

氯化汞对小鼠肾脏的急性毒性机制探讨

陈敏, 谢吉民, 曹友清, 陈淼, 高晓钦, 荆俊杰

(镇江医学院 江苏 镇江 212001)

摘要: 目的 进一步探讨氯化汞对肾脏的毒性及作用机制。方法 分别测定氯化汞染毒小鼠的血清肌酐 (Cr) 和尿素氮 (BUN)、肾脏脂质过氧化物 (LPO) 值及肾脏汞、钙、铁、锌、铜等金属浓度和肾脏组织形态的变化。结果 染毒组小鼠上述指标及肾脏组织形态与对照组相比, 差异均有显著性。结论 氯化汞具有明显的肾脏毒性, 诱发脂质过氧化增强及引起钙、铁、锌、铜等微量元素代谢障碍可能是氯化汞引起肾脏损伤的重要因素。

关键词: 氯化汞; 肾脏损伤; 机理

中图分类号: R994.6; O613.42 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)05-0266-02

Studies on mechanism of acute renal toxicity of mercury chloride in mice

CHEN Min, XIE Ji-min, CAO You-qing, CHEN Miao, GAO Xiao-qin, Jing Jun-jie

(Zhenjiang Medical College, Zhenjiang 212001, China)

Abstract: Objectives To study the acute renal toxicity of mercury chloride and its mechanism. **Methods** Serum levels of creatinine (Cr) and urea nitrogen (BUN), and levels of lipid peroxide (LPO), mercury (Hg), iron (Fe), calcium (Ca), zinc (Zn), copper (Cu), in the kidney of mice exposed to mercury chloride were determined. Also, morphological changes in the kidney were studied. **Results** There were significant difference in the above mentioned indicators and morphological changes in the kidney between the exposed and control groups. **Conclusions** Mercury chloride was obviously toxic to the kidney and induce enhancement of lipid peroxidation and metabolic disturbance of trace elements, such as Ca, Fe, Zn and Cu, which could be the important factors leading to renal damage.

Key words: Mercury chloride; Renal damage; Mechanism

为了进一步探讨无机汞对肾脏毒作用的机理, 本文就氯化汞急性染毒对小鼠血清肌酐 (Cr) 和尿素氮 (BUN)、小鼠肾脏脂质过氧化物 (LPO) 值和微量元素含量以及小鼠肾脏组织形态的影响进行了研究。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Olympus-Au-600 全自动生化分析仪, 日本; AFS-1201 型双道原子荧光光度计, 北京海光仪器公司; AA-6510F 型原子吸收分光光度计, 日本岛津公司; UV-210 分光光度计, 日本岛津公司; Olympus-CX-40 显微镜, 日本; 氯化汞 (HgCl₂, AR), 上海试剂四厂; 其他试剂均为国产分析纯, 所用试剂均以重蒸水配制。

1.2 动物处理

体质量 25 ~ 30 g 的健康昆明种雄性小鼠 (镇江

医学院实验动物中心提供) 随机分组, 每组 6 只, 注射用 HgCl₂ 临用前以生理盐水配成 0.125 g/L 的 Hg²⁺ 溶液, 染毒组小鼠尾静脉注射 HgCl₂ 溶液 (10 ml/kg 体质量, 染毒剂约为 1/4LD₅₀), 对照组注射生理盐水 (10 ml/kg 体质量)。各批小鼠染毒一定时间后经摘眼球采血, 血清用于有关生化指标测定, 处死小鼠后再迅速摘出肾脏, 生理盐水洗净、吸干, 左肾用于 LPO 值测定, 右肾经 HNO₃-HClO₄ 湿法消化后, 测定汞、钙、铁、锌、铜等金属浓度。

1.3 指标测定

血清肌酐 (Cr) 和尿素氮 (BUN) 测定采用 Olympus-Au-600 全自动生化分析仪; 脂质过氧化物 (LPO) 值测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法^[1], 蛋白质测定采用 Lowry 法^[2], 以小牛血清蛋白为标准; 汞浓度测定采用荧光分光光度法, 钙、铁、锌、铜浓度测定采用原子吸收分光光度法。

1.4 肾脏组织形态观察

将一侧肾脏用福尔马林 (10%) 固定, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜下检查, 图像处理采用 Miss99

收稿日期: 2000-07-17; 修回日期: 2000-09-18

基金项目: 江苏省教委自然科学基金资助项目 (JW97003)

作者简介: 陈敏 (1963-), 女, 江苏镇江人, 硕士, 研究方向为重金属的毒性及解毒。

图像分析系统软件。

1.5 数据处理

用 SPSS 9.0 统计软件进行 *t* 检验及方差分析。

2 结果

2.1 氯化汞对小鼠血清肌肝 (Cr) 和尿素氮 (BUN) 的影响

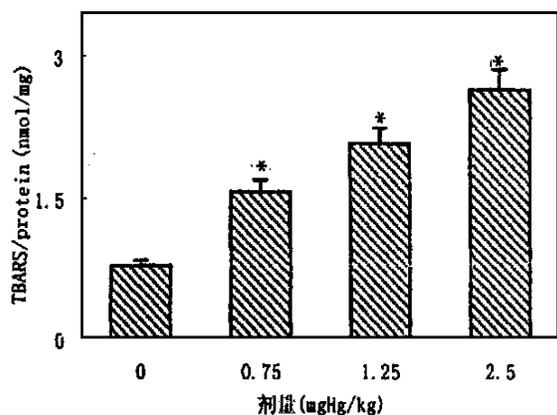
表 1 染汞时间对小鼠血清 Cr 和 BUN 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i> (只)	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	对照组
Cr ($\mu\text{mol/L}$)	6	76.6 ± 22.1 *	34.0 ± 8.8 *	22.8 ± 2.6 **	20.2 ± 2.0 **	13.2 ± 1.0
BUN (mmol/L)	6	53.0 ± 13.3 *	32.4 ± 6.9 *	14.2 ± 1.8 **	14.0 ± 1.6 **	8.8 ± 0.7

与对照组相比 * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$

2.2 氯化汞对小鼠肾脏 LPO 值的影响

由图 1 可见, 染 HgCl₂ (尾静脉注射) 后, 小鼠



* 与对照组相比 $P < 0.01$

图 1 不同剂量汞染毒 1 天后小鼠肾脏 LPO 值

实验表明, 小鼠染 HgCl₂ (1.25 mg/kg 体质量, 尾静脉注射) 后, 小鼠血清 Cr 和 BUN 显著高于对照组, 染毒第 1 天达峰值, 随染毒时间的延长, 血清 Cr 与 BUN 逐渐降低, 但染毒后第 7 天时仍显著高于对照组 (见表 1)。

肾脏 LPO 值显著高于对照组, 且其数值随染毒剂量增大而明显增加。

2.3 氯化汞对小鼠肾脏 Hg、Ca、Fe、Zn、Cu 等金属浓度的影响

在本实验条件下 (剂量 1.25 mg/kg 体质量, 尾静脉注射), 染 HgCl₂ 小鼠肾脏中 Hg、Ca、Cu 等金属浓度在染毒后不同时间均显著高于对照组, 并有明显的时间效应关系, Fe、Zn 浓度在染毒后先是显著高于对照组, 第 5 天起与对照组相比差异已无显著性 (见表 2)。

2.4 氯化汞对小鼠肾脏组织形态的影响

光镜结果表明, HgCl₂ 染毒 (1.25 mg/kg 体质量, 尾静脉注射) 1 天后, 小鼠肾组织损伤严重, 肾小管上皮细胞严重变性, 部分坏死, 肾小管内见大量蛋白管型, 有管型的肾小管明显扩张。

表 2 染 HgCl₂ 时间对小鼠肾脏中 Hg、Ca、Fe、Zn、Cu 浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (天)	<i>n</i> (只)	Hg	Ca	Fe	Zn	Cu
1	6	3.98 ± 1.05	74.44 ± 8.52 *	88.73 ± 11.05 *	48.65 ± 5.38 *	7.15 ± 0.57 *
3	6	2.07 ± 0.80	98.25 ± 12.36 *	80.55 ± 9.16 *	34.11 ± 4.77 *	7.92 ± 0.81 *
5	6	1.11 ± 0.29	52.68 ± 7.68 *	65.13 ± 8.51	28.06 ± 4.12	6.62 ± 0.88 *
7	6	0.98 ± 0.18	46.18 ± 2.59 *	65.22 ± 8.38	27.83 ± 3.56	5.05 ± 0.35 *
对照组	6	N.D	23.28 ± 1.76	63.89 ± 8.88	30.93 ± 4.10	2.46 ± 0.21

注: N.D 未检出; 与对照组相比 * $P < 0.05$

3 讨论

误服升汞 (HgCl₂) 在临床上可引起急性腐蚀性胃肠炎及坏死性肾病; 严重的肾病变可导致无尿、含氮代谢末产物潴留, 急性肾功能衰竭。本研究直接将 HgCl₂ 通过尾静脉注入小鼠血循环, 实验结果显示小鼠血清中的含氮代谢末产物肌酐和尿素氮急剧升高, 第 1 天即达峰值, 约为正常对照组的 6 倍, 以后逐日

降低, 但至第 7 天仍显著高于对照组; 肾组织形态观察发现染毒 1 天后即有肾小管上皮细胞严重变性, 部分坏死, 有大量蛋白管型。

本研究还显示, 染氯化汞 1 天后小鼠肾组织 LPO 值显著高于对照组, 并呈明显的剂量-效应关系, LPO 是自由基对多不饱和脂肪酸的反应产物, 辐射、缺血、缺氧、中毒、炎症以及衰老、 (下转第 270 页)

过程^[1]。因此, QSAR 研究中应尽量采用反映化合物分子 3D 结构参数, 才能提高预测精度。

芳香族化合物的大鼠经口 LD₅₀与分子主惯性矩和水溶解热呈负相关, 与总能量和极化能具有正相关关系, 表明化合物分子的结构对称性、疏水效应、分子极性和化学活性, 联合影响化合物的生物膜穿透能力、与生物大分子间的反应和体内生化代谢过程, 最终表现为毒性大小。

本预测模型对低毒性芳香族化合物的 LD₅₀预测结果准确性差(见表 3)。其原因可能是与本研究采用的化合物毒性分级剂量范围大, 而低毒类芳香族化合物毒性多数属于低毒和微毒分级临界值有关。如果缩小毒性分级剂量范围基础上导出的预测模型, 有可能提高低毒类芳香族化合物的 LD₅₀预测准确度。

利用 QSAR 原理预测化合物毒性已经被人们认为是进行安全性评价的重要补助手段。但是由于此学科尚处于探讨阶段, 还无法反映化合物与受体或酶之间的特异性作用及微观动态变化, 只能根据同源化合物的构效关系规律, 预测同系物的某些生物活性。虽然, 目前还不能用 QSAR 方法完全代替毒理学动物实验, 但它不失为一种极具发展前途的安全性评价方法, 值得我们继续深入地开展工作。

参考文献:

[1] 茆挺, 徐丽娟. 定量结构活性关系在遗传毒理学中的应用及其进

(上接第 267 页) 吞噬杀菌等生理过程, 脂质过氧化都起着重要作用。已有研究报道氯化汞是较强的脂质过氧化诱导剂^[3], 本研究也证明了这一点, 推测氯化汞诱发的脂质过氧化增强可能是氯化汞中毒机制之一。

钙、铁、锌、铜等必需微量元素在体内具有重要的生理作用, 许多疾病均表现有上述金属浓度异常^[4]。正常细胞内游离钙浓度较低, 但组织损伤时往往会引起细胞外钙内流^[5~7], 使细胞内钙浓度升高。本研究结果显示氯化汞引起小鼠肾脏钙浓度显著升高, 可达正常对照值的 3~4 倍, 与血清 Cr 和 BUN 及肾脏 LPO 值升高呈正相关。有文献报道, 正常机体中各种金属元素之间处于平衡状态, 但在金属中毒时常会使金属元素之间失去平衡^[8]。本实验观察到注射氯化汞后也引起了小鼠肾脏中铁、锌、铜含量的明显升高, 推测这可能是氯化汞引起小鼠肾脏毒性的另一重要因素。

展 [J]. 卫生毒理学杂志, 1994, 8 (4): 271-274.

- [2] ECETOC Structure-Activity Relationships in Toxicology and Ecotoxicology [Z]. An Assessment European Chemical Industry Ecology & Toxicology Center Monograph No. 8. Brussels; 1986. 24 February.
- [3] Hatch FT, Colvin ME. Quantitative Structure-Activity (QSAR) Relationships of Mutagenic aromatic and heterocyclic amines [J]. Mutation Research, 1997, 376, 87-96.
- [4] 彭绩, 宋瑞珊, 林琼芳, 等. 信息理论指数及其在有机磷农药毒性预测研究中的应用 [J]. 环境科学方法, 1996, 16 (3): 12-14.
- [5] Briens F, Bureau R, Rault S, et al. Applicability of CoMFA in Ecotoxicology: A Critical Study on Chbropenols [J]. Ecotoxicology And Environmental Safety, 1995, 31, 37-38.
- [6] 张桥. 卫生毒理学基础 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 84.
- [7] Veith GD, Call DJ, Brooke LT. Structure-Toxicity Relationships for the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*; Narcotic industrial chemicals [J]. Canad J Fish Aquatic Sci, 1983, 40: 743-748.
- [8] Chen J, Wang L, Lu G, et al. Quantitative Structure-Activity Relationships Studies of Selected Heterocyclic Nitrogen Compounds [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 58: 372-379.
- [9] Chen JW, Liao YY, Zhao YH, et al. Quantitative Structure-Activity Relationships and mixture toxicity studies of heterocyclic Nitrogen compounds [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1996, 57: 77-83.
- [10] Schultz TW, Bryant SE, Lin DT. Structure-toxicity relationships for Tetrahymena: aliphatic aldehydes [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1994, 52: 279-285.
- [11] King-Thom G, Leonid K, Alexanderk, et al. Review of mutagenicity of monocyclic aromatic amines: quantitative Structure-Activity Relationships [J]. Mutation Research, 1997, 387: 1-16.

参考文献:

- [1] Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test [J]. Anal Biochem, 1978, 86: 271.
- [2] Lowry OH, Rosebriugh NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folinphenol reagent [J]. J Biochem, 1952, 193: 233.
- [3] 朱砂, 郑波, 杨茵, 等. 氯化汞的肝细胞毒性与脂质过氧化 [J]. 同济医科大学学报, 1993, 22 (6): 2-4.
- [4] 和田攻. 微量元素的研究现状 [J]. 国外医学卫生学分册, 1991, (4): 238-240.
- [5] Xie JM, Funakoshi T, Shimada H, et al. Effects of chelating agents on testicular toxicity in mice by acute exposure to nickel [J]. Toxicology, 1995, 103: 147.
- [6] Xie JM, Funakoshi T, Shimada H, et al. Comparative effects of chelating agents on pulmonary toxicity of systemic nickel in mice [J]. J Appl Toxicol, 1996, 16: 317.
- [7] 谢吉民, 胡继岳. 新型螯合剂对镍致小鼠肝脏毒性的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1997, 15 (6): 325.
- [8] 连祥霖. 钼对汞毒性的保护作用 [J]. 工业卫生与职业病, 1995, 21 (3): 149-150.