

于 5000 mg/kg, 与文献报道相一致^[3], 依据我国急性毒性分级标准, NTO 属低毒化学物质。

3.3 实验结果显示, 长期接触 NTO 可导致肝、肾、睾丸等脏器组织发生明显的病理学改变。据报道, 国外 NTO 亚慢性毒性研究结果表明, 30、100、315、1000 mg/kg 剂量组饲料消耗和体重均有改变, 在 315、1000 mg/kg 组发现睾丸萎缩, 显微镜下观察所有剂量组均有睾丸组织结构改变^[4]。本次研究结果显示, 中、高剂量组雄性体重增长明显低于对照组, 说明 NTO 对大鼠生长有影响作用。低、中、高剂量组大鼠睾丸系数与对照组比较明显降低, 具有剂量-效应关系; 睾丸病理变化较为明显。本实验研究发现睾丸的病理改变与脏器系数降低互相支持, 脏器系数的变化可旁证病理组织学改变的可能性, 也是寻找毒物作用靶器官的重要线索^[5]。提示 NTO 对大鼠睾丸可产生毒性作用。睾丸改变与文献报道相一致, 为 NTO 毒性作用的主要靶器官之一。

3.4 肝脏和肾脏是化学毒物作用的主要靶器官。亚慢性毒性实验表明, 肝脏、肾脏是 NTO 毒性作用的主要靶器官, 低、

中、高剂量组都有明显肝细胞水肿, 中、高剂量组肝窦充血、中央静脉扩张、点状坏死高于对照组。肾小球系膜细胞增生、近端小管水肿说明肝肾组织病理改变与 NTO 剂量有着明显的剂量-效应关系。在本实验条件下 NTO 对大鼠肝脏、肾脏和雄性大鼠的生殖系统有一定的毒作用。

参考文献:

- [1] 熊贤锋, 王晓峰, 王亲会. 含 NTO 的 TNT 基炸药研究 [J]. 含能材料, 2001, 9 (2): 70-72.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 化学品毒性鉴定技术规范 [S].
- [3] London. A Toxicological Study of 3-Nitro-1, 2, 4-triazol-5-one [S]. Los Alamos National Laboratory Report LA-11461-MS. 1988.
- [4] Gunda Reddy, Jian Songb, Paul Kirbyb. Genotoxicity assessment of an energetic propellant compound, 3-nitro-1, 2, 4-triazol-5-one (NTO) [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2011, 719 (1-2): 35-40.
- [5] 孙建新, 安娟, 连军. 影响实验动物脏器重量及脏器系数因素分析 [J]. 实验动物科学, 2009, 26 (2): 49-51.

纳米氧化铈对小鼠肝肾功能的慢性影响

Survey of chronic effect of nano cerium oxide on hepatic and renal functions in mice

焦欢, 冯昶, 范广勤, 陈陵

JIAO Huan, FENG Chang, FAN Guan-qin, CHEN Ling

(南昌大学公共卫生学院, 江西 南昌 330006)

摘要: 将健康成年雄性昆明小鼠 50 只, 每组 10 只随机分组, 设立阴性对照组、普通氧化铈组、不同剂量纳米氧化铈组。灌胃 8 周后检测相关指标。结果表明, 肝 GSH-Px、肾 GSH-Px、ALT、BUN、Scr 在部分组别发生改变 ($P < 0.05$), 其他指标无明显改变 ($P > 0.05$)。提示纳米氧化铈经口染毒可引起肝肾功能损伤, 其机制可能与氧化应激无关。

关键词: 纳米氧化铈; 肝肾损伤; 小鼠

中图分类号: R992 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)01-0039-03

许多研究结果表明, 纳米颗粒可以穿过机体各种屏障, 到达各组织器官, 对机体造成损伤^[1]。目前研究多为急性、亚急性染毒, 以呼吸道染毒及肺损害多见, 而消化道染毒, 尤其是慢性消化道染毒报道较少。纳米氧化铈由于其特有的结构特性而具有特殊的性能, 在功能陶瓷、抛光、紫外线吸收等方面得到了广泛的应用^[2]; 目前有关纳米氧化铈生物效应研究甚少。本次实验拟就纳米氧化铈经消化道染毒对小鼠肝、肾功能的慢性影响展开研究。

1 材料与方法

收稿日期: 2012-06-28; 修回日期: 2012-09-10

基金项目: 江西省教育厅科技项目 (GJJ09110); 江西省卫生厅科技项目 (20073181)

作者简介: 焦欢 (1986—), 女, 研究生, 主要从事环境化学物与健康效应研究。

1.1 实验材料

健康成年雄性昆明小鼠 50 只 (18~22 g), 南昌大学医学院实验动物科学部提供 (合格证号: 赣动 96021)。纳米氧化铈 (纯度 99.99%、粒径 10~30 nm, 长沙亚光), 普通微米氧化铈 (纯度 99.99%、粒径 0.5 μm , 上海国药), 羧甲基纤维素钠 (CMC, 上海振华), 丙二醛 (MDA) 试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒、乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒、丙氨酸转氨酶 (ALT) 试剂盒、天冬氨酸转氨酶 (AST) 试剂盒、尿素氮 (BUN) 试剂盒、尿酸 (UA) 试剂盒与血肌酐 (Scr) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。722 型分光光度计 (江西博力仪器设备有限公司), 快速混匀器 (常州国华电器有限公司), 普通离心机 80-1 (上海手术器械厂), 恒温水浴箱 (上海医疗器械七厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物处理 小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只 (体重相差 ± 2 g)。实验组按照纳米氧化铈不同剂量分为低剂量组 (100 mg/kg)、中剂量组 (500 mg/kg)、高剂量组 (2000 mg/kg)。对照组分为阴性对照组和普通氧化铈组。阴性对照组给予羧甲基纤维素钠水溶液; 普通氧化铈组给予 100 g/L 微米氧化铈羧甲基纤维素钠悬浊液。均以 0.02 ml/g 做灌胃处理。每日 1 次, 每周 6 次, 周日停止灌胃, 连续灌胃 8 周。

1.2.2 样本检测 动物麻醉后行腹股沟动脉取血, 取血后立即取小鼠肝脏、肾脏做称重记录, 并制备肝肾组织匀浆。

LDH、ALT、AST、BUN、UA、Scr、MDA、GSH-Px、SOD 均按提供的试剂盒具体步骤进行检测。

1.2.3 统计学分析 采用 SPSS18.0 处理软件对数据进行方差分析, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 脏器系数

肝脏脏器系数与肾脏脏器系数改变差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2、表 3。

表 1 纳米氧化铈染毒对小鼠肝肾氧化应激指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GSH-Px ($\mu\text{mol/L}$)		MDA (nmol/mg prot)		SOD (U/mg prot)	
	肝脏	肾脏	肝脏	肾脏	肝脏	肾脏
阴性对照组	2 510.17 $\pm$ 277.50	2 925.40 $\pm$ 959.43	47.48 $\pm$ 23.80	0.36 $\pm$ 0.19	718.21 $\pm$ 66.96	464.45 $\pm$ 169.67
普通氧化铈组	3 068.90 $\pm$ 499.23 ^a	3 089.78 $\pm$ 660.19	38.05 $\pm$ 11.93	0.36 $\pm$ 0.24	705.46 $\pm$ 93.46	377.75 $\pm$ 143.71
纳米氧化铈低剂量组	3 001.44 $\pm$ 457.26 ^a	3 188.20 $\pm$ 1 032.16	38.70 $\pm$ 15.03	0.44 $\pm$ 0.26	716.25 $\pm$ 136.96	385.80 $\pm$ 112.84
纳米氧化铈中剂量组	2 658.74 $\pm$ 801.72	3 643.76 $\pm$ 1 410.29	38.39 $\pm$ 13.21	0.33 $\pm$ 0.21	641.22 $\pm$ 132.31	414.97 $\pm$ 88.96
纳米氧化铈高剂量组	3 428.34 $\pm$ 1 010.41 ^{abc}	4 219.83 $\pm$ 1 994.32 ^{abd}	40.28 $\pm$ 17.57	0.28 $\pm$ 0.16	732.67 $\pm$ 97.33	470.79 $\pm$ 104.18

注: a, 与阴性对照组比较, $P < 0.05$; b, 与低剂量组比较, $P < 0.05$; c, 与中剂量组比较, $P < 0.05$; d, 与普通氧化铈组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 肝脏功能指标

AST、LDH 各组改变差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。ALT 水平改变差异有统计学意义 ($F = 5.25$, $P < 0.05$)，低剂

2.2 肝肾氧化应激指标

肝肾、MDASOD 改变各组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肝肾 GSH-Rx 改变差异有统计学意义 ($F = 5.83$, $P < 0.05$; $F = 3.05$, $P < 0.05$)。低剂量组、高剂量组、普通氧化铈组肝 GSH-Px 水平高于阴性对照组 ($P < 0.05$)，高剂量组分别高于低剂量组和中剂量组 ($P < 0.05$)；高剂量组肾 GSH-Px 水平分别高于阴性对照组、普通氧化铈组、低剂量组 ($P < 0.05$)。其他各组改变差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

量组、中剂量组、普通氧化铈组高于阴性对照组 ($P < 0.05$)，低剂量组高于高剂量组 ($P < 0.05$)。其他各组改变差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见表 2。

表 2 纳米氧化铈染毒对小鼠肝功能指标及肝脏脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	AST (卡门氏单位)	ALT (卡门氏单位)	LDH (U/L)	肝脏脏器系数
阴性对照组	33.61 $\pm$ 7.74	9.20 $\pm$ 3.30	5 683.24 $\pm$ 487.65	0.046 $\pm$ 0.004
普通氧化铈组	38.82 $\pm$ 12.41	22.12 $\pm$ 10.74 ^a	6 224.98 $\pm$ 1 182.98	0.047 $\pm$ 0.006
纳米氧化铈低剂量组	37.18 $\pm$ 14.29	31.82 $\pm$ 17.17 ^{ab}	5 981.39 $\pm$ 1 708.47	0.041 $\pm$ 0.010
纳米氧化铈中剂量组	36.18 $\pm$ 13.20	20.92 $\pm$ 14.69 ^a	6 029.03 $\pm$ 1 285.02	0.047 $\pm$ 0.005
纳米氧化铈高剂量组	33.61 $\pm$ 12.07	14.65 $\pm$ 7.68	5 957.10 $\pm$ 1 373.68	0.041 $\pm$ 0.003

注: a, 与阴性对照组比较, $P < 0.05$; b, 与高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 肾脏功能指标

BUN 改变差异有统计学意义 ($F = 2.91$, $P < 0.05$)。低剂量组、中剂量组水平高于高剂量组 ($P < 0.05$)；中剂量组高于普通氧化铈组 ($P < 0.05$)。Scr 改变差异有统计学意义

($F = 3.68$, $P < 0.05$)。低剂量、中剂量组高于阴性对照组 ($P < 0.05$)。低剂量组明显高于高剂量组 ($P < 0.05$)。其他各组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组 UA 改变差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见表 3。

表 3 纳米氧化铈染毒对小鼠肾功能指标及肾脏脏器系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	BUN (mmol/ml)	Scr ($\mu\text{mol/L}$)	UA (U/L)	肾脏脏器系数
阴性对照组	483.86 $\pm$ 195.21	52.27 $\pm$ 19.90	12.09 $\pm$ 2.00	0.011 $\pm$ 0.002
普通氧化铈组	428.36 $\pm$ 136.69	102.67 $\pm$ 71.83	13.97 $\pm$ 3.01	0.013 $\pm$ 0.002
纳米氧化铈低剂量组	554.24 $\pm$ 111.74 ^b	144.67 $\pm$ 54.17 ^{ab}	10.66 $\pm$ 2.47	0.012 $\pm$ 0.002
纳米氧化铈中剂量组	598.20 $\pm$ 164.50 ^{bc}	122.89 $\pm$ 77.84 ^a	10.39 $\pm$ 3.02	0.011 $\pm$ 0.001
纳米氧化铈高剂量组	413.03 $\pm$ 91.39	82.30 $\pm$ 49.40	13.06 $\pm$ 3.83	0.012 $\pm$ 0.001

注: a, 与阴性对照组比较, $P < 0.05$; b, 与高剂量组比较, $P < 0.05$; c, 与普通氧化铈组比较 $P < 0.05$ 。

3 讨论

大量研究表明^[5,4]，几乎所有纳米颗粒物如多壁碳纳米管、纳米铜等主要通过氧化应激作用导致细胞死亡和组织损伤。本次研究发现纳米氧化铈对小鼠肝肾 MDA 和 SOD 无明显影响，但可使肝、肾 GSH-Px 含量改变，其中肾 GSH-Px 有随着剂量增加而升高的趋势。这可能是由于纳米级氧化铈颗粒本身作为一种自由基的清除剂，具有一定的还原性和直接抗氧化作用所致^[5,4]。与 Zhang H^[4] 的研究结果不一致。纳米氧化

铈能否导致机体氧化损伤，值得我们进一步深入研究。

AST 和 ALT 主要存在肝细胞中，当肝细胞轻微受损时，ALT 首先进入血液。因为 AST 主要存在于线粒体中，只有当肝细胞受损严重到一定程度危及线粒体时，AST 才会入血。本研究显示各组 AST 水平无改变，但低剂量组、中剂量组 ALT 水平明显高于阴性对照组，提示纳米氧化铈颗粒引起肝细胞通透性增加致使处于胞浆的 ALT 溢出，尚未损害到肝细胞中的线粒体。肝细胞通透性的改变可能是纳米颗粒被吸附

在细胞膜表面后发生内吞作用,形成包含纳米颗粒的内吞小囊泡,导致细胞膜结构的改变^[8]。随着纳米氧化铈剂量的增加,ALT 水平反而有降低的趋势,可能与前面所提到的纳米氧化铈本身的抗氧化能力以及高剂量染毒造成的纳米颗粒团聚效应^[9]有关。

LDH 普遍存在于组织细胞中,当肝细胞受损时可以引起 LDH 逸出。王天成等^[10]研究结果显示,大剂量纳米二氧化钛胃灌注导致 LDH 水平高于阴性对照组和普通二氧化钛组,与本次研究结果不同。这可能是 LDH 反映肝细胞损害的灵敏度不高,且 LDH 恢复较快,而本实验周期较长,受损的肝细胞可能已逐步恢复,同时纳米氧化铈对肝细胞的损害较小所致。

BUN 是蛋白质代谢的主要终末产物。血肌酐是肌肉中肌酸的代谢产物。在肾脏损伤早期,BUN 和血肌酐可在正常范围,当损伤达到一定程度时,BUN 和血肌酐才明显升高。本次实验中剂量纳米氧化铈组 BUN 水平最高,可能与纳米氧化铈在肾脏中大量滞留有关。有研究表明^[11]二氧化钛进入体内通过肾脏随尿排出,但颗粒直径变小就很难排出体外,滞留在肾脏中造成损害。高剂量纳米氧化铈组 BUN 水平最低,可能是由于染毒剂量超过一定水平后,纳米氧化铈颗粒团聚效应^[9]明显增强,致使体内纳米颗粒粒径增大所致。纳米氧化铈组血肌酐水平高于阴性对照组,血肌酐水平有随着实验组剂量升高而降低的趋势,说明纳米氧化铈颗粒可以造成血肌酐水平的改变,但其颗粒本身的抗氧化性可能又对细胞起到一定的保护作用,其机制有待我们进一步深入研究和探索。

参考文献:

- [1] 林本成,裘著革,张英鸽,等. 三种纳米材料致大鼠肝肾损伤的初步研究 [J]. 卫生研究,2008,37 (6): 651-653.
- [2] Dong X T, Qu X G, Hong G Y, *et al.* Preparation and application in electrochemistry of nanocrystalline CeO₂ [J]. Chin Sci Bull, 1996, 41 (16): 1396-1401.
- [3] 刘颖. 多壁碳纳米管致大鼠肺损伤研究 [J]. 上海: 复旦大学,2008.
- [4] 杨保华,雷荣辉,吴纯启,等. 纳米铜对大鼠肝脏和肾脏的氧化损伤作用 [J]. 环境与健康杂志,2009,26 (5): 411-413.
- [5] Schubert D, Dargusch R, Raitano J, *et al.* Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 342: 86-91.
- [6] D Chung. Nanoparticles have health benefits too [J]. New Scientist, 2003, 179: 2410-2416.
- [7] Zhang H, He X, Zhang Z, *et al.* Nano-CeO₂ exhibits adverse effects at environmental relevant concentrations [J]. Environ Sci Technol, 2011, 45 (8): 3725-3730.
- [8] Auffau M, Decome L, Rose J, *et al.* In vitro interactions between DMSA-coated maghemite nanoparticles and human fibroblasts: a physicochemical and cyto-genotoxic study [J]. Environ Sci Technol, 2006, 40 (14): 4367-4373.
- [9] 李倩. 三氧化二铁纳米颗粒的氧化损伤作用研究 [D]. 南京: 东南大学,2005.
- [10] 王天成,王江雪,陈春英,等. 大剂量纳米二氧化钛染毒对小鼠血清生化指标的影响 [J]. 工业卫生与职业病,2007,33 (3): 129-131.
- [11] 曹辉彩,王燕,王宇,等. 大剂量纳米二氧化钛对小鼠肝肾的影响 [J]. 中国误诊学杂志,2010,10 (18): 18.

乙烯利急性毒性的实验研究

Experimental studies on acute toxicity of ethephon

杨治峰^{1,2}, 薄存香¹, 谢琳¹, 张振玲¹

YANG Zhi-feng^{1,2}, BO Cun-xiang¹, XIE Lin¹, ZHANG Zhen-ling¹

(1. 山东省医学科学院/山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 2. 济南大学/山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250062)

摘要: 选用40%乙烯利水剂作为染毒药物,大鼠急性经口采用霍恩氏法(Horn's法),急性经皮采用最大限量法;家兔皮肤、眼刺激采用一次性眼、皮肤刺激试验;豚鼠致敏试验采用封闭式斑贴法。结果显示乙烯利对大鼠急性经口LD₅₀雌雄性动物均为4300 mg/kg;对家兔眼具有腐蚀性,对家兔皮肤有强刺激性;对豚鼠致敏率为0。提示40%乙烯利水剂虽然对大鼠经口、经皮急性毒性为低毒,但因其呈酸性,对动物机体仍有一定的危害。

关键词: 乙烯利; 急性毒性

中图分类号: R992 **文章标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)01-0041-03

本研究利用急性毒性试验方法,初步评价了乙烯利对动物的急性毒性影响,为进一步明确乙烯利对人类的健康安全提供科学依据,同时也为进一步探讨乙烯利的毒理学作用机制提供线索。

1 材料与方法

1.1 材料

受试药物: 40%乙烯利水剂,淡黄色液体,由山东奥胜生物科技有限公司提供。

阳性对照: 2,4-二硝基氯苯,批号 060308,天津光复精细化工研究所生产。

收稿日期: 2011-08-06; 修回日期: 2011-10-22

基金项目: 山东省自然科学基金项目(编号: ZR2010CL003)

作者简介: 杨治峰(1981—),女,硕士在读,研究方向: 卫生毒理学。

通讯作者: 张振玲,研究员,硕士生导师, E-mail: zhenling788@yahoo.com.cn。