

乙醇而清出细胞^[10-12]。本实验结果显示,矽尘染毒后 Prxs I 蛋白从低剂量组开始表达便明显下降,Prxs VI 蛋白的表达减低在高剂量组更为显著,提示 Prxs 蛋白也可能参与了矽尘所致的肺纤维化。Lee 的研究^[13]亦显示矽尘能使人肺泡 II 型上皮细胞系 A549 细胞和 Rat2 细胞中 Prxs I、Prxs III 的表达下降,与本文的研究结果一致。

参考文献:

- [1] Zeidler P, Hubbs A, Battelli L, *et al.* Role of inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide in silica-induced pulmonary inflammation and fibrosis [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2004, 67 (13): 1001-1026.
- [2] 谢美荣,王章进,林翠英,等. 硫氧还原蛋白过氧化物酶 VI 在小鼠卵巢、输卵管和子宫中的分布 [J]. *解剖学研究*, 2008, 30 (6): 405-406.
- [3] Kim S U, Hwang C N, Sun H N, *et al.* Peroxiredoxin I is an indicator of microglia activation and protects against hydrogen peroxide mediated micro glial death [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31 (5): 820-825.
- [4] Lee Y M, Park S H, Shin D I, *et al.* Oxidative modification of peroxiredoxin is associated with drug-induced apoptotic signaling in experimental models of Parkinson disease [J]. *Biol Chem*, 2008, 283 (15): 9986-9998.
- [5] 傅春玲,霍艳英,胡迎春,等. Pten 基因敲除对过氧化物酶家族表达和活性氧水平的影响 [J]. *军事医学科学院院刊*, 2007, 31

(3): 201-203.

- [6] 胡永欣. 不同低氧暴露对人红细胞硫氧还蛋白过氧化物酶 Peroxiredoxin II 的影响 [J]. *广州体育学院学报*, 2012, 32 (3): 84-85.
- [7] 颜晟. 人抗氧化蛋白 Peroxiredoxin 1 和 2 的表达、纯化及功能研究 [D]. 华南理工大学硕士学位论文, 2012.
- [8] Wang X, Phelan S A, Forsman-Semb K. Mice with targeted mutation of peroxiredoxin 6 develop normally but are susceptible to oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (27): 25179-25190.
- [9] 杨柳,米黎,霍艳英. Peroxiredoxin 在 H₂O₂ 介导的信号通路中的作用 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2006, 26 (5): 417-419.
- [10] Park K J, Kim Y J, Kim J, *et al.* Protective effects of peroxiredoxin on hydrogen peroxide induced oxidative stress and apoptosis in cardiomyocytes [J]. *Korean Circ J*, 2012, 42 (1): 23-32.
- [11] Srinivasa K, Kim N R, Kim J, *et al.* Characterization of a putative thioredoxin peroxidase Prx I of candida albicans [J]. *Mol Cells*, 2012, 33 (3): 301-307.
- [12] Lee D H, Lim B S, Lee Y K, *et al.* Effects of hydrogen peroxide (H₂O₂) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2006, 22 (1): 39-46.
- [13] Lee H L, Kim Y S, Park J H, *et al.* Selectively decreased expression of peroxiredoxins induced by silica in pulmonary epithelial cells [J]. *Korean J Intern Med*, 2009, 24 (3): 220-226.

铝对小鼠的毒性及中药对其干预的实验研究

Experimental study on toxicity of alminum and its intervention by traditional Chinese Medicine in mice

何胜, 杨海龙, 黄炳臣, 韦凤整, 蓝晓惠, 吴艳, 张仲将, 张树球, 梁伟江

(右江民族医学院重金属与氟砷毒物研究实验室, 广西 百色 533000)

摘要: 将 60 只昆明种小鼠分为对照组、模型组、治疗 1 组、治疗 2 组。用氯化铝建立模型, 用两种剂型的中药口服液对治疗组灌胃, 水迷宫测定记忆功能。实验结束, 测定小鼠脑铝含量、乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性和血清胆固醇含量, 并做脑组织病理学检查。结果表明, 铝染毒小鼠大脑铝含量明显升高, 海马和皮质神经细胞受损, 导致大脑的 AChE 活力等改变, 中药治疗组有一定改善。

关键词: 铝; 海马; 乙酰胆碱酯酶; 中药

中图分类号: R332 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2014)05-0364-03

DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.05.018

重金属 (如铅、汞等) 是全球环境污染最主要的污染物之一, 其对人体的损害已不容置疑, 而且较为剧烈。铝为金

属元素, 过去长时间被视为无毒, 仅在近年来才被认为有一定毒性, 虽其毒性程度不如铅、汞等元素, 但被怀疑与痴呆症发病有关。李海、李韬等^[1-2]曾用铝来复制中毒模型, 探讨铝毒性引起大脑形态与功能变化及中药治疗效果, 但尚未找到大脑铝含量升高与其形态、特别是与记忆功能关系密切的海马部位变化的直接证据。为此, 本文仍以氯化铝复制毒性模型, 时间从 3 个月延长至 5 个月, 采用水迷宫方法测定中药治疗前后小鼠的记忆功能变化; 实验结束时, 测定对比各组大脑铝含量、AChE 等生化指标变化, 并观察大海马和皮质形态变化, 通过综合对比分析探讨铝的中毒作用机制和评价中药治疗效果。

1 试剂与方法

1.1 试剂

氯化铝、乙酸、硝酸、高铁氰化钾、氰化钾、磷酸氢二钾、Triton-100, 国产分析纯。AChE 试剂盒、总胆固醇 (TC)、尿素试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验动物及分组

选用昆明种小鼠 60 只, 右江民族医学院动物实验室提供 (动物实验许可证: SYXK 桂 2011-0010, 动物生产许可证号:

收稿日期: 2013-09-23; 修回日期: 2013-12-16

基金项目: 广西自然科学基金 (桂科自 0991282、桂科自 0499013)

作者简介: 何胜 (1962—), 男, 讲师, 研究方向: 环境毒理学及其解毒作用。

通讯作者: 杨海龙, E-mail: sqzhang224@163.com。

SCXK 桂 2012-0003), 鼠龄 3 个月, 雌雄各半。分成对照组、模型组、治疗 1 组、治疗 2 组。各鼠编号称体重, 分笼喂养, 每笼 5 只, 均用右江民族医学院动物室提供的混合饲料喂养。

1.3 治疗药物

中药复方口服液, 由金银花、茯苓、甘草等经加热水提取, 乙醇沉淀去杂质, 回收乙醇后, 药液定量分装灭菌制成, 依剂量差别分口服液 1 号和 2 号。

1.4 中毒模型的建立

除对照组外, 其余 3 组用 16 g/L 的 AlCl_3 水溶液, 按 640 mg/(kg·d) 拌饲料喂养 (动物室提供的标准饲料), 直至实验结束, 共 150 天 (5 个月)。自由饮用自来水。用水迷宫方法, 测定造模前后和治疗后小鼠的记忆功能, 参考文献 [1]。

1.5 治疗方法

造模到 120 d, 治疗 1 组和治疗 2 组开始分别用中药复方口服液 1 号和 2 号灌胃, 剂量每鼠用原液口服 [按 50 kg 体重成人剂量 10 ml/次, 3 次/d, 折算成 0.002 ml/(10 g·次), 大剂量为治疗 1 组, 用药量 $\times 10$; 小剂量为治疗 2 组, 用药量为 1/10, 加蒸馏水稀释至总液量 0.4 ml, 1 次/d, 至实验结束 (30 d)。对照组和模型组用等量的蒸馏水代替, 方法相同。

1.6 生化指标的测定

实验结束, 从小鼠眼球后静脉取血 0.8~1.0 ml, 离心取血清待用。处死动物, 取大脑, 一部分用 10% 甲醛处理做病理检查; 另一部分冰冻保存, 然后用生理盐水稀释成 10% 的匀浆液置于 4℃ 冰箱保存备用。测定脑匀浆 AchE 活力、血清 TC、尿素, 具体方法按试剂盒说明书操作。血红蛋白 (Hb) 测定, 从小鼠尾巴取全血 20 μl , 用氰化高铁 (HieN) 法测定, 具体操作参考文献 [3]。脑匀浆铝含量测定, 用原子吸收分光光度计测定 (德国椰那公司产品, 型号: novAA400p, 石墨炉)。

1.7 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件处理, 均数比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD 方法检验, 检验水准为 $\alpha=0.05$; 结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

2 结果

2.1 水迷宫潜伏期时间测定结果

造模前各组两两比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 造模后, 造模 3 组与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 造模成功。治疗后, 治疗 1 组与模型组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 提示治疗后有改善。详见表 1。

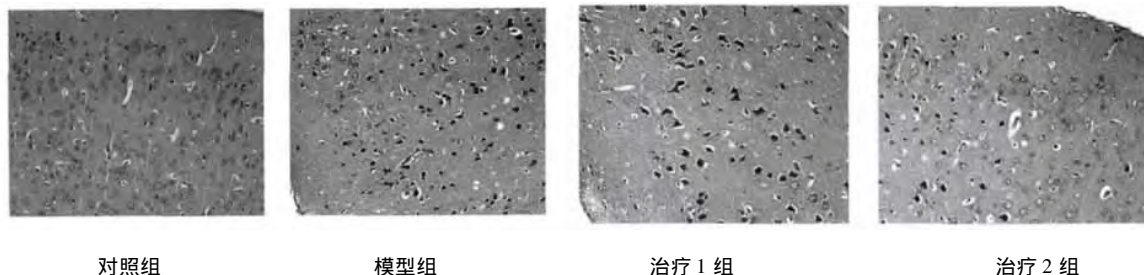


图 1 各组大鼠大脑病变病理结果 ($\times 200$)

3 讨论

3.1 铝经随饲料喂养, 通过肠道吸收, 进入大脑组织, 造成大脑中铝含量明显升高, 与文献报道一致^[4]。本实验经连续 5

表 1 造模前后及治疗后各组水迷宫潜伏期时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	造模前(s)	造模后(s)	治疗后(s)
治疗 1 组	20	4.45 $\pm$ 1.76	5.40 $\pm$ 2.69	3.81 $\pm$ 0.61
治疗 2 组	20	4.45 $\pm$ 1.53	5.49 $\pm$ 2.52	4.20 $\pm$ 1.42
模型组	20	4.32 $\pm$ 2.46	5.63 $\pm$ 1.78	5.18 $\pm$ 1.40
对照组	20	4.71 $\pm$ 2.17	4.02 $\pm$ 1.41	3.95 $\pm$ 1.02

2.2 脑 AchE 活力及铝含量测定结果

模型组脑铝含量明显高于对照组及治疗组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 对照组脑 AchE 活力明显低于其它 3 组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见表 2。

表 2 各组脑铝含量及脑 AchE 活力比较

组别	铝含量 ($\mu\text{g/L}$)	脑 AchE (U/mg·prot)
治疗 1 组	182.26 $\pm$ 20.43	2.26 $\pm$ 0.45
治疗 2 组	188.12 $\pm$ 25.83	2.92 $\pm$ 0.63
模型组	259.15 $\pm$ 23.01	3.31 $\pm$ 0.46
对照组	157.46 $\pm$ 4.20	1.55 $\pm$ 0.23

2.3 血清 TC、尿素和 Hb 含量测定结果

血清 TC 治疗 2 组和模型组明显高于对照组和治疗 1 组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 尿素含量模型组和治疗 1 组明显高于对照组和治疗 2 组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); Hb 模型组明显低于其它三组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见表 3。

表 3 血清 TC、尿素和 Hb 含量比较

组别	TC (mmol/L)	尿素 (mmol/L)	Hb (g/L)
治疗 1 组	5.95 $\pm$ 0.59	10.49 $\pm$ 0.38	128.47 $\pm$ 3.66
治疗 2 组	7.33 $\pm$ 0.85	9.30 $\pm$ 1.29	125.83 $\pm$ 3.63
模型组	7.25 $\pm$ 0.42	10.57 $\pm$ 1.13	119.61 $\pm$ 1.01
对照组	5.24 $\pm$ 0.40	8.62 $\pm$ 1.01	127.91 $\pm$ 5.14

2.4 大脑皮质和海马组织神经细胞、神经胶质细胞组织结构病理检查结果

对照组大脑海马组织和皮质神经细胞、神经胶质细胞无变性、坏死及溶解, 组织结构未见显著异常。模型组大脑海马组织和皮质神经细胞、神经胶质细胞广泛变性、坏死及溶解, 核固缩。治疗 1 组大脑病变程度与模型组基本一致, 但较轻。治疗 2 组大脑病变程度比模型组和治疗 1 组轻。见图 1。

个月高铝饲料的喂养, 模型组受高铝作用的影响最严重, 大脑中铝含量最高, 治疗组通过中药复方促进铝的排泄, 铝含量降低。

3.2 受高铝作用,模型组小鼠大脑皮质和海马组织神经细胞、神经胶质细胞广泛变性、坏死及溶解,核固缩,大脑皮质损害。对照组大脑皮质和海马组织结构未见显著异常。海马和大脑皮质是胆碱能神经元集中的部位,目前认为这是与记忆思维有关的区域,如果损伤会导致记忆功能的障碍,特别是海马区,治疗组通过中药促进铝的排泄作用,铝含量降低,因而损害虽有相似性,但较轻。水迷宫潜伏期时间测定结果显示,造模成功,治疗后有所改善。

3.3 受高铝作用,大脑皮质和海马组织神经细胞受损,导致神经递质乙酰胆碱(Ach)合成及分解的酶发生障碍。Ach的合成是由胆碱乙酰转移酶催化底物乙酰辅酶A和胆碱反应生成;AchE是催化Ach分解成乙酸和胆碱的酶^[5,6],前后两反应应保持平衡,以维持Ach正常含量稳定,从而维持神经传导功能正常进行。AchE活力的变化常常被作为这种平衡是否正常的判断指标。本实验对照组脑AchE活力明显低于造模的3组, $P < 0.01$,差异有统计学意义,说明造模组平衡已被破坏。但脑AchE活力变化也较复杂,在报道的实验中一般铝中毒时AchE活力降低,但也有结果是升高的^[7]。究其原因,一般认为与疾病的早期和晚期不同有关,或在不同的条件下机体可以通过调节其活性,保证神经递质Ach含量来维持神经传导功能,机体具有这种适应性代偿调节功能,因此在受到损害的早(前)、晚(后)不同时期可能会出现酶活性变化,因为组织受损是逐步进行的,从功能性到器质性,从可逆性到不可逆性。本实验表明,模型组大脑铝含量高,形态学和

记忆功能损害及酶学的变化也较严重,与高铝作用有着直接的密切相关;经中药治疗后好转,大剂量用药组疗效更加明显。

3.4 本实验中大鼠血清TC、尿素、Hb值在长期高铝喂养条件下受到一定影响,其意义尚待探讨。

(致谢:本单位病理教研室黄永秩老师、实验中心姜艳老师。)

参考文献:

- [1] 李海,玉莹,杨彩梅,等.铝致小鼠大脑形态与功能变化及中药治疗[J].中国工业医学杂志,2011,24(1):40-42.
- [2] 李韬,陈菊芳,玉莹,等.海尔福对铝致老年痴呆症小鼠治疗效果的实验研究[J].工业卫生与职业病,2012,38(4):224-227.
- [3] 叶应妩,王毓三.全国临床检验操作规程[M].2版.南京:东南大学出版社,1997:2.
- [4] 高丽萍,程书珍,王晓梅,等.铝对大鼠学习记忆及海马细胞凋亡影响[J].中国公共卫生,2009,25(2):214-215.
- [5] 张宝第,郭雄.铝致阿尔茨海默病的分子机制[J].国外医学医学地理分册,2003,24(1):16-18.
- [6] 官斌,李玉梅,马驹,等.不同工艺制品的补肾中药对拟痴呆小鼠乙酰胆碱酯酶活性和M-受体功能的影响[J].标记免疫分析与临床,1997,4(3):152.
- [7] 李海,刘小艳,陈莉,等.痴呆模型小鼠脑神经组织生化工程指标的改变及乌圆补血口服液对其重建的影响[J].现代中西医结合杂志,2010,19(20):2491-2493.

3,4-双(4'-氨基呋喃基-3')氧化呋喃小鼠急性经口毒性研究

Acute oral toxicity of 3,4-bis(4'-aminofurazano-3')furoxan in mice

王鸿¹,高俊宏¹,刘志永¹,岳红¹,李江平¹,卢青¹,张志忠²,周彦水²

(1. 兵器工业卫生研究所,陕西 西安 710065; 2. 中国兵器工业第二〇四研究所,陕西 西安 710000)

摘要:为探讨3,4-双(4'-氨基呋喃基-3')氧化呋喃(DATF)对小鼠的急性经口毒性,将70只SPF级昆明小鼠按体重随机分为7组,即阴性对照组和DATF剂量组,每组10只,雌雄各半。采用经口灌胃方式进行染毒,观察染毒后14d内动物的反应、体重变化和死亡情况。根据寇氏法计算小鼠经口LD₅₀雄性为1429 mg/kg,雌性1281 mg/kg,DATF属于低毒物质。

关键词:3,4-双(4'-氨基呋喃基-3')氧化呋喃;急性经口毒性试验;半数致死量

中图分类号:R994.3 文献标识码:B

文章编号:1002-221X(2014)05-0366-02

DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.05.019

3,4-双(4'-氨基呋喃基-3')氧化呋喃(DATF)是集呋喃、

氧化呋喃及氨基于一体的含能化合物,具有含氮量高、热安定性好、撞击感度和摩擦感度较低等特点,有着广泛的应用前景^[1]。检索国内外文献,尚未见关于DATF的毒理学资料报道,故进行本次急性经口毒性试验研究,为评价其安全性积累基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选择SPF级昆明小鼠70只,体重18~22g,由西安交通大学实验动物中心提供[合格证号:SYXK(陕)2007-001]。饲养于室温(23±2)℃、相对湿度50%~60%的动物实验室,标准饲料喂养,自由饮水,实验前适应性饲养3d。

1.2 材料

DATF为淡黄色粉末,纯度90%,由中国兵器工业第二〇四研究所提供,用食用玉米油配成混悬液。AW220型天平(d=0.1mg),日本岛津公司。

1.3 实验方法^[2,3]

采用寇氏法进行试验。设760、1000、1316、1732、2280、3000 mg/kg 6个染毒剂量组和1个阴性对照组,以最大0.2 ml/10 g

收稿日期:2013-11-05;修回日期:2014-01-20

基金项目:国家“十二五”预研项目(004020201)

作者简介:王鸿(1984-),男,主治医师,主要从事生物效应及毒理学研究。