

· 实验研究 ·

顺铂肝毒性的实验研究

Experimental study on hepatic toxicity of cisplatin

李革新, 金亚平, 陆春伟, 孙贵范

LI Ge-Xin, JIN Ya-ping, LU Chun-wei, SUN Gui-fan

(中国医科大学公共卫生学院 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 选择雄性昆明种小鼠, 经腹腔连续注射顺铂 5 d, 观察不同剂量顺铂对小鼠肝脏的损伤作用。结果显示, 顺铂可引起实验小鼠体重下降、肝脏器系数降低和 ALT 活性升高, 并呈剂量依赖关系。此外, 顺铂还可引起肝 GSH 水平下降、LPO 含量升高。提示氧化损伤是顺铂肝毒性的可能机制之一。

关键词: 顺铂; 肝毒性; 氧化损伤

中图分类号: R979.1 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2005)06-0352-02

顺铂是一种广谱抗癌药, 可引起多种不良反应, 其中有关顺铂对肾脏和内耳的损伤研究资料较多^[1~3], 而对肝损伤的研究较少。我们在建立顺铂损伤的小鼠实验动物模型时发现, 顺铂可引起小鼠肝损伤, 且与相同剂量顺铂引起的肾毒性相比, 肝损伤更明显。现将相关结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物和染毒

选择雄性昆明种小鼠, 体重 28~30 g, 自由饮水和进食。观察 1 周后, 随机分 4 个实验组和 1 个对照组, 每组 10 只。实验组小鼠经腹腔注射顺铂, 将顺铂针剂 (济南齐鲁制药厂, 批号 0204013) 用生理盐水配成 1 mg/ml 浓度的水溶液, 参照文献^[4, 5]和预实验结果, 选取 2.0、3.0、3.5、4.0 mg/kg 的顺铂剂量进行染毒。对照组小鼠每次腹腔注射生理盐水 0.2 ml。连续给药 5 d, 在停药后的第 2 天处死动物, 分别取血和肝进行指标检测。

1.2 方法

1.2.1 肝脏器系数 处死小鼠后, 立即取肝组织, 新鲜称重, 计算脏器系数。

1.2.2 血清、肝组织检测指标 血清丙氨酸转氨酶活性测定

表 2 不同剂量顺铂对小鼠肝脏抗氧化物水平、抗氧化酶活性及过氧化物含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	染毒剂量 (mg/kg)	GSH (mg/g)	GSH-Px (U/mg Prot)	SOD (NU/mg Prot)	LPO (nmol/mg Prot)
对照组	0	361.11±70.110	93.46±15.789	114.95±14.883	31.05±4.238
实验组 1	2.0	316.91±40.730	93.95±17.576	107.16±4.403	36.43±2.193
实验组 2	3.0	312.91±22.132	87.74±4.942	105.78±8.162	44.76±2.411**
实验组 3	3.5	245.55±54.954**	75.31±7.321	101.89±6.964	49.66±8.692**
实验组 4	4.0	188.33±51.616**	84.83±12.405	103.25±7.324	67.08±6.697**

3 讨论

实验结果发现, 腹腔注射顺铂 2.0 mg/kg 就可引起实验组

采用二硝基苯肼法。肝组织中谷胱甘肽 (GSH) 水平、谷胱甘肽过氧化酶 (GSH-Px) 测定采用 DTNB 比色法, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活力测定采用亚硝酸盐比色法, 脂质过氧化产物 (LPO) 测定采用硫代巴比妥酸比色法。均使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒, 按说明书的步骤进行测定。

1.3 统计分析

实验数据利用 SPSS 统计分析软件进行各组间均值的方差分析。

2 结果

2.1 不同剂量顺铂对肝脏的损伤

表 1 表明, 各实验组小鼠的肝系数较对照组均显著降低, ALT 活性与对照组比较显著升高。

表 1 不同剂量顺铂对小鼠肝脏系数、ALT 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	染毒剂量 (mg/kg)	肝脏系数 (%)	ALT (U/ml)
对照组	0	6.05±0.519	20.88±1.845
实验组 1	2.0	5.10±0.461**	29.66±6.644
实验组 2	3.0	4.94±0.282**	40.51±12.061**
实验组 3	3.5	4.67±0.378**	33.57±3.427*
实验组 4	4.0	4.91±0.568**	55.94±13.218**

与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 下表同。

2.2 不同剂量顺铂对小鼠肝脏抗氧化能力及脂质过氧化损伤的影响

表 2 表明, 各实验组小鼠的肝 GSH 水平较对照组明显降低, 其中 3.5 mg/kg 和 4.0 mg/kg 剂量组差异有显著性; 各实验组的肝 LPO 水平较对照组明显升高, 其中 3.0 mg/kg、3.5 mg/kg 和 4.0 mg/kg 剂量组差异有显著性 ($P<0.01$)。各实验组的 GSH-Px 和 SOD 活性与对照组比较差异无显著性。

分组	染毒剂量 (mg/kg)	GSH (mg/g)	GSH-Px (U/mg Prot)	SOD (NU/mg Prot)	LPO (nmol/mg Prot)
对照组	0	361.11±70.110	93.46±15.789	114.95±14.883	31.05±4.238
实验组 1	2.0	316.91±40.730	93.95±17.576	107.16±4.403	36.43±2.193
实验组 2	3.0	312.91±22.132	87.74±4.942	105.78±8.162	44.76±2.411**
实验组 3	3.5	245.55±54.954**	75.31±7.321	101.89±6.964	49.66±8.692**
实验组 4	4.0	188.33±51.616**	84.83±12.405	103.25±7.324	67.08±6.697**

小鼠肝脏系数的显著降低, 3.0 mg/kg 顺铂可引起小鼠血清 ALT 活性明显升高。与此相对应, 肾脏系数的改变需要腹腔注射顺铂 4.0 mg/kg, 而血清 BUN 水平的明显异常需要 3.5 mg/kg 顺铂。因此, 肝脏对顺铂毒性更敏感。

在不同剂量顺铂对小鼠肝脏抗氧化及氧化损伤指标中发

收稿日期: 2004-02-09; 修回日期: 2004-04-13

作者简介: 李革新 (1958-), 女, 副主任技师, 主要从事金属毒理学研究。

现, 实验组的肝 GSH 水平下降, LPO 水平升高, 由此可以看出顺铂导致肝抗氧化功能的下降, 引起了明显的氧化损伤。但顺铂引起肝抗氧化功能异常的机制尚不明确。

尽管对顺铂肝毒性的研究资料很少, 但有资料显示^[6,7], 顺铂可引起肝组织超微结构的变化, 并可引起临床接受顺铂治疗病人血 ALT 活性的升高及接种肿瘤小鼠肝组织抗氧化酶活性的改变。因此, 我们认为有必要进一步加强对顺铂肝损伤的研究。

参考文献:

- [1] Blakley BW, Cohen JT, Doolittle ND, et al. Strategies for prevention of toxicity caused by platinum-based chemotherapy [J]. *Laryngoscope* 2002 112: 1997-2001.
- [2] Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, et al. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002, 132: 123-128.

- [3] 刘桂香, 李清钊, 姚林, 等. 茶多酚对顺铂所致肾损伤的作用及其可能机制探讨 [J]. *中国工业医学杂志*, 2001, 14: 273-274.
- [4] Watanabe K, Inai S, Jimouchi K, et al. Nuclear-factor kappa B (NF-kappa B)-inducible nitric oxide synthase (iNOS/NOS II) pathway damages the stria vascularis in cisplatin-treated mice [J]. *Anticancer Res* 2002, 22: 4081-4085.
- [5] Ekholm A, Lindberg A, Laurell G, et al. Ototoxicity, nephrotoxicity and pharmacokinetics of cisplatin and its monohydrated complex in the guinea pig [J]. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003 51: 36-42.
- [6] Christova TY, Gomeva GA, Taxirov SI, et al. Effect of cisplatin and cobalt chloride on antioxidant enzymes in the livers of Lewis lung carcinoma-bearing mice: protective role of heme oxygenase [J]. *Toxicol Lett* 2003, 138: 235-242.
- [7] 郭建奎, 王洪海, 戴兴岐, 等. 锌减轻顺铂诱发肝损伤的超微结构研究 [J]. *电子显微学报*, 2002 21: 169-171.

乙二醛致大鼠淋巴细胞 DNA 损伤的实验研究

Experimental study on DNA damage of lymphocyte caused by biformyl in rats

王路¹, 张颖², 刘勇³, 黄成⁴

WANG Lu¹, ZHANG Ying², LIU Yong³, HUANG Cheng⁴

(1. 沈阳市疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110031; 2. 中国医科大学口腔医学院, 辽宁 沈阳 110002; 3. 沈阳预防医学会, 辽宁 沈阳 110031; 4. 沈阳市铁西区结核病防治所, 辽宁 沈阳 110021)

摘要: 予大鼠腹腔注射不同剂量(12.5、25.0 和 50.0 mg/kg)的乙二醛后 16 h 采血, 分离淋巴细胞, 做单细胞凝胶电泳实验。另分离正常大鼠淋巴细胞, 加入不同浓度(0.0、25.0、50.0 和 1.00 mmol/L)的乙二醛孵育 1 h, 做单细胞凝胶电泳实验。结果显示, (1)大鼠腹腔注射 25.0 和 50.0 mg/kg 的乙二醛, 淋巴细胞拖尾率与彗尾长均明显高于对照组 ($P < 0.05$); 各剂量组间比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。 (2)体外染毒 0.50 和 1.00 mmol/L 乙二醛, 大鼠淋巴细胞拖尾率与彗尾长均高于对照组, 且各剂量组间差异有显著性 ($P < 0.05$)。提示腹腔注射 25.0 和 50.0 mg/kg 及体外染毒 0.50 和 1.00 mmol/L 乙二醛可致大鼠淋巴细胞 DNA 损伤, 且随着染毒剂量增加, DNA 损伤加重。

关键词: 乙二醛; DNA 损伤; 单细胞凝胶电泳

中图分类号: O623.511 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2005)06-0353-02

乙二醛是一种 α -酮醛, 为合成树脂的中间产物。以前的研究认为乙二醛的毒性较低, 主要表现为对眼及呼吸道黏膜的刺激作用; 近年来, 以细菌、果蝇、大鼠等为研究对象, 发现它还有致突变性和致癌性^[1,2]。Ueno 等用碱洗脱技术检测到乙二醛可导致大鼠肝细胞 DNA 单链断裂^[3]; Furihata 等用乙二醛给大鼠灌胃, 发现染毒后, DNA 合成增加, 显著诱导胃幽门腺程序

外 DNA 合成(UDS)^[4]。乙二醛是广泛分布于环境中的可疑致癌物, 但有关它对哺乳动物遗传毒性的研究较少。本研究采用单细胞凝胶电泳技术(SCGE, 又称彗星试验)检测经体内及体外染毒乙二醛对大鼠淋巴细胞 DNA 的损伤作用, 研究乙二醛的遗传毒性, 为探讨乙二醛的毒作用机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

40%乙二醛(分析纯, 天津市博迪化工有限公司); 1640 培养液(Life Technology, USA); 淋巴细胞分离液(上海试剂二厂)。

DYY-6B 型稳压稳流电泳仪(北京六一仪器厂); NIKON 荧光显微镜及 NIKON-UFX II 型拍摄装置(日本 NIKON 公司)。

健康 Wistar 雄性大鼠, 体重(200±10) g 由中国医科大学实验动物部提供。常规喂养, 观察 1 周后, 健康者供实验用。

1.2 方法

1.2.1 体内实验 将 20 只雄性 Wistar 大鼠随机分为 4 组, 即对照组和 3 个实验组, 每组 5 只。采用腹腔注射染毒。对照组注射生理盐水, 实验组分为低、中、高剂量组, 注射剂量分别为 12.5、25.0、50.0 mg/kg 的乙二醛溶液。于注射后 16 h 经大鼠内眦静脉采血, 分离淋巴细胞, 用 PBS 液洗 2 次, 台盼蓝染色计数, 细胞存活率 > 95%, 制成细胞悬液, 调整细胞密度大约为 3×10^6 个/ml, 作单细胞凝胶电泳试验。

1.2.2 体外实验 从正常大鼠下腔静脉采血, 分离淋巴细胞, 用无血清 RPMI1640 培养液调整细胞密度为 3×10^6 个/ml, 分别加入乙二醛溶液, 使其终浓度为 0.25、0.50、1.00 mmol/L, 阴

收稿日期: 2004-09-13; 修回日期: 2004-12-07

作者简介: 王路(1973-), 女, 主管医师, 硕士, 主要从事职业卫生工作。