本文引用:吴辉,赵英政,徐光翠,等. 低剂量镉预处理对高剂量镉致胎鼠畸形作用的影响[J]. 新乡医学院学报,2014,31(8):622-624.

【基础研究】

低剂量镉预处理对高剂量镉致胎鼠畸形作用的影响

吴 辉, 赵英政, 徐光翠, 韩光亮, 张合喜
(新乡医学院公共卫生学院,河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 观察低剂量镉预处理是否对较高剂量镉对胎鼠的致畸作用存在拮抗作用,为环境中镉浓度控制提供依据。**方法** 采用随机区组法将60只Sprague-Dawley孕鼠分为4组,即对照组、实验1组(0.06 mg·kg^{-1} Cd^{2+}组)、实验2组(0.06 mg·kg^{-1} +5.00 mg·kg^{-1} Cd^{2+}组)、实验3组(5.00 mg·kg^{-1} Cd^{2+}组),每组15只。采用腹腔注射法染毒,每天测体质量,孕19 d颈椎脱臼处死孕鼠,剖腹检查子宫、卵巢形态,分别记录活胎数、吸收胎和死胎数,测活胎体质量、颅尾长和尾长,观察活胎外形。**结果** 实验2组和实验3组部分孕鼠卵巢出现积液和出血。实验2组、实验3组的吸收胎率和死胎率均高于对照组和实验1组,窝均体质量均低于对照组和实验1组($P<0.05$);实验2组死胎率和吸收胎率低于实验3组($P<0.05$),窝均体质量高于实验3组($P<0.05$);各组的肋骨畸形分布情况差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 腹腔注射0.06 mg·kg^{-1}的镉预处理可在一定程度上拮抗较大剂量镉对胎鼠的致畸作用。

关键词: 镉;大鼠;预处理;致畸作用
中图分类号: R965 **文献标志码**: A **文章编号**: 1004-7239(2014)08-0622-03

Influence of low dose cadmium pretreatment on teratogenic effect of fetal rats induced by high dose cadmium

WU Hui, ZHAO Ying-zheng, XU Guang-cui, HAN Guang-liang, ZHANG He-xi
(*Department of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang* 453003, *Henan Province*, *China*)

Abstract: **Objective** To observe whether the low dose cadmium pretreatment on fetal rats can antagonize the teratogenic effect induced by high dose cadmium, and provide the basis for the control of cadmium concentration in the environment. **Methods** A total of 60 pregnant Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group, experiment group 1 (0.06 mg·kg^{-1} Cd^{2+} dose group), experiment group 2 (0.06 mg·kg^{-1} Cd^{2+} +5.00 mg·kg^{-1} Cd^{2+} dose group) and experiment group 3 (5.00 mg·kg^{-1} Cd^{2+} dose group), 15 rats in each group. Intraperitoneal injection and daily weighing were adopted in these groups. Pregnant rats after 19 d were sacrificed by cervical dislocation. The uterine and ovarian morphology were checked by abdominal examination. The number of live births, resorption and fetal deaths were recorded, live fetus weight, tail length and tail length of skull were measured, the outlines of live fetus were observed. **Results** Ovarian effusion and hemorrhage occurred in experiment group 2 and 3. The stillbirth rate, absorbed fetus rate of experiment group 2 and 3 were significantly higher than those of control group and experiment group 1 ($P<0.05$) in which the average body weight in fossa were significantly lower than control group and experiment group 1 ($P<0.05$). The stillbirth rate and absorbed fetus rate in experiment group 2 were significant lower than those in experiment group 3 ($P<0.05$), while the average body weight in fossa was significantly higher than that in experiment group 3 ($P<0.05$). The rib deformity rate among the groups had significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** Intraperitoneal injection of 0.06 mg·kg^{-1} Cd^{2+} can antagonize the teratogenic effect induced by large dose of cadmium to a certain degree.

Key words: cadmium; rat; pretreatment; teratogenesis

镉在较高剂量下对机体的损害作用已得到广泛研究,其可引起骨骼、肾脏、肝脏的损伤,还有比较明显的生殖损害[1]。动物实验证明镉具有胚胎毒性,按照胚胎毒性学说[2],镉的致畸指数大于10[3]。但近年研究发现镉存在低剂量刺激、高剂量抑制的hormesis效应[4]。本研究通过低剂量镉预处理,观察其是否对较高剂量镉对胎鼠的致畸作用存在拮抗,为环境中镉浓度的控制提供依据。

DOI:10.7683/xxyxyxb.2014.08.008
收稿日期:2013-07-08
作者简介:吴 辉(1982-),男,河南镇平人,硕士,讲师,研究方向:社会医学、环境卫生与妇幼保健。
通信作者:张合喜(1958-),男,河南辉县人,博士,教授,研究方向:环境卫生与健康、基层医疗服务。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂 成年清洁级Sprague-Dawley

大鼠,体质量(220.0 ± 10.0)g,由新乡医学院实验动物中心提供,质量合格证批号:201226。饲养环境湿度为(50.0 ± 20.0)%,温度为(20.0 ± 2.0)℃,昼夜周期为 12/12 h,自由饮水进食,适应性喂养 1 周后,雌性与雄性大鼠以 2∶1 合笼,次日上午 9∶00 检查雌性大鼠是否有阴栓,并进行阴道涂片,以涂片精子阳性为妊娠标准,当日指定为妊娠第 1 天。共选用孕鼠 60 只,随机区组法分为对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组,每组 15 只。氯化镉为天津市开通化学试剂有限公司产品(分析纯)。

1.2　实验方法　对照组大鼠每日腹腔注射生理盐水 1 次,0.1 mL · kg^{-1} · d^{-1},连续注射 3 d。实验 1 组大鼠以 0.06 mg · kg^{-1} · d^{-1}的剂量(以 Cd^{2+}计)连续腹腔注射氯化镉 3 d。实验 2 组大鼠以 0.06 mg · kg^{-1} · d^{-1}的剂量连续腹腔注射氯化镉 3 d,第 3 天注射 8 h 后再以 5.00 mg · kg^{-1}腹腔注射氯化镉 1 次,第 7、11 天腹腔注射 5.00 mg · kg^{-1}的氯化镉各 1 次。实验 3 组每天腹腔注射生理盐水 1 次,连续 3 d,第 3 天注射 8 h 后再以 5.00 mg · kg^{-1}腹腔注射氯化镉 1 次,第 7、11 天腹腔注射 5.00 mg · kg^{-1}的氯化镉各 1 次。

1.3　观察指标　每天测孕鼠体质量,孕 19 d 颈椎脱臼处死孕鼠,剖腹检查左右子宫、卵巢形态,分别记录活胎、吸收胎和死胎数,测活胎体质量、颅尾长和尾长,观察活胎外形,用随机数字表法随机选取 1/3 胎鼠用 Bouin 液固定 1 周后切片,进行内脏畸形检查;2/3 胎鼠用体积分数 90% 乙醇固定,茜素红染色处理,透明后做骨骼畸形检查。

1.4　统计学处理　应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析、SNK 检验,多个独立样本率的比较采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验,两两比较采用 Nemenyi 法。检验水准 $\alpha = 0.05$。

2　结果

2.1　母鼠染毒后一般表现　对照组和实验 1 组大鼠整个孕期均未观察到中毒体征,实验 2 组和实验 3 组大鼠在染毒后有孕鼠出现活动减少、腹泻和脱毛。

2.2　各组孕鼠体质量变化　结果见表 1。随着孕期增加,各组孕鼠体质量均呈增长趋势,其中妊娠 0、6 d 各组孕鼠体质量比较差异无统计学意义($P > 0.05$);妊娠 12、19 d 各组间孕鼠体质量比较差异有统计学意义($F = 9.650, 32.601$, $P < 0.01$)。经 SNK 检验,孕 12 d 实验 2 组、实验 3 组孕鼠体质量与对照组比较差异均有统计学意义($t = 3.236, 4.660$, $P < 0.01$);孕 19 d 实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组孕鼠体质量与对照组比较差异均有统计学意义($t = 2.590, 3.401, 6.100$, $P < 0.01$)。

表 1　各组孕鼠孕期体质量变化

Tab. 1　Changes in body mass of pregnant rats during pregnancy in different groups　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	0 d/g	6 d/g	12 d/g	19 d/g
对照组	15	222.59 ± 10.42	244.67 ± 17.50	267.33 ± 16.70	359.60 ± 18.45
实验 1 组	15	217.20 ± 11.37	248.00 ± 15.61	267.00 ± 15.78	341.20 ± 17.34[a]
实验 2 组	15	221.53 ± 10.11	247.33 ± 12.15	259.83 ± 19.55[a]	324.20 ± 19.65[a]
实验 3 组	15	216.83 ± 11.00	240.53 ± 13.41	255.33 ± 18.05[a]	290.20 ± 14.11[a]

注:与对照组比较[a]$P < 0.05$。

2.3　各组孕鼠卵巢变化及胎鼠情况　结果见表 2。实验 2 组和实验 3 组部分孕鼠卵巢出现积液和出血。实验 2 组、实验 3 组的吸收胎率和死胎率均高于对照组和实验组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验 3 组死胎率和吸收胎率高于实验 2 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2　各组孕鼠卵巢变化及胎鼠情况

Tab. 2　Changes in ovarian of pregnant rats and the condition of fetal rats in different groups

组别	n	卵巢病变/只		仔胎情况/只				吸收胎率/%	死胎率/%
		积液	出血	仔胎	活胎	吸收胎	死胎		
对照组	15	0	0	166	148	10	8	6.02 ± 1.51	4.82 ± 1.66
实验 1 组	15	0	0	172	154	12	6	6.98 ± 1.19	3.49 ± 1.17
实验 2 组	15	2	1	138	115	12	11	8.70 ± 1.80[ab]	7.97 ± 1.66[ab]
实验 3 组	15	6	9	137	105	16	16	11.68 ± 1.82[abc]	11.68 ± 1.73[abc]

注:与对照组比较[a]$P < 0.05$;与实验 1 组比较[b]$P < 0.05$;与实验 2 组比较[c]$P < 0.05$。

2.4　各组活胎生长发育情况　结果见表 3。各组胎鼠窝均颅尾长、尾长比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。实验 1 组胎鼠窝均体质量与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);实验 2 组、实验 3 组胎鼠窝均体质量与实验 1 组和对照组比较均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);实验 3 组胎鼠窝均体质量低于实验 2 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5　对胎鼠的致畸作用　各组均未发现腹裂、短趾(指)、缺趾(指)、海豹足、短尾、卷尾等畸形;内脏形态检查未发现异常;骨骼检查发现各组胎鼠枕骨骨化不

全比例均较高;肋骨畸形包括短肋、断肋、波形肋和并肋等,以缺肋为主。经 Kruskal-Wallis H 检验,各组肋骨畸形分布情况差异有统计学意义($P<0.05$);经 Nemenyi 检验,实验 2 组、实验 3 组胎鼠肋骨畸形率均高于对照组和实验 1 组,实验 3 组胎鼠肋骨畸形高于实验 2 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 3 各组活胎体质量、颅尾长和尾长比较

Tab. 3 Comparison of body weight, tail length and tail length of skull of live fetuses among the groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	体质量/g	颅尾长/cm	尾长/cm
对照组	148	3.98 ± 0.33	3.55 ± 0.26	1.21 ± 0.11
实验 1 组	154	3.87 ± 0.17	3.69 ± 0.14	1.20 ± 0.19
实验 2 组	115	3.68 ± 0.17[ab]	3.59 ± 0.14	1.21 ± 0.21
实验 3 组	105	3.39 ± 0.23[abc]	3.53 ± 0.61	1.19 ± 0.22

注:与对照组比较[a]$P<0.05$;与实验 1 组比较[b]$P<0.05$;与实验 2 组比较[c]$P<0.05$。

表 4 各组胎鼠骨骼系统发育畸形情况

Tab. 4 Deformity of fetal rats skeletal development system in each group

组别	检查胎鼠/只	枕骨骨化不全/只(%)	肋骨畸形/只(%)
对照组	99	57(57.77)	1(1.01)
实验 1 组	103	48(46.75)	5(4.87)
实验 2 组	77	37(48.22)	12(15.72)[ab]
实验 3 组	70	40(57.14)	18(25.71)[abc]

注:与对照组比较[a]$P<0.05$;与实验 1 组比较[b]$P<0.05$;与实验 2 组比较[c]$P<0.05$。

3 讨论

镉是工农业生产必需的原材料,但镉污染也是当前面临的重要环境问题,对环境中镉浓度的控制程度是人们关注的焦点。研究表明,镉在低剂量下具有与高剂量不同的效应[5],盲目采用高剂量的结果对低剂量效应进行推测是不合理的。对镉的急性毒性试验研究显示,大鼠体质量会随着染镉剂量的增高而降低,并具有剂量-效应关系[6]。本研究中,各组孕期大鼠的体质量呈增长趋势,但在妊娠中晚期,实验组大鼠的体质量增长明显慢于对照组,说明高剂量镉抑制了孕鼠体质量的增加。

实验 2 组、实验 3 组胎鼠的吸收胎率、死胎率和肋骨畸形率均高于实验 1 组和对照组,窝均体质量低于实验 1 组和对照组,提示镉对胎盘有毒性作用,可以影响胎盘血流量,并引起胎盘硬化[7],在一定浓度镉的作用下,会产生较为明显的致畸作用。但本研究实验 1 组与对照组活胎的各项指标差异无统计学意义,提示较低剂量染镉,通过对母体及胎盘的毒性,作用于胎鼠的剂量可能不会引起明显的发育差异。在施加低剂量预处理因素后,发现实验 2 组的吸收胎率、死胎率和肋骨畸形发生率低于实验 3 组,窝均体质量高于实验 3 组。Singh 等[8]建立小鼠 1 型糖尿病模型,发现低剂量镉暴露增加了胰岛素的反应性;Wang 等[9]进行低剂量镉作用下的小鼠肝脏损伤亚慢性实验,发现低剂量镉减缓了持续的氧化损伤和细胞增殖。本研究虽然未观察到明确的肝、肾损伤,但其他指标的变化可能是低剂量预处理后拮抗了高剂量的致畸作用,推测可能是低剂量镉诱导大鼠产生抗氧化能力的适应性反应[10-11]。

本研究中骨骼系统畸形主要发生在枕骨骨化不全和肋骨畸形。有研究表明孕鼠在第 9 天后接触氯化镉后,其胎鼠表现有短趾(指)、缺趾(指)等畸形[12]。而本研究暴露相似的剂量,在外观上并未引起明显的胎鼠畸形,其可能原因为样本量较小,不足以观察到典型畸形。

本研究显示低剂量镉预处理能拮抗较高剂量镉的致畸作用,但有效确切的低剂量范围及能拮抗的较高剂量镉的阈值还需进一步研究。

参考文献:

[1] 吴锐,姬红蓉,沈国平. 铬对接触人群健康的影响[J]. 环境与职业医学,2011,28(5):304-305.

[2] Nielsen G D, Larsen S T, Wolkoff P. Recent trend in risk assessment of formaldehyde exposures from indoor air[J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(1):73-98.

[3] Simoniello P, Motta C M, Scudiero R, *et al*. Cadmium-induced teratogenicity in lizard embryos: correlation with metallothionein gene expression[J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2011, 153(1):119-127.

[4] Erofeeva E A. Hormesis and paradoxical effects of wheat seedling (triticum aestivum L.) parameters upon exposure to different pollutants in a wide range of doses [J]. *Dose Response*, 2013, 12(1): 121-135.

[5] 姬艳丽. 生命不同阶段镉暴露对雄性小鼠生殖发育的影响[D]. 合肥:安徽医科大学,2011.

[6] Pillet S, Rooney A A, Bouquegneau J M, *et al*. Sex-specific effects of neonatal exposures to low levels of cadmium through maternal milk on development and immune functions of juvenile and adult rats [J]. *Toxicology*, 2005, 209(3):289-301.

[7] Menai M, Heude B, Slama R, *et al*. Association between maternal blood cadmium during pregnancy and birth weight and the risk of fetal growth restriction: the EDEN mother-child cohort study[J]. *Reprod Toxicol*, 2012, 34(4):622-627.

[8] Singh P K, Baxi D, Diwedi R, *et al*. Prior cadmium exposure improves glucoregulation in diabetic rats but exacerbates effects on metabolic dysregulation, oxidative stress, and hepatic and renal toxicity[J]. *Drug Chem Toxicol*, 2012, 35(2):167-177.

[9] Wang B, Li Y, Shao C, *et al*. Cadmium and its epigenetic effects [J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(16):2611-2620.

[10] 赵英政,徐光翠,张利利,等. 低剂量镉诱导雄性大鼠抗氧化损伤能力的适应性反应[J]. 现代预防医学,2013,40(5):908-909.

[11] 赵英政,张利利,徐光翠,等. 壳聚糖对镉染毒大鼠肾脏中超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的影响[J]. 新乡医学院学报,2012,29(4):268-271.

[12] 徐忠美,王华,王振,等. 孕期补充锌减轻镉引起的小鼠胚胎发育毒性[J]. 安徽医科大学学报,2012,47(4):425-428.

(本文编辑:李胜利 英文编辑:王 燕)