

二氧化钛纳米颗粒和雌二醇对小鼠子宫脏器系数和过氧化物酶活性的影响

郑丽舒, 金一和, 张颖花

(中国医科大学公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 探讨二氧化钛 (TiO_2) 纳米颗粒对 17β -雌二醇 ($17\beta\text{-E}_2$) 生物活性的影响。方法 去卵巢小鼠连续 3 天, 每日 1 次同时腹腔注射纳米 TiO_2 [$10, 50, 250 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$] 和 $17\beta\text{-E}_2$ [$0.02 \mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$] 后, 测定子宫脏器系数和过氧化物酶 (POD) 活性。结果 同时给予纳米材料 TiO_2 和 $17\beta\text{-E}_2$ 使小鼠子宫脏器系数和 POD 活性均升高。其中同时给予 $10 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 纳米 TiO_2 组增加比较明显, 而 $250 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 纳米 TiO_2 组增加最少。结论 纳米 TiO_2 具有增强 $17\beta\text{-E}_2$ 生物活性的作用。

关键词: 纳米材料 TiO_2 ; $17\beta\text{-E}_2$; 子宫脏器系数; POD 活性

中图分类号: R944. 3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)02-0083-02

Effects of titanium dioxide nanoparticles and estradiol on uterine organ coefficient in mice and activity of peroxidase

ZHENG Li-shu, JIN Yi-he, ZHANG Ying-hua

(School of Public Health, China Medical University, Shenyang, 110001, China)

Abstract: **Objectives** To study the effects of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles on the biological activity of 17β -estradiol.

Methods Uterine organ coefficient and activity of peroxidase in castrated female mice intraperitoneally treated with 10, 50 and 250 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ of TiO_2 nanoparticles and $0.02 \mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ of 17β -estradiol, respectively, once daily for three consecutive days were measured. **Results** Uterine organ coefficient and activity of peroxidase increased in the castrated female mice treated with both TiO_2 nanoparticles and 17β -estradiol, the most in those with $10 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ of TiO_2 and the least in those with $250 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ of TiO_2 .

Conclusions TiO_2 nanoparticles could enhance the biological activity of 17β -estradiol.

Key words: Nanometer material; Titanium dioxide; 17β -estradiol; Uterine organ coefficient; Peroxidase activity

纳米 (nanometer) 科技的迅速发展和纳米材料广泛的应用前景, 已经引起国内外医学界的重点关注。研究表明某些药物制成纳米颗粒或与纳米材料共同给予时, 其药效和毒副作用会发生改变^[1,2]。本研究同时给予去卵巢小鼠 TiO_2 纳米颗粒和 $17\beta\text{-E}_2$, 探讨其对子宫脏器系数和过氧化物酶 (POD) 活性影响。

1 材料与方法

1.1 动物 昆明种雌性小鼠, 体质量 (20 ± 2) g, 由中国医科大学实验动物中心提供。

1.2 试剂与器材 雌二醇 ($17\beta\text{-E}_2$), Sigma 公司; 纳米 TiO_2 , 粒径 $\leq 30 \text{ nm}$, 沈阳天润化工有限公司产品; 甲基邻苯二酚, 北京试剂厂; 低温超速离心机, 日本日立公司; 722 光栅分光光度计, 上海第三分析仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 建立无内源性雌激素模型小鼠: 小鼠经呼吸道乙醚麻醉, 沿腹中线切口暴露子宫, 输卵管处切除双侧卵巢, 缝合腹部手术切口, 术后动物自由饮水摄食。

1.3.2 分组及染毒: 术后第 10 天, 小鼠按体质量随机分为 5 组, 每组 7 只。术后第 17 天开始, 连续 3 天腹腔注射染毒。A 组 (对照组): TiO_2 $250 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ + 玉米油; B 组: $0.02 \mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ $17\beta\text{-E}_2$; C 组: TiO_2 $10 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ + $0.02 \mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ $17\beta\text{-E}_2$; D 组: TiO_2 $50 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ + $0.02 \mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ $17\beta\text{-E}_2$; E 组: TiO_2 $250 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ + $0.02 \mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ $17\beta\text{-E}_2$ 。 $17\beta\text{-E}_2$ 溶于玉米油, TiO_2 用蒸馏水配制成混悬液。最后一次给药后 20 小时小鼠脱颈椎处死, 摘取从输卵管至宫颈部分的子宫, 迅速去除周围脂肪及结缔组织, 在滤纸上吸干其腔内液体, 称量子宫质量后立即测定 POD 活性。

1.3.3 子宫脏器系数测定: 准确称量小鼠体质量和子宫质量, 子宫脏器系数 = $\text{mg 子宫质量}/100 \text{ g 体质量}$ 。

1.3.4 子宫过氧化物酶活性的测定: 子宫样品剪碎后, 按样品质量 2.5% 的比例加入 Tris 缓冲液 ($10 \text{ mmol/L Tris-HCl}$, $\text{pH } 7.2$, 0°C), 在冰水浴中用玻璃

匀浆器匀浆。匀浆在39 000 g, 2 ℃下离心 45 min, 弃上清, 加入提取缓冲液 (10 mmol/L Tris-HCl, 0.5 mmol/L CaCl₂, pH 7.2) 再次匀浆, 以39 000 g, 2 ℃下离心 45 min。在含有 13 mmol/L 甲基邻苯二酚和 0.3 mmol/L H₂O₂ 的提取缓冲液中加入 1 ml 含 POD 的上清后记为反应开始, 温度为 25 ℃。在 470 nm 处用 722 型光栅分光光度计测定甲基邻苯二酚氧化第 1 分钟内吸光度的变化。一个酶单位的定义是: 在实验条件下, 吸光度值增加 1 时所需的 POD 量。酶活性以每分钟 1 mg 蛋白所引起的吸光度变化量 [U/ (mg 蛋白·min)] 表示。提取的 POD 蛋白量用 Bradford 法进行测定^[3]。

1.4 数据处理

用 SPSS 软件对实验数据进行统计分析, 计算观察指标的均数与标准差, 进行方差分析和各组间 *q* 检验。

2 结果

单纯给予 17β-E₂ 组 (B 组) 小鼠子宫脏器系数和 POD 活性显著大于对照组 (A 组) (*P* < 0.05)。同时给予不同剂量的纳米 TiO₂ 和等剂量 17β-E₂ 各组 (C、D、E 组) 小鼠子宫脏器系数和 POD 活性均大于单独给予 17β-E₂ 组 (B 组)。其中纳米 TiO₂ 剂量为 10 mg/(kg·d) 组子宫脏器系数与其他实验组相比增加比较明显, 而 250 mg/(kg·d) TiO₂ 组增加最少, 但经检验与 B 组相比差异均未见显著性 (*P* > 0.05)。同时给予 10 mg/(kg·d) TiO₂ 组子宫 POD 活性显著高于其他各组 (*P* < 0.05) (见表 1)。

表 1 纳米 TiO₂ 对小鼠子宫脏器系数和 POD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	脏器系数 ($\bar{x} \pm s$)	POD 活性 [U/ (mg 蛋白·min)]
A (对照组)	7	50.07 ± 6.56	0.552 ± 0.270
B	6	128.97 ± 12.42 *	2.181 ± 0.305 *
C	7	183.37 ± 124.24 *	4.081 ± 2.306 * #
D	7	147.55 ± 32.05 *	2.311 ± 0.429 *
E	7	131.97 ± 31.81 *	2.255 ± 0.246 *

* 各组与 A 组相比 *P* < 0.05。# C 组与 B 组相比 *P* < 0.05。

3 讨论

纳米材料是粒径小于 100 nm (纳米) 的超微细粉体物质。当常规物体被制成纳米颗粒后, 虽然物质化学成分未发生改变, 但其理化性质会发生质的变化^[4]。许多研究已经证实, 药物粒径和药效及其毒副作用密切相关。如把粒晶制剂的螺内酯制成粒径 5 μm 制剂时, 药效可提高 5 倍; 灰黄霉素粒径由 10 μm 制

成 2.6 μm 后, 杀菌效果可提高 2 倍; 纳米粒子作为载体的抗肿瘤药物阿霉素比一般制剂药效增加 10 倍; 长春花胺纳米胶囊, 口服给药后比水溶性吸收更快^[5]。雌激素是目前临床上常用的治疗药物, 为探讨纳米材料与雌激素联合作用是否会提高其生物活性, 本实验用纳米 TiO₂ 和 17β-E₂ 配伍染毒以观察联合作用效应。

子宫脏器系数与 POD 活性是评价受试物雌激素效应的常用指标, 均与体内雌激素水平呈正相关关系^[6]。本实验观察到, 同时给予纳米材料 TiO₂ 和 17β-E₂ 后, 去卵巢小鼠子宫脏器系数与 POD 活性均高于单独给予 17β-E₂ 组。其原因可能是纳米 TiO₂ 粒径小、比表面积大、不饱和残键多、化学活性高, 进入体内后可能容易与生物膜蛋白发生共价结合, 引起生物膜通透性升高, 加速药物的吸收和分布过程, 也可能影响激素与受体的结合能力。也有可能纳米 TiO₂ 通过抑制药物代谢过程使 17β-E₂ 滞留时间延长, 使子宫脏器系数与 POD 活性增加。另外, 只有同时给予 10 mg/(kg·d) 纳米 TiO₂ 组的雌激素效应显著高于其他高剂量组, 这些改变表明纳米材料的生物作用可能存在阈剂量。

本实验首次观察到在一定剂量下, 纳米 TiO₂ 增强雌激素效应。今后应增加机体损伤指标, 进一步探讨其作用机理。

纳米材料作为一种新的物质形态, 人们对它的认识刚刚开始, 我们应密切关注粒径小于 100 nm 物质引起的生物学效应, 为人类合理利用纳米材料提供科学依据。

参考文献:

- [1] 易家康. 纳米医学 [J]. 世界科学, 2000, (4): 21.
- [2] Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, et al. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials [J]. Nature, 1996, 382 (6592): 607-609.
- [3] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [4] 白春礼. 纳米科技及其发展前景 [J]. 科学通报, 2001, 46 (2): 89-92.
- [5] 奇云. 面向 21 世纪的纳米医学 [J]. 科技新闻, 1996, (1): 23-25.
- [6] Johri RK, et al. Determination of estrogenic/ antiestrogenic potential of antifertility substances using rat uterine peroxidase assay [J]. Contraception 1991, 44: 549-557.