tetramethylenedi sulphotetramine to GABA receptor[J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(5):435-439.
〔15〕 端礼荣,邢光伟,王卉芳.丙烯腈对鼠胚胎脊髓神经细胞增殖分化的影响[J].中国公共卫生,2006,22(3):331-332.
〔16〕 王青山,朱英建,张利平,等.氯丙烯中毒大鼠神经电生理时间效应关系[J].中国公共卫生,2006,22(2):157-159.
〔17〕 冯克玉,特殊解毒药物[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1981:50-52.

收稿日期:2007-11-31 (宋艳萍编校)