

腹腔注射硫酸镍对 SD 大鼠幼鼠半数致死量的研究

史才财, 张兴儒, 李青松, 周欢明, 项敏泓

作者单位: (200040) 中国上海市, 上海中医药大学附属普陀医院眼科

作者简介: 史才财, 女, 硕士, 住院医师, 研究方向: 白内障、眼表泪液学疾病。

通讯作者: 张兴儒, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 副院长兼眼科主任, 中华中医药学会眼科分会委员, 上海市中医药学会眼科分会副主任委员, 上海市医学会眼科分会委员, 防盲学组组长, 上海市中西医结合学会眼科分会常务委员, 主持开展《镍及其化合物对晶状体损伤的研究》发表学术论文 17 篇, 主编出版《镍与健康研究概论》专著, 研究方向: 白内障、青光眼、眼视光学、眼表泪液疾病。zhangxingru928@hotmail. com

收稿日期: 2011-02-10 修回日期: 2011-03-11

Approach for LD50 of SD juvenile rats by intraperitoneal injection of nickel sulphate

Cai-Cai Shi, Xing-Ru Zhang, Qing-Song Li, Huan-Ming Zhou, Min-Hong Xiang

Department of Ophthalmology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200040, China

Correspondence to: Xing-Ru Zhang. Department of Ophthalmology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200040, China. zhangxingru928@hotmail. com

Received: 2011-02-10 Accepted: 2011-03-11

Abstract

• AIM: To observe the acute toxicity of nickel sulphate in SD juvenile rat, and to determine the LD50.

• METHODS: The LD100 in rat by *ip* injection was preliminarily measured to be 49.00mg/kg, and LD0 was 25.00mg/kg, then 70 rats were divided into 5 groups randomly, the doses of every group were 25.00mg/kg, 29.58mg/kg, 35.00mg/kg, 41.39mg/kg, 49.00mg/kg, the interval between groups was set at 1.183:1, software of SPSS 16.0 was used to calculate its LD50.

• RESULTS: The rats of every group showed poisoning reflection. 39 rats died, the mortality rate was 55.7%, and 11 rats died in 48 hours, the remaining 28 died in the next 5 days. The LD50 of nickel sulphate in juvenile rats by *ip* injection was 33.476mg/kg, with the 95% confidence interval of 33.476 ± 1.525mg/kg.

• CONCLUSION: The LD50 of SD juvenile rats with *ip* injection of nickel sulphate is 33.476mg/kg, which is credible.

• KEYWORDS: nickel sulphate; SD juvenile rat; intraperitoneal injection; LD50

Shi CC, Zhang XR, Li QS, et al. Approach for LD50 of SD juvenile

rats by intraperitoneal injection of nickel sulphate. *Guji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(5):785-787

摘要

目的: 观察硫酸镍腹腔注射对 SD 大鼠幼鼠的急性毒性作用, 测定半数致死量(LD50)。

方法: 通过估摸实验、预初实验测出 SD 大鼠幼鼠硫酸镍的 LD100 为 49.00mg/kg, LD0 为 25.00mg/kg, 再用 70 只 SD 大鼠幼鼠, 随机分成 5 组, 腹腔注射 2g/L 硫酸镍, 每组剂量分别为 25.00mg/kg, 29.58mg/kg, 35.00mg/kg, 41.39mg/kg, 49.00mg/kg, 按 1.183 倍递增。用 SPSS 16.0 软件 Bliss 法测定腹腔注射硫酸镍 LD50。

结果: 各组 SD 大鼠幼鼠在注射不同剂量硫酸镍后出现中毒反应表现, 70 只幼鼠中 39 只死亡, 死亡率为 55.7%, 其中 11 只幼鼠在 48h 内死亡, 其余 28 只在接下来的 5d 内相继死亡。SD 大鼠幼鼠腹腔注射硫酸镍 LD50 为 33.476mg/kg, 95% 可信区间为 33.476 ± 1.525mg/kg。

结论: SD 大鼠幼鼠腹腔注射硫酸镍 LD50 为 33.476mg/kg, 具有可信性。

关键词: 硫酸镍; SD 大鼠幼鼠; 腹腔注射; 半数致死量

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.05.011

史才财, 张兴儒, 李青松, 等. 腹腔注射硫酸镍对 SD 大鼠幼鼠半数致死量的研究. 国际眼科杂志 2011;11(5):785-787

0 引言

镍为人体必需的微量元素之一, 参与人体内的许多代谢, 有广泛的生物学作用^[1,2], 与许多参与晶状体生理反应的关键辅酶的活性密切相关^[2], 而硫酸镍是自然界中存在的最常见镍相关化合物。Swanson 等^[3]报告白内障患者晶状体镍含量明显高于透明晶状体, 差异有统计学意义。流行病学研究表明: 高镍地区白内障患病率明显高于低镍地区^[4-6]; 高镍地区白内障患者晶状体中镍含量高于低镍地区^[7,8]。硫酸镍对人晶状体上皮细胞的增殖具有明显抑制作用, 呈明显的剂量-效应关系, 并诱导细胞凋亡^[9-11]。为了进一步开展动物实验, 证实镍对晶状体的损伤, 测定硫酸镍对 SD 大鼠幼鼠腹腔注射的半数致死量(LD50), 进行硫酸镍腹腔注射的急性毒性实验研究, 现将研究报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2g/L 硫酸镍(NiSO₄·6H₂O): 上海中医药大学附属普陀医院中心实验室提供。SD 大鼠幼鼠, 雌雄不拘, 7~14d, 20~24g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 动物合格证号: SCXK(沪)2008-0016。大鼠的级别为 SPF 级, 在室温(23 ± 3)℃条件下饲养, 自由饮水和进食饲料。饲养条件以及使用符合《实验动物管理条例》(中国

表1 腹腔注射硫酸镍对SD大鼠幼鼠LD50预实验

硫酸镍剂量 (mg/kg)	对数 剂量	大鼠 数量	逐日死亡数(只)							死亡数 (只)	死亡率 (%)	P
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d			
30.00	1.48	7	0	0	0	0	0	0	3	3	44.6	0.446
38.34	1.58	7	0	0	0	0	3	3	0	6	85.7	0.857
49.00	1.69	7	0	3	3	1	-	-	-	7	100	1.00
62.62	1.80	7	0	6	1	-	-	-	-	7	100	1.00
80.00	1.90	7	3	3	1	-	-	-	-	7	100	1.00

注:P是死亡的百分比用小数点表示的概率。

表2 腹腔注射硫酸镍SD大鼠幼鼠LD50

硫酸镍剂量 (mg/kg)	对数 剂量	大鼠 数量	逐日死亡数(只)							死亡数 (只)	死亡率 (%)	P
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d			
25.00	1.40	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29.58	1.47	14	0	0	0	0	2	1	1	4	28.57	0.29
35.00	1.54	14	0	0	3	4	1	1	1	10	71.43	0.71
41.39	1.62	14	0	1	2	1	3	1	3	11	78.57	0.79
49.00	1.69	14	10	0	1	0	2	0	1	14	100	1.00

注:P是死亡的百分比用小数点表示的概率。

国家科学技术委员会1988-11-14颁布实施)、《上海市实验动物管理办法》(上海市人民政府1997-12-19颁布实施)。

1.2 方法

1.2.1 LD100及LD0的估摸实验 SD大鼠幼鼠8只,禁食不禁水12h,随机分成4组,称重,标记,第1组按30.00mg/kg硫酸镍腹腔注射,第2组按50.00mg/kg硫酸镍腹腔注射,第3组按70.00mg/kg硫酸镍腹腔注射,第4组按80.00mg/kg硫酸镍腹腔注射,观察1d。第4组在12h内死亡,前3组在24h内无死亡,考虑到硫酸镍迟发毒性的可能,故推测硫酸镍的LD100为80.00mg/kg,LD0为30.00mg/kg。

1.2.2 预实验 SD大鼠幼鼠7~14d,35只,禁食不禁水,随机分成5组,每组7只,在30.00~80.00mg/kg之间设5个剂量组,按1.278倍递增,分别为30.00,38.34,49.00,62.62和80.00mg/kg,分别进行腹腔注射,随后连续观察7d,2次/d,观察期保证喂养条件不变,详细记录出现的毒性反应和死亡情况,计算LD50及其95%的可信区间,记录中毒症状、中毒发生时间、恢复时间,死亡动物进行尸检,记录病变情况,若肉眼观察到变化比较明显应作病理切片检查。

1.2.3 急性毒性实验 在预实验的基础上(2g/L硫酸镍的LD100为49.00mg/kg,LD0为25.00mg/kg)进行急性毒性试验。70只SD大鼠幼鼠(7~14d),禁食不禁水,随机分成5组,每组14只,每组剂量分别为25.00,29.58,35.00,41.39和49.00mg/kg,按1.183倍递增。称重,记录并标记,用2g/L硫酸镍分别按上述剂量进行腹腔注射,随后同样连续观察7d,详细记录并观察大鼠是否出现耸毛、蜷卧、耳壳苍白或充血、突跟、步履蹒跚、肌肉瘫痪、呼吸困难、昏迷抽搐、大小便失禁等中毒症状,中毒恢复时间、死亡情况等。

统计学分析:采用SPSS 16.0软件中Bliss法统计分析。

2 结果

2.1 预实验结果 各组SD大鼠幼鼠在注射不同剂量硫酸

镍后,表现为行动迟缓、软弱无力、精神萎靡、呼吸困难、体温下降、腺体分泌物增多,最后衰竭死亡,死亡时出现大小便失禁、扭体动作等。35只幼鼠中有30只死亡,死亡率为85.7%,其中15只幼鼠在48h内死亡,其余15只在接下来的5d内相继死亡。49.00mg/kg的硫酸镍SD大鼠幼鼠全部死亡,推测硫酸镍的LD100为49.00mg/kg,用Bliss法得到其LD50为34.392mg/kg,其95%的置信区间为 34.392 ± 1.536 mg/kg,根据其各个剂量的死亡率算出其LD0为25.00mg/kg(SPSS 16.0软件结果)。随着硫酸镍剂量加大,幼鼠死亡率增加(表1)。死亡动物解剖肉眼观察,主要脏器未发现明显异常变化。7d后未死亡动物恢复正常状态,再连续观察7d,幼鼠摄食、活动、大小便正常、无特殊分泌物,处死动物解剖肉眼观察,主要脏器未发现明显异常。

2.2 急性毒性实验结果 各组SD大鼠幼鼠在注射不同剂量硫酸镍后,中毒反应表现与预实验中基本相符。注射硫酸镍溶液30min后,幼鼠表现为毛发蓬松、行动迟缓、反应迟钝、精神萎靡、腺体分泌增加、呼吸心跳均变慢、体温下降、口唇红肿,症状严重的则表现为呼吸加快、倒地喘息、身体僵冷,死亡前出现扭体动作等。本次实验70只幼鼠中39只死亡,死亡率为55.7%,其中11只幼鼠在48h内死亡,其余28只在接下来的5d内相继死亡。随着硫酸镍剂量的增加,大鼠死亡率也随之上升,最大剂量组(49.00mg/kg)在给药24h内就有70%大鼠死亡,其余死亡的大鼠主要集中在给药5d后相继死亡。死亡动物解剖肉眼观察,主要脏器未发现明显异常变化。7d后未死亡动物恢复正常状态,再连续观察7d,幼鼠摄食、活动、大小便正常、无特殊分泌物。处死动物解剖肉眼观察,主要脏器未发现明显异常。用SPSS 16.0软件中Bliss法得到硫酸镍的LD50 = 33.467mg/kg,其95%的置信区间为 33.476 ± 1.525 mg/kg,所得数据可靠(表2)。

3 结论

镍与白内障的发病有着密切的联系^[1,2],而国内职业性接触镍所涉及的作业和生产达30多种,其中主要有镍

矿开采、选矿、冶炼、不锈钢冶炼、镍电镀等,这些职业的人群更加容易受到镍的危害。近年来,国内外学者对镍的危害及机制做了许多研究工作^[9-11],但是对镍致白内障发病机制方面的研究尚不够深入和明确,缺乏镍对晶状体损伤的动物实验研究。

王晓辉等^[12]在硫酸镍致雌性小鼠卵巢损伤的研究中,用硫酸镍腹腔注射染毒 LD50 为 40mg/kg。本次估摸实验中腹腔注射硫酸镍的估摸剂量定为 30.00 ~ 80.00mg/kg 之间。8 只 SD 大鼠幼鼠随机分成 4 组,第 1 组按 30.00mg/kg,第 2 组按 50.00mg/kg,第 3 组按 70.00mg/kg,第 4 组按 80.00mg/kg,观察 1d。第 4 组在 12h 内死亡,前 3 组在 24h 内无死亡,考虑到硫酸镍迟发毒性的可能,故推测硫酸镍的 LD100 可能为 80.00mg/kg,LD0 可能为 30.00mg/kg。通过腹腔注射硫酸镍对 SD 大鼠幼鼠 LD50 估摸实验,为预实验提供了一个可靠的依据。

在估摸实验的基础上,选择 35 只 SD 大鼠幼鼠,在 30.00 ~ 80.00mg/kg 之间设 5 个剂量组,按 1.278 倍递增,分别进行腹腔注射。15 只幼鼠在 48h 内死亡,其余 15 只在接下来的 5d 内相继死亡,死亡率为 85.7%。49.00mg/kg 组 SD 大鼠幼鼠全部死亡,推测硫酸镍的 LD100 为 49.00mg/kg,用 Bliss 法得到其 LD50 为 34.392mg/kg,根据其各个剂量的死亡率得出 LD0 为 25.00mg/kg。

在预实验的基础上再进行急性毒性实验。70 只 SD 大鼠幼鼠,随机分成 5 组,每组剂量为 25.00,29.58,35.00mg/kg,41.39 和 49.00mg/kg,按 1.183 倍递增。用 2g/L 硫酸镍分别按上述剂量腹腔注射,各组 SD 大鼠幼鼠在注射不同剂量硫酸镍 30min 后,幼鼠表现为毛发蓬松、行动迟缓、反应迟钝、精神萎靡、腺体分泌增加、呼吸心跳均变慢,体温下降,口唇红肿,症状严重的则表现为呼吸加

快、倒地喘息、身体僵冷,死亡前出现扭体动作等。本次实验 70 只幼鼠中 39 只死亡,死亡率为 55.7%,用 SPSS 16.0 软件中 Bliss 法得到硫酸镍的 LD50 = 33.467mg/kg,其 95% 的置信区间为 33.476 ± 1.525 mg/kg,所得数据可靠,从而为进一步研究镍对晶状体损伤提供了动物实验依据。

参考文献

- 1 贾丹,张兴儒. 镍与白内障相关性研究进展. 眼外伤职业眼病杂志 2007;29(12):979-980
- 2 史才财,张兴儒,李铁捷. 镍及其化合物对晶状体损伤的研究进展. 国际眼科杂志 2009;9(3):514-516
- 3 Swanson AA, Truesdale AW. Elemental analysis in normal and cataractous human lens tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1971;45(6):1488-1496
- 4 张兴儒,王佩秋,郭根来,等. 镍钴作业对人眼损伤的初步研究. 中华眼科杂志 1995;31(2):151
- 5 张兴儒,王佩秋,郭根来,等. 镍钴作业对人眼损伤的初步研究. 眼科 1993;2(4):226-231
- 6 张兴儒,王佩秋,郭根来,等. 镍钴作业人员晶状体混浊调查研究. 眼外伤职业眼病杂志 1997;19(3):84-87
- 7 张兴儒,项敏泓,张贵荣. 镍矿作业者白内障晶状体中镍含量的测定. 眼外伤职业眼病杂志 2006;28(5):328-329
- 8 张贵荣,项敏泓,张兴儒,等. 石墨炉原子吸收光谱法测定不同镍环境下人眼晶状体的镍量. 分析试验室 2006;25(4):72-75
- 9 贾丹,张兴儒,张隆,等. 硫酸镍对人眼晶状体上皮细胞抑制作用的研究. 眼科研究 2008;26(6):455-457
- 10 张兴儒,贾丹,张隆,等. 硫酸镍与茛菪解毒汤对人晶状体上皮细胞中 HSP27 表达的影响. 国际眼科杂志 2008;8(8):1551-1553
- 11 贾丹,张兴儒,刘龙民,等. 茛菪解毒汤防治硫酸镍致晶状体上皮细胞损伤的实验研究. 中国中医眼科杂志 2008;18(3):141-144
- 12 王晓辉,朱玉真. 硫酸镍致雌性小鼠卵巢损伤作用. 中国公共卫生 2007;23(2):212-213