

砷中毒对大鼠骨密度影响的实验研究

杨海霞 刘佰林 栾立 孙梅 张鹏 李白艳

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2012)02-0146-03

摘要:目的 在慢性砷中毒实验中研究不同浓度砷对大鼠骨密度的影响。方法 Wistar 大鼠 40 只,雌雄各半,随机分为 4 组,其中 3 组高、中、低砷染毒组分别饮用砷 (As^{3-}) 浓度为 34、8.5、2.125 mg/L 的含砷水,对照组饮用蒸馏水。饲养 2、4 和 6 个月时使用双能 X 线骨密度仪测量大鼠双侧股骨骨密度 (BMD)。结果 各染砷组组间比较:染毒 2、4、6 个月时骨密度比较均为高氟组 \approx 中氟组 \approx 低氟组 \approx 对照组 ($P > 0.05$);各实验组组内骨密度比较:高砷组、中砷组、低砷组及对照组均为 2 月 \approx 4 月 \approx 6 月 ($P > 0.05$)。结论 不论染砷时间长短或浓度大小砷都不会显著影响大鼠的骨密度。

关键词: 大鼠; 砷中毒; 骨密度; 骨质疏松; 骨质硬化

Experimental study of the effect of arsenic poisoning on bone mineral density in rats YANG Haixia, LIU Bailin, LUAN Li, et al. Image Medical Center, The Fourth Affiliated Hospital of Xinjiang University, Urumqi 830054, China

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

Abstract: Objective To explore the effect of arsenic with different concentration on the bone mineral density (BMD) through the chronic arsenic poisoning experiment in rats. **Methods** Forty Wistar rats, 20 males and 20 females, were randomly classified into 4 groups. The rats in the high dose, middle dose, and low dose group were administered with the arsenic concentrations of 34, 8.5, and 2.125 mg/L, respectively. The rats in the control group were fed with water. The bilateral femoral BMD of rats was measured with dual-energy X-ray densitometry at the 2 months, 4 months, and 6 months after administration. **Results** The comparison of BMD among rats in the 4 different groups at the 2 months, 4 months, and 6 months after administration showed that BMD was nearly similar and there was no significant difference ($P > 0.05$). The comparison of BMD among different measuring time of rats in the 4 different groups showed that the BMD measured at 2 months was nearly similar to BMD measured at 4 months and 6 months in every group ($P > 0.05$). **Conclusion** No matter the time length or arsenic concentration, arsenic cannot significantly affect the BMD of rats.

Key words: Rat; Arsenic poisoning; Bone mineral density; Osteoporosis; Osteosclerosis

地方性砷中毒是指长期自饮用水、室内煤烟、食物等环境介质摄入过量砷而引起以皮肤色素脱失、着色、角化及癌变为主的全身性的慢性中毒表现^[1-3]。目前地砷病不仅在中国,在全世界也是共同的难题,正威胁着至少 22 个国家和地区的 5000 多万人口。亚洲有 12 个国家地下水的含砷量超过标准,全世界至少有 20 万人砷中毒,而我国又是受地砷病危害最为严重的国家之一^[4]。许多研究已经

证明,砷是严重危害人类健康^[5-7]的全身性毒物,对机体的各组织器官均有一定的损害作用。而砷对骨骼系统影响研究报道未见,究竟砷对骨密度有无影响还没有比较明确的答案,为此特进行本项实验来例证探讨,可望在砷中毒防治工作中另辟蹊径。

1 材料和方法

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 40 只大鼠,雌雄各半。适应性饲养 1w 后按体重、性别随机分为高砷,中砷,低砷染毒组和正常对照组。每组 10

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆医科大学附属自治区中医医院影像中心(杨海霞、刘佰林、栾立、孙梅);新疆医科大学第一附属医院影像中心(张鹏、李白艳)

通讯作者:李白艳,Email:BYL318@163.com

只,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

受试物是分析纯亚砷酸钠(NaAsO_2)。染毒方式为饮水法,即把含不同浓度的 NaAsO_2 水溶液让大鼠自由饮用。高、中、低染毒剂量组分别饮用 As^{3-} 浓度为34、8.5、2.125mg/L的含砷水,对照组饮用蒸馏水。

1.3 实验方法

本实验周期为6个月,建立不同剂量砷中毒的大鼠模型,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%,精确度1%~2%,准确度0.5%~1%。

1.4 统计学处理

用SPSS 17.0统计软件处理所有数据,用均数加减标准差表示($\bar{x} \pm s$)。染砷组组间、组内骨密度比较方差齐采用完全随机化设计资料方差分析,各组之间的两两比较采用LSD检验;若方差不齐采用Kruskal-Wallis多组秩和检验。检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为有显著性。

2 结果

各染砷组组间比较及组内比较,大鼠骨密度测定结果如表1表2。

由表1可见,各染砷组组间比较:染毒2、4、6个月时骨密度比较均为高砷组 \approx 中砷组 \approx 低砷组 \approx 对照组($P > 0.05$),即不同实验组的骨密度比较均无显著差异($P > 0.05$)。

表1 染砷组组间骨密度比较($\text{g}/\text{cm}^2, \bar{x} \pm s$)

组别	2月	4月	6月
高砷	0.188 ± 0.029	0.183 ± 0.030	0.161 ± 0.021
中砷	0.172 ± 0.028	0.182 ± 0.029	0.186 ± 0.035
低砷	0.180 ± 0.028	0.182 ± 0.042	0.191 ± 0.031
对照	0.169 ± 0.029	0.180 ± 0.032	0.183 ± 0.032

表2 染砷组组内自身前后骨密度比较($\text{g}/\text{cm}^2, \bar{x} \pm s$)

时间	高砷	中砷	低砷	对照
2月	0.188 ± 0.029	0.172 ± 0.028	0.180 ± 0.028	0.169 ± 0.029
4月	0.183 ± 0.030	0.182 ± 0.029	0.182 ± 0.042	0.180 ± 0.032
6月	0.161 ± 0.021	0.186 ± 0.035	0.191 ± 0.031	0.183 ± 0.032

由表2可见,同组自身前后骨密度比较即各组组内骨密度比较,高砷组、中砷组、低砷组及对照组

均为:2月 \approx 4月 \approx 6月($P > 0.05$),即同一实验组2、4、6个月时的骨密度比较均无显著差异($P > 0.05$)。

3 讨论

大鼠染毒6个月后解剖各染砷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。染砷组大鼠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^[8]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,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^[9]。骨密度从出生到老年基本保持不变^[10],说明遗传因素对骨密度的变化起决定性作用。

(2)在实验各阶段,砷对骨密度无显著影响。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,骨密度的变化与砷接触时间长短、剂量大小无显著相关关联。砷是危害人类健康的一种毒性元素,是一种常见的环境毒物和已知的人类致癌物,具有广泛的生物学效应。人类接触砷主要是在职业工作环境、自然环境以及含砷药物的医疗应用中。砷的毒理作用主要表现为抑制酶的活性;导致细胞凋亡;致癌。亚慢性砷中毒的主要表现为皮肤改变和某些周围神经系统症状,以及对器官系统的影响。砷与皮肤癌、膀胱癌、肺癌、肝癌、胃癌、前列腺癌及直肠癌等多种癌症的发生有密切关系。而砷对骨骼系统影响研究报道罕见,大致推测这与砷毒靶向性密切相关:砷毒不作用于骨骼系统。本项研究中,3次重复测量染砷组大鼠骨密度与对照组骨密度比较均未见显著差别。

(3)大鼠染毒6个月时处死大鼠在生物显微镜下观察股骨头下端组织形态,结果显示各染砷组大鼠骨小梁密集、排列整齐,无骨质疏松与骨质硬化表现,与正常对照组比较亦无显著差异。

综上所述,在慢性砷染毒实验中,例证砷对骨骼系统的骨吸收、骨形成、骨矿化无显著作用,亦不影响骨密度改变。本研究初步探讨了慢性砷中毒对大鼠骨密度无显著影响的变化过程,在总结经验的基

基础上,实验研究者需更进一步的研究来阐明神对骨骼系统无靶向性的机制。

【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, et al. Pattern of expression of apoptosis and inflammatory genes in humans exposed to arsenic and/or fluoride. *Sci Total Environ*, 2010, 408(4):760-763.
- [3] Flora SJ, Mittal M, Mishra D. Co-exposure to arsenic and fluoride on oxidative stress, glutathione linked enzymes, biogenic amines and DNA damage in mouse brain. *Neurol Sci*, 2009, 285(1-2):198-205.
- [4] Dubey SP, Gopal K, Bersillon JL. Utility of adsorbents in the purification of drinking water: a review of characterization, efficiency and safety evaluation of various adsorbents. *Environ Biol*, 2009, 30(3):327-329.
- [5] Timothy JW, Yajuan Xia, Kegong Wu, et al. Increased Mortality Associated with Well-Water Arsenic Exposure in Inner Mongolia, China. *Int. Environ Res Public Health*, 2009, 6(3):1107-1123.
- [6] Yajuan Xia, Timothy JW, Kegong Wu, et al. Well Water Arsenic Exposure, Arsenic Induced Skin-Lesions and Self-Reported Morbidity in Inner Mongolia. *Int. Environ Res Public Health*, 2009, 6(3):1010-1025.
- [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] 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.
- [10] 许保全, 安秀林, 苏文荣, 等. 实验性慢性氟中毒兔病理演变过程及机理探讨. 地方病通报, 1988, 3(1):6-10.

(收稿日期: 2011-08-02)

(上接第152页)

方式,都不能彻底解决椎体内骨缺损。椎体内植骨,它填充了缺损空间。消除了死腔,使骨折有良好的桥接,增加骨折部修复的原料。若骨质愈合原料缺乏,使缺损的空间不消除,一旦去除内固定器,去除其支撑作用后,椎体压缩会再度发生,手术失败。

可见,无论采用哪种手术方式,都要严格遵守手术适应症和禁忌症。这样,才能减少手术事故发生,减少手术并发症。术后骨折生理结构虽然得到了重建,由于骨质疏松的存在,还会出现类似的损伤,所以,针对性的个体化常期性进行抗骨质疏松治疗对预防和治疗骨质疏松性骨折损伤是十分重要和必要的。

【参 考 文 献】

- [1] 杨维权, 王魁, 孙荣华, 等. 老年骨质疏松椎体压缩骨折的经皮后凸成形术. 中国骨与关节损伤杂志, 2005, 20(7):434.
- [2] 吴继功, 邹德威, 马华松, 等. 椎体成形在胸腰椎压缩性骨折后的三维稳定性测试. 脊柱外科杂志, 2009, 7(1):49-52.
- [3] 余沛堂, 俞伟, 严建武. 椎弓根螺钉内固定及术中选择性减压治疗胸腰椎爆裂型骨折. 骨与关节损伤杂志, 2004, 19(4):262.
- [4] Lieberman IH, Dudeney S, Reinhardt MK, et al. Initial outcome and efficacy of "kyphoplasty" in the treatment of painful osteoporotic vertebral compression fractures. *Spine*, 2001, 26: 1631.
- [5] Keith H, Bridwell Ronald Dewald 主编. 胡有谷译. 脊柱外科学. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 2000. 1739.
- [6] 韩同坤, 朱海波, 豆庆寅, 等. 椎弓根钉内固定结合人工颗粒椎体成形术治疗新鲜胸腰椎骨折. 中国骨与关节损伤杂志, 2006, 21(2):112.
- [7] 朱裕成, 郑红兵. 后路复位椎弓根长短节段固定治疗严重胸腰椎骨折的临床疗效比较. 中国骨与关节损伤杂志, 2010, 25(9):777.
- [8] Tezeren G, Kuru I. Posterior fixation of thoracolumbar burst fracture short-segment pedicle fixation versus long-segment instrumentation. *J Spinal Disord Tech*, 2005, 18:458.
- [9] 沈忆新, 范志海, 郑祖根. 注射型硫酸钙椎体成形辅助椎弓根内固定治疗胸腰椎骨折. 中国骨与关节损伤杂志, 2008, 23(8):621.
- [10] 赵小丹, 刘浩, 王小兵, 等. 胸腰椎爆裂骨折椎间盘影像改变的相关临床应用研究. 中国骨与关节损伤杂志, 2009, 24(1):24.
- [11] 张光柏. 浅谈脊柱内固定的应用与植骨融合. 中国脊柱脊髓杂志, 2002, 12(5):325.

(收稿日期: 2011-08-22)

砷中毒对大鼠骨密度影响的实验研究

作者: 杨海霞, 刘佰林, 栾立, 孙梅, 张鹏, 李白艳

作者单位: 杨海霞, 刘佰林, 栾立, 孙梅(新疆医科大学附属医院自治区中医医院影像中心, 乌鲁木齐, 830000), 张鹏, 李白艳(新疆医科大学第一附属医院影像中心, 乌鲁木齐, 830000)

刊名: 中国骨质疏松杂志 

英文刊名: Chinese Journal of Osteoporosis

年, 卷(期): 2012, 18(2)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201202012.aspx