

# 谷胱甘肽和牛磺酸对汞急性肾毒性影响的实验研究

于佳明, 徐兆发, 杨敬华, 尹忠伟, 孙 炜, 李 晶

(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 探讨预先投予 GSH 和牛磺酸对汞急性肾毒性的影响。方法 将 32 只 Wistar 大鼠随机分为对照、HgCl<sub>2</sub> 染毒、GSH+HgCl<sub>2</sub> 和牛磺酸+HgCl<sub>2</sub> 4 组。对照组皮下注射 0.9% 的生理盐水, 汞染毒组皮下注射 2.5 mg/kg 的 HgCl<sub>2</sub> 溶液, 注射容量为 5 ml/kg。GSH 和牛磺酸组于注射相同剂量 HgCl<sub>2</sub> 前 2 h 分别腹腔注射 3 mmol/kg 的 GSH 溶液和 4 mmol/kg 的牛磺酸溶液。测定尿 N-乙酰β-D 氨基葡萄糖苷酶 (NAG)、碱性磷酸酶 (ALP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, 尿蛋白和尿肌酐含量, 血清尿素氮 (BUN) 以及尿汞和肾汞含量。结果 与对照组比较, HgCl<sub>2</sub> 染毒组尿 NAG、ALP、LDH 活性显著升高, 尿蛋白、BUN、尿汞、肾汞含量明显增加。预先投予 GSH 和牛磺酸后, 可使汞染毒大鼠尿 NAG 和 ALP 活性、尿蛋白和 BUN 含量均较 HgCl<sub>2</sub> 染毒组显著减低; GSH 组尿汞显著低于单纯染汞组, 而牛磺酸组尿汞、肾汞与汞染毒组比较差异则无显著性。结论 GSH 和牛磺酸对汞致急性肾损伤有一定的保护作用。

**关键词:** GSH; 牛磺酸; 汞; 肾毒性

中图分类号: R135.13 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)02-0089-03

## Experimental study on the effect of glutathione and taurine on acute nephrotoxicity caused by mercury

YU Jia-ming, XU Zhao-fa, YANG Jing-hua, YIN Zhong-wei, SUN Wei, LI Jing

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

**Abstract:** **Objective** To study the effects of glutathione (GSH) and taurine on acute nephrotoxicity caused by mercury (Hg). **Method** Thirty-two Wistar rats were randomly divided into four groups. Control rats were given subcutaneous injections with 0.9% saline. Rats in mercuric chloride (HgCl<sub>2</sub>) group were subcutaneously injected with 2.5 mg/kg HgCl<sub>2</sub>. Other two rat groups were pretreated with 3 mmol/kg GSH and 4 mmol/kg taurine, respectively and two hours later injected subcutaneously with 2.5 mg/kg HgCl<sub>2</sub>. Urine activities of NAG, ALP, LDH, urine protein and mercury levels were determined. Serum level of BUN and content of mercury in the renal cortex of rats were measured. **Result** As compared with the controls, urine activities of NAG, ALP, LDH, urine protein and mercury levels, serum level of BUN and content of mercury in the renal cortex in the rats with 2.5 mg/kg HgCl<sub>2</sub> all increased significantly. Urine activities of NAG and ALP, urine level of protein and serum level of BUN decreased significantly in the rats pretreated with GSH and taurine, as compared with those injected with mercury alone. Urine level of mercury in the GSH group was significantly lower than that in the mercury group. As compared with the mercury group, urine level of mercury in the rats with taurine and content of mercury in the renal cortex in the rats with GSH and taurine all had no significant difference. **Conclusion** Pretreated with GSH and taurine had certain protection against acute nephrotoxicity caused by mercury.

**Key words:** Glutathione (GSH); Taurine; Mercury; Nephrotoxicity

汞是广泛分布于环境中的毒性金属。研究资料表明, 肾脏是无机汞摄取、蓄积和表达毒性最主要的靶器官<sup>[1]</sup>。近年来, 无机汞所致肾脏的氧化损伤机制研究颇多<sup>[2,3]</sup>, 有人研究抗氧化剂对无机汞所致肾损伤有一定的保护作用<sup>[4,5]</sup>。GSH 是机体重要的抗氧化物质, 具有抑制 LPO, 清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、·OH 的功能。牛磺酸 (Taurine, Tau) 是内源性抗氧化剂, 近年来研究发现其具有抗脂质过氧化损伤和免疫调节等广泛生物效应<sup>[6]</sup>。本研究选用这两种抗氧化剂, 初步探讨二者是否对汞致大鼠急性肾损伤具有保护作用, 为深入研究抗氧化剂拮抗无机汞所致肾损伤机制提供初步的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物分组及染毒

由中国医科大学实验动物中心提供的 Wistar 大鼠 32 只, 体重 (150±10) g, 雌雄各半。正式实验前饲养 7 d, 按体重随机分为 4 组, 每组 8 只。第 1 组为对照组, 第 2 组单纯染汞组, 第 3 组为 GSH+HgCl<sub>2</sub> 组, 第 4 组为牛磺酸+HgCl<sub>2</sub> 组。对照组皮下注射 5 ml/kg 的 0.9% 生理盐水, 单纯染汞组皮下注射 2.5 mg/kg 的 HgCl<sub>2</sub> 溶液, GSH 和牛磺酸组于注射相同剂量 HgCl<sub>2</sub> 前 2 h 分别腹腔注射 3 mmol/kg 的 GSH 溶液和 4 mmol/kg 的牛磺酸溶液。将大鼠放入代谢笼, 收集 12 h 尿, 测定尿 NAG、ATP 和 LDH 活性, 尿汞、蛋白和肌酐含量; 48 h 后乙醚麻醉大鼠, 腹主动脉采血, 分离血清, 测定 BUN 含量。处死大鼠, 切取肾皮质测定其汞含量。

收稿日期: 2003-07-22; 修回日期: 2003-11-08

作者简介: 于佳明 (1969-), 女, 沈阳人, 副主任医师, 博士在读。主要从事重金属毒理学研究。

1.2 测定指标和方法

尿 NAG 的测定用对硝基酚比色法<sup>[7]</sup>, 尿 ALP 的测定用金氏法<sup>[8]</sup>, 尿 LDH 的测定用 2,4-二硝基苯肼比色法<sup>[9]</sup>, 尿总蛋白的测定用考马斯亮蓝法<sup>[10]</sup>, 尿肌酐的测定用苦味酸比色法<sup>[11]</sup>, 血清尿素氮的测定用二乙酰-肼法<sup>[12]</sup>, 尿汞肾汞的测定用冷原子吸收法<sup>[13]</sup>。

实验所得数据以平均值±标准误表示, 用 SPSS10.0 软件单因素方差分析方法 (ANOVA) 进行组间差异的显著性检验, 两两比较用 Q 检验 (Newman-Keuls)。

2 结果

2.1 GSH 和牛磺酸对大鼠尿 NAG、ALP 和 LDH 活性的影响

单纯染 HgCl<sub>2</sub> 组大鼠尿 NAG、ALP、LDH 活性显著高于对照组。经 GSH 和牛磺酸干预, 尿 NAG 和 ALP 活性均显著降低, GSH 组比牛磺酸组下降更明显; 与单纯染 HgCl<sub>2</sub> 组比较, 尿 LDH 活性在 GSH 组显著下降, 在牛磺酸组显著升高。见表 1。

表 1 各组大鼠尿 NAG、ALP 和 LDH 活性变化 ( $\bar{x} \pm s$ )  
U/g Cr

组别	NAG 活性	ALP 活性	LDH 活性
对照	43.65±3.26	24.52±5.28	0.85±0.44
HgCl <sub>2</sub>	674.52±205.95 <sup>ΔΔ</sup>	1117.63±388.12 <sup>ΔΔ</sup>	47.07±12.54 <sup>Δ</sup>
GSH+HgCl <sub>2</sub>	71.66±24.33	82.13±41.98	6.88±2.92
牛磺酸+HgCl <sub>2</sub>	125.71±37.92	438.62±248.59	93.75±19.99

Δ 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ΔΔ 与对照组比较,  $P < 0.01$ ; 与 Hg 组比较,  $P < 0.05$ ; 与 Hg 组比较,  $P < 0.01$

2.2 GSH 和牛磺酸对大鼠尿蛋白和 BUN 含量的影响

单纯染 HgCl<sub>2</sub> 组大鼠尿蛋白含量和血清 BUN 水平显著高于对照组。GSH 和牛磺酸干预后, 尿蛋白含量和血清 BUN 水平均显著低于单纯染 HgCl<sub>2</sub> 组; 尿蛋白含量和血清 BUN 水平与对照组比较差异均无显著性。见表 2。

表 2 各组大鼠尿蛋白和血清 BUN 含量变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	尿蛋白 (mg/gCr)	BUN (mmol/L)
对照	0.77±0.14	15.48±0.88
HgCl <sub>2</sub>	16.40±6.34 <sup>ΔΔ</sup>	35.78±5.42 <sup>ΔΔ</sup>
GSH+HgCl <sub>2</sub>	1.30±0.23	16.47±1.46
牛磺酸+HgCl <sub>2</sub>	2.53±0.94	22.42±4.84

ΔΔ 与对照组比较,  $P < 0.01$ ; 与 Hg 组比较,  $P < 0.05$ , 与 Hg 组比较,  $P < 0.01$

2.3 GSH 和牛磺酸对大鼠尿 Hg 和肾皮质 Hg 含量的影响

GSH 干预组的尿汞显著低于单纯染 HgCl<sub>2</sub> 组, 而牛磺酸干预组则差异不显著。GSH 组和牛磺酸组肾皮质 Hg 含量与单纯染汞组比较, 差异均无显著性。见表 3。

表 3 各组大鼠尿 Hg 和肾皮质 Hg 含量变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	尿 Hg ( $\mu\text{mol/g Cr}$ )	肾皮质 Hg ( $\mu\text{g/g}$ )
对照	3.33±0.70	0.88±0.04
HgCl <sub>2</sub>	57.99±16.17 <sup>ΔΔ</sup>	83.51±4.79 <sup>ΔΔ</sup>
GSH+HgCl <sub>2</sub>	20.09±4.14	71.28±4.03
牛磺酸+HgCl <sub>2</sub>	36.50±14.62	58.75±9.33

ΔΔ 与对照组比较,  $P < 0.01$ ; 与 Hg 组比较,  $P < 0.05$

3 讨论

研究资料表明, 汞及其化合物进入体内约有 85% 蓄积于肾脏<sup>[14]</sup>。氯化汞对肾脏的损伤作用早已确定, 不仅损伤肾小管刷状缘, 也损伤细胞内部结构<sup>[15]</sup>。近年研究表明, 尿酶还可以作为亚细胞结构的标记, 如 NAG 为溶酶体的标志酶。肾近曲小管上皮细胞刷状缘富含 ALP, LDH 大量存在于近曲和远曲小管的细胞浆内<sup>[16]</sup>。当肾小管损伤, 肾小管上皮细胞出现坏死时, 尿排泄大量的细胞内酶, 其活性增高程度反映了肾脏的损伤程度<sup>[17]</sup>。急性肾损伤可致尿蛋白和尿汞排除增加; BUN 的水平升高也可反映肾脏损伤程度。

GSH 是机体过氧化物和自由基的还原剂。肾 GSH 水平可决定肾汞的沉积和排除率, 因此可增加或者缓解由金属产生的肾毒性<sup>[18]</sup>。本研究表明, 3 mmol/kg 的 GSH 干预后, 可明显降低 NAG、ALP 活性及尿蛋白、尿汞和 BUN 含量; 并且尿 LDH 活性也有降低趋势。其保护机制可能是外源 GSH 与血浆中 Hg<sup>2+</sup> 结合, 形成 Hg<sup>2+</sup>-GSH 复合物在肾脏蓄积, 从而减轻了 Hg<sup>2+</sup> 对肾组织的直接损伤; 也可能是直接通过 GSH 的抗氧化作用, 这有待于今后进一步探讨。肾汞含量差异无显著性说明 GSH 无驱汞作用。

牛磺酸是广泛分布于动物组织细胞内游离的含硫β-氨基酸。Verzola 研究发现, 牛磺酸可作为管细胞的内源性抗氧化剂, 在阻止糖尿病肾病的管损伤中起有益作用<sup>[19]</sup>。另有研究表明, 牛磺酸能降低糖尿病大鼠肾皮质血管紧张素 II (AngII) 含量及纤溶酶原激活物抑制物 1 (PAI-1) 活性及其基因的表达<sup>[20]</sup>。我们采用 4 mmol/kg 牛磺酸干预后发现, 它可明显降低尿 NAG、ALP 活性及尿蛋白水平和血清尿素氮含量。说明牛磺酸对汞的急性肾毒性呈现一定的保护作用, 但机制目前尚不清。

参考文献:

[1] 李树强, 赵金垣. 汞在肾脏内代谢的研究进展 [J]. 中国职业医学, 2002, 29 (2): 47-48.  
[2] Lund BO, Miller DM, Woods JS. Studies on Hg (II)-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria [J]. Biochem Pharmacol, 1993, (45): 2017-2024.  
[3] Shinojo N, Kumagai Y, Nagafune J. Difference between kidney and liver in decreased manganese superoxide dismutase activity caused by exposure of mice to mercuric chloride [J]. Arch Toxicol, 2002, 76 (7): 383-387.  
[4] Ahn CB, Song CH, Kim WH, et al. Effects of Juglans sinensis Dode extract and antioxidant on mercury chloride-induced acute renal failure in rabbits [J]. J Ethnopharmacol, 2002, 82 (1): 45-49.  
[5] Akeo MF, Morandini F, Bettoni F, et al. Antioxidant potential and gap junction-mediated intercellular communication as early biological markers of mercuric chloride toxicity in the MDCK cell line [J]. Toxicol In Vitro, 2002, 16 (4): 457-465.  
[6] 张静波, 郭啸华, 袁发焕, 等. 牛磺酸大鼠被动型 Heymann 肾炎的疗效观察 [J]. 中华内科杂志, 2000, 39 (7): 486-487.  
[7] 杨振修. 唾液和尿液的 N-乙酰β-D-氨基葡萄糖苷酶的测定方法 [J]. 上海医学, 1983, 6: 228.  
[8] 黄晔君. 尿液中γ-谷氨酰基转氨酶、乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶、亮氨酸氨基肽酶的测定方法 [J]. 天津医药, 1982, 5: 308.

- [9] 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]. 江苏: 江苏科学技术出版社, 1980. 237-239.
- [10] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [11] 湖南医学院第二附属医院检验科. 临床生化检验 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1981. 417.
- [12] 王庸晋. 现代临床检验学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2000. 324-325.
- [13] 赵达维, 高京敏, 李庭俊, 等. 冷原子吸收光谱法测定尿汞规范研究——酸性氯化亚锡还原法 [J]. 工业卫生与职业病, 1990, 16 (4): 237-238.
- [14] 何凤生. 中华职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 230.
- [15] 覃国杰, 陈月华, 周心丽, 等.  $HgCl_2$  对大鼠肾肝睾丸的急性损伤 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1992, 10 (4): 273-275.
- [16] 邓海. 尿酶与肾脏毒性研究 [J]. 国外医学卫生学分册, 1984, 11 (4): 193.
- [17] Price RG. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal diseases [J]. Toxicology, 1982, 23: 99-101.
- [18] Zakups RK, Lash LH. Depletion of glutathione in the kidney and the renal disposition of administered inorganic mercury [J]. Drug Metab Dispos, 1997, 25 (4): 516-523.
- [19] Verzola D, Bertolotto MB, Villaggio B, et al. Taurine prevents apoptosis induced by high ambient glucose in human tubule renal cells [J]. J Invest Med, 2002, 50 (6): 443-451.
- [20] 张国军, 邹雅斌, 苗春生. 纤溶酶原激活物抑制物-1 在糖尿病大鼠肾皮的表达和牛磺酸的调节作用 [J]. 中华内科杂志, 2000, 39 (4): 239-241.

## 维生素 C、E 对汞急性肾毒作用影响的实验研究

杨敬华, 徐兆发, 尹忠伟, 于佳明, 孙 炜, 李 晶

(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 探讨 Vit C 和 Vit E 对汞急性肾毒作用的影响。方法 Wistar 大鼠随机分成 6 组: 对照组、低、中、高剂量染汞组, Vit C、Vit E 预处理组。染毒 12 h 后收集 12 h 尿样, 采集血液, 分离血清, 切取肝脏、肾皮质样品。测定肝、肾皮质和尿中汞含量, 尿 *N*-乙酰- $\beta$ -D 氨基葡萄糖苷酶 (NAG)、碱性磷酸酶 (ALP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性和尿蛋白、血清尿素氮 (BUN) 含量。结果 高剂量染汞组肝、肾皮质和尿中汞含量显著高于对照组, 且肾皮质中汞含量显著高于肝汞。高剂量染汞组尿 NAG、ALP、LDH 活性和尿蛋白、BUN 含量显著高于对照组。Vit C 和 Vit E 预处理组肝、肾皮质和尿中汞含量显著高于对照组, 尿 NAG、ALP 活性和尿蛋白含量显著低于高剂量染汞组, LDH 活性和 BUN 含量也低于高剂量染汞组, 且 Vit C 预处理组与高剂量染汞组差异有显著性。结论 Vit C 和 Vit E 对汞急性肾毒作用有一定的拮抗作用。

**关键词:** 维生素 C; 维生素 E; 汞; 肾毒作用

中图分类号: R135.13 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)02-0091-03

### Experimental study on effects of vitamin C and vitamin E on the acute nephrotoxicity of mercury

YANG Jing-hua, XU Zhao-fa, YIN Zhong-wei, YU Jia-ming, SUN Wei, LI Jing

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

**Abstract:** **Objective** To study the effects of Vit C and Vit E on the acute nephrotoxicity caused by mercury. **Method** Wistar rats were divided into four groups randomly, i. e., control group, Hg exposed group (including mild exposure, middle exposure and high exposure three subgroups), Vit C treatment group and Vit E treatment group. At 12th hour after last mercury exposure, the animals were held in metabolic cages for 12 hours, collected the urine, liver, renal cortex and blood samples for the measurement of Hg contents in liver, renal cortex and urine; the urinary activities of *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG), alkaline phosphatase (ALP), lactic dehydrogenase (LDH); the urinary levels of protein and the blood urea nitrogen (BUN). **Result** The Hg contents of liver, renal cortex and urine, the urinary activities of NAG, ALP, LDH, the urinary level of protein and BUN content in high exposure subgroup were all significantly higher than that of control group, and the Hg content in renal cortex was higher than that in liver. The results also showed that the Hg contents in liver, renal cortex and urine in Vit C group and Vit E group were all significantly increased as comparing with those of control, while the urinary activities of NAG, ALP and LDH, the urinary protein level and BUN in Vit C and Vit E groups were also significantly lower than that of high exposure subgroup. **Conclusion** Vit C and Vit E have an antagonistic effect on the acute nephrotoxicity of mercury.

**Key words:** Vitamin C; Vitamin E; mercury (Hg); Nephrotoxicity

收稿日期: 2003-07-23; 修回日期: 2003-08-15

作者简介: 杨敬华 (1977-), 女, 沈阳人, 硕士研究生, 主要从事毒理学研究。