

锌对铅染毒新生大鼠成骨细胞增殖分化的影响*

刘国军¹ 阎春生^{1△} 姚海艳¹ 他维玮² 魏万倩¹

(1.兰州大学公共卫生学院营养与食品卫生研究所 甘肃 兰州 730000; 2.兰州大学第二临床学院 甘肃 兰州 730000)

摘要 目的:探讨铅锌联合染毒对乳鼠颅骨成骨细胞增殖分化的影响。方法:分离并培养原代成骨细胞,加入不同浓度铅、锌培养48h,检测其对成骨细胞增殖的作用;用碱性磷酸酶试剂盒检测 ALP 活力。结果:在染铅 48h 后,当铅浓度 $\geq 10\mu\text{mol/L}$ 时,细胞增殖功能下降($P<0.05$);加锌干预 48h 后,铅+锌组细胞增殖功能均高于各自单独染铅组,其中铅($1\mu\text{mol/L}$ 、 $10\mu\text{mol/L}$)+锌($50\mu\text{mol/L}$)组、铅(10)+锌(100)组与对照组间的差异具有统计学意义($P<0.05$)。铅干预 48h 后, $100\mu\text{mol/L}$ 铅组的 ALP 活力显著下降($P<0.05$)。给予锌干预的铅锌联合染毒组,各组 ALP 活力均有增加,其中铅($1\mu\text{mol/L}$ 、 $10\mu\text{mol/L}$)+锌($50\mu\text{mol/L}$)组 ALP 活力均高于对照组,而铅($100\mu\text{mol/L}$)+锌($50\mu\text{mol/L}$)组 ALP 活力低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论:铅对成骨细胞有毒性作用,影响其增殖和分化功能, $50\mu\text{mol/L}$ 锌在一定程度上可以拮抗铅对成骨细胞增殖和分化功能的损伤,且对 ALP 活力的作用更显著,为铅中毒骨病的防治提供一定的科学依据。

关键词 铅;锌;成骨细胞;增殖;分化

中图分类号:Q95-3 R595.2 R68 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)04-612-04

Combined Effects of Lead and Zinc on Proliferation and Differentiation of osteoblasts in Newborn Rats*

LIU Guo-jun¹, YAN Chun-sheng^{1△}, YAO Hai-yan¹, TA Wei-wei², WEI Wan-qian¹

(1.College of Public Health, Lanzhou University; 2.The second hospital of Lanzhou University, Gansu, Lanzhou, 730000)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of lead and zinc on proliferation and differentiation of osteoblasts in newborn rats. Methods: Osteoblasts were isolated from the calvaria of newborn rats and cultured in α -MEM medium. Lead and Zinc acetate with different concentration was administrated and cultivated for 48h. The proliferation response to lead and zinc was determined by MTT methods. The activity of alkaline phosphatase (ALP) was measured by alkaline phosphatase kit. Results: Treated with different levels of lead ($10\mu\text{mol/L}$ and $100\mu\text{mol/L}$) for 48h, the cell proliferation decreased ($P<0.05$); Treated with zinc and lead for 48h, cell proliferation was higher than their single lead-treated group; differences were of statistical significance ($P<0.05$) between the lead ($1\mu\text{mol/L}$) plus zinc ($50\mu\text{mol/L}$), lead($10\mu\text{mol/L}$) plus zinc ($50\mu\text{mol/L}$), lead($10\mu\text{mol/L}$) plus zinc ($100\mu\text{mol/L}$) and control group. The activity of ALP was significantly decreased in group treated with a dose of $100\mu\text{mol/L}$ lead for 48h ($P<0.05$). When treated with zinc and lead for 48h, the activity of ALP was higher than their single lead-treated group; the ALP activity in groups of lead ($1\mu\text{mol/L}$, $10\mu\text{mol/L}$) plus zinc ($50\mu\text{mol/L}$) were higher than the control group, while that in group of lead ($100\mu\text{mol/L}$) plus zinc ($50\mu\text{mol/L}$) was significantly lower than the control group. All the difference was statistically significant ($P<0.05$). Conclusions: There were adverse effects of lead on osteoblasts such as affecting their proliferation and differentiation. Zinc ($50\mu\text{mol/L}$) may have antagonistic joint action on lead in affecting the proliferation and differentiation of osteoblasts. Moreover, it also has a notable role on the activity of ALP. So it provides some proofs in preventing and curing lead poisoning bone diseases

Key words: Lead; Zinc; Osteoblasts(OB); Proliferation; Differentiation

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3 R595.2 R68 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)04-612-04

前言

铅是一种历史悠久、应用广泛的工业毒物,可造成机体全身几乎所有组织脏器的损害^[1]。铅可在骨骼中蓄积,铅中毒可以直接和间接地改变骨细胞功能^[2]。成骨细胞是体内参与骨形成过程的主要细胞,对骨组织的生长、发育、骨代谢平衡及损伤修复起关键作用^[3]。锌是维持人和动物正常生命活动不可缺乏的

必需微量元素之一,与骨代谢及其机能有着密切的关系^[4],锌缺乏、锌过量均可影响骨的生长^[5]。为了解补锌后对铅致骨骼损伤的改善作用,以及补充锌剂量的影响,本研究通过给予不同剂量的锌干预铅对成骨细胞的损伤,试图从细胞分子水平研究铅锌联合染毒对骨骼的影响,为铅锌矿区人群的骨健康积累资料,和为铅锌矿区人群营养干预的合理性及防治铅中毒骨病提供理论依据。

* 基金项目:甘肃省环境保护科技资助项目[甘环科发(2010)33号]

作者简介:刘国军(1974-12)男,硕士研究生,主要研究方向:微量元素与人群健康。E-mail:1035917779@qq.com

△通讯作者:阎春生,副教授,兰州大学公共卫生学院营养与食品卫生研究所, Tel:0931-3658950, E-mail: yanchsh@lzu.edu.cn

(收稿日期:2011-04-21 接受日期:2011-05-18)

1 材料与方法

1.1 实验动物

生后 24h 的清洁级 SD 大鼠 5 只(雌雄不限),由兰州大学实验动物中心提供。

1.2 主要试剂及仪器

醋酸铅(分析纯,天津市化学试剂三厂),硫酸锌(分析纯,西安化学试剂厂), α -MEM(Gibco),胎牛血清(杭州四季青),型胶原酶(Invitrogen 公司),胰蛋白酶(Gibco),四甲基偶氮唑盐(MTT, sigma 公司),碱性磷酸酶染色试剂盒、ALP 试剂盒(南京建成);IMT-2 倒置显微镜(Olympus,日本),细胞培养箱(heraeus,德国),酶联免疫检测仪(Bio-Tek,美国)。

1.3 成骨细胞的制备与培养

将生后 24h 的 SD 大鼠浸泡于 75%酒精中 10min 后,断头处死^[6]。无菌取出颅盖骨,用眼科镊剔除附着的血管及结缔组织, PBS 冲洗 3 遍。先加入适量的 0.25%胰酶,于 37℃ 气浴震荡消化 20min 后,再加入适量的 0.1% II 型胶原酶消化 2h。少量 15% α -MEM 完全培养液终止消化,将消化液移入到离心管中, 1000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,用 α -MEM 培养液洗涤, 1000 r/min 离心 10 min,沉淀即为成骨细胞,用 15% α -MEM 完全培养液重悬、吹打均匀,接种到培养瓶中, 37℃ 5% CO₂ 饱和湿度下培养, 24 小时后换培养液,以后每 2-3 天换液 1 次。

1.4 成骨细胞的鉴定

将细胞按 5×10^4 /ml 密度接种于预置无菌盖玻片的 6 孔板中,每孔约 2-3ml^[7]。培养 72h 后取出盖玻片,按照 ALP 染色试剂盒的说明,固定 5min,风干后滴加底物液盖满样本部分,加盖封口膜,放置湿盒中, 37℃ 作用 30min,水洗、苏木素复染 5min,水洗,晾干后光镜下观察。用本实验室培养的大鼠成纤维细胞做对照染色。

另一块 6 孔板中的细胞,更换成 OB 诱导液(在完全 α -MEM 培养液中,添加 50mg/L 的抗坏血酸、10mmol/L β -甘油磷酸钠)继续培养,用倒置相差显微镜观察,第 15d 时取出无菌玻片进行茜素红法^[5]染色鉴定。

1.5 实验分组

根据预实验结果分为对照组及不同剂量的实验组。对照组:与培养液同步孵育。实验组:铅组、铅+锌组。根据实验结果,选择 50 μ mol/L、100 μ mol/L 作为锌的干预浓度。锌组: 10, 25, 50, 100, 150, 200 μ mol/L。铅组: 1, 10, 100 μ mol/L。

1.6 铅锌对成骨细胞影响的观察指标及检测方法

1.6.1 MTT 比色法测定细胞相对存活率 将第二代成骨细胞按 4×10^3 个/ml 密度接种于 96 孔板,每孔 200 μ l。次日吸去全部培养液,铅锌组换加含不同浓度锌的 α -MEM 培养液,空白组、铅组加 α -MEM 完全培养液,每孔各 100 μ l。继续培养 24h 后,各组加含不同浓度铅的 α -MEM 培养液,终浓度分别为 1、10、100 μ mol/L,每孔 100 μ l。继续培养 48h 后,弃去培养液,每孔加入无血清 α -MEM 培养液 100 μ l 和 5mg/ml 的 MTT 20 μ l,继续培养 4h 后加入三联液(SDS 10g,异丁醇 5ml,10M HCl 0.1ml)用双蒸水溶解配成 100ml 溶液,100 μ l/孔,继续培养、溶解过夜,用酶标仪在 570nm 波长处检测各孔吸光度值(OD 值)。

1.6.2 细胞内 ALP 活性的测定 细胞培养至第 9d 时,弃去旧培

养液, PBS 清洗 2 次, 0.25%胰蛋白酶液消化,加入含 10%胎牛血清的 α -MEM 完全培养液,吹打均匀,制成细胞悬液,按 4×10^3 个/ml 密度接种于 96 孔板,每孔 200 μ l。次日吸去全部培养液,铅+锌组换加含不同浓度锌的 α -MEM 培养液,空白组、铅组加 α -MEM 完全培养液,每孔各 100 μ l。继续培养 24h 后,各组加含不同浓度铅的 α -MEM 培养液,终浓度分别为 0、1、10、100 μ mol/L,每孔 100 μ l。培养 48h 后,弃去培养液,并用 PBS 清洗 3 次,采用南京建成 CKAP 测定试剂盒测定,将收集的细胞用 PBS 冲洗,加入 0.1%的 TritonX-100,反复吹打,置 4℃ 30min,加入加入基质液 0.05ml,细胞裂解液 0.03ml,缓冲液 0.05ml,移入 37℃ 水浴 15min,最后加入显色剂 0.15ml,空白管以三蒸水代替细胞裂解液,充分混匀。用酶标仪在 490nm 波长处检测各孔吸光度值(OD 值)。

1.7 统计分析

采用 SPSS16.0 统计软件进行统计学分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各指标组间比较采用单因素方差分析,后采用 LSD 检验进行两两比较,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 成骨细胞的鉴定

本实验培养的细胞经碱性磷酸酶染色试剂盒染色,可见细胞胞浆中出现棕褐色或棕红色颗粒状,苏木素复染后细胞核呈紫色,且功能活跃细胞着色较深,相反,着色就较淡(见图 1)。证实本次采用碱性磷酸酶染色的细胞具有成骨细胞表型。成骨细胞培养 15 天可使细胞外基质矿化,可见多个钙化结节融合在一起,并形成了大量矿化结节,茜素红染色后呈现大小、形态不一的红色阳性结节(见图 2),说明本实验培养的为成骨细胞。

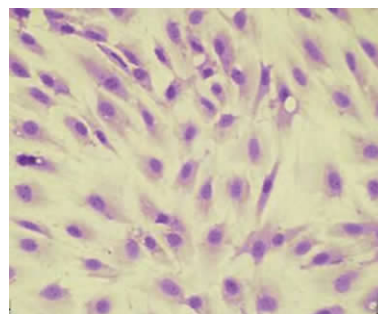


图 1 成骨细胞 ALP 染色鉴定 40×

Fig.1 Osteoblast(ALP stain) 40×

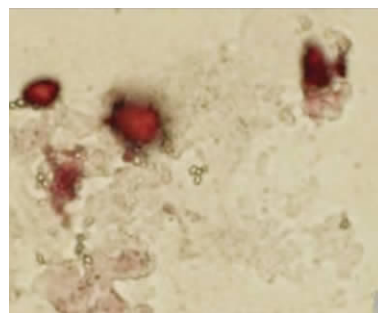


图 2 成骨细胞茜素红染色鉴定,染色后呈现红色阳性结节 40×

Fig. 2 Osteoblast (alizarin bordeaux stain) 40 × Red represent positive tubercle

2.2 铅锌对成骨细胞增殖功能的影响

由表 2 可见,染铅 48h 后,细胞增殖功能随染毒浓度的增高呈逐渐下降,其中单独染铅的中、高剂量组以及铅(100 $\mu\text{mol/L}$)+ 锌(50 $\mu\text{mol/L}$)组与对照组间的差异具有统计学意义($P<0.05$)。铅 + 锌组干预 48h 后,细胞增殖功能均高于各自单独染铅组,其中铅(1 $\mu\text{mol/L}$)+ 锌(50 $\mu\text{mol/L}$)组、铅(10 $\mu\text{mol/L}$)+ 锌(50 $\mu\text{mol/L}$)组与对照组间的差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 铅锌对成骨细胞 ALP 活力的影响

由表 3 可见,不同剂量组乳鼠成骨细胞 ALP 活力不同。染

铅 48h 后,100 $\mu\text{mol/L}$ 铅组与对照组相比,ALP 活力显著下降,且差异有统计学意义($P<0.05$)。给予 50 $\mu\text{mol/L}$ 锌干预的铅锌联合染毒组,与单独染铅组相比,各组 ALP 活力均有显著增加,且差异有统计学意义($P<0.05$);其中铅(1 $\mu\text{mol/L}$)+ 锌(50 $\mu\text{mol/L}$)组、铅(10 $\mu\text{mol/L}$)+ 锌(50 $\mu\text{mol/L}$)组 ALP 活力均高于对照组,而铅(100 $\mu\text{mol/L}$)+ 锌(50 $\mu\text{mol/L}$)组 ALP 活力低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 各组 ALP 基因的相对表达量的检测

表 1 铅锌对成骨细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The effect of lead and zinc on osteoblast proliferation

剂量组 Dose group	孔数 Hole count	OD 值 OD values
0 $\mu\text{mol/L}$	6	0.5287 \pm 0.0090
1 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.4993 \pm 0.0210
10 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.4887 \pm 0.0244*
100 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.4678 \pm 0.0187*
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 1 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.5288 \pm 0.0204 Δ
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 10 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.5092 \pm 0.0201 Δ
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 100 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.4837 \pm 0.0301*

Note: *Compare with the control, $P<0.05$; Δ compare with the common dose and single group, $P<0.05$

表 2 铅锌对成骨细胞 ALP 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The effect of Lead and zinc to the osteoblast ALP activity

剂量组(Dose group)	孔数(Hole count)	OD 值(OD values)
0 $\mu\text{mol/L}$	6	0.4390 \pm 0.0416
1 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.4742 \pm 0.0760
10 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.4413 \pm 0.0521
100 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.2503 \pm 0.0563*
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 1 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.5562 \pm 0.0420* Δ
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 10 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.5098 \pm 0.0386* Δ
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 100 $\mu\text{mol/L}$ Pb	6	0.3575 \pm 0.0418* Δ

Note: * Compared with the control, $P<0.05$; Δ Compared with the common dose and single lead group, $P<0.05$

表 3 各组 ALP 基因的相对表达量($n=4$ $\bar{x} \pm s$)

Table 3 The relative expression of each group of the gene of ALP

剂量组(Dose group($\mu\text{mol/L}$))	48h 表达量(48h express measure)
对照组(Control group)	1.1903 \pm 0.0471
1 $\mu\text{mol/L}$ Pb	1.1803 \pm 0.0372
10 $\mu\text{mol/L}$ Pb	1.1308 \pm 0.0156
100 $\mu\text{mol/L}$ Pb	0.9472 \pm 0.0602**
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 1 $\mu\text{mol/L}$ Pb	1.1913 \pm 0.0284
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 10 $\mu\text{mol/L}$ Pb	1.1727 \pm 0.0286
50 $\mu\text{mol/L}$ Zn + 100 $\mu\text{mol/L}$ Pb	0.9443 \pm 0.1472**

Note: * $P<0.05$, Compared with the control

3 讨论

成骨细胞是骨代谢过程中的重要核心细胞,负责骨基质的合成、分泌和矿化^[8],对骨组织的生长发育、骨代谢平衡、骨量维持和损伤修复起着关键作用。因此,建立一种简单、快速和纯度高的原代成骨细胞培养方法,是研究骨代谢、骨骼疾病以及各种重金属元素对骨骼生长发育损伤机制的基础。分离出和培养成功的成骨细胞具有典型的生化和组织化学特征,成骨细胞富含 ALP、合成型胶原,在含有维生素 C 及 β - 甘油磷酸钠的培养基内生长可以钙化(茜素红染色阳性)^[9]。长期以来,均以上述特征来鉴定成骨细胞,本试验 ALP 试剂盒染色和茜素红法鉴定结果均呈阳性,表明本试验分离的细胞确为成骨细胞,可以作为进一步试验的种子细胞。

铅是应用广泛的重金属毒物^[10]。越来越多的研究表明,骨骼是铅毒性重要的靶器官^[11],且可以直接改变成骨细胞的功能,从而造成骨骼损伤。本研究通过铅对成骨细胞的直接毒性

研究及锌的营养干预,间接推测铅锌矿区人群中体内铅锌的毒作用水平。许多研究证明^[12]铅对成骨细胞的增殖及分化有不利的影响。本研究对成骨细胞增殖功能的检测结果显示,在染铅48h后,当铅浓度 $10\mu\text{mol/L}$ 时,细胞增殖功能下降($P<0.05$)。ALP是一种胞内酶,存在于成骨细胞的细胞膜,是成骨细胞分化的早期指标,在细胞中表达的多少反映了细胞的分化程度和功能状态^[11]。本研究在给予不同浓度铅干预48h后, $100\mu\text{mol/L}$ 铅组的ALP活力显著下降($P<0.05$)。由此可以看出醋酸铅对新生SD大鼠成骨细胞增殖及分化的影响,证实了铅对成骨细胞的毒作用,可能是铅影响骨骼发育的机制之一。

锌是骨形成和代谢过程中不可缺少的微量元素,被称为骨骼生长、发育的“激活因子”;锌缺乏可引起骨的生长迟缓,适量的锌则可促进骨的生长及钙化,锌通过氨基转移核糖核酸合成酶刺激体外成骨细胞的蛋白质合成^[12-13]。锌能够促进体外培养大鼠成骨细胞的增殖及分化^[14-16]。本实验结果表明,低浓度的锌可以促进细胞增殖,但是浓度增高到一定水平时,锌对细胞也可产生毒作用。锌作用于成骨细胞24h后, $50\mu\text{mol/L}$ 浓度组对细胞无明显损伤,而从 $100\mu\text{mol/L}$ 开始则对细胞有损伤作用,因此选择 $50\mu\text{mol/L}$ 、 $100\mu\text{mol/L}$ 浓度作为拮抗铅毒作用的浓度。铅和锌都是二价阳离子,在理化性质上有许多相似之处,进入机体后不易被细胞所区分,因此在体内许多部位都存在着交互作用。给予锌干预的染铅组成骨细胞的增殖功能、分化能力均高于同剂量单独染铅组,且分化作用更显著。其中加入浓度为 $50\mu\text{mol/L}$ 的硫酸锌后,低、中铅组ALP活性不仅高于同剂量单独染铅组且高于对照组,而锌拮抗高剂量铅组低于对照组。

骨骼系统是全身的重力支持系统,铅会对其通过影响其神经营养因子及神经胶质营养因子、影响成骨细胞内环境稳态等产生毒作用而使其骨质疏松。因此,我们认为醋酸铅会对成骨细胞的增殖和其活性产生损害作用,而锌对其毒作用有明显的干预作用。本研究发现,染铅组ALP基因表达随着剂量增加而增加($P<0.05$)。提示铅可诱发ALP基因表达增加,故认为铅可使OB活性降低,适量的锌在一定程度上可以拮抗铅对成骨细胞的毒作用。由于本实验采用乳鼠成骨细胞作为研究对象,故对于儿童铅中毒时对其骨骼系统的影响有较为重要的理论认知意义,也将为铅中毒的防治提供一个新思路和方法,为进一步阐明其作用机制及采取相应防治措施提供理论依据。

参考文献(References)

- [1] Vance M A. Hippocrates and lead poisoning [J]. Am J Health Syst Pharm. 2007, 64(15):45-53
- [2] 王洪复. 骨细胞图谱与骨细胞体外培养技术[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2001: 51-57
Wang Hong-fu. Osteocyte Atlas and osteocyte in vitro culture technology [M]. Shanghai Scientific and Technical Publishers. 2001: 51-57
- [3] 卓丽玲, 顾建红, 赵瑞英, 等. 乳鼠成骨细胞的培养与鉴定 [J]. 中国兽医科学, 2007, 10(4): 901-904
Zhuo Li-ling, Gu Jian-hong, Zhao Rui-ying, et al. Cultivation and identification of osteoblasts in sucking rat[J]. Veterinary Science in China. 2007, 10(4): 901-904
- [4] 靳翠红, 蔡原, 周平, 等. 铅对乳鼠成骨细胞增殖分化的影响[J]. 工业卫生与职业病. 2007, 33(1): 9-11

- JIN Cui-hong, CAI Yuan, ZHOU Ping, et al. Effects of Lead on Proliferation and Differentiation of Osteoblasts in Newborn Rats [J]. Industrial health and Occupational Diseases, 2007, 33(1): 9-11
- [5] 靳翠红, 刘秋芳, 蔡原等. 铅对大鼠成骨细胞标志物的影响[J]. 中国工业医学杂志, 2006, 19(2): 84-86
JIN Cui-hong, LIU Qiu-fang, CAI Yuan, et al. Effect of lead acetate on special markers of osteoblasts in rats [J]. Chinese Journal of Industrial Medicine, 2006, 19(2): 84-86
- [6] 梁建成, 汪春红, 张妍, 等. 醋酸铅染毒小鼠DNA损伤及体内抗氧化酶变化[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(4): 457-458
Liang Jian-cheng, Liu Qiu-fang et al. DNA damage and changes of antioxidative enzymes in acetate lead poisoned mice [J]. Chinese Journal of Public Health, 2006, 22(4): 457-458
- [7] 辛鹏举. 铅的毒性效应及作用机制研究进展[J]. 国外医学卫生学分册, 2008, 35(2): 70-74
Xin Peng-ju. The toxic effects and mechanism of lead research progress [J]. Foreign Medical Sciences (Section Hygiene), 2008, 35(2): 70-74
- [8] Zurich M G, Eskes C, Honegger P. Maturation-dependent neurotoxicity of lead acetate in vitro: implication of glial reactions [J]. J Neurosci Res, 2002, 70(1): 108-116
- [9] Shih R A, Huh, Weisskopf, et al. Cumulative lead dose and cognitive function in adults: a review of studies that measured both blood lead and bone lead[J]. Environ Health Perspect, 2007, 115: 483-492
- [10] 靳翠红, 蔡原, 王军明, 等. 铅对乳鼠成骨细胞活力和功能标志物及形态学的影响[J]. 环境与健康杂志, 2007, 24(9): 693-695
JIN Cui-hong, CAI Yuan, WANG Jun-ming, et al. Effects of Lead on Vitality, Differentiation, Special Markers and Morphological Changes of Osteoblasts in Newborn Rats [J]. Environ Health, 2007, 24(9): 693-695
- [11] Edward PJ. Osteotoxicology: The role of lead in bone diseases [J]. Curr Opin Orthop, 2000, 11: 360-365
- [12] 胡雪琴, 糜漫天. 铅对幼年大鼠钙的吸收和骨骼生长的影响[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(5): 402-405
HU Xue-qin, MI Man-tian. Effect of lead on calcium absorption and bone development in weanling rats [J]. Acta Academiae Medicinae Militararis Tertiae, 2007, 29(5): 402-405
- [13] Rogers JT, Wood CM. Characterization of branchial lead-calcium interaction in the freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. J Exp Bio, 2004, 207(Pt5): 813-825
- [14] Cortina-Ramirez G E, Carbon-Solorzano J, Calderon-Salinas J V. Effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ and dietary calcium-phosphate on distribution of lead to tissues during growth [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2006, 212(2): 123-127
- [15] 冯青, 谭亮英, 李田菊, 等. 铅对暴露人群骨密度影响的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2007, 13(1): 39-41
Feng Qing, TAN Liangying, LI Tianju, et al. A research into bone mineral density of the people exposed to lead [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2007, 13(1): 39-41
- [16] 连灵君, 徐立红. 氧化损伤与铅毒性研究进展[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(4): 435-439
LIAN Ling-jun, XU Li-hong, A Review of Studies on Oxidative Damage and Lead Toxicity [J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2007, 24(4): 435-439