

亚慢性染镉小鼠肝脏抗氧化能力研究

翟金霞¹, 冯丫娟¹, 张照祥¹, 书姝¹, 刘聚矩¹, 张纯波², 蔡静², 王铁柱², 杨郝亮², 余秋月¹, 叶冬青³

(1 安徽医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 安徽 合肥 230032 2 安徽医科大学 2004级预防医学专业本科生, 安徽 合肥 230032 3 安徽医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 安徽 合肥 230032)

摘要: 目的 探讨氯化镉 (CdCl_2) 在肝脏内蓄积及其引起肝脏毒性的氧化性损伤机制, 为防治镉危害提供依据。方法 雌性 BALB/c 小鼠随机分成 3 组, 每组 7 只, 体重 (18 ± 2) g。染毒组分别腹腔注射 $10 \mu\text{mol/kg}$ (高镉组) 和 $2.5 \mu\text{mol/kg}$ (低镉组) CdCl_2 溶液, 每周 3 次, 连续 14 周; 对照组腹腔注射生理盐水。测定体重变化、脏器系数、肝脏镉含量及脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 含量, HE 染色观察肝、肾组织形态学。结果 高镉组体重降低, 肝脾脏器系数高于对照组, 肝脏镉含量、MDA 和 SOD 水平均增高 ($P < 0.05$); 肾脏的组织形态学发生变化。低镉组仅见肝、心、脾、肾的脏器系数高于对照组 ($P < 0.05$)。结论 CdCl_2 可在小鼠肝脏蓄积, 氧化性损伤可能是其肝脏毒性的机制之一。

关键词: 镉; 氧化性损伤; 肝毒性

中图分类号: R99 O614.242 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2009)02-0098-03

Study on hepatic anti-oxidative ability in chronic cadmium-exposed mice

ZHAI Jin-xia, HENG Ya-juan, ZHANG Zhao-xiang, DING Shu-shu, LIU Ju-ju, ZHANG Chun-bo, CAI Jing, WANG Tie-zhu, YANG Hao-liang, YU Qiu-yue, YE Dong-qing

(1. Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, 2. Student of Class 2004 Preventive Medicine Specialty, 3. Department of Epidemiological and Health Statistics, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract: Objective To explore the possible role of peroxidation in the mechanism of hepatotoxicity induced by cadmium and provide more scientific evidence in prevention of cadmium-induced damage. Methods Female BALB/c mice were randomly divided into 3 groups (7 for one group). Mice in exposed groups were administered with 10 or $2.5 \mu\text{mol/kg}$ of cadmium chloride (CdCl_2) respectively 3 times per week for 14 weeks. Mice in control group were only injected intraperitoneally with 0.9% saline. Then, the body weight, organ index and the levels of cadmium and malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) level in liver were determined after stopping exposure, meanwhile hepatic histopathological changes were also examined. Results The results showed that the body weight of mice in high dose Cd group was lowered, the liver/body ratio, spleen/body ratio, the levels of cadmium and MDA and the SOD activity in the liver were also significantly higher than that of controls ($P < 0.05$); additionally, some histological changes could be seen in kidney. While in low dose Cd group, only found some rises in indexes of liver, heart, spleen and kidney compared with the controls. Conclusion It is suggested that cadmium may deposit in liver and the oxidative damage may play some role in the hepatotoxicity of CdCl_2 .

Key words: Cadmium; Oxidative damage; Hepatotoxicity

镉是一种分布于自然界土壤的金属元素, 可通过采矿、冶炼、磷肥应用、污泥及含镉产物的废弃而造成环境污染。烟草、粮食可从土壤中吸收镉, 贝类可从水环境蓄积镉从而导致香烟与食物中出现非职业性的镉暴露。镉对人体的危害主要为肺、肝、肾及潜在的免疫毒性, 流行病学证据表明低剂量的镉暴露可造成肾损害^[1]、骨密度降低^[2]、前列腺癌^[3]。镉染毒可导致脂质过氧化^[4], 但氧化应激在镉诱导的肝毒性作用中仍有争议, 为此特以 BALB/c 小鼠为研究对

象, 探讨氯化镉引起肝脏毒性的氧化性损害机制, 为防治镉危害提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

21 只健康、6 周龄雌性 BALB/c 小鼠 (SPF 级), 体重 (18 ± 2) g, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司 (实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2007-0005), 于安徽省实验动物中心 (SPF 级) 适应性饲养 1 周后, 随机分成对照组 (腹腔注射等量生理盐水)、高剂量氯化镉组, 腹腔注射 $10 \mu\text{mol/kg}$ 低剂量氯化镉组 ($2.5 \mu\text{mol/kg}$), 每组 7 只。每周染毒 3 次, 连续 14 周。小鼠自由采食、饮水, 环境温度 $20 \sim 25^\circ\text{C}$, 人造环境 12 h 白昼、12 h 夜晚。所有动物

收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2008-12-26

基金项目: 安徽省高等学校优秀中青年骨干教师支持项目

作者简介: 翟金霞 (1972-), 女, 副教授, 博士研究生, 从事环境与健康研究。

在染毒14周后处死。取下双侧肾脏、肝脏，取左肾置于10%甲醛固定，制作石蜡切片，取4μm切片进行HE染色。

1.2 检测指标

1.2.1 肝脏镉含量测定 所有器皿使用前均用1%硝酸浸泡3d(每日更换)，再用去离子水冲洗。取肝脏0.1g微波消化后，去离子水定容，用TAS990型原子吸收分光光度仪石墨炉法测定^[5]。镉标准液购自安徽省环保局(批号103105 浓度100 mg/L)。

1.2.2 肝脏丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)含量测定 末次实验后处死取肝脏，冰浴下分离肝脏，称0.1g肝脏组织制备匀浆。硫代巴比妥酸法测定MDA 黄嘌呤氧化酶法测定SOD活力。所用试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2.3 组织形态学观察 取肝脏、肾脏10%甲醛固定，石蜡包埋，常规苏木素伊红(HE)染色，光学显微镜下进行组织形态学观察。

1.3 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用SPSS10.0软件进行统

计学分析，数据如呈正态分布则采用单因素方差分析和SNK法，数据呈非正态分布采用秩和检验，检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 小鼠一般情况及各组脏器系数情况

染毒第7周高镉组有1只动物出现体重明显下降、精神不振，于染毒第8周死亡；染毒第14周低镉组有2只小鼠死亡。对余下18只小鼠摘眼球取血，脱颈椎处死。冰浴下分离脏器，称重，分析各脏器系数。镉染毒组出现不同程度的精神萎靡、食欲减退、被毛光泽度下降。

在染毒第14周时处死动物比较各脏器的脏器系数(见表1)，经统计学分析发现，高镉组小鼠体重低于对照组及低镉组($P<0.05$)。与对照组相比，高镉组的肝、脾脏器系数均明显升高($P<0.05$)。低镉组的心、肝、脾、肾脏器系数均高于对照组($P<0.05$)。高镉组的心脏器系数低于低镉组，脾脏器系数高于低镉组，差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表1 各组间小鼠脏器系数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重(g)	脏器系数			
			心	肝	脾	肾
高镉组	6	16.733±1.256* [#]	0.425±0.024 [#]	5.319±0.003*	1.267±0.002* [#]	1.239±0.068
低镉组	5	18.500±1.079	0.503±0.062*	4.965±0.002*	0.593±0.028*	1.314±0.002*
对照组	7	20.000±1.374	0.411±0.015	4.065±0.001	0.308±0.029	1.103±0.040

与对照组相比，* $P<0.05$ 与低镉组相比，[#] $P<0.05$ 表2同。

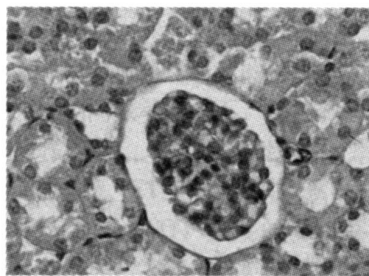
2.2 CdCl₂对肝脏镉含量、SOD与MDA含量的影响

利用原子吸收石墨炉方法对各组小鼠肝脏中的镉进行测定，结果见表2。经统计学分析发现，高镉组小鼠肝脏镉含量及SOD活力、MDA含量高于对照组，差异有统计学意义($P<0.05$)。且高镉组与低镉组的MDA含量差异也有统计学意义($P<0.05$)。

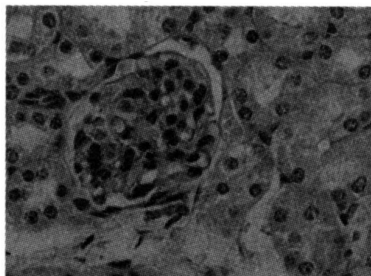
表2 各组间肝脏镉含量、SOD活力与MDA含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肝脏镉含量 (μg/g肝脏湿重)	SOD活力 (U/mg蛋白)	MDA含量 (nmol/mg蛋白)
高镉组	6	210.473±61.953*	203.559±51.745*	38.081±14.430* [#]
低镉组	5	29.928±11.558	170.491±11.882	19.709±3.313
对照组	7	0.356±0.107	110.317±52.105	15.761±2.466

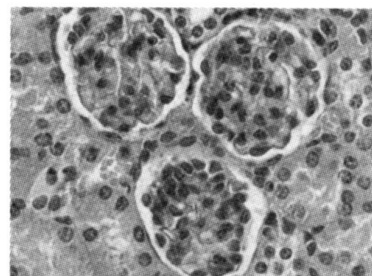
2.3 肾脏组织形态学结果(见图1)



对照组



低剂量染镉组



高剂量染镉组

图1 镉对肾脏形态结构学的影响(HE×400)

对照组肾小管管腔清晰可见，上皮细胞排列整齐，形状规则，近曲小管的上皮细胞游离面刷状缘清晰。低镉组与高镉组肾小球肿胀导致膜与小球间隙狭

窄，部分肾小管管腔不规则，病灶小管退化。高镉组可见细胞界限不清，上皮细胞排列凌乱；细胞胞质疏松，上皮细胞间有淋巴细胞浸润。

3 讨论

镉进入机体后主要蓄积于肝脏和肾脏,在澳大利亚 41~50 岁人群中肝脏镉含量为 $1.4 \mu\text{g/g}$ 肝湿重^[9],而日本、加拿大人群肝脏镉含量分别为 $2 \mu\text{g/g}$ 肝湿重和 $1.6 \mu\text{g/g}$ 肝湿重^[7,8]。高暴露组与低暴露组母乳中镉含量分别为 $0.31 \mu\text{g/L}$ 和 $0.52 \mu\text{g/L}$ ^[9]。

目前认为镉的肝毒性损伤机制主要与脂质过氧化有关^[10]。本研究中高镉组的染毒剂量为低镉组的 4 倍,而肝脏镉含量却是低镉组的 7 倍, SOD 与 MDA 含量分别是低镉组的 1.2 倍和 1.9 倍,表明高镉组的肝脏损害更严重。本次研究的低镉组染毒剂量为 $2.5 \mu\text{mol/kg}$ 染毒 14 周后小鼠体重并未出现明显变化,但心、肝、脾与肾脏器系数均高于对照组 ($P < 0.05$); 肝脏镉含量、SOD 活力与 MDA 含量高于对照组,但差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。提示此染毒剂量虽未造成肝脏的脂质过氧化损伤,但对各脏器已经表现出一定程度的影响。而高镉组染毒剂量为 $10 \mu\text{mol/kg}$ 其肝与脾脏器系数均高于对照组 ($P < 0.05$), 肝脏镉含量、SOD 活力与 MDA 含量均高于对照组 ($P < 0.05$)。提示 $2.5 \mu\text{mol/kg}$ 剂量可能在一定程度上刺激心肌细胞与肾脏细胞的生长,当染毒剂量达到 $10 \mu\text{mol/kg}$ 时却抑制心脏和肾脏细胞的生长,导致其脏器系数下降。同时,高剂量可造成明显的肝脏内镉蓄积以及肝脏的脂质过氧化损伤。表明镉对肝脏不仅存在急性损害,同时在较高剂量长时间的染毒后,也可表现为明显的肝脏蓄积和损伤。

急性镉暴露可导致严重的肝损伤^[10]。Vladislav EYb 等^[11]研究发现,染毒组大鼠 MDA 水平明显增加,而用姜黄素干预后 MDA 则明显回落。用 $50 \mu\text{g/m}$ CdCl_2 染毒 8 周后发现,肝脏与肾脏均出现明显的镉蓄积,肾组织形态学也出现明显的改变^[12]。本研究结果与之相符。

组织形态学观察发现,镉染毒组可见肾小管上皮细胞肿胀,小管腔狭窄等病理性改变;肝细胞出现水肿。表明肾脏损害以肾小管为主,肝脏也出现了一定

程度的病理性损害。

综上所述,镉具有较强的肝毒性,对小鼠肝脏的脂质过氧化系统具有损伤作用,且镉在肝脏中的蓄积量与其脂质过氧化损伤呈正相关。同时肾脏的组织形态学改变也提示镉对于肾小管上皮细胞具有明显的毒副作用,这种毒作用机制还有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] Järup L, Aklén T. Low level cadmium exposure: renal and bone effects—the OSCAR study [J]. *Biomaterials* 2004; 17 (5): 505-509.
- [2] Akesson A, Bjellerup P, Lundh T, et al. Cadmium induced effects on bone in a population based study of women [J]. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 830-834.
- [3] Greenlee R T, Hill-Harmon M B, Murray T, et al. Cancer statistics 2001 [J]. *CA Cancer J Clin* 2001; 51: 15-36.
- [4] Franciulli W S, Gilson Z, Bao B T R, et al. Diphenyl diselenide reverses cadmium induced oxidative damage on mice tissues [J]. *Chemico-Biological Interactions* 2005; 151: 159-165.
- [5] 赵多, 金永平. 石墨炉原子吸收法测定动物肝脏中的铅和镉 [J]. *现代科学仪器*, 1999; 1: 73-74.
- [6] Saur G S, Baker J R, Reilly P E B, et al. Cadmium levels in the lung, liver, kidney cortex and urine samples from Australians without occupational exposure to metals [J]. *Arch Environ Health* 2002; 57: 69-77.
- [7] Yoshida M, Ohno H, Yamauchi Y, et al. Age-dependent changes in metallothionein levels in liver and kidney of the Japanese [J]. *Biol Trace Element Res* 1998; 63: 167-175.
- [8] Benedetti J L, Samuel Q, Dewailly E, et al. Levels of cadmium in kidney and liver tissues among a Canadian population (Province of Quebec) [J]. *J Toxicol Environ Health* 1999; 56: 145-163.
- [9] Nishijo M, Nakagawa H, Honda R, et al. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy and breast milk [J]. *Occup Environ Med* 2002; 59: 394-397.
- [10] Rikans L E, Yamano T. Mechanisms of cadmium mediated acute hepatotoxicity [J]. *J Biochem Mol Toxicol* 2000; 14: 110-117.
- [11] Vladislav E, Dana K, Monika B. The effect of curcumin on cadmium induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice [J]. *Toxicology Letters* 2004; 151: 79-85.
- [12] Ewa C, Tadeusz W, Alicja K, et al. The effect of orally administered melatonin on tissue accumulation and toxicity of cadmium in mice [J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2006; 19: 259-265.

《中国工业医学杂志》再次入编《中文核心期刊要目总览》

由北京大学图书馆和北京高校图书馆期刊工作研究会共同组织评选和编写的《中文核心期刊要目总览》(2008年版)现已出版发行。《中国工业医学杂志》再次入编“预防医学、卫生学类核心期刊”。

中文核心期刊评选工作,是运用文献计量学的原理和方法,对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一项科研活动。由北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社等相关单位的百余名专家和期刊工作者依据《全国报刊索引数据库》、《中国科学引文数据库》、《中国期刊全文数据库》、《中国医学文摘》等上的被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9项评价指标的统计数据科学的筛选和分析,经定量评价和专家的定性评审,从我国正在出版的中国期刊中评选出1980余种核心期刊。此次评选出26种“预防医学、卫生学类核心期刊”。