

表 1 抗体形成细胞及巨噬细胞吞噬功能测定结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 受试物  | 剂量         | 动物数<br>(只) | PFC 数<br>(个/10 <sup>6</sup> 细胞) | 吞噬百分数          | 吞噬指数         |
|------|------------|------------|---------------------------------|----------------|--------------|
| 蒸馏水  | 10 ml/kg   | 12         | 160.1 ± 28.9                    | 74.0 ± 12.5    | 2.5 ± 0.5    |
| DMSO | 10 ml/kg   | 12         | 152.0 ± 32.7                    | 72.1 ± 11.5    | 2.4 ± 0.5    |
| MOCA | 0.01 mg/kg | 12         | 52.6 ± 4.1 *                    | 63.1 ± 9.1 *   | 2.2 ± 0.3 *  |
|      | 0.1 mg/kg  | 12         | 17.3 ± 2.8 **                   | 56.8 ± 11.1 ** | 1.9 ± 0.2 ** |
|      | 0.2 mg/kg  | 12         | 3.3 ± 0.6 **                    | 42.4 ± 10.0 ** | 1.7 ± 0.2 ** |
|      | 1.0 mg/kg  | 12         | 2.5 ± 0.5 **                    | 38.4 ± 6.1 **  | 1.5 ± 0.1 ** |

与 DMSO 组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

### 2.3 MOCA 对小鼠细胞免疫功能的影响

蒸馏水对照组的 ANAE 阳性率为 (59.4 ± 6.4)%, DMSO 组为 (57.1 ± 6.0)%, 各染毒组的 ANAE 阳性率均在 40% ~ 60% 之间, 与 DMSO 组比较差异无显著性。

### 3 讨论

目前国际癌症研究机构已将 MOCA 列为动物肯定致癌剂, 人类潜在致癌剂<sup>[4]</sup>。机体免疫系统对外源性化学物质极为敏感。本次实验从体液免疫、细胞免疫、非特异性免疫及免疫器官脏器系数等方面探讨了 MOCA 对 BARB/C 小鼠免疫功能的影响。

在本实验条件下, MOCA 对小鼠的体液免疫功能和非特异性免疫功能表现出明显的抑制作用, 提示 MOCA 进入动物体内后, 可能首先引发体液免疫功能和非特异性免疫功能的改变, 细胞免疫功能的变化相对落后。

MOCA 对小鼠免疫功能的损伤作用, 可能与 MOCA 在体内的代谢过程有关。MOCA 在体内代谢时可形成活性中间产物, 其与组织氧反应生成活性氧自由基, 使细胞膜发生脂质过氧化, 损伤了细胞膜, 使膜流动性降低<sup>[5]</sup>。MOCA 对人类是否也有类似的作用尚需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 靳菊情. 长松萝多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国药杂志, 2003, 6: 431-433.
- [2] 王林跃. 补金片对小鼠免疫功能的影响 [J]. 长春中医学院学报, 2002, 18 (2): 52.
- [3] 张德明. 法氏囊提取物对小鼠免疫功能的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2002, 25 (3): 70-74.
- [4] WHO IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans [Z]. 1974, 4: 65-71.
- [5] 徐晓莹. MOCA 对大鼠红细胞膜流动性的影响 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 1998, 32 (6): 428-429.

## 镍对大鼠脑组织一氧化氮、一氧化氮合酶的影响

孙应彪, 朱玉真

(兰州医学院公共卫生学院, 甘肃 兰州 730000)

**摘要:** 给大鼠腹腔注射染毒硫酸镍 1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5.0 mg/kg, 每日 1 次, 连续 2 周。用原子吸收分光光度法检测脑组织中 Ni 含量; 酶法检测脑组织中一氧化氮 (NO) 含量和一氧化氮合酶 (NOS) 活性。结果显示硫酸镍腹腔注射染毒后脑组织中镍含量显著增多, 使一氧化氮合酶 (NOS) 活性增强的同时引起一氧化氮 (NO) 含量的升高。提示镍可透过血脑屏障进入脑组织, 引起一氧化氮 (NO) 过量合成而致中枢神经损伤。

**关键词:** 硫酸镍 (NiSO<sub>4</sub>); 中枢神经损伤; 一氧化氮 (NO); 一氧化氮合酶 (NOS)

中图分类号: O614.813 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)06-0376-02

### Effects of nickel sulfate on nitric oxide and nitric oxide synthase in brain tissues of rats

SUN Ying-biao, ZHU Yu-zhen

(School of Public Health, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** Nickel sulfate was injected intraperitoneally for normal Wistar rats with sexual maturation at varied doses of 1.25 mg/kg, 2.50 mg/kg and 5.00 mg/kg daily for two weeks. Brain homogenate of the rats was prepared. Content of nickel in brain tissues was assessed with atomic absorption spectrophotometry, and activity of nitric oxide synthase (NOS) and content of nitric oxide (NO) were examined by enzyme assay. Results showed that contents of nickel and NO in the brain tissues increased and activity of NOS boosted up significantly in the rats exposed to nickel sulfate. All these indicate that excessive exposure to nickel sulfate, which can permeate through the blood-brain barrier and accumulate in the brain tissues, can cause over-synthesis of NO and increase activity of NOS in the brain tissues of the rats so as to damage their central nervous system.

**Key words:** Nickel sulfate (NiSO<sub>4</sub>); Central nervous system; Injury; Nitric oxide (NO), Nitric oxide synthase (NOS)

镍是常见的工业和环境污染物之一。镍化合物是一类

多器官毒物, 可累及心、肝、肾、肺、血液等多种重要器官<sup>[1,2]</sup>。据报道可溶性镍盐动物急性毒性可致震颤、舞蹈症、瘫痪等神经系统症状及中枢神经系统水肿<sup>[3]</sup>。但镍化合物对中枢神经系统损伤机制的探讨, 国内外少见报道。因此, 本

收稿日期: 2003-08-21; 修回日期: 2003-10-08

作者简介: 孙应彪 (1967-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 重金属镍、铬、钴毒性及其防治。

文采用整体动物实验, 腹腔注射硫酸镍染毒, 探讨镍致神经系统损伤的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

Wistar 大鼠 40 只, 体重 ( $182 \pm 18.6$ ) g, 雌雄各半, 由兰州医学院实验动物中心提供。

### 1.2 试剂与仪器

硫酸镍: 西安化学试剂厂生产。组织匀浆机: YQ-3 型, 江苏江阴科研仪器厂。MG-361 型原子吸收分光光度计: 美国。754 型紫外可见分光光度计: 上海第三分析仪器厂。

### 1.3 方法

1.3.1 动物分组与剂量选择 健康 Wistar 大鼠 40 只, 随机分为 4 组: NS 组、硫酸镍 1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5.0 mg/kg 组, 腹腔注射染毒, 连续 2 周, 每日 1 次。

1.3.2 脑组织匀浆制备及指标检测 于染毒第 15 日处死大鼠, 头部用酒精消毒后, 剪去被毛, 剖开颅骨, 取出大脑, 用生理盐水洗净血污。称重后, 计算脏器系数。取一部分脑组织用原子吸收分光光度法测定 Ni 含量。取另一部分脑组织加入匀浆介质 (pH 7.4, 0.01 mol/L 蔗糖, 0.0001 mol/L EDTA-Na<sub>2</sub>, 0.01 mol/L tris-HCl 缓冲液), 用匀浆机制成 0.1 g/ml 的组织匀浆。低温冷冻离心机 1 000 r/min 离心 5 min, 取上清液待测。用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒检测脑组织中 NO 含量和 NOS 活性。脑组织 NOS 酶活力单位为: 每毫克脑组织蛋白每分钟生成 1 nmol NO 为一个酶活力单位 (U)。

## 2 结果

### 2.1 硫酸镍对脏器系数及 Ni 含量的影响 (见表 1)

表 1 硫酸镍对脏器系数及 Ni 含量的影响

| 组别             | 动物数 | Ni ( $\mu\text{g/g}$ ) | 脏器系数 (mg/g)     |
|----------------|-----|------------------------|-----------------|
| NS 组           | 10  | $0.028 \pm 0.004$      | $6.06 \pm 0.47$ |
| 1.25 mg/kg 染毒组 | 10  | $0.041 \pm 0.003^{**}$ | $6.12 \pm 0.94$ |
| 2.50 mg/kg 染毒组 | 10  | $0.063 \pm 0.008^{**}$ | $6.46 \pm 0.59$ |
| 5.00 mg/kg 染毒组 | 10  | $0.091 \pm 0.004^{**}$ | $6.17 \pm 0.61$ |

与 NS 组比较,  $^{**}P < 0.01$

由表 1 可见, 硫酸镍染毒后脑组织中 Ni 含量明显升高 ( $P < 0.01$ ), 随染毒剂量的增加而显著升高; 脏器系数有升高的趋势, 经统计学处理差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 硫酸镍对脑组织 NO、NOS 的影响 (见表 2)

表 2 硫酸镍对脑组织 NO、NOS 的影响

| 组别             | 动物数 | NO ( $\mu\text{mol/L}$ ) | NOS (U/mg prot)      |
|----------------|-----|--------------------------|----------------------|
| NS 组           | 10  | $15.76 \pm 4.78$         | $1.04 \pm 0.63$      |
| 1.25 mg/kg 染毒组 | 10  | $23.48 \pm 7.51^{*}$     | $1.74 \pm 0.51^{*}$  |
| 2.50 mg/kg 染毒组 | 10  | $42.32 \pm 8.96^{**}$    | $2.82 \pm 0.96^{**}$ |
| 5.00 mg/kg 染毒组 | 10  | $72.73 \pm 13.08^{**}$   | $4.14 \pm 1.48^{**}$ |

与 NS 组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$

由表 2 可见, NiSO<sub>4</sub> 可引起脑组织 NOS 活性升高, 使 NO 含量增多, 并且随染毒剂量的增加其效应强度也增加。

## 3 讨论

本次结果显示, 硫酸镍可导致脑组织 NOS 活性增强的同时使 NO 含量增多, 而 Ni 含量也显著升高。提示 Ni<sup>2+</sup> 可透过血脑屏障进入脑组织而致中枢神经损伤, 其机制可能与其引起 NO 增多有关。

一氧化氮(NO)既血管内皮舒张因子, 在生物体内可作为一种反应性极强的自由基, 同时又具有第二信使和神经递质作用, 在体内具有广泛的生理作用, 如松弛血管平滑肌, 抑制血小板聚集, 调节脑血流, 介导细胞毒效应和免疫调节, 参与学习和记忆等作用<sup>[4,5]</sup>。Ni<sup>2+</sup> 进入体内可诱导 NOS 的合成, 从而引起体内过量 NO 的产生, 造成组织和细胞的损害甚至死亡。因此, NOS 的诱导合成成为众多疾病的发病关键<sup>[9]</sup>。

体内过量 NO 的产生, 可能是通过下列机制导致神经系统损伤: (1) NO 通过超氧自由基起细胞毒作用, 脑组织中过量合成的 NO 与超氧自由基反应生成过氧亚硝酸根离子, 并进一步生成过氧亚硝酸或降解成羟自由基及 NO<sub>2</sub>, 从而造成细胞蛋白质、核酸及脂质膜的损伤<sup>[7]</sup>。(2) NO 抑制各种含铁-硫的酶, 导致线粒体呼吸酶系如顺乌头酸酶、细胞色素氧化酶等活性降低或失活, 阻断细胞内能量合成而损伤细胞<sup>[6]</sup>。(3) NO 引起内源性多巴胺 (DA) 大量释放而致神经毒性作用。(4) NO 可耗竭神经细胞内的能量而使细胞死亡, 从而激活多聚 ADP 核糖转移酶, 参与 NO 介导的神经毒性作用<sup>[8]</sup>。综上所述, Ni<sup>2+</sup> 引起脑组织 NO 含量升高可能是其神经毒性的机制之一, 其详细机制还有待于深入研究。

## 参考文献:

- [1] Nieboer E. Nickel and human health: current perspective [M]. New York, 1992. 37-48.
- [2] 刚葆琪, 庄志雄. 我国镍毒理学研究进展 [J]. 卫生毒理学杂志, 2000, 14 (3): 129-135.
- [3] 夏元洵. 化学物质毒性全书 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1991. 75-76.
- [4] Gross SS, Wolin MS. Nitric Oxide: Pathophysiological mechanisms [J]. Annu Res Physiol, 1995, 57: 737-769.
- [5] Rodeberg DA, Chaet MS, Bass RC, et al. Nitric Oxide: An overview [J]. Am J Surg, 1995, 170: 292-303.
- [6] 钟慈声, 孙安阳. 一氧化氮的生物医学 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1997. 107-199.
- [7] Radi R, Backman JS, Bush KM, et al. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide [J]. Arch Biochem Biophys, 1991, 288: 481-487.
- [8] Zhang J, Dawson VL, Dawson TM, et al. Nitric oxide deactivation of poly (ADP-ribose) synthase in neurotoxicity [J]. Science, 1994, 263: 687-689.