

液闪法研究⁶³Ni-NiCl₂ 在大鼠体内的 吸收、分布及排泄

李 湛¹, 王 颢², 吴王锁¹

(1. 兰州大学 核科学与技术学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学 基础医学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 采用液体闪烁计数法研究了⁶³Ni-NiCl₂ 在大鼠体内的吸收、分布以及排泄。结果显示:⁶³Ni-NiCl₂ 在大鼠体内的血药时间-浓度曲线符合二房室开放模型, 吸收速率常数 $K_a = 6.18/h$, 分布相半衰期 $T_{1/2(\alpha)} = 0.79 h$, 消除相半衰期 $T_{1/2(\beta)} = 40.68 h$, 清除速率常数 $CL = 0.42 mL \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$, 达峰时间 $T_{peak} = 0.53 h$, 达峰浓度 $C_{max} = 14.99 GBq/L$, 表观容积分布 $V_d = 0.016 L/kg$; 在所测的 12 种组织中均有⁶³Ni-NiCl₂ 放射性摄取; 在灌胃 0.25 h 时, 肠、胃、腹膜后脂肪放射性摄取较高, 3 h 时, 肠、胃、肝放射性摄取较多, 生殖腺放射性摄取最少, 24 h 肝肺放射性摄取偏高; 24 h 内粪尿排出给药量的 83.26%, 其中经过尿液排出 54.86%, 经过粪便排出 28.41%。

关键词: ⁶³Ni-NiCl₂; 液闪法; 吸收; 分布; 排泄

中图分类号: TL812.2; R817-33 文献标识码: A 文章编号: 1000-7512(2007)04-0224-04

Uptake, Distribution and Excretion of ⁶³Ni-NiCl₂ in Rat

LI Zhan¹, WANG Hao², WU Wang-suo¹

(1. School of Nuclear Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 73000, China;

2. School of Basic Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 73000, China)

Abstract: The uptake, distribution and excretion of ⁶³Ni-NiCl₂ in rat were studied by liquid scintillation counting method. It was observed that the concentration-time curves in blood fitted the two dicompart-ment model of pharmacokinetics, $K_a = 6.18 h$, $T_{1/2(\alpha)} = 0.79 h$, $T_{1/2(\beta)} = 40.68 h$, $CL = 0.42 mL \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$, $T_{peak} = 0.53 h$, $C_{max} = 14.99 GBq/L$, $V_d = 0.016 L/kg$. ⁶³Ni-NiCl₂ was existed in all of 12 tissues tested; at 0.25 h, radioactivity in intestine were the highest, and that in stomach and fattiness were higher; at 3 h, liver, stomach and intestine were higher; the germen was the least; The liver and lung was the higher at 24 h. In 24 h 83.26% of radioactivity of oral administration was eliminated by urine and feces, 54.86% by urine, 28.41% by feces.

Key words: ⁶³Ni-NiCl₂; liquid scintillation counting; uptake; distribution; excretion

镍是 1751 年发现的一种金属元素,直到 20 世纪 20 年代在动物体组织中发现了镍,人们才开始研究镍对动物生理生化作用^[1]。有关研究表明,镍参与核酸和蛋白质的代谢,激素的调解过程^[2];缓解肾上腺素升高血压和增强胰岛素降低血糖的作用;具有刺激生血机能、促进红细胞再生的功能^[1-3];同时它与激素、蛋白质、脂类的代谢也密切相关。镍尽管是动物所必需的微量元素,但国内的相关研究较少,尤其使用同位素标记法进行研究更少^[4]。

镍是人体必须的微量元素,同样也是环境污染源之一,过量可溶性的镍吸收可直接损伤动物组织,已有实验^[5]证明镍有致癌作用。近几年随着环境污染的加重,镍的中毒已经逐渐引起人们的关注,许多关于镍中毒的研究已经开始逐步深入。但是鉴于各种原因,这些研究都是采用常规的测量方法。同位素示踪法研究药物代谢机理是一种简单灵敏的方法,同时液体闪烁计数仪对低能 β 射线的检测也极为有效^[6],因此,本工作拟通过液体闪烁法研究⁶³Ni-NiCl₂ 在大鼠体内的吸收、分布以及排泄,以便得出一些可靠有效的资料,为镍的生理代谢过程研究提供一些参考。

1 实验材料与方法

1.1 主要实验材料

⁶³Ni-NiCl₂ 标准溶液:放化纯度 > 98%,放射性浓度为 7.4 GBq/L,购自中国同位素公司;闪烁液:自制,取 5 g 2,5-二苯噁唑和 0.3 g 1,4,双(2-苯基噁唑)苯溶解于适量的甲苯,并稀释到 1 L,充分摇匀备用^[7]。其他试剂均为分析纯。

SPF 级 SD 大鼠:60 只,雌性,体重 200~260 g,尾长 17~18 cm,清洁级饲养,由甘肃医学院提供。

1.2 主要仪器

LS6500 低本底液闪仪;Beckman 公司产品。

1.3 实验方法

随机抽取 4 只 SD 大鼠,取⁶³Ni-NiCl₂ 溶液按 27.42 MBq/kg 剂量灌胃^[8],于 0.08、0.25、0.42、0.58、0.92、2.08、4.58、6.33、24 h 断尾取血 10 μL。将所取血液置于 5 mL 离心管中,向离心管中添加 1 mL 闪烁液,暗置 24 h,放进测量瓶,测量计数率(min⁻¹)。

取 18 只大鼠,平均分为 3 组,取⁶³Ni-NiCl₂ 按 216 GBq/kg 剂量灌胃,分别于 0.25、3、24 h 后断颈椎处死,取 100 mg 脑、心、肝、脾、肺、肾、肌肉、胃、肠、骨、腹膜后脂肪、生殖腺等组织^[9],将组织用生理盐水浸泡洗涤,剪碎放进 5 mL 离心管,再加 1 mL 闪烁液,暗置 24 h 后测计数率。

在饲养笼中铺垫 4 层滤纸,在滤纸上盖置铁丝网,取 6 只小鼠分别放入 6 只代谢笼中,取⁶³Ni-NiCl₂ 按 13.74 MBq/kg 灌胃,于不同时间段收集全部粪便,将粪便烘干后研制成粉末,并放入离心管中,加入 10 mL 甲酸,90 °C 水浴消化 1 h,取出 20 μL,加入 1 mL 闪烁液,暗置 24 h^[7],测计数。将吸有尿液的滤纸烘干,剪碎^[10],加入 15 mL 甲酸,90 °C 水浴消化 1 h,取出 20 μL 加入 1 mL 闪烁液暗置,用液闪仪测其计数率^[6]。将测出的 20 μL 粪尿计数率换算为对应各时间段全部粪尿放射性剂量,再用各时间段的粪尿放射性剂量除以总灌胃放射性剂量得到粪尿排泄率。

2 结果与讨论

2.1 大鼠血液中放射性浓度与时间的关系

⁶³Ni-NiCl₂ 灌胃后,大鼠血液中的放射性浓度随时间的变化示于图 1。由图 1 可见,0.08 h 时,血液中的放射性浓度很低,随着时间的延长,放射性浓度迅速增加,0.25 h 时达到最高,此后在较短时间内快速下降,2 h 以后开始缓慢减少。用 3p97 药物代谢动力学软件处理图 1 中的数据,以最小 AIC 原则和 *F* 检验进行室间比较,选择合适的房室模型^[11-12]。结果显示,血液放射性浓度过程曲线符合二房室开放型模型,该模型静注时间-放射性浓度曲线方程为: $C = 1.25 \times 10^4 e^{-0.88t} + 1.85 \times 10^4 e^{-0.017t}$ 。式中,*C* 为放射性浓度(MBq/L);*t* 为时间(h)。权重系数为 1/*C*² 时该模型最佳。

详细药物动力学参数如下:吸收速率常数 $K_a = 6.18 \text{ h}^{-1}$,分布相半衰期 $T_{1/2(\alpha)} = 0.79 \text{ h}$,消除相半衰期 $T_{1/2(\beta)} = 40.68 \text{ h}$,清除速率常数 $CL = 0.42 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,曲线下面积 $AUC = 65.40 \text{ MBq}/(\text{mL} \cdot \text{h})$,表观容积分布 $V_d = 0.016 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$,达峰时间 $T_{\text{perk}} = 0.53 \text{ h}$,达峰浓度 $C_{\text{max}} = 14.99 \text{ GBq} \cdot \text{L}^{-1}$ 。有人^[13]用大鼠腹腔注射研究过大鼠对⁶³Ni 的吸收,但未给出详细的动力学参数。由于动物主要通过呼吸与消化系统

吸收镍,所以本实验用液闪法研究灌胃以后大鼠对镍的吸收与排泄并且给出详细动力学参数,结果更有实际参考意义。

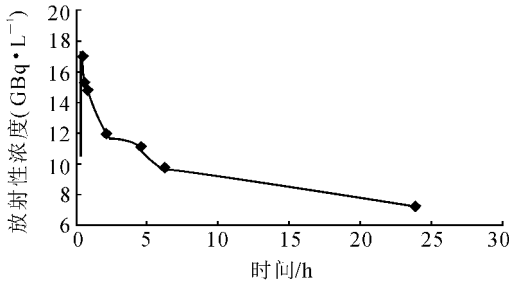


图 1 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 在大鼠血液中放射性浓度与时间的关系

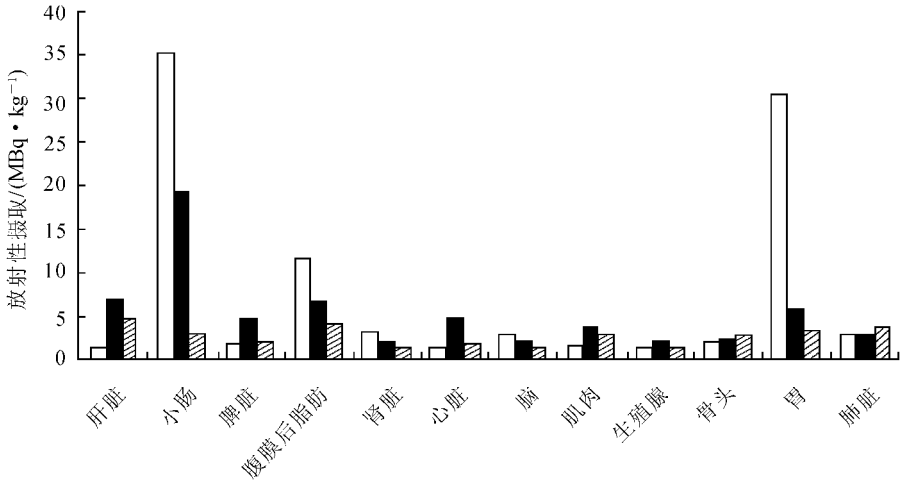


图 2 ^{63}Ni 在大鼠体内的生物分布
□—0.25 h; ■—3 h; ▨—24 h

0.25 h 时小肠和胃的放射性摄取较高,此后随着时间的延长,胃肠放射性摄取降低,到 24 h 末,组织中的放射性基本消除。24 h 时各种组织放射性摄取均较低,虽然大鼠对镍没有较强的特异性富集,但是 24 h 时大鼠肺脏放射性摄取较高,可能和镍可以导致肺癌^[12]的现象有某些关联,详细机理还需进一步探讨。

有作者^[2]认为动物摄取可溶性镍以后,几乎均匀分布于各种组织,但本实验应用液闪法研究结果证明,在不同时间镍于各组织间的分布差异较大。 ^{63}Ni 是镍的一种人工同位素,半衰期为 100 年, β 衰变生成 ^{63}Cu 同时放出 β 电子,射线能量为 0.067 MeV^[7]。液体闪烁仪对低能 β 射线的测量极其有效,测量灵敏度比其他方法如分光光度法、原子吸收法等要高,由于其高灵敏性,对

2.2 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 在大鼠体内的生物分布

$^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 灌胃后,大鼠不同组织的放射性摄取示于图 2。由图 2 可见,灌胃后 0.25 h 时,大鼠小肠、胃、腹膜后脂肪的放射性摄取较多,小肠为 34.13 ± 51.54 MBq/kg,占总灌胃量的 0.001 58%,胃为 30.68 ± 51.48 MBq/kg,占总灌胃量 0.001 42%,腹膜后脂肪为 11.72 ± 15.84 MBq/kg,占总灌胃量的 0.000 54%。3 h 时均下降,肝脏、脾脏和心脏放射性摄取略有增加。24 h 时除肝肺放射性摄取略高外,其他组织的放射性摄取均较少。

镍的使用剂量要求很低,所以液体闪烁计数法能较好地符合动物的生理条件^[6],因此本实验结果较其他方法可靠有效;其他方法因为灵敏度较低,镍的用量较高,可能会对动物的正常生理机能产生影响,这可能是本实验和其他实验结果不同的原因。

2.3 大鼠灌胃 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 之后的粪尿排泄结果

大鼠灌胃 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 以后,排泄的粪尿中 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 含量的检测结果列于表 1。表 1 显示,24 h 内粪尿排出的放射性占总灌胃放射性的 83.26%,其中经过粪便排出 28.41%,经过尿液排出 54.86%。在灌胃 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 之后,尿液排泄较多,占 24 h 排泄量的 65.89%。 $^{63}\text{Ni-NiCl}_2$ 在大鼠体内排泄较快,0~6 h 排泄 48.6%,占 24 h 总排泄量的 58.37%。

过去认为可溶性的镍盐很难被动物吸收,少量被吸收的镍盐主要从粪便排泄^[1-2]。本实验显示氯化镍通过胃肠吸收以后主要以尿液排泄为主,粪便排泄较少,且总粪尿排泄速度很快。

表 1 大鼠灌胃⁶³Ni-NiCl₂ 后尿粪排泄结果(n=6)

时相/h	尿排泄量/%	粪便排泄量/%
0~3	28.31	2.96
3~6	11.12	6.21
6~10	7.06	9.51
10~24	8.29	9.73
合计	54.86	28.41

3 结 论

(1)动物吸收可溶性镍盐以后能很快达到最大血药浓度,此后很快消除,且消除速率较高。

(2)镍在动物体内的分布随着时间的延长有所不同,短时间内各组织分布较高,24 小时以后组织分布基本消失。

(3)动物体对可溶性镍盐的排泄主要以尿液排泄为主,粪便排泄较少,且很快排泄完全。

参考文献:

[1] 王芬, 范宪生. 镍与动物营养[J]. 营养研究, 2003, 3: 30-31.
 [2] 吕维莉, 邓智年, 魏源文. 镍与生物[J]. 广东微量元素科学, 2003, 10(10): 1-5.
 [3] 孙应彪, 王学习, 宋援朝, 等. 氧化应激在硫酸镍致小鼠睾丸损伤中的作用[J]. 中国劳动职业病杂

志, 2006, 24(7): 425-426.

[4] 于冰, 李怀芬. ⁹⁹Tc^m 标记放射性示踪剂的研究进展[J]. 天津药学, 2005, 17(6): 43-44.
 [5] 赵艳丰, 吴中亮, 雷毅雄, 等. 硫酸镍诱导转化人支气管上皮细胞基因组 DNA 甲基化的研究[J]. 中国职业医学, 2004, 31(4): 2-4.
 [6] 姜国华, 刘忠敏. 液闪法研究¹⁴C-尿素在小白鼠体内的吸收及分布和排泄[J]. 现代仪器, 2006, 3: 18-20.
 [7] 孟昭兴, 孙兆祥, 唐志刚. 放射化学实验方法与技术[M]. 北京: 北京师范大学出版社, 1997: 50-56.
 [8] 蔡颖, 庄志雄, 卢次勇. 氯化镍在体内诱导大鼠 DNA-蛋白质交联[J]. 中国药理学和毒理学杂志, 2002, 16(5): 387-390.
 [9] 孙应彪, 王俊玲, 宋援朝. 镍染毒对小鼠脂质过氧化损伤[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(2): 187-188.
 [10] 孙应彪, 朱玉真. 硫酸镍对大鼠心肝肾 ATPase 毒性的实验研究[J]. 中国职业医学杂志, 2004, 28(3): 27-28.
 [11] 朱传江, 张均田, 屈志炜. 反相高效液相色谱法测定大鼠血浆中左旋黄皮酰胺及其主要代谢产物和药代动力学[J]. 药学报, 2000, 35(7): 500-504.
 [12] 江志强, 张奇志, 蒋新国, 等. 格列吡嗪 2 种片剂的药物动力学和人体生物利用度比较[J]. 中国新药与临床杂志, 2000, 19(5): 381-384.
 [13] TANDON SK. Disposition of Nickel-63 in the Rat[J]. Toxicology Letters, 1982, 10(1): 71-73.