

亚慢性染毒 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英(TCDD) 对大鼠血清中氧化应激指标的影响

赵力军, 汤乃军*, 刘静, 王辉

(天津医科大学公共卫生学院, 天津 300070)

摘要: 目的 研究 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, TCDD) 对大鼠血清中氧化应激指标的影响。方法 清洁级 Wistar 雄性大鼠 32 只, 体重 (100±10) g, 随机分成 4 组, 连续经口染毒 TCDD 90 d, 剂量分别为 2.5、25、250 ng/kg, 对照组给予二甲亚砜 (DMSO), 测定 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD、GSH-Px、GST 活性及 MDA 的含量。结果 TCDD 染毒 90 d 后, 与对照组相比, 各染毒组雄性大鼠血清中 MDA 含量明显增高 ($P<0.05$); 各染毒组总 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD、GSH-Px 活力均有所下降, 其中除 CuZn-SOD 外, 与对照组相比差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。同时各染毒组 GST 活力显著增加, 且各组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 亚慢性染毒引起 MDA 含量增加, 大鼠血清中抗氧化指标出现异常改变, 提示体内出现氧化与抗氧化系统失衡。

关键词: 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (TCDD); 氧化应激; 超氧化物歧化酶 (SOD); 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px); 谷胱甘肽硫转移酶 (GST); 丙二醛 (MDA)

中图分类号: R99 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2007)05-0312-03

Effect of subchronic exposure of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on oxidative stress indices in serum of rats

ZHAO Li-jun, TANG Nai-jun*, LIU Jing, WANG Hui

(School of Public Health, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on the levels of antioxidative system of male Wistar rats. **Method** 32 healthy male Wistar rats were randomly divided into four groups: three were exposed groups (respectively exposed to 2.5 ng/kg, 25 ng/kg and 250 ng/kg TCDD) and a control group. The rats were orally given TCDD or DMSO, respectively for 90 days, then the rats were killed and the activities of SOD, CuZn-SOD, Mn-SOD, GSH-Px, GST and the levels of MDA in the serum of the rats were detected. **Result** The MDA level in serum of exposed rats was significantly increased ($P<0.05$); while the activities of SOD, CuZn-SOD, Mn-SOD and GSH-Px were decreased in all TCDD-treated group ($P<0.05$) except CuZn-SOD, while, the serum activity of GST significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** The subchronic exposure to TCDD could damage serum antioxidative activity, induce the increase of MDA and the abnormalities of antioxidative indices in serum of Wistar rats. It is suggested that there is some unbalance between oxidation stress and antioxidative system.

Key words: 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD); Oxidative Stress; SOD; GSH-Px; GST; MDA

二噁英是有机氯化物生产合成、废弃物燃烧处理等过程中产生的一类非目的性化学物质的总称, 包括多氯代二苯并对二噁英 (PCDDs) 和多氯代二苯并呋喃 (PCDFs) 2 组共 210 个同类化合物。二噁英类化合物中毒性最强的是 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (TCDD), 具有很强的肝脏毒性、皮肤毒性、致癌、致畸和生殖毒性^[1]。在 TCDD 众多的毒作用机制中, 氧化应激反应是其产生毒作用的重要方面, 实验表明 TCDD 引起的氧化应激反应使机体内产生过量的活性氧, 造成多种器官的损伤^[2-4]。本实验在亚慢性染毒的条件下观察 TCDD 对大鼠血清中总 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD、GST、GSH-Px 活力及 MDA 含量的影响, 为进一步对其进行深入研究提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

酶联免疫检测仪 (奥地利 TECAN 公司, ECDM-F6124 型)。TCDD (购于 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 纯度 99%), 超氧化物歧化酶 (SOD)、铜锌超氧化物歧化酶 (CuZn-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 及丙二醛 (MDA) 等试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.2 动物染毒及指标测定

清洁级 Wistar 雄性大鼠 32 只 (由北京大学医学中心实验动物中心提供), 体重 (100±10) g, 随机分成 4 组, 每组 8 只; 经口灌胃染毒 TCDD, 剂量分别为 250、25、2.5 ng/kg, 溶剂对照组给予 250 ng/kg 二甲亚砜 (DMSO), 连续灌胃 90 d, 剔除因灌胃造成损伤动物, 实验结束时有效动物数为 30 只。

股动脉取血, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上层血清, 按试剂盒的说明分别测定、计算总 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD、GSH-Px、GST 的活力和 MDA 的含量, 其中 Mn-SOD 的活力等于总 SOD 活力减去 CuZn-SOD 的活力。

收稿日期: 2006-11-01; 修回日期: 2007-01-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 40072020)

作者简介: 赵力军 (1955-), 男, 副教授, 研究方向: 工业毒

理。

*. 通讯作者, 教授, E-mail: tangnaijun@vip.sina.com

1.3 统计方法

采用 SPSS11.5 统计软件进行分析处理, 结果以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 统计学方法采用单因素方差分析, 若组间差别有统计学意义, 采用 Dunnett 检验进一步与对照组进行两两比较。

2 结果

由表 1 可见, TCDD 染毒 90 d 后, 各染毒组与对照组相比, 大鼠血清中总 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD 活力都有所下降, 其中总 SOD 和 Mn-SOD 各组间差异有统计学意义 ($P=0.004$, $P=0.038$)。进一步两两比较, 总 SOD 在 250、25 ng/kg 染毒剂量组、Mn-SOD 在 250 ng/kg 染毒组与对照组比较差异有统计学意义 (P 分别为 0.000、0.012 和 0.005)。

表 1 TCDD 对雄性大鼠血清中 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (ng/kg)	<i>n</i>	SOD	CuZn-SOD	Mn-SOD
0	8	426.614±29.882	298.742±25.510	141.531±38.713
2.5	7	396.228±28.535	282.822±24.676	113.405±42.037
25	8	381.505±34.611*	271.547±51.228	109.958±36.289
250	7	359.798±35.540**	283.541±33.219	78.617±32.703**
<i>F</i> 值	—	5.707	1.166	3.270
<i>P</i> 值	—	0.004	0.343	0.038

与对照组 (0 ng/kg) 比较, * $P<0.05$ ** $P<0.01$

由表 2 可见, 各染毒组与对照组相比, 大鼠血清中 GSH-Px 活力有所下降 ($P=0.017$), 进一步经两两比较, 只有 250 ng/kg 染毒剂量组有统计学意义 ($P=0.002$)。GST 活力和 MDA 含量有所增加, 各组间差异有统计学意义 ($P=0.004$, $P=0.038$)。进一步经两两比较, GST 活力在 250、25 ng/kg 染毒剂量组与对照组比较差异有统计学意义; MDA 在各染毒组与对照组比较差异均有统计学意义。

表 2 TCDD 对雄性大鼠血清中 GSH-Px、GST 活力及 MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (ng/kg)	<i>n</i>	GSH-Px	GST	MDA
0	8	873.041±64.305	42.034±17.395	1.895±0.536
2.5	7	812.903±87.988	52.494±14.258	3.188±0.638**
25	8	791.475±65.309	57.724±8.817*	3.215±1.525**
250	7	729.092±88.805*	73.608±7.659**	4.321±1.972**
<i>F</i> 值	—	4.114	7.645	3.416
<i>P</i> 值	—	0.017	0.001	0.035

与对照组 (0 ng/kg) 比较, * $P<0.05$ ** $P<0.01$

3 讨论

研究表明, TCDD 发挥的毒作用并非由于 TCDD 直接与机体蛋白质、核酸等形成加合物或直接引起脂质氧化的结果, 而是 TCDD 与芳香烃受体 (aromatic hydrocarbon receptor, AhR) 结合后诱导相应基因的表达, 改变酶活性和蛋白质, 在参与体内生物氧化反应中, 产生活性氧的机会增加, 导致氧化应激等一系列反应^[5]。

氧化应激是指破坏了强氧化剂和抗氧化剂的平衡导致的潜在伤害, 即当氧自由基的产生超过机体抗氧化防御清除能力或机体防御体系受损而不能发挥正常功能时导致的细胞毒性效应。氧化剂、抗氧化剂平衡的破坏是细胞损伤的主要原因, 直接引起生物膜脂质过氧化、细胞内蛋白及酶变性、DNA 损害, 最后导致细胞死亡或凋亡、组织损伤、疾病发生^[6]。经不同途径进入人体内的 TCDD 一方面可以被细胞色素 P450 代谢成易氧化还原的酚类或者醌类物质, 在有氧的条件下, 代谢物质在氧化还原的过程中不断产生氧自由基; 另一方面是细胞色素 P450 在代谢 TCDD 时直接生成氧自由基^[7]。

有实验表明 TCDD 染毒后 SD 大鼠血、尿、肝、脑、睾丸及附睾等组织中脂质过氧化物 MDA 含量明显增加, 抗氧化酶 SOD、GSH-Px 等活力下降^[8~14], 本实验结果与之一致。染毒组血清中 MDA 含量明显增加 ($P<0.05$); 总 SOD、CuZn-SOD、Mn-SOD 和 GSH-Px 活力测定结果显示, 除 CuZn-SOD 外, 总 SOD、Mn-SOD 和 GSH-Px 活力在染毒组大鼠血清中明显下降 ($P<0.05$)。由此可见亚慢性暴露于 TCDD 对大鼠有脂质过氧化作用, 造成了氧化损伤, 使抗氧化酶活力下降。同时我们发现 SOD 的两个亚型中, Mn-SOD 对 TCDD 的敏感度要大于 CuZn-SOD, 由于 Mn-SOD 主要存在于线粒体中, 所以我们推测产生物理效应的超氧阴离子主要来自线粒体, 并对线粒体造成了损伤, 由此提示线粒体可能是对 TCDD 较为敏感的细胞器之一; 染毒组 GST 活力均明显增加, 与对照组比较差异均有统计学意义。GST 是一种具有肝脏解毒和清除体内过氧化物双重功能的酶, 在肝脏受损时, GST 常常很早释放入血, 使血中 GST 升高, 所以实验结果提示鼠体内出现了氧化与抗氧化系统失衡、脂质过氧化所致的膜损伤状态, 肝脏已受到一定损伤。

参考文献:

- [1] 刘云儒, 汤乃军. 二噁英的毒理学研究进展 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2003, 21 (2): 138-141.
- [2] Fumio Matsumura. On the significant of the role of cellular stress response reactions in the toxic actions of dioxin [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 66: 527-540.
- [3] Latchoumycandane C, Chitra K C, Mathur P P. Induction of oxidative stress in rat epididymal sperm after exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin [J]. Arch Toxicol, 2002, 76: 113-118.
- [4] Kem P A, Fishman R B, Song W, et al. The effect of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on oxidative enzymes in adipocytes and liver [J]. Toxicology, 2002, 171 (223): 2117-2125.
- [5] 王朝和, 原丽欣, 曹明琳, 等. 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英对体内氧化应激反应的研究进展 [J]. 中国工业医学杂志, 2003, 16 (2): 99-101.
- [6] 陈瑗, 周玖. 自由基医学基础与病理生理 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 58-60.
- [7] 杨桂香. 芳香烃受体及芳香烃基因串在氧化应激和细胞凋亡中的作用 [J]. 国外医学分子生物学分册, 2001, 23 (5): 292-295.
- [8] Pohjanvirta R, Sankari S, Kujala T, et al. Studies on the role of lipid peroxidation in the acute toxicity of TCDD in rats [J]. Pharmacol Toxicol, 1990, 66 (5): 399-408.

- [9] Bagchi D, Shara M A, Bagchi M, et al. Time-dependent effects of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on serum and urine levels of malondialdehyde, formaldehyde, acetaldehyde, and acetone in rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1993, 123: 83-88.
- [10] 汤乃军, 刘云儒, 任大林. 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英对SD大鼠肝脏SOD、GST、MDA影响的实验研究[J]. *中国工业医学杂志*, 2003, 16: 335-337.
- [11] Hassoun E A, Li F, Abushaban A, et al. Production of superoxide anion, lipid peroxidation and DNA damage in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure to mixtures of TCDD and its congeners

[J]. *J Appl Toxicol*, 2001, 21 (3): 211-219.

- [12] El-Tawil O S, Elsaied E M. Induction of oxidative stress in the reproductive system of rats after subchronic exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin [J]. *Environ Contam Toxicol*, 2005, 75: 15-22.
- [13] Latchoumycandane C, Chitra K C, Mathur P P. The effect of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on the antioxidant system in mitochondrial and microsomal fractions of rat testis [J]. *Toxicology*, 2002, 171 (23): 127-135.
- [14] Latchoumycandane C, Chitra K C, Mathur P P. 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) induction of oxidative stress in the epididymis and epididymal sperm of adult rats [J]. *Arch Toxicol*, 2003, 77: 280-284.

亚慢性染毒2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (TCDD) 对大鼠血清维生素A、E的影响

赵力军, 汤乃军*, 刘静, 赵磊, 任大林

(天津医科大学公共卫生学院, 天津 300070)

摘要: 目的 了解亚慢性暴露于2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (TCDD) 对Wistar大鼠血清维生素A、E水平的影响。方法 将64只实验Wistar大鼠按雌、雄随机分为染毒高 (250 ng/kg)、中 (25 ng/kg)、低 (2.5 ng/kg) 剂量和空白对照共4组, 每组8只, 经口染毒。90 d后对实验大鼠股动脉取血, 离心后取上层血清, 用无水乙醇沉淀蛋白, 加环己烷萃取后, 使用荧光分光光度仪在不同波长下测定其荧光值, 计算出维生素A、E浓度, 进行统计分析。结果 与对照组比较, TCDD染毒大鼠血清维生素A和维生素E的平均水平降低, 差别具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 在实验条件下, TCDD亚慢性暴露可以对Wistar大鼠血清维生素A与维生素E的质量浓度水平有一定影响。

关键词: 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (TCDD); 维生素A; 维生素E

中图分类号: R99 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2007)05-0314-03

Effect of subchronic exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) on serum levels of vitamin A and vitamin E in rats

ZHAO Li-jun, TANG Nai-jun*, LIU Jing, ZHAO Lei, REN Da-lin

(School of Public Health, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract: **Objective** To study the subchronic effects of TCDD on the levels of vitamin A and vitamin E in serum of Wistar rats. **Method** Sixty-four Wistar rats were divided into four groups randomly: three exposed groups were orally received 250 ng/kg, 25 ng/kg and 2.5 ng/kg of TCDD respectively, and a control group only administrated with DMSO orally. 90 days after administration, the rats were killed, the serum samples were taken and treated using anhydrous ethanol for precipitation of proteins. After extracting by cyclohexane, serum vitamin A and vitamin E were measured by spectrofluorometer with different wavelengths. **Result** It was showed that compared with control group, the serum levels of vitamin A and vitamin E in TCDD exposed groups were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The subchronic exposure of TCDD may have some effect on the serum concentrations of vitamin A and vitamin E in Wistar rat.

Key words: 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD); Vitamin A; Vitamin E

二噁英是WHO列出的12类最严重的持续性环境有机污染物之一。这类化合物的主要特点是, 存在具有广泛性, 且在环境中不易降解, 毒性作用多样性, 包括对免疫系统、生殖系统、消化系统、内分泌系统和皮肤损害作用, 并可能造成子代畸形同时还可能具有促癌的性质^[1]。其中, 2, 3, 7, 8-四氯二苯并二噁英 (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, TCDD) 是

二噁英化合物中毒性最强的一种。机体维生素A、E具有维持正常的视觉、上皮细胞分化、胚胎发育、抗氧化、抗肿瘤及免疫等功能。动物实验表明, 二噁英类物质能够阻止维生素A在肝脏中的正常蓄积, 从而引起维生素A排泄增加^[2,3], 急性染毒TCDD对小鼠机体血浆中维生素E水平有一定影响^[4]。为了解亚慢性暴露TCDD对机体血清中维生素A、E的影响, 我们进行了本次实验。

1 材料与方法

1.1 材料

清洁级Wistar大鼠64只 (由北京大学医学中心实验动物中心提供), 体重 (100±10) g, 随机分成4组, 3个染毒组给

收稿日期: 2006-11-01; 修回日期: 2007-01-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 40072020)

作者简介: 赵力军 (1955-), 男, 副教授。研究方向: 工业毒理。

* 通讯作者