

• 实验研究 •

纳米硫化铅对大鼠肝脏的氧化损伤作用

Oxidative damage of lead sulfide nanoparticles in liver of rats

郑国颖, 李清钊, 曹燕花, 徐厚君, 郝玉兰, 白玉萍, 王茜

ZHENG Guo-ying, LI Qing-zhao, CAO Yan-hua, XU Hou-jun, HAO Yu-lan, BAI Yu-ping, WANG Qian

(河北联合大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000)

摘要: 探讨纳米硫化铅 (Nano-PbS) 对大鼠肝脏的氧化损伤作用。将受试鼠分为对照、低剂量和高剂量组, 染毒后检测门冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 及总抗氧化能力 (T-AOC)。结果显示, 染毒组 AST、ALT 高于对照组, SOD、T-AOC 低于对照组, MDA 高于对照组。提示 Nano-PbS 可对大鼠肝脏造成氧化损伤, 且有一定剂量依赖性。

关键词: 纳米硫化铅; 氧化损伤

中图分类号: R994.3 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)02-0105-02

纳米级 PbS 广泛应用于发光二极管、生物荧光探针等方面^[1], 但其生物安全性未完全知晓。有研究显示纳米材料能诱导氧化应激、促进脂质过氧化、损伤细胞膜^[2,3]。本研究拟通过建立大鼠纳米 PbS 染毒模型, 检测分析大鼠血清中 AST 和 ALT 含量及肝组织匀浆中 SOD、MDA、T-AOC 的变化, 探讨纳米 PbS 对肝脏的氧化损伤作用。

1 材料与方法

1.1 材料

Nano-PbS (粒径 20 nm) 由南开大学环境科学与工程学院提供。

1.2 动物及分组

选用清洁级雄性 SD 大鼠 24 只 (河北联合大学实验动物中心提供), 体重 180~220 g, 随机分为对照组、Nano-PbS 低剂量组、Nano-PbS 高剂量组。采用非气管暴露法染毒 12 周, 每周 1 次, 对照组注入生理盐水 1 ml, 低、高剂量染毒组大鼠分别按 30 mg/kg、60 mg/kg 气管滴注 Nano-PbS 混悬液。

1.3 检测指标

1.3.1 血清 AST、ALT 含量 欧宝 XL600 全自动生化分析仪测定。

1.3.2 肝组织匀浆 SOD、MDA 及 T-AOC 测定 处死大鼠后立即分离肝脏, 制成 10% 肝组织匀浆。SOD、MDA 及 T-AOC 测定严格按照试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 要求进行。

1.4 统计学处理

数据录入 Excel 数据库, 用 SPSS11.5 软件进行统计分析,

采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 血清中 AST、ALT 含量的测定

对照组和染毒组血清中 AST、ALT 含量比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果显示低剂量染毒组较对照组含量升高; 高剂量染毒组较低剂量组含量升高, 见表 1。

表 1 各实验组血清中 AST 和 ALT 含量比较 U/L

组别	n	ALT	AST
对照组	8	99.38 ± 7.39	124.75 ± 12.97
低剂量组	8	118.25 ± 11.17*	148.00 ± 13.66*
高剂量组	8	157.88 ± 21.25*▲	235.50 ± 76.24*▲

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

2.2 肝脏匀浆中 SOD、MDA、T-AOC 的测定

对照组和低、高剂量染毒组肝脏匀浆 SOD、MDA、T-AOC 比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中, MDA 低剂量染毒组浓度高于对照组, 高剂量组浓度高于低剂量组; 低剂量组 SOD、T-AOC 活力低于对照组, 高剂量组活力低于低剂量组, 见表 2。

表 2 各实验组肝组织匀浆 SOD、MDA、T-AOC 活力的比较

组别	n	SOD 活力 (U/mg prot)	MDA 含量 (nmol/ml)	T-AOC (U/mg prot)
对照组	8	184.20 ± 30.22	6.21 ± 1.47	0.61 ± 0.14
低剂量组	8	147.11 ± 12.60*	8.09 ± 1.63*	0.42 ± 0.13*
高剂量组	8	125.21 ± 4.45*▲	10.19 ± 2.21*▲	0.27 ± 0.06*▲

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

3 讨论

目前, 国内外对纳米硫化铅的生物安全性已展开了探讨, 多数研究认为无论是人或生态系统, 纳米硫化铅潜在的毒性均不容忽视^[4,5]。肝脏是进行毒物代谢的主要器官, 重要原因在于细胞内的线粒体功能非常旺盛, 线粒体是细胞内产生 ATP 的主要场所, 也是氧化损伤最先攻击的靶细胞器, 因此对铅毒性作用比较敏感。本研究通过建立大鼠纳米硫化铅亚慢性染毒模型, 探讨其对大鼠肝脏氧化损伤的情况。

AST 是医学临床上肝功能检查的指标, 用来判断肝脏是否受到损害, 其主要存在于肝细胞线粒体内, 当肝脏发生坏死或破坏时, AST 在血清中浓度会升高, 它是反映肝细胞受损程度最灵敏的指标。ALT 主要存于肝细胞浆中, 肝病早期或急性病变时, 肝脏轻度受损, 肝细胞损伤主要是细胞膜通

收稿日期: 2012-07-09; 修回日期: 2012-09-30

作者简介: 郑国颖 (1981—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 环境毒理学。

通讯作者: 李清钊, 高级实验师。

透性改变,而肝细胞线粒体保持相对完整,故胞浆酶释放较多,导致血液中 ALT 浓度明显升高。SOD 是一种广泛存在于生物体内与细胞氧化代谢密切相关的蛋白质,是活性氧自由基的天然消除剂,是抗氧化酶系中最先与活性氧自由基结合的酶,因此 SOD 是抗氧化系统性能状态的一个重要指标。MDA 作为脂质过氧化代谢的产物,其水平高低间接反映机体细胞受自由基攻击的严重程度,而 T-AOC 活力是衡量机体抗氧化能力的综合指标,可用其反映机体总抗氧化能力。研究显示,染毒组 AST 和 ALT 的含量升高,提示肝细胞可能遭到破坏,细胞膜通透性发生改变,胞浆酶释放增多,致使血液中 AST 和 ALT 浓度升高。随着染毒剂量增加 SOD 的活力降低,提示机体清除氧自由基的能力减弱;染毒组 MDA 升高,提示纳米硫化铅可能引起机体脂质过氧化水平增高,诱发细胞自由基产生,脂质过氧化程度加重;染毒组 T-AOC 活力降低,可能由于纳米硫化铅进入机体造成氧化抗氧化系统失衡。

此外,结果提示高剂量染毒组较低剂量组的损伤更为严重。氧化损伤发病机制复杂,多种因素交错作用,因此,纳米硫化铅氧化损伤的机制有待于我们进一步探讨。

参考文献:

- [1] Ermie Hood. Nanotechnology: Looking as we leap [J]. Environ Health Perspect, 2004, 112: A740.
- [2] Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning [J]. Free Radic Biol Med, 2000, 29 (10): 927-945.
- [3] 汪冰, 丰伟悦, 赵宇亮, 等. 纳米材料生物效应及其毒理学研究进展 [J]. 中国科学 B 辑: 化学, 2005, 35 (1): 1.
- [4] 余强, 李坤刚, 文兴, 等. 纳米硫化镉量子点细胞毒性作用机制 [J]. 生态毒理学报, 2009, 4 (4): 488-493.
- [5] 张学峰, 庄云龙. 纳米硫化铅离子敏感材料的研究 [J]. 化学传感器, 2004, 24 (1): 50-54.

葡萄籽油对镉致睾丸生殖细胞氧化损伤的保护作用

Protective effect of grape seed oil on oxidative damage by cadmium in testicular germ cell of rat

许瑞卿

XV Rui-qing

(海洋石油疾病预防控制中心, 天津 300450)

摘要: 取 32 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为对照组、染镉组、葡萄籽油 (GSO) 低、高剂量干预组, 采用硫代巴比妥酸法和单细胞凝胶电泳技术 (SCGE) 分别检测生殖细胞丙二醛的含量和 DNA 损伤情况。结果染镉组 MDA 含量和生殖细胞的彗尾长、Olive 尾矩、尾分布矩均明显高于对照组, 表明 1.0 mg/kg CdCl₂ 可引发大鼠雄性生殖系统出现明显的脂质过氧化损伤。GSO 低、高剂量干预组 MDA 含量均低于染镉组, 并且 GSO 干预剂量与自由基清除率呈正相关, 表明 GSO 具有一定的抗脂质过氧化活性; 与染镉组比较, GSO 低、高剂量干预组中生殖细胞的尾分布矩明显降低, 表明 GSO 具有一定抑制 DNA 损伤和促进 DNA 修复的生物学作用。

关键词: 葡萄籽油; 镉; 雄性生殖; DNA 损伤

中图分类号: R994 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)02-0106-02

研究表明, 镉可降低雄性哺乳动物的生育能力, 其生殖遗传毒性与氧化损伤密切相关^[1]。本文以葡萄籽油 (GSO) 为研究对象, 探讨 GSO 对镉致大鼠睾丸生殖细胞 DNA 损伤的保护作用, 为镉中毒的预防和治疗提供参考。

1 材料与方

1.1 试剂、仪器

分析纯氯化镉 (天津福晨化学试剂厂)、葡萄籽油 (纯度 95% 广州熊氏化妆品有限公司)、吡啶橙 (美国 Sigma 公司)、正常熔点和低熔点琼脂糖 (西班牙 BIOWEST 公司)、蛋白浓度和丙二醛含量测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

U-3010 型紫外可见分光光度计 (日本日立公司)、22R 型台式冷冻离心机 (德国 Hettich Mikro 公司)、DU730 型核酸蛋白分析仪 (美国 Beckman Culter 公司)、BX51 型荧光生物显微镜 (日本 Olympus 公司)。

CdCl₂ 染毒溶液的配制: 准确称取适量的 CdCl₂ 溶于无菌生理盐水中, 配制成 3.3 mg/ml 的 CdCl₂ 储备溶液, 临用前稀释成 0.33 mg/ml 的 CdCl₂ 应用液。GSO 染毒溶液的配制: 准确称取适量的 GSO 溶于无菌生理盐水, 配制成 5.28 mg/ml 的 GSO 储备溶液, 临用前稀释成 0.132 mg/ml 和 0.528 mg/ml 的 GSO 应用液。

1.2 动物分组及处理

选用广东省实验动物监测所提供的 SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只 [批号: SCXK(粤)2008-0002], 体重 (190 ± 10) g, 适应观察 1 周后, 按体重均衡原则随机分为 4 组, 每组 8 只。对照组腹腔注射和灌胃相应量的生理盐水; 染镉组腹腔注射 1.0 mg/kg 的 CdCl₂ 和灌胃相应剂量生理盐水; GSO 低、高剂量干预组均腹腔注射 1.0 mg/kg CdCl₂, 同时分别灌胃 0.66 mg/kg、2.64 mg/kg 的 GSO。腹腔注射和灌胃染毒容量分别为 3 ml/kg 和 5 ml/kg, 连续染毒 14 d 称重后断头处死。

1.3 睾丸脏器系数的测定

解剖取出大鼠双侧睾丸后, 置于预冷生理盐水中轻轻除

收稿日期: 2012-08-15; 修回日期: 2012-10-20

作者简介: 许瑞卿 (1980—), 男, 硕士研究生, 工程师, 主要从事环境卫生学研究。