

- 影响 [J]. 衡阳医学院学报, 1996, 24 (4): 279-280.
- [6] 陈绮, 林青. 厨房及烟草凝聚物对小鼠体外受精影响 [J]. 卫生毒理学杂志, 1997, 6 (1): 11-14.
- [7] Ficsor G, Ginsberg LC. The effect of hydroxyurea and mitomycin on sperm motility in mice [J]. Mutat Res, 1990, 70: 383-385.
- [8] Om As, Chung Kw. Dietary zinc deficiency alters 5 α -reductive and aromatization of testosterone and estrogen receptors in live [J]. J Nutr, 1996, 126: 842-845.
- [9] Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG, et al. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes [J]. J Nutr, 1995, 12: 823-826.

硫酸镍对雌性大鼠骨代谢的影响

王学习, 朱玉真, 孙应彪

(兰州医学院中西医结合研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 予健康性成熟 Wistar 雌性大鼠腹腔注射硫酸镍(NiSO_4)1.25、2.5、5 mg/kg 染毒, 1 次/d 连续 21 d。染毒结束次日心脏采血, 放免法测血清孕酮(p)、雌二醇(E_2), 酶法测碱性磷酸酶(AKP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(StrACP), 同时取股骨测骨质量。结果发现染毒组动物血清性激素 E_2 、p 水平下降, 血清 StrACP、AKP 活性升高, 骨钙、骨磷和骨密度下降, 有机质含量上升。说明 NiSO_4 的直接损伤和其造成的卵巢功能损害, 可共同导致骨质量异常, 骨代谢紊乱。

关键词: 硫酸镍; 雌二醇; 碱性磷酸酶; 抗酒石酸酸性磷酸酶; 骨代谢

中图分类号: R135.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)05-0313-02

Effect of nickel sulfate on bone metabolism of female rat

WANG Xue-xi, ZHU Yu-zhen, SUN Ying-biao

(Institute for Combining Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, China)

Abstract: To study the effect of nickel sulfate on bone metabolism of female rat, different doses of nickel sulfate were injected intraperitoneally into adult female Wistar rats (1.25 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg) once a day for 21 days. The 22nd day after administration, the blood specimens were taken from the heart of the rats and the levels of progesterone (p), estradiol (E_2), calcium and phosphorus, the activities of alkaline phosphatase (AKP) and StrACP in serum were measured. Meanwhile, the bone density of femur was also detected. The results showed that serum levels of p, E_2 , Ca and P were all lowered than those of control rats, the activities of AKP and StrACP in serum were increased, while the bone density was lowered and the organic substance content of femur was increased in the nickel sulfate treated rats. It is suggested that the metabolic disorder of bone might be caused by the direct toxicity of nickel sulfate and its toxic damage to ovary.

Key words: Nickel sulfate; Estradiol; Phosphatase; StrACP; Bone metabolism

研究证实, 镍及其化合物是一类多系统、多器官毒物, 过多的镍进入机体, 会引发机体相应的功能性、器质性、特异性和非特异性损伤^[1,2]。本研究采用大鼠腹腔注射硫酸镍(NiSO_4)染毒, 检测血清性激素和骨代谢的部分指标, 探讨超量镍对骨的毒性作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康性成熟 Wistar 雌性大鼠, 体重 180~200 g, 由兰州医学院动物中心提供(甘动准 14-006)。

1.2 试剂及仪器

硫酸镍(AR, 西安化学试剂厂), 碱性磷酸酶(AKP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(StrACP)测定试剂盒(南京建成

生物工程公司), 雌二醇(E_2)、孕酮(p)测定试剂盒(天津九鼎生物工程公司), 分析天平(BP-221S 型, 德国赛多利斯)。

1.3 动物分组及处理

动物入室适应环境 3 d, 4% 美蓝棉签阴道脱落上皮细胞涂片, 7 d, 1 次/d, 观察动情周期, 剔除动情周期异常动物。剩余动物按体重随机分为 4 组: 正常对照组(NS 组), 染毒高、中、低剂量组, 单次染毒剂量为 5、2.5、1.25 mg/kg (相当于相同染毒途径的 1/4、1/8、1/16LD₅₀), 0.2 ml/100 g 体重等体积腹腔注射 NiSO_4 染毒, 1 次/d, 连续 21 d。对照组以生理盐水 0.2 ml/100g 体重等体积腹腔注射。染毒结束次日心脏采血, 分离血清, 同时处死动物摘取股骨。

1.4 血清 E_2 、p 含量测定

使用放免法测定。

1.5 骨质量测定

1.5.1 钙含量 10% 三氯醋酸 3 ml 脱钙 3 次, 每次 24 h, 合并脱钙液, 取适量, 用 EDTA 法测钙, 计算单位体积内钙含量。

收稿日期: 2003-10-24; 修回日期: 2004-01-06

作者简介: 王学习(1975-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 金属毒理学。

1.5.2 磷含量 取适量脱钙液, 用硫酸亚铁法测磷, 计算单位体积内磷含量。

1.5.3 有机质含量 脱钙后的残留物即为总有机质, 102℃ 烘干, 称重, 计算单位体积内所含残留物量。

1.5.4 骨密度 丙酮脱水, 真空干燥恒重, 根据浮力原理, 感量 10⁻⁶g 天平称量, 计算骨密度。

1.6 血清 AKP、StrACP 的测定
按试剂盒说明书进行测定。

1.7 统计学处理

采用 SPSS8.0 for Windows 进行方差分析。

2 结果

2.1 染毒动物的一般反应

染毒后期个别动物出现腹泻、便秘等不同症状, 但进食量、饮水量和体重曲线未见明显异常。其余染毒动物除一般状态较差外无特殊异常反应。

2.2 镍对大鼠血清激素含量的影响

染毒高、中剂量组血清 E₂、p 含量下降, 与对照组比较差异有显著性, 低剂量组血清 E₂、p 仅有下降趋势, 但与对照组比较无统计学意义。见表 1。

2.3 染镍雌性大鼠血清 AKP 和 StrACP 活性的变化

染毒高、中剂量组血清 StrACP 水平增高, 血清 AKP 水平

染毒 5 mg/kg 组升高, 与对照组比较差异有显著性, 其他各组仅有升高趋势。见表 2。

表 1 染镍大鼠血清性激素含量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	E ₂ (pg/ml)	p (ng/ml)
对照组	12	81.87±7.95	27.34±4.71
染毒 1.25 mg/kg 组	12	80.43±9.65	26.29±6.22
染毒 2.5 mg/kg 组	13	71.84±14.72*	22.04±7.08*
染毒 5 mg/kg 组	11	60.51±16.74**	19.78±6.33**

与对照组比较 *P<0.05 **P<0.01, 下同。

表 2 染镍大鼠血清 StrACP、AKP 活性的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	StrACP (U/L)	AKP (U/g prot)
对照组	10	3.696±1.293	12.86±2.21
染毒 1.25 mg/kg 组	10	4.435±1.017	14.03±1.98
染毒 2.5 mg/kg 组	10	5.104±1.476*	14.89±2.34
染毒 5 mg/kg 组	10	6.078±2.267*	15.84±3.01*

2.4 染镍雌性大鼠骨质量的变化

染毒高剂量组动物骨钙和骨磷含量下降, 骨有机质含量增高, 染毒中、高剂量组动物骨密度降低, 与对照组比较差异有显著性。见表 3。

表 3 染镍雌性大鼠骨质量的变化 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	钙	磷	有机质	骨密度
对照组	0.3731±0.0284	0.1422±0.0109	0.3310±0.0112	1.535±0.034
染毒 1.25 mg/kg 组	0.3742±0.0301	0.1396±0.0089	0.3317±0.0114	1.521±0.029
染毒 2.5 mg/kg 组	0.3598±0.0237	0.1381±0.0097	0.3379±0.0107	1.501±0.027*
染毒 5 mg/kg 组	0.3405±0.0282*	0.1289±0.0101*	0.3424±0.0109*	1.446±0.031**

3 讨论

镍具有许多生物学作用, 为维持机体正常生理功能所必需的微量元素。但过多的镍进入机体, 则会导致机体一定程度的损伤^[3]。

本文测定了反映骨形成和骨吸收的生化指标 AKP 和 StrACP 活性以及反映骨质量的骨钙、磷、有机质、骨密度等指标, 以探讨染镍雌性大鼠骨代谢的变化情况。结果发现, 大鼠血清 AKP 和 StrACP 水平增高, 提示骨溶解和骨形成作用均增强。结合骨钙、骨磷含量下降, 分析可知染镍大鼠骨溶解强于骨形成, 骨有机质含量升高, 骨质量异常。其发生机制可能为以下几点: (1) 甲状旁腺激素 (PTH) 可以增强破骨细胞活动, 溶解骨组织释放骨钙入血, 升高血钙; 而降钙素 (CT) 则可加强成骨细胞活动, 减弱破骨细胞活动, 起到降低血钙的作用^[4]。组织培养发现, 大量雌激素可以降低 PTH 的骨溶解作用, 并通过加强降钙素 (CT) 的分泌, 抑制骨溶解^[5]。本研究中染毒动物血清 E₂ 下降, PTH 的骨溶解作用增强, CT 分泌降低, 促进了骨溶解。同时, 破骨细胞活动加强, 分泌蛋白水解酶、枸橼酸和乳酸等物质, 使骨有机质、骨盐溶解; 成骨细胞活动减弱, 钙化机制紊乱, 钙、磷沉积落后于基质形成, 骨有机成分升高, 骨矿物质钙、磷减少, 骨质

量异常。(2) 另据报道, 在成骨细胞培养基中, 成骨细胞可分泌 IL-1、IL-2、TNF-α, 促进单核破骨细胞分化为破骨作用更强的多核破骨细胞, 而在其中加入雌激素则可强烈抑制上述过程的发生^[6]。本实验中染毒动物血清 E₂ 含量较正常动物下降, 上述抑制作用较弱, 骨溶解作用较强, 骨密度降低。

综上所述, 腹腔注射 NiSO₄ 染毒可致雌性大鼠骨质量异常, 骨代谢紊乱, 其机制可能与 NiSO₄ 引起的血清 E₂ 水平下降有关。

参考文献:

[1] 张兴儒. 镍与健康研究概论 [M]. 兰州: 兰州大学出版社, 1997. 23-27.

[2] 和田攻. 镍公害引起的疾病 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1974. 36-45.

[3] 颜世铭, 洪昭毅. 实用元素医学 [M]. 郑州: 河南医科大学出版社, 2000. 678-682.

[4] 周衍椒. 生理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 506-509.

[5] Felson DT, Zhang Y, Hanna MT, et al. Effects of weight and body mass index on bone mineral density in men and women: The Framingham Study [J]. J Bone Miner Res. 1993, 8 (4): 567-573.

[6] 金世鑫. 内分泌疾病诊断精要 [M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2001. 260-262.