

茶多酚、维生素C对镉急性毒性影响的实验研究

陈慧中, 徐兆发, 裴秀丛, 郑霄, 李晶, 李北利

(中国医科大学公共卫生学院环境卫生教研室, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 研究预先授予茶多酚(TP)和Vit C对急性镉(Cd)毒性的影响。方法 4组Wistar大鼠分别皮下注射氯化钠、25 $\mu\text{mol/kg}$ 的氯化镉溶液, 以及以TP、Vit C预处理后的25 $\mu\text{mol/kg}$ 氯化镉溶液。染毒24 h后测定其血清中的ALT和LDH含量, 肝和肾皮质的Cd含量, 肝、肾组织中的GSH和MDA含量及GSH-Px活性。结果 与对照组比较, 单纯染镉组大鼠肝、肾Cd含量升高, 肝GSH、MDA含量升高, GSH-Px活性降低, 而肾GSH-Px活性降低。经TP和Vit C预处理后, 急性染镉大鼠血清中的ALT和LDH活性及肝脏中GSH、MDA含量明显低于单纯染镉组, 而GSH-Px活性高于单纯染镉组。TP干预组肝脏中的Cd及肾脏中MDA显著低于单纯染镉组, Vit C干预组未见差异。与单纯染镉组比较, TP和Vit C干预组肾脏中的Cd、GSH含量及GSH-Px活性差异无显著性。结论 TP和Vit C预处理对急性镉中毒所致的肝损伤有一定的预防作用。

关键词: 镉; 茶多酚; 维生素C

中图分类号: O614.242 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)01-0012-03

Experimental study on the effect of tea polyphenols and Vitamin C on acute toxicity of cadmium

CHEN Hui-zhong, XU Zhao-fa, PEI Xiu-cong, ZHENG Xiao, LI Jing, LI Bei-li

(School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: Objective To study the effects of tea polyphenols (TP) and Vitamin C (Vit C) on acute toxicity of cadmium (Cd).

Method 40 Wistar rats were randomly divided into four groups. The rats of control were injected subcutaneously with normal saline. The rats in second group were subcutaneously injected with CdCl_2 25 $\mu\text{mol/kg}$. The rats in third group and fourth group were pretreated with TP and Vit C respectively and then injected subcutaneously with 25 $\mu\text{mol/kg}$ CdCl_2 , activities of ALT and LDH in serum, levels of cadmium, GSH, MDA and GSH-Px activity in the liver and renal cortex of the rats were determined 24 hours after administration of cadmium. **Result** Compared with controls serum ALT and LDH activities, cadmium levels in liver and renal cortex, GSH, MDA concentration in liver were all increased, GSH level decreased in renal cortex; GSH-Px activities in liver and renal cortex were decreased with the cadmium dose of exposure. While serum ALT and LDH activities and the hepatic GSH and MDA level in the rats pretreated with TP and Vit C were significantly lower than those of injecting cadmium only, but the GSH-Px activities in liver were higher than Cd exposed rats; the cadmium level in liver and MDA concentration in renal cortex of rats pretreated with TP were significantly lower than cadmium treated rats; the differences of Cd, GSH, GSH-Px in renal cortex between TP and Vit C pretreated group and cadmium group had no significance. **Conclusion** Acute exposure to cadmium may mainly cause liver damage, pretreatment with TP and Vit C can protect the liver from damage caused by cadmium.

Key words: Cadmium; Tea polyphenols (TP); Vitamin C

镉是一种有毒的重金属, 肝脏、肾脏是镉毒性作用的主要靶器官。镉引起的氧化反应已被看作镉毒性损伤的一个重要机制^[1]。茶多酚(tea polyphenols, TP)是从茶叶中提取的一种多酚类化合物, 具有消除自由基、增强机体免疫力、抑制脂质过氧化等功能^[2]。维生素C(Vit C)在大多数的生物环境中以抗坏血酸盐的形式存在, 它被认为是最主要的细胞外液的抗氧化物, 可以保护细胞免受 $^1\text{O}_2$ 的损伤, 而且Vit C

在细胞内液也可发挥重要的抗氧化作用, 显示出有效的清除 H_2O_2 、 $\text{OH}^\cdot$ 及 $^1\text{O}_2$ 的能力。

本研究主要目的是通过观察TP和Vit C预处理对急性镉毒性作用的影响, 为探讨镉中毒的发病机理和防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及染毒

由中国医科大学实验动物中心提供实验用Wistar大鼠40只, 体质量(140 ± 10)g, 雌雄各半。正式实验前饲养7 d, 按体质量随机分成4组, 每组10只。第1组为对照组, 大鼠皮下注射0.9%氯化钠; 第2组为单纯染镉组, 皮下注射25 $\mu\text{mol/kg}$ 的 CdCl_2

收稿日期: 2002-07-22; 修回日期: 2002-10-28

作者简介: 陈慧中(1973-)女, 主治医师, 沈阳市疾病控制中心定向硕士研究生, 主要从事镉毒理学研究。

溶液;第3组 TP 干预组,大鼠预先灌胃 TP 500 mg/kg,2 h 后皮下注射 25 μmol/kg 的 CdCl₂ 溶液;第4组 Vit C 干预组,大鼠预先腹腔注射 Vit C 4 mmol/kg,1 h 后皮下注射 25 μmol/kg 的 CdCl₂ 溶液。染毒 24 h 后,将大鼠用乙醚麻醉,腹主动脉采血,分离血清。取肝、肾组织,剥离肾被膜,切取肝脏、肾皮质样品制备成匀浆。

1.2 测定指标及方法

ALT 的测定用 Retimen 法^[3];LDH 的测定用 2,4-二硝基苯肼比色法^[3];GSH 测定用 DTNB 法^[4];MDA 测定用硫代巴比妥酸比色法^[5];肝、肾镉含量测定用原子吸收分光光度火焰法;组织 GSH-Px 活性用 DTNB 直接法^[6]。

1.3 统计分析

实验所得数据以平均值±标准误表示,用 SPSS 软件单因素方差分析方法进行组间差异的显著性检验,两组间比较用 q 检验。

2 结果

2.1 各实验组大鼠血清中 ALT 和 LDH 含量的变化(见表 1)

从表 1 看出,单纯染镉组 ALT 和 LDH 的含量均明显高于对照组,TP、VC 干预组血清中的 ALT 和 LDH 的含量均明显低于单纯染镉组,差异有显著意义。

表 3 各实验组大鼠肝脏、肾皮质 GSH、MDA 含量及 GSH-Px 活性测定 (x±s)

分组	GSH (μmol/g)		MDA (nmol/g)		GSH-Px (U/mg)	
	肝脏	肾皮质	肝脏	肾皮质	肝脏	肾皮质
对照组	9.127±0.684	7.029±0.551	118.593±10.288	204.201±16.994	5.044±0.370	14.287±3.143
单纯染镉组	16.079±2.134**	4.226±0.477**	186.606±33.621*	214.674±28.826	1.128±0.2154**	3.973±0.659**
TP 干预组	10.375±0.455△△	5.167±0.218*	61.486±6.025*△△	118.367±12.742**△△	2.774±0.507**△△	2.001±0.334**
Vit C 干预组	9.831±1.036△△	5.312±0.480*	113.361±9.686△△	203.240±21.440	4.681±0.430△△	3.910±0.342**

从表 3 可看出,单纯染镉组肝脏 GSH、MDA 含量明显高于对照组,肾皮质 GSH 含量显著低于对照组。TP、Vit C 干预组肝脏 GSH、MDA 含量均明显低于单纯染镉组,差异有非常显著意义(P<0.01)。2 个干预组肾皮质 GSH 含量与染镉组比较差异无显著意义,但 TP 干预组肾皮质中的 MDA 含量低于单纯染镉组,且差异有非常显著意义(P<0.01),其他组差异无显著意义。

单纯染镉和 TP 干预组肝脏 GSH-Px 活性明显低于对照组。TP、Vit C 干预组肝 GSH-Px 活性均显著高于单纯染镉组(P<0.01)。肾皮质 GSH-Px 活性染镉组

2.2 实验组大鼠肝脏、肾皮质镉含量变化(见表 2)

表 1 各实验组大鼠血清中 ALT 和 LDH 的含量 (x±s)

分组	ALT (U/L)	LDH (U/L)
对照组	96.56±5.439	116.523±11.221
单纯染镉组	1149.038±196.741**	246.739±27.809**
TP 干预组	127.18±13.503△△	180.618±23.352*△
Vit C 干预组	123.68±8.090△△	167.069±11.516△△

与对照组比较 *P<0.05 **P<0.01;与单纯染镉组比较 △P<0.05, △△P<0.01, 以下同。

表 2 各实验组大鼠肝脏、肾脏皮质镉含量的变化 (x±s)

分组	肝脏 (μmol/g)	肾皮质 (μmol/g)
对照组	0.148±0.019	0.147±0.031
单纯染镉组	3.933±0.611**	1.294±0.222**
TP 干预组	1.669±0.121**△△	0.711±0.063**
Vit C 干预组	4.278±0.681**	1.147±0.031**

从表 2 可见,单纯染镉组大鼠肝脏、肾皮质镉含量明显高于对照组,TP 干预组肝脏的镉含量低于单纯染镉组,差异有非常显著性(P<0.01),而 Vit C 干预组肝脏的镉含量与单纯染镉组比较未见显著差异。TP、Vit C 干预组肾脏的镉含量与单纯染镉组比较差异无显著意义。

2.3 各实验组大鼠肝脏、肾皮质 GSH、MDA 含量和 GSH-Px 活性的变化(见表 3)

及 TP、Vit C 干预组均低于对照组,TP、Vit C 干预组与单纯染镉组比较差异无显著意义。

3 讨论

镉的毒作用机制尚未完全阐明,但大量研究表明,镉所引起的组织、器官损伤与脂质过氧化有关^[7]。本实验用血清中的 ALT 和 LDH 来反映肝损伤情况。ALT 和 LDH 是胞浆标志酶,在肝脏内含量较高,少量组织坏死即可释放出该酶,而使血清中酶活性升高。给大鼠皮下注射 25 μmol/kg 氯化镉溶液 24 h 后发现,其血清中的 ALT 和 LDH 明显增高,分别为对照组的 11.9 倍及 2.1 倍,而且与对照组比较,单

纯染镉组肝脏的Cd含量以及氧化指标提示大鼠急性染镉后可引起肝脏明显的氧化损伤。本实验发现单纯染镉组与对照组相比较,肾脏的氧化损伤并不明显,这可能由于急性镉中毒主要靶器官是肝脏^[8],而肾脏抗氧化系统刚刚启动。

据报道,TP有多种健康效益^[9],其中TP的抗氧化特性备受人们的重视。本次实验结果表明TP可减轻急性Cd中毒所致的肝脏损伤,并且可缓解Cd所致的GSH应激性升高,恢复GSH-Px活性,减少MDA的生成,这可能是由茶多酚抗氧化能力决定的。一方面,茶多酚中的黄烷醇可做为功能性的供氢体,与超氧化物阴离子、羟自由基(OH[·])等反应,形成相应的氧化物O-苯醌,因而具有清除自由基的能力。另一方面,茶多酚中的儿茶酚环具有金属螯合能力,可结合并降低游离的Fe²⁺,它能催化自由基链式反应中Fenton反应、Haber-Weiss反应,减少OH[·]的生成,减轻Cd的脂质过氧化作用。本次实验发现TP干预后大鼠肝镉含量明显低于单纯染镉组,为Cd组的42.7%。这可能也是由于茶多酚具有金属螯合能力,它可结合Cd离子,促进Cd的排除。

Vit C又称抗坏血酸,是一种水溶性的低分子抗氧化剂,是胞液中重要的活性氧清除剂之一^[10]。本次实验发现,与单纯染镉组比较Vit C干预组血中的ALT和LDH两项指标明显减低,分别降至单纯染镉组的10.8%、68%;预注射Vit C可减轻急性Cd中毒所致的肝脏氧化损伤,并且可缓解Cd对抗氧化酶的抑制程度。这可能由于Vit C能清除或减少细胞内外自由基及其有害物质,使细胞免受¹O₂的损伤。Vit C

还可以阻断非酶糖化反应,从多方面保护细胞免受损害,并参与体内某些酶活性的维持,稳定和生物膜。且由于Cd离子能与体内含-SH酶类的-SH结合使其失活,Vit C可使氧化型谷胱甘肽还原成谷胱甘肽,后者与Cd离子结合,可使含巯基酶解释,加强了其解毒作用。综上所述,TP、Vit C对急性镉所致的肝脏氧化损伤有一定的预防作用。

参考文献:

- [1] Shaikh Z A, Vu T Zaman K. Oxidation stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants [J]. *Toxicol Appl pharmacol*, 1999, 154 (3): 256-263.
- [2] Harbowy M E, Balentine D A. Tea chemistry [J]. *Plant Sci*, 1997, 16: 415-480.
- [3] 生物化学及生物化学检验技术编写组. 生物化学及生物化学检验技术 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1980. 237-239, 246-248.
- [4] 张平, 孟宪均. 分光光度法测定大鼠不同组织还原型谷胱甘肽含量 [J]. *中华实用外科杂志*, 1989, 6 (3): 141-142.
- [5] 万伯健. 卫生毒理学 [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1991. 216-217.
- [6] 夏奕明. 改良红细胞还原型谷胱甘肽氧化酶活力的测定方法 I. DTNB直接法 [J]. *卫生研究*, 1987, 16 (4): 29.
- [7] Bagchi D, Vuchetich P J, Bagchi M, et al. Induction of oxidative stress by chronic administration of sodium dichromate and cadmium chloride to rats [J]. *Biol Med*, 1997, 22: 471-473.
- [8] 周桂凤, 曾明, 钟才高, 等. 急性染镉对小鼠肝肾组织谷胱甘肽的影响 [J]. *实用预防医学*, 2000, 4 (7): 98-99.
- [9] Trevisanato S I, Kim Y I. Tea and Health [J]. *Nutrition Rev*, 2000, 58: 1-10.
- [10] 闻芝梅, 陈君石. 现代营养学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 140-143.

(上接第11页)

本研究烟草工作岗位粉尘浓度波动在13.76~29.55 mg/m³之间,超过了国家卫生标准。烟草粉尘可引起接尘工人慢性肺功能损害^[6~8],本研究肺通气功能各项指标的实测值与预计值的百分比均低于对照工人,各项指标的异常率明显高于对照工人,说明烟草粉尘对工人肺通气功能存在着慢性损害。

(本次调查中毒菌鉴定由辽宁中医学院吕乃群教授协助完成,志谢。)

参考文献:

- [1] Ring J, Eberlein-Koenig B, Behrendt H. Environmental pollution and allergy [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2001, 87 (6 Suppl 3): 2-6.
- [2] Reiman M, Uitti J. Exposure to microbes, endotoxins and total dust in

Ann Occup Hyg 2000, 44 (6): 467-473.

- [3] Uitti J, Nordman H, Hurskonen M S, et al. Respiratory health of cigar factory workers [J]. *Occup Environ Med*, 1998, 55 (12): 834-839.
- [4] Hurskonen M S, Husman K, Jarvisalo J, et al. Extrinsic allergic alveolitis in the tobacco industry [J]. *Br J Ind Med*, 1984, 41 (1): 77-83.
- [5] Richerson H B, Bernstein L B, Fink JN, et al. Guideline for the clinical evaluation of hypersensitivity pneumonitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1989, 84: 839-844.
- [6] 张永兴, 楼介治, 孟德成, 等. 烟草工人粉尘接触水平与肺功能损害的卫生学调查 [J]. *中国公共卫生*, 1994, 10 (5): 214-216.
- [7] 张永兴, 楼介治, 郭晓芳, 等. 某烟叶复烤厂接尘工人肺功能配对研究 [J]. *职业医学*, 1994, 21 (1): 14-17.
- [8] Kjaegard SK. Respiratory disease and lung function in a tobacco industry [J]. *Arch Environ Health*, 1989, 44 (3): 164.