

大鼠缺铜与慢性镉中毒

吴景初

(浙江医科大学)

日本公害病——“痛痛病”的病因是铅锌矿含镉废水污染了河水及灌溉区农田，使大米、蔬菜及水产品中镉含量增高，人们长期食用引起慢性中毒。该病对机体的损伤主要是肾小管功能失调综合症。经产妇女和营养不良、日照不足及雌激素低落等因素与发病有关。然而，尸体解剖发现有的痛痛病人肾小管没有病变。动物实验发现，镉引起骨骼病变的阈浓度（10ppm）要比引起肾脏病变的阈浓度（50ppm）低得多。许多调查及实验研究都证明单纯慢性镉中毒不出现骨骼病变或仅出现骨皮质变薄骨质疏松。在机体缺钙、低蛋白、低维生素D水平时才出现骨软化症、骨样组织增生，故迄今发病机制不清楚。我省铅锌矿资源非常丰富。近年来，我们用水生态毒理学方法证明镉有较强的胚胎毒性^[2]，对水生生态系统的破坏性很大。实验还证明，镉一旦被生物所富集，能使体内铜含量迅速下降，破坏金属内环境的平衡。^[3]鉴于铜是赖氨酰氧化酶的组成部分，该酶对骨胶原成熟及形成共价交联（Cross-Linking）起决定作用^[4]。我们给雌性大鼠饮水中加氯化镉染毒同时饲以低铜饲料观察铜水平降低时能否出现骨骼病变，病变情况为何种形式？部分大鼠饮水中补充铜、铁与锌观察能否有预防效果。实验证明镉进入机体后，血清、肾、肝及骨骼中铜含量显著下降（ $P < 0.01$ ），金属内环境平衡失调。X线拍片看到染毒组出现骨质疏松及骨皮质变薄，并于肱骨及股骨出现横纹线多处，胫骨呈新月形弯曲。补充铜、铁和锌的效果未能肯定，现将结果报告。

一、材料和方法

成年雌鼠40只，体重400克左右，分成五组，每组8只，分别关养在盖有玻璃的水泥槽内，下垫白磁盘，杜绝与金属接触。大鼠全部食用含铜仅2毫克/公斤的植物性饲料。对照组（I组）饮去离子水，染毒组全部饮含镉40毫克/升、用氯化镉及去离子水配制的溶液，并分成四组、分别补充铜、铁和锌。总的分组如下：

I组对照组，与染毒组一样摄取低铜饲料，饮水为去离子水。

II组单纯给含镉40毫克/升的饮水，简称镉组。

III组除在饮水中给40毫克/升镉外，加硫酸铜使饮水铜含量达2毫克/升，简称铜组。

IV组除在饮水中给40毫克/升镉外，加硫酸亚铁使饮水铁含量达2毫克/升，简称铁组。

V组除在饮水中加40毫克/升镉外，加硫酸锌使饮水锌含量为3毫克/升，简称锌组。

饮水及饲料皆自由进食，并补充食盐。每鼠每天饮水约20~25毫升，摄取饲料20克左右。

实验中，每组抽2只大鼠，麻醉后作骨骼X线拍片检查。实验结束后，大鼠用颈椎脱臼处死，取血及内脏样本后，每组抽半数以上大鼠拍X线片，共拍17只大鼠，再取股骨样品供分析镉、铜、铁、锌和钙。对个别大鼠的股骨还作了病理切片检查。

实验期间，大鼠中暑死亡10只，实验结束时尚存30只。

血清中铜含量测定系将血清稀释后，直接用AA—610S日本岛津原子吸收分光光度计测

定。肾、肝和骨骼中金属含量测定时，先将组织在110°~120°C烘箱内烘干，取样后在马福炉内500°C以下灰化16小时，待灰分呈灰白色，用优级纯浓硝酸溶解灰分，稀释、过滤、定容至50毫升，于原子吸收分光光度计上测定。结果以干重表示。

AA—610S型原子吸收分光光度计测定有关金属的波长为：铜3247A°、锌2138A°、镉2288A°；铁2485A°；钙4225A°。

二、实验结果

实验总共进行了167天。除夏天高温外，大鼠食欲未见明显减退。染毒组饮水量明显地低于对照组，有时拒绝饮水。后期活动减少。除对照组及锌组外，体重明显下降。

(一)大鼠血清中铜含量测定结果

大鼠血清中铜含量测定结果见表1。

大鼠血清中铜含量测定结果

表 1

组 别	I	II	III	IV	V
鼠 数(只)	6	5	6	7	6
铜 含 量(微克/毫升)	1.563±0.383	0.270±0.135	0.560±0.222	痕 迹	痕 迹

从表1可以看出，染毒组血清中铜含量显著地低于对照组 ($P<0.01$)，其中铁、锌两组仅痕迹量。铜组血清中铜含量有所增高，但仍比对照组低得多 ($P<0.01$)。

(二)大鼠肾脏中镉、铜、铁、锌与钙含量测定结果。

肾脏为镉富集最高的脏器，染毒组肾镉高达219.93~364.64毫克/公斤，比对照组高出100倍之多。除镉升高外，另一方面，铜含量明显降低 ($P<0.01$)，其中补充铁与锌的两组更为严重，和血清中表现相一致。铜组的肾铜含量未见明显下降。肾脏铁和钙的含量在染毒组均明显下降 ($P<0.01$)，锌含量则反而上升 ($P<0.05$)，这些数据显示了镉对铜的影响及金属内环境平衡失调，见表2。

肾脏中镉、铜、铁、锌与钙的含量

表 2

组 别	鼠数(只)	镉(毫克/公斤)	铜(毫克/公斤)	铁(毫克/公斤)	锌(毫克/公斤)	钙(毫克/克)
I	6	2.68±0.68	32.25±5.60	576.98±61.35	87.24±9.60	2.47±0.37
II	5	219.93±98.34	28.35±10.74	300.44±101.60	111.79±5.35	1.74±0.49
III	6	247.05±71.56	35.47±4.58	308.49±76.83	121.93±21.93	1.82±0.45
IV	7	364.64±84.00	22.96±7.62	242.81±58.07	134.62±16.99	1.95±0.49
V	6	292.99±40.09	23.55±4.22	291.98±61.35	136.27±15.60	2.04±0.12

(三)大鼠肝脏中镉、铜、铁、锌与钙的含量

大鼠肝脏中镉含量染毒组在48.03~77.08毫克/公斤之间，比对照组高出100倍以上。详见表3。

肝脏铜的含量从平均数看，仅镉组及锌组略有下降，在统计学上无明显意义。但从各个大鼠肝铜测定结果观察，有的铜含量低至仅7.14毫克/公斤。铁含量在染毒组有下降的趋势，其中镉组与锌组尤为明显 ($P<0.05$)，钙的含量则反而增高。铜组的肝铜含量略高于对照

大鼠肝脏中镉、铜、铁、锌与钙的含量

表 3

组 别	鼠数(只)	镉(毫克/公斤)	铜(毫克/公斤)	铁(毫克/公斤)	锌(毫克/公斤)	钙(毫克/公斤)
I	6	0.46±0.127	14.1±7.86	364.73±133.41	63.05±18.85	181.45±17.94
II	5	60.10±12.62	12.12±3.61	198.55±97.97	122.14±12.62	288.02±108.04
III	6	71.31±18.12	15.97±5.87	210.05±62.05	167.44±71.02	324.89±247.14
IV	7	77.08±13.27	14.51±5.34	255.89±66.42	188.03±68.33	251.70±65.87
V	6	48.03±12.57	11.47±5.10	126.98±114.01	114.01±22.11	241.74±35.87

组, 铁组的肝铁含量也略高于其它染毒组。

(四) 大鼠骨骼中镉、铜、铁、锌和钙的含量

大鼠骨骼中金属含量测定结果表明, 镉的含量升高不太多, 染毒组中除锌组外, 铜的含量均明显地低于对照组 ($P < 0.01$)。其它金属未见明显变化, 见表 4。

大鼠骨骼中镉、铜、铁、锌和钙的含量

表 4

组 别	鼠数(只)	镉(毫克/公斤)	铜(毫克/公斤)	铁(毫克/公斤)	锌(毫克/公斤)	钙(毫克/克)
I	6	0.71±0.112	8.69±0.89	55.24±4.50	174.46±25.17	397.27±37.09
II	5	1.87±0.939	7.45±1.23	42.41±10.91	180.38±20.20	385.03±20.63
III	6	1.45±0.209	6.36±0.87	58.01±17.60	190.1±11.70	419.34±42.16
IV	7	1.34±0.115	7.59±1.23	43.90±18.98	164.23±13.42	414.96±40.93
V	6	1.22±0.114	8.46±1.39	48.40±12.85	170.25±13.37	428.50±80.54

(五) 大鼠体重变化情况

实验开始时, 动物的体重, 在各组之间没有差异。实验期间体重下降, 但对照组及锌组的体重略为下降与实验前比较没有显著性差异。镉组、铜组及铁组则均有明显的差异 ($P < 0.05$), 其中镉组体重下降最为明显, 有的大鼠体重下降100克以上。大鼠实验前后体重变化的情况见表 5。

大鼠实验前后体重变化情况

表 5

组别	实 验 前		实 验 后		组别	实 验 前		实 验 后	
	鼠数(只)	平均体重(克)	鼠数	平均体重(克)		鼠数(只)	平均体重(克)	鼠数	平均体重(克)
I	8	353±40.33	6	338±46.55	IV	8	366.25±33.78	7	327.57±31.28
II	8	368.75±36.42	5	267.4±48.27	V	8	385±39.78	6	333.57±47.24
III	8	370±68.66	6	289.33±25.55					

(六) 大鼠骨骼X线拍片检查结果

大鼠X线拍片骨骼检查, 在实验开始后二个月进行了一次, 抽部分大鼠检查, 没有发现任何病变。实验结束后每组抽3—4只, 共拍骨骼X线片17只大鼠。其中I组检查3只, II组4只, III组3只, IV组3只及V组4只。对照组未见骨骼有异常变化。染毒组出现骨质疏松及程度不一致的骨皮质变薄, 肱骨及股骨处出现横纹线, 骨较脆, 稍碰就断, 胫骨与第一次拍片比较呈新月形弯曲, 但对照组胫骨亦稍有弯曲, 详见照片1~6。

慢性镉中毒大鼠骨骼x线拍片结果

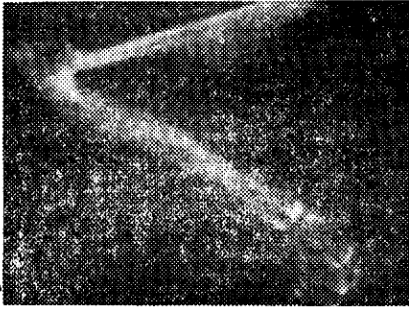


图 1 对照鼠前肢骨 (30号鼠)

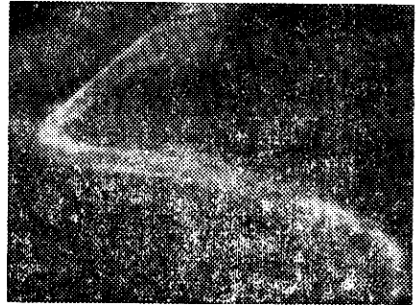


图 2 1号鼠 (镉组) 前肢骨, 皮质变薄, 骨质疏松, 出现横纹。

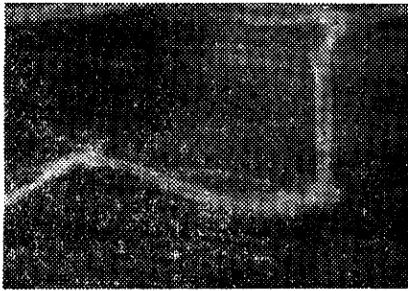


图 3 对照组后肢骨 (30号鼠)

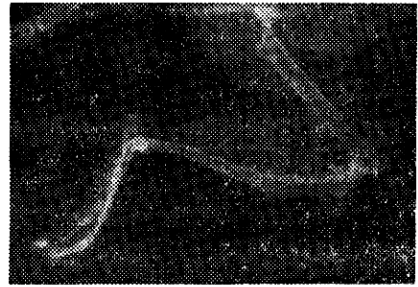


图 4 1号鼠后肢骨, 骨皮质变薄, (200~250微米) 骨质疏松, 有横纹。

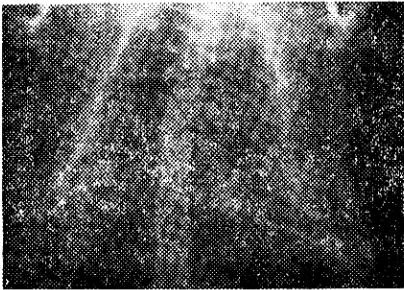


图 5 对照组肋骨 (30号鼠)

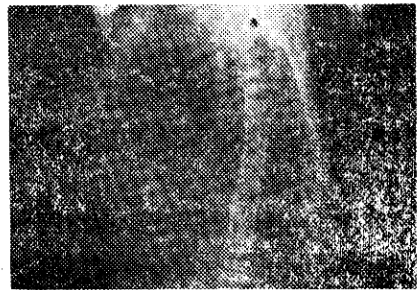


图 6 1号鼠肋骨, 骨质疏松, 骨皮质变薄。

解剖大鼠时曾发现染毒组肠壁薄而透明。

曾将对照鼠二只, 镉组二只, 其余染毒组各一只, 作股骨病理检查。对照组无缺钙或其它异常发现。染毒组中镉组 1 号鼠长骨骨皮质厚度仅200~250微米。骨小梁略显短小, 成骨细胞及破骨细胞均不活跃。其余染毒组骨皮质厚约400~500微米, 成骨细胞与破骨细胞亦不活跃。但所查染毒组大鼠股骨未发现明显的骨样组织增生, 骺部无缺钙病变。因样本太少, 仅作参考。

三、讨 论

“痛痛病”引起的骨软化症、肾小管损害, 其机制未曾清楚。但镉在其中是起一定作用

的。人群流行病学调查和动物实验证明：正常条件下，镉中毒的骨骼病变表现为骨质疏松症。在缺少钙、蛋白质和维生素D的情况下，则可以诱发骨软化症。曾有人发现镉影响铜酶赖氨酸氧化酶的活性，但没有看到低铜与镉染毒观察骨骼病变的报告。国内尚未有过动物慢性镉中毒骨骼病变的报导。我们认为低铜条件下再加上镉对铜的影响可使体内铜更低而影响赖氨酸氧化酶的活性并产生骨骼的病变。因为原胶原三条 α ——肽链上的羟赖氨酸、赖氨酸残基及其氧化酶生物，不能进行生化反应及形成共价交联^[1]。我们的实验证明每鼠每天摄入约40微克铜对照组可以维持生理需要而不出现病变，染毒组因镉使铜水平下降而X线上出现骨质疏松、骨皮质变薄及横纹线等。所补充铜、铁、锌等未能使机体铜水平升高，因而染毒组各组均有骨病变。国外报导机体缺铜可诱发骨皮质变薄、骨质疏松^[5]，我们实验证明了这一点。曾见报导国外一炼锌老工人患痛痛病，死亡确证，其肝脏仅痕迹量铜^[6]。我们实验中有些大鼠肝铜低至仅7毫克/公斤左右。又从镉污染地区人群中尿铜排出量与镉米中镉含量成正比的报导中^[7]，也可看出镉使机体铜降低确系事实。镉所致骨质疏松症、高血压及心血管系统疾病与贫血等，都能从缺铜中得到解释。由于铜在环境中大量存在，人体一般不会缺少，不少作者虽指出了镉使血清铜的水平下降，未曾怀疑到它在骨骼病变中有相当重要的作用。作者认为正因为人体不易缺铜，铜对骨骼影响的潜伏期很长。怀孕、哺乳需大量消耗的血清铜，故妇女容易出现骨骼损害。锌也能使铜水平下降，我们实验中锌组和铁组铜含量都比单纯给镉组低即为证明。

关于发生骨软化症的问题，较为复杂。镉可刺激培养液中骨组织释放钙。镉亦可影响钙、铁等金属从肠道吸收。镉并能影响肾脏合成维生素D的功能及刺激肠道粘膜。长时期形成的肠粘膜损伤亦会影响营养素的吸收。值得指出的是有人报导缺铜可引起脱钙性佝偻病。我们从染毒组大鼠肱骨、股骨出现膜纹及肠粘膜薄而透明，可以说明镉所引起的金属内环境平衡失调和使肠粘膜损伤，如长期作用是否会诱发骨软化症，值得进一步观察。我们抽查的少数股骨病理检查中没有发现有骨样组织增生，符合国外镉研究动物在一般情况下不产生骨样组织增生、骨质软化症的报导。

四、结 语

- (一) 本文报导了低铜摄入情况下镉染毒引起大鼠骨骼病变的初步结果。
- (二) 镉使体内铜水平下降，骨铜含量明显降低($P < 0.01$)，与X线出现骨骼病变相一致。
- (三) 镉使体内金属内环境平衡失调，这一过程所引起的生化反应改变及锌、铅与镉对铜的联合作用，值得进一步研究。

本文实验室工作在浙江省防疫站进行，仪器分析金学根同志，X线拍片由浙江省卫生学校放射科承担，病理检查由浙江医科大学病理解剖教研组承担，参加工作的尚有刘仙蓝等同志。

参 考 文 献

- [1] 吴景初，环境污染与防治，(3)，31(1982)。
- [2] 吴景初，中国环境科学 2(4)，36~38(1982)。
- [3] 上海第一医学院主编，医用生物化学(下册)，1279~1293，人民卫生出版社，1973。
- [4] Benhold, J.G., *Clin Chem*, 21(4)，476(1975)。
- [5] 国外医学卫生学分册，(5)，318,1979。