

## 氟砷联合作用对大鼠骨密度影响的实验研究

杨海霞 姚娟 贺晓烨 李白艳

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)05-0393-04

**摘要:** **目的** 探讨在慢性氟砷染毒实验中观察氟砷联合作用对大鼠骨密度的影响。**方法** 实验采用析因设计,将 160 只 6 周大的 Wistar 大鼠随机均分至 16 组:低氟、中氟、高氟组,低砷、中砷、高砷组,低氟低砷、中氟中砷、高氟高砷组,低氟中砷、低氟高砷、中氟高砷、中氟高砷、高氟低砷、高氟中砷组及对照组。每组 10 只,雌雄各半,自由饮用含氟(高氟 200 mg/L、中氟 100 mg/L、低氟 50 mg/L)、砷(高砷 34 mg/L、中砷 8.5 mg/L、低砷 2.125mg/L)及其相应混合的水溶液。对照组饮用蒸馏水。喂养 2 个月、4 个月和 6 个月使用双能 X 线骨密度仪测量大鼠双侧股骨骨密度。**结果** 氟对骨密度的影响明显 ( $P < 0.05$ );砷对骨密度影响不显著 ( $P > 0.05$ );氟砷交互作用 ( $P > 0.05$ ) 不显著。**结论** 砷与氟在对骨密度改变上无明显联合作用。对骨密度的改变是氟对骨吸收、骨形成、骨矿化都起促进作用,而砷不影响骨密度,亦不影响氟致骨密度改变。

**关键词:** 大鼠; 氟; 砷; 联合作用; 骨密度

### Experimental study of combined effects of fluoride and arsenic on bone mineral density in rats

YANG Haixia, YAO Juan, HE Xiaohua, et al. Image Medical Center of the First Affiliated Hospital of Xinjiang University, Urumqi 830054, China

Corresponding author: LI Baiyan, Email: BYL318@163.com

**Abstract:** **Objective** To explore the combined effects of fluoride and arsenic on bone mineral density (BMD) in chronic fluoride-arsenic poisoned rats. **Methods** Factorial design was applied in the experiment. One hundred and sixty 6-week-old Wistar rats were randomly divided into 16 groups: low-, middle-, or high-dose of fluoride group; low-, middle-, or high-dose of arsenic groups; low-dose of fluoride and arsenic group; middle-dose of fluoride and arsenic group; high-dose of fluoride and arsenic group; low-dose of fluoride and middle-dose of arsenic group; low-dose of fluoride and high-dose of arsenic group; middle dose of fluoride and high-dose of arsenic group; high-dose of fluoride and low-dose of arsenic group; high-dose of fluoride and middle-dose of arsenic group; and control group. Ten rats, half of males and half of females, were in each group. Water containing high-dose (200mg/L), middle-dose (100mg/L), or low-dose of fluoride (50mg/L), high-dose (34mg/L), middle-dose (8.5mg/L), or low-dose (2.125mg/L) of arsenic was freely accessed by rats in the corresponding group for 6 months. Rats in the control group drank distilled water freely. BMDs of both femurs were examined with dual energy X-ray densitometry after 2-, 4-, or 6-month of feeding. **Results** The effect of fluoride on BMD was significant ( $P < 0.05$ ). The effect of arsenic on BMD was not significant ( $P > 0.05$ ). The combined effects of fluoride-arsenic on BMD were not insignificant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** No obvious combined effects of arsenic and fluoride were shown on BMD. The alteration of BMD by fluoride was due to its effect on bone resorption, formation, and mineral deposition. Arsenic can not affect BMD, and the impact of fluoride on BMD, either.

**Key words:** Rat; Fluoride; Arsenic; Combined effect; Bone mineral density

作者单位: 830054 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院影像中心(杨海霞、姚娟、贺晓烨、李白艳); 杨海霞原单位新疆医科大学第四附属医院影像中心, 现为在读研究生

通讯作者: 李白艳, Email: BYL318@163.com

慢性氟、砷中毒和氟砷联合中毒是三种常见的地方病和职业病。许多研究已经证明,氟、砷均是全身性毒物,对机体的各组织器官均有一定的损害作用。氟和砷的联合毒性对机体的影响是多方面的,据报道,消化系统、循环系统、泌尿系统、生殖系统、神经系统等都可受到氟、砷联合毒性的影响<sup>[1-3]</sup>。就目前而言,组织、细胞培养及动物实验结果可以肯定的是氟对骨骼的生长发育具有很大的影响<sup>[4-6]</sup>,砷对骨骼的直接毒性未见报道<sup>[7]</sup>,但砷是否能通过对氟影响间接对骨骼产生作用,进而影响骨密度的研究相对较少。为此我们通过慢性染毒动物试验探讨氟砷联合作用于机体时大鼠骨密度影响,为地方性氟砷中毒预防提供更为宽广、坚实的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

实验动物选用清洁级 Wistar 大鼠,由新疆医科大学动物实验中心提供体重 120 ~ 140g 的 160 只大鼠,雌雄各半。适应性饲养一周后按体重、性别随机分组。本试验按析因设计两因素四水平分为 16 组,每组 10 只:包括低氟、中氟、高氟组,低砷、中砷、高砷组,低氟低砷、中氟中砷、高氟高砷组,低氟中砷、低氟高砷、中氟低砷组,中氟高砷、高氟低砷、高氟中砷组及对照组。每组雌雄各半,分笼饲养。动物饲养室温度控制在 20 ~ 25℃,湿度控制在 50% ~ 60%,所有组均自由正常饮食,保证膳食平衡。

1.2 受试物及染毒方式和剂量

受试物是氟化钠 (NaF) 和亚砷酸钠 (NaAsO<sub>2</sub>),

均为分析纯。染毒方式为饮水法,即把 NaF 和 NaAsO<sub>2</sub> 配成不同浓度的水溶液让大鼠自由饮用。染毒剂量根据受试物的 LD<sub>50</sub> 确定。高剂量组约为 1/10 LD<sub>50</sub> (NaF 为每天 20 mg/kg, NaAsO<sub>2</sub> 为每天 3.4 mg/kg), NaF 以二倍递减法划分中、低剂量组, NaAsO<sub>2</sub> 以四倍递减法划分中、低剂量组,各剂量组染毒浓度为:高剂量组: NaF 200 mg/L, NaAsO<sub>2</sub> 34 mg/L;中剂量组: NaF 100 mg/L, NaAsO<sub>2</sub> 8.5 mg/L;低剂量组: NaF 50 mg/L, NaAsO<sub>2</sub> 2.125mg/L;对照组饮用蒸馏水。

1.3 实验方法

本实验周期为六个月,建立不同剂量氟、砷及氟砷联合染毒的大鼠模型,使用法国 DMS 公司生产的 Lexxos 型双能 X 线骨密度仪测量其双侧股骨骨密度变化情况 (每两月 1 次,连续 3 次)。仪器自检变异 1.2%,精密度 1% ~ 2%,准确度 0.5% ~ 1%。

1.4 统计分析

用 SPSS 17.0 统计软件处理所有数据,用均数加减标准差表示 ( $\bar{x} \pm s$ )。各组大鼠不同时间测量的骨密度比较采用三个重复测量因素的方差分析 (氟、砷和时间三个重复测量因素);染氟组组间比较及组内比较,若方差齐采用完全随机设计资料方差分析,再用 LSD 两两比较。若方差不齐采用秩和检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  为有显著性。

2 结果

2.1 各观察组不同时间测得骨密度结果见表 1。

表 1 各组大鼠不同时间测量双侧股骨平均骨密度结果 (g/cm<sup>2</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

|    | 二月            |               |               |               | 四月            |               |               |               | 六月            |               |               |               |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|    | 高氟            | 中氟            | 低氟            | 无氟            | 高氟            | 中氟            | 低氟            | 无氟            | 高氟            | 中砷            | 低氟            | 无氟            |
| 高砷 | 0.182 ± 0.027 | 0.179 ± 0.032 | 0.173 ± 0.013 | 0.188 ± 0.029 | 0.211 ± 0.020 | 0.195 ± 0.029 | 0.190 ± 0.028 | 0.183 ± 0.030 | 0.181 ± 0.063 | 0.211 ± 0.042 | 0.244 ± 0.044 | 0.161 ± 0.021 |
| 中砷 | 0.175 ± 0.019 | 0.179 ± 0.018 | 0.169 ± 0.013 | 0.172 ± 0.028 | 0.203 ± 0.032 | 0.192 ± 0.037 | 0.190 ± 0.030 | 0.182 ± 0.029 | 0.179 ± 0.053 | 0.223 ± 0.038 | 0.233 ± 0.028 | 0.186 ± 0.035 |
| 低砷 | 0.175 ± 0.022 | 0.177 ± 0.019 | 0.166 ± 0.025 | 0.180 ± 0.028 | 0.200 ± 0.048 | 0.188 ± 0.028 | 0.183 ± 0.041 | 0.182 ± 0.042 | 0.181 ± 0.053 | 0.221 ± 0.050 | 0.237 ± 0.045 | 0.191 ± 0.031 |
| 无砷 | 0.210 ± 0.023 | 0.196 ± 0.027 | 0.173 ± 0.021 | 0.169 ± 0.029 | 0.207 ± 0.042 | 0.216 ± 0.036 | 0.226 ± 0.057 | 0.180 ± 0.032 | 0.162 ± 0.035 | 0.236 ± 0.060 | 0.257 ± 0.060 | 0.183 ± 0.032 |

注:结果显示氟对骨密度的影响明显 (F = 9.974, P < 0.05);砷对骨密度影响不显著 (F = 2.161, P > 0.05),氟砷交互效应 (F = 0.901, P > 0.05) 不显著;时间的变化明显影响骨密度 (F = 22.638, P < 0.05);氟与时间的交互效应显著 (F = 15.055, P < 0.05);砷与时间的交互效应不显著 (F = 0.732, P > 0.05);氟、砷及时间三者的交互效应不明显 (F = 0.757, P > 0.05)

2.2 各染氟组组间比较及组内比较大鼠骨密度测定结果如表 2, 表 3。

由表 3 可见, 同组自身前后骨密度比较即各组组内骨密度比较, 高氟组: 2 月、4 月 > 6 月 ( $P < 0.05$ ), 2 月  $\approx$  4 月 ( $P > 0.05$ ); 中氟组: 2 月、4 月 < 6 月 ( $P < 0.05$ ), 2 月  $\approx$  4 月 ( $P > 0.05$ ); 低氟组: 2 月 < 4 月、6 月 ( $P < 0.05$ ), 4 月  $\approx$  6 月 ( $P > 0.05$ ); 对照组 2、4、6 三个月时的骨密度比较均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

由表 2 可见, 染毒 2 个月时骨密度比较: 高氟组、中氟组 > 低氟组、空白组 ( $P < 0.05$ ), 高氟组  $\approx$  中氟组, 低氟组  $\approx$  空白组 ( $P > 0.05$ ); 染毒 4 个月时骨密度比较: 高氟、中氟和低氟组 > 空白组 ( $P < 0.05$ ), 高氟组  $\approx$  中氟组  $\approx$  低氟组 ( $P > 0.05$ ); 染毒 6 个月后骨密度比较: 高氟组  $\neq$  中氟组  $\neq$  低氟组  $\neq$  空白组 ( $P < 0.05$ ), 且低氟组 > 中氟组 > 空白组 > 高氟组 ( $P < 0.05$ )。

表 2 染氟组组间骨密度比较 ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | 2 月                            | 4 月                            | 6 月                            |
|----|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 高氟 | 0.210 $\pm$ 0.023 <sup>a</sup> | 0.207 $\pm$ 0.042 <sup>a</sup> | 0.162 $\pm$ 0.035 <sup>a</sup> |
| 中氟 | 0.196 $\pm$ 0.027 <sup>a</sup> | 0.216 $\pm$ 0.036 <sup>a</sup> | 0.236 $\pm$ 0.060 <sup>b</sup> |
| 低氟 | 0.173 $\pm$ 0.021 <sup>b</sup> | 0.226 $\pm$ 0.057 <sup>a</sup> | 0.257 $\pm$ 0.060 <sup>c</sup> |
| 对照 | 0.169 $\pm$ 0.029 <sup>b</sup> | 0.180 $\pm$ 0.032 <sup>b</sup> | 0.183 $\pm$ 0.032 <sup>d</sup> |

注: 组间比较字母相同者,  $P > 0.05$ , 字母不同者,  $P < 0.05$

表 3 同剂量组自身前后骨密度比较 ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 时间  | 高氟                             | 中氟                             | 低氟                             | 对照                             |
|-----|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 2 月 | 0.210 $\pm$ 0.023 <sup>a</sup> | 0.196 $\pm$ 0.027 <sup>a</sup> | 0.173 $\pm$ 0.021 <sup>a</sup> | 0.169 $\pm$ 0.029 <sup>a</sup> |
| 4 月 | 0.207 $\pm$ 0.042 <sup>a</sup> | 0.216 $\pm$ 0.036 <sup>a</sup> | 0.226 $\pm$ 0.057 <sup>b</sup> | 0.180 $\pm$ 0.032 <sup>a</sup> |
| 6 月 | 0.162 $\pm$ 0.035 <sup>b</sup> | 0.236 $\pm$ 0.060 <sup>b</sup> | 0.257 $\pm$ 0.060 <sup>b</sup> | 0.183 $\pm$ 0.032 <sup>a</sup> |

注: 组内比较字母相同者,  $P > 0.05$ , 字母不同者,  $P < 0.05$

3 讨论

大鼠氟砷染毒后, 部分氟组和联合染毒组在染毒后一个月开始出现氟斑牙, 至染毒后两个月都出现氟斑牙, 证明本实验复制大鼠氟中毒模型是成功的; 染毒 6 个月后随机解剖染砷组、联合染毒组和对照组大鼠内脏, 发现前两者肝肾体积较大, 颜色明显较对照组深。染砷或氟砷联合染毒的肝组织显微镜下观察显示有肝细胞变性、炎症及点状坏死, 而且高剂量组较中、低剂量组严重。这与 Xie 等<sup>[8-11]</sup>发现相同, 表明大鼠肝组织的砷含量与暴露浓度呈正相

关, 也说明本实验成功复制大鼠砷中毒模型。以上说明本次实验建模比较满意, 得到以下结论: (1) 在实验各阶段, 砷对骨密度无显著影响; 对照组大鼠不同时间测得的骨密度无显著差异。这与人类相似: 在生长期, 骨量随着年龄的增长而增加, 这是由于骨骼尺寸的增加, 而骨骼的真实密度从出生到骨发育成熟是没有变化的<sup>[12]</sup>。骨密度从出生到老年基本保持不变<sup>[7]</sup>, 说明遗传因素对骨密度的变化起决定性作用。

(2) 本实验无论从同一剂量组不同时间测定的骨密度来看, 还是从同时相不同剂量组骨密度测定结果来看, 骨密度的变化与氟接触时间长短、剂量大小密切相关: 高剂量组在一定时间内骨密度达到峰值, 出现骨质硬化, 随后骨密度开始下降, 在随着时间的推移, 骨密度低于正常骨密度时, 部分大鼠出现骨质疏松、骨质软化。中、低剂量组在较短时间骨密度增加不是很多, 但是随着时间的延迟, 骨密度增加较前明显, 出现骨质硬化。氟是一种已知的可影响骨形成的非激素因子。氟化物对骨骼转换的基本作用是促成骨活跃, 但过量氟能刺激成骨及破骨活性, 可同时表现为加速新的骨形成与促进旧骨的吸收, 其作用强弱的差异导致骨形成和骨吸收间平衡的破坏, 使骨的新陈代谢呈现出病理状态, 使得骨密度改变错综复杂。氟化物这种作用的不均衡性的机理仍不十分清楚, 但氟化物是通过影响参与骨代谢的各个环节而影响骨密度的<sup>[13,14]</sup>。这是因为氟对成骨细胞、破骨细胞都有作用, 有些作用还是双向的<sup>[15,16]</sup>: 成骨细胞 (OB) 活动增强或破骨细胞 (OC) 活动减弱导致骨硬化 (BMD 高); OC 活动增强或 OB 活动减弱引起骨质疏松、骨软化 (BMD 低)。

(3) 氟和砷交互作用不显著, 表明两者对骨生长发育无明显联合作用。砷不影响氟在骨中的沉积, 亦不影响氟致骨密度改变或氟的骨毒性作用, 这与李达圣<sup>[17]</sup>等报道氟砷对大鼠骨组织无显著联合作用的结论一致, 与姚华<sup>[18]</sup>等报道砷拮抗氟在家兔骨骼中的沉积和拮抗氟的骨毒性的结论不一致。其原因可能与所用实验动物种属、暴露剂量及时间的不一致或其他未知因素造成有关。

综上所述, 大鼠氟砷染毒后, 砷与氟在对骨密度改变上无明显联合作用。在骨骼系统发生的改变是氟对骨吸收、骨形成、骨矿化都起促进作用, 而砷不影响氟在骨中的沉积, 亦不影响氟致骨密度改变。

【参 考 文 献】

[1] 刘开泰. 氟砷联合中毒的毒理学研究进展. 地方病通报,

- 1996,11(1):107-110.
- [ 2 ] Salgado-Bustamante M, Ortiz-Pérez MD, Calderón-Aranda E. Pattern of expression of apoptosis and inflammatory genes in humans exposed to arsenic and/or fluoride. *Sci Total Environ*, 2010, 408(4):760-767. Epub 2009 Dec 4.
- [ 3 ] Tang Y, Wang J, Gao N. Characteristics and model studies for fluoride and arsenic adsorption on goethite. *Environ Sci (China)*, 2010, 22(11):1689-1694.
- [ 4 ] 张素洁,张忠诚,徐祗云. 微量元素氟与人体健康. 微量元素与健康研究, 2007,24(2).
- [ 5 ] Bronckers ALJJ, Lyaruu DM, DenBesten PK. The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis. *J Dent Res*, 2009, 88, 877-893.
- [ 6 ] Alvarez JA, Rezende KM, Marcho SM, et al. Dental fluorosis: exposure, prevention and management. *Med Oral Patol Oral Cir Buca*, 2009, 14(2):E103-107.
- [ 7 ] 钱海雷,金泰庚. 氟砷对骨的联合毒性. 环境与职业医学, 2004, 21(3):169-171.
- [ 8 ] Xie YX, Trouba KJ, Liu J, et al. Germolec biokinetics and subchronic toxic effects of oral arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid, and dimethylarsinic acid in v-Ha-ras transgenic mice. *Environ Health Perspect*, 2004, 112: 1255-1263.
- [ 9 ] Garelick H, Jones H, Dybowska A, et al. Arsenic pollution sources. *Rev Environ Contam Toxicol*, 2008, 197:17-60.
- [ 10 ] Dilda PJ, Hogg PJ. Arsenical-based cancer drugs. *Cancer Treat Rev*, 2007, 33(6):542-564.
- [ 11 ] Guha Mazumder DN. Chronic arsenic toxicity & human health. *Indian J Med Res*, 2008, 128(4):436-447.
- [ 12 ] 段云波. 骨量、骨大小、骨密度和骨结构. 中国骨质疏松杂志, 2000,6(2):64-72.
- [ 13 ] Seeman E. From density to structure: growing up and growing old on the surface of bone. *J Bone Miner Res*, 1997, 12:1-13.
- [ 14 ] 高晨光,张爱君. 氟对运动系统的毒性作用. 中国地方病防治杂志, 2007,22(3):195-196.
- [ 15 ] 刘建军,徐洪兰,詹仲春. 氟骨症与骨密度变化. 实用预防医学, 2003,10(5):826-827.
- [ 16 ] 李广生. 氟骨症病理学中的若干概念问题. 中国地方病学杂志, 2000, 19(6):479-481.
- [ 17 ] 李达圣, TW Cutress, EIF Pearce. 砷、氟对大鼠骨组织联合作用的实验研究. 中国地方病防治杂志, 1996,11(3):134-136.
- [ 18 ] 姚华,王国基. 砷和氟急性联合作用的实验研究. 中华预防医学杂志, 1988,22(5):284-286.

(收稿日期: 2011-05-10)

## 新 书 推 荐

刘忠厚教授主编的第四本书《骨质疏松诊断》已于 2011 年 4 月由香港现代文艺出版社出版, 全书 708 页, 约 140 多万字, 收录了近年来国内外发表的骨质疏松诊断方面最新资料, 能够满足国内同道实际工作的需要。该书是在中国老年学学会骨质疏松委员会、中国骨质疏松杂志社共同支持下, 由国内外 110 多位专家学者历时两年共同编著而成的, 具有新、全、实用和直观的特点。参与编写的作者均为近年来在临床诊断与治疗、基础研究、流行病学及药学等一线工作的专家学者, 如骨科、内分泌、妇产科、老年病、放射科的青年专家和学者。该书售价每本 180 元, 邮寄和挂号费每本 15 元。联系人孟秀香。地址: 北京市朝阳区望京西园三区 309 楼 703 室, 100102

电话: 010-64705247 010-51520584 Email: occgs@126.com info@china-osteofound.org

中国骨质疏松杂志社

2011-05-15

# 氟砷联合作用对大鼠骨密度影响的实验研究

作者: 杨海霞, 姚娟, 贺晓烨, 李白艳  
作者单位: 新疆医科大学第一附属医院影像中心, 乌鲁木齐, 830054  
刊名: 中国骨质疏松杂志   
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF OSTEOPOROSIS  
年, 卷(期): 2011, 17 (5)

## 参考文献(18条)

1. 姚华;王国荃 砷和氟急性联合作用的实验研究 1988 (05)
2. 李达圣;TW Cutress;EIF Pearce 砷、氟对大鼠骨组织联合作用的实验研究 1996 (03)
3. 李广生 氟骨症病理学中的若干概念问题 2000 (06)
4. 刘建军;徐洪兰;詹仲春 氟骨症与骨密度变化 2003 (05)
5. 高晨光;张爱君 氟对运动系统的毒性作用 2007 (03)
6. Seeman E From density to structure: growing up and growing old on the surface of bone [外文期刊] 1997
7. 段云波 骨量、骨大小、骨密度和骨结构 2000 (02)
8. Guha Mazumder DN Chronic arsenic toxicity&human health 2008 (04)
9. Dilda PJ;Hogg PJ Arsenical-based cancer drugs [外文期刊] 2007 (06)
10. Garelick H;Jones H;Dybowska A Arsenic pollution sources 2008
11. Xie YX;Trouba KJ;Liu J Germolec biokinetics and subchronic toxic effects of oral arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid, and dimethylarsinic acid in v-Ha-ras transgenic mice 2004
12. 钱海雷;金泰庚 氟砷对骨的联合毒性 2004 (03)
13. Alvarez JA;Rezende KM;Marocho SM Dental fluorosis: exposure, prevention and management 2009 (02)
14. Bronckers ALJJ;Lyaruu DM;DenBesten PK The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis [外文期刊] 2009
15. 张素洁;张忠诚;徐祗云 微量元素氟与人体健康 2007 (02)
16. Tang Y;Wang J;Gao N Characteristics and model studies for fluoride and arsenic adsorption on goethite 2010 (11)
17. Salgado-Bustamante M;Ortiz-Pérez MD;Calderón-Aranda E Pattern of expression of apoptosis and inflammatory genes in humans exposed to arsenic and/or fluoride [外文期刊] 2010 (04)
18. 刘开泰 氟砷联合中毒的毒理学研究进展 1996 (01)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zggzsszz201105006.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201105006.aspx)