

N-乙酰半胱氨酸和硒对镉急性毒性的影响*

王雨, 徐兆发, 喻道军, 贺安宁, 徐斌

摘要:目的 对急性染镉大鼠预先投予 N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine, NAC) 和亚硒酸钠(Na_2SeO_3), 探讨其对急性染镉大鼠肝、肾毒性的影响。方法 将 Wistar 大鼠 32 只随机分成 4 组。第 1 组为对照组, 皮下注射 0.9% 氯化钠, 第 2 组为单纯染镉组, 皮下注射 $35 \mu\text{mol/kg}$ 的氯化镉溶液; 第 3、4 组大鼠分别腹腔注射 1mmol/kg NAC 和 $10 \mu\text{mol/kg}$ Na_2SeO_3 预处理后 2 h, 再皮下注射 $35 \mu\text{mol/kg}$ 的氯化镉溶液。染毒 24 h 后测定血清乳酸脱氢酶(LDH)、谷丙转氨酶(GPT) 活性以及肝、肾皮质中镉(Cd)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA) 含量和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH Px) 活性。结果 与对照组比较, 单纯染镉组大鼠的血清 LDH、GPT 活性及肝肾镉含量显著升高, 肝 GSH、MDA 含量显著升高, GSH-Px 活性显著下降。与单纯染镉组比较, NAC 预处理组的血清 GPT 和 LDH 活性及肝 GSH、MDA 含量显著降低, 肝、肾皮质镉含量显著降低; Na_2SeO_3 预处理组血清 GPT 和 LDH 活性及肝、肾皮质 GSH、镉含量显著降低, 肝 GSH-Px 活性及肾 MDA 含量显著升高。结论 NAC 和亚硒酸钠对急性染镉所致肝损伤具有一定的保护作用, 其机制可能与 NAC 或亚硒酸钠预处理后改变体内 GSH 含量或 GSH-Px 活性有关。

关键词: N-乙酰半胱氨酸; 亚硒酸钠; 镉; 肝; 肾

Effects of N acetyl cysteine and sodium selenite on rats with acute exposure to cadmium WANG Yu, XU Zhaofa, YU Daojun, et al. Department of Environmental Health, School of Public Health, China Medical University (Shenyang 110001, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of N acetyl cysteine and sodium selenite on liver and kidney of rats with acute exposure to cadmium. **Methods** 32 Wistar rats were randomly divided into four groups. Control group was injected sc with 0.9% NaCl; Cadmium chloride group was injected sc with $35 \mu\text{mol/kg}$ CdCl_2 ; Others were pretreated by administering ip injection of 1mmol/kg NAC(N-acetyl cysteine) and $10 \mu\text{mol/kg}$ Na_2SeO_3 respectively 2 hour before the injection of CdCl_2 . Liver, kidney cortex and blood samples were collected 24 hours after CdCl_2 administration. LDH (lactic dehydrogenase), GPT (glutamic pyruvic transaminase) activities in serum were determined Cd (cadmium), MDA (malondialdehyde) and GSH (glutathione) contents in liver and renal cortex as well as GSH Px (glutathione peroxidase) activities were mensurated. **Results** Compared with control group, LDH and GPT activities in serum and Cd contents in both liver and renal cortex with Cd alone were obviously increased. GSH, MDA contents in liver were increased significantly and GSH Px activities were obviously decreased with Cd alone. Contrast with the group of given Cd alone, LDH and GPT activities in serum and GSH, MDA contents in liver with the administration of NAC were decreased significantly. Cd contents in both liver and renal cortex also decreased significantly; The pretreatment of Na_2SeO_3 had significantly reduced LDH, GPT activities in serum; GSH and Cd contents in both liver and renal cortex were also reduced significantly. It also obviously increased GSH Px activities in liver and MDA contents in renal cortex as compared with those given Cd alone. **Conclusions** NAC and Na_2SeO_3 may have protective effects on Cd induced acute hepatic toxicity, which may relate to the content of GSH and the activities of GSH Px.

Key words: N-acetyl cysteine; sodium selenite; cadmium; liver; renal

镉对肝、肾组织的损害与氧化损伤、氧化应激密切相关^[1]。体内存在的还原型谷胱甘肽含有巯基, 可以立即与进入体内的镉离子结合形成复合物, 阻止镉对组织细胞的毒性, 是防止镉急性毒性的第一道防线。N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine, NAC) 是半胱氨酸的衍生物, 它的巯基可作为 H^+ 供体而发挥直接的抗氧化作用, 能再合成具有生物活性的谷胱甘肽, 从而起到间接抗氧化作用及自由基清除作用^[2], 因而在临床和实验中有着广泛的应用前景。硒(Se) 是谷胱甘肽过氧化物酶(GSH Px) 的组成成分, 在体内抗氧化系统中起重要的作用, Se 能缓解镉对 GSH Px 活性的抑制^[3], 并且 Se 在体内代谢转化后可与镉结合形成复合物, 降低游离镉浓度, 相应降低了镉的毒性。本文通过测定急性染镉对大鼠肝、肾的毒性作用, 观察 NAC 和 Na_2SeO_3 预处理对急性染镉大鼠肝肾毒性

的影响, 为镉中毒的发病机制和防治提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物分组及染毒 健康成年 Wistar 大鼠 32 只, 体重(150 ± 10)g, 雌雄各半。随机分成 4 组, 每组 8 只, 第 1 组为对照组; 第 2 组为单纯染镉组; 第 3、4 组为干预组。第 1、2 组大鼠腹腔注射生理盐水(5mL/kg), 第 3、4 组分别腹腔注射 NAC 溶液(1mmol/kg)、亚硒酸钠溶液($10 \mu\text{mol/kg}$)。2 h 后, 对照组大鼠皮下注射生理盐水(5mL/kg), 其余各组皮下注射氯化镉溶液($35 \mu\text{mol/kg}$)。

1.2 测定指标与方法 大鼠染毒 24 h 后乙醚麻醉, 剖开腹腔, 从腹主动脉取血, 分离血清。然后切取肝、肾组织, 剥离肾被膜, 分离肾皮质。血清乳酸脱氢酶(LDH) 的测定用 2, 4-二硝基苯胍比色法; 谷丙转氨酶(GPT) 活性的测定用改良赖氏法; 肝、肾皮质丙二醛(MDA) 含量的测定用硫代巴比妥酸比色法; 谷胱甘肽(GSH) 含量的测定用 DTNB(5, 5'-dithio bis-2-nitrobenzoic) 直接法; GSH-Px 活性测定用以 GSH 为底物的 DTNB 法; 肝、肾皮质镉含量测定用原子吸收分光光度法。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371200)

作者单位: 中国医科大学公共卫生学院环境卫生教研室, 沈阳 110001

作者简介: 王雨(1973-), 女, 沈阳人, 讲师, 博士在读, 主要从事镉中毒机制及防治研究。

1.3 统计分析 用 SPSS 统计软件单因素方差分析方法 (ANOVA) 进行组间差异的显著性检验, 两组间比较用 Q 检验 (LSD 法)。

2 结果

2.1 血清酶活性(表 1)

表 1 大鼠血清 LDH、GPT 酶活性 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	血清 LDH	血清 GPT
对照	120.47 ± 57.00	32.02 ± 9.37
Cd	261.11 ± 52.13 ^b	135.52 ± 90.15 ^b
NAC+ Cd	191.27 ± 28.54 ^{bc}	34.74 ± 13.81 ^c
Na ₂ SeO ₃ + Cd	166.61 ± 30.80 ^{ac}	40.85 ± 27.04 ^c

注: 与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与单纯染 Cd 组比较, c $P < 0.01$

从表 1 可见, 单纯染镉组大鼠血清 LDH 与 GPT 活性显著高于对照组, 大鼠经 NAC 和 Na₂SeO₃ 预处理后再皮下注射 35 $\mu\text{mol/kg}$ 氯化镉溶液, 血清中 LDH、GPT 活性均明显低于单纯染镉组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 肝、肾皮质镉含量(表 2)

表 2 大鼠肝肾皮质镉含量 ($\mu\text{g/g}$ 湿重, $\bar{x} \pm s$)

组别	肝镉	肾镉
对照	0.32 ± 0.18	0.17 ± 0.09
Cd	33.57 ± 5.19 ^b	14.84 ± 4.61 ^b
NAC+ Cd	26.23 ± 3.58 ^{bc}	10.01 ± 1.62 ^{bc}
Na ₂ SeO ₃ + Cd	19.29 ± 4.23 ^{bc}	6.62 ± 1.07 ^{bc}

注: 与对照组比较, b $P < 0.01$; 与单纯染 Cd 组比较, c $P < 0.01$

从表 2 可见, 单纯染镉组大鼠肝脏和肾皮质镉含量与对照组比较显著升高; 大鼠经 NAC 和 Na₂SeO₃ 预处理后再皮下注射 35 $\mu\text{mol/kg}$ 氯化镉溶液, 肝脏和肾皮质镉含量均明显低于单纯染镉组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.3 肝脏 GSH、MDA 含量及 GSH Px 活性(表 3)

表 3 大鼠肝脏 GSH、MDA 含量及 GSH Px 活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GSH ($\mu\text{g/g}$ Pro)	MDA (nmol/g Pro)	GSH Px (U/mg Pro)
对照	12.10 ± 4.36	51.10 ± 15.70	0.648 ± 0.208
Cd	20.81 ± 6.67 ^b	108.54 ± 72.93 ^b	0.218 ± 0.104 ^b
NAC+ Cd	8.88 ± 3.61 ^c	53.08 ± 19.85 ^c	0.262 ± 0.071 ^b
Na ₂ SeO ₃ + Cd	7.04 ± 2.05 ^{ac}	44.89 ± 18.53 ^c	0.402 ± 0.144 ^{bd}

注: 与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与单纯染 Cd 组比较, c $P < 0.01$, d $P < 0.05$

从表 3 可见, 单纯染镉组大鼠肝脏 GSH、MDA 含量显著升高, GSH Px 活性显著降低; 大鼠经 NAC 预处理后再染镉, 与单纯染镉组比较, 肝脏 GSH、MDA 含量显著降低。经 Na₂SeO₃ 预处理后再染镉, 与单纯染镉组比较, 肝脏 GSH、MDA 含量显著降低, GSH Px 活性显著升高。

2.4 肾皮质 GSH、MDA 含量及 GSH Px 活性(表 4) 从表 4 可见, 单纯染镉组大鼠肾皮质 GSH、MDA 含量及 GSH Px 活性与对照组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 大鼠经 NAC 预处理后再染镉, 肾皮质 MDA 含量虽然高于单纯染镉组, 但其差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。经 Na₂SeO₃ 预处理

后再染镉, 与单纯染镉组比较, 肾皮质 GSH 含量显著降低, MDA 含量显著升高。

表 4 各组大鼠肾皮质 GSH、MnA 含量及 GSH Px 活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GSH ($\mu\text{g/g}$ Pro)	MDA (nmol/g Pro)	GSH Px (U/(mg Pro))
对照	11.39 ± 2.35	186.84 ± 45.36	0.401 ± 0.105
Cd	13.00 ± 5.11	190.07 ± 50.09	0.580 ± 0.261
NAC+ Cd	10.04 ± 2.18	239.74 ± 37.45	0.351 ± 0.161
Na ₂ SeO ₃ + Cd	4.65 ± 1.20 ^{bc}	410.18 ± 143.47 ^{bc}	0.404 ± 0.345

注: 与对照组比较, b $P < 0.01$; 与单纯染 Cd 组比较, c $P < 0.01$

3 讨论

本文结果显示, 大鼠皮下注射 35 $\mu\text{mol/kg}$ 氯化镉溶液 24 h 后, 血清 GPT 和 LDH 明显增高, 提示急性染镉引起大鼠肝脏明显损伤。有研究^[4,5]认为, 急性、亚急性镉暴露可引起肝内 GSH 水平下降, 镉通过耗竭细胞内 GSH 而削弱机体抗氧化损伤的能力。本文结果表明, 镉暴露引起了典型的肝损害, 但肝脏 GSH 含量显著升高, 与 Shibasaki^[6]的结果一致, 可能是染镉后刺激机体合成 GSH 增加或者镉抑制了 GSH Px 的活性, 从而抑制了作为 GSH Px 底物的 GSH 的转化, 因此导致 GSH 的堆积。

NAC 干预组大鼠血清 GPT、LDH 活性显著低于单纯染镉组, 提示 NAC 预处理能拮抗镉的急性肝脏毒性。本文证实, 腹腔注射 NAC 使肝肾组织镉含量显著降低, 肝脏 GSH 和 MDA 含量显著低于单纯染镉组而接近正常对照水平, 推测 NAC 拮抗镉的肝脏毒性是由于血液半胱氨酸或 GSH 直接与镉结合, 减少了镉在肝肾组织的蓄积, 增加了镉的排泄。

本文结果还表明, Na₂SeO₃ 明显降低 Cd 所致的血清 GPT 和 LDH 升高, 提示它可减轻急性染 Cd 所致的肝脏损伤。Na₂SeO₃ 缓解 Cd 所致的肝脏 GSH 和 MDA 的升高, 缓解镉对肝脏 GSH Px 活性的抑制。但使肾皮质 MDA 含量显著增加, GSH 含量下降。硒对急性染镉大鼠肝肾毒性的影响有待进一步深入研究。

参考文献

- Shakh ZA, Vu TT, Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium induced hepatotoxicity and renal toxicity and prevention by antioxidants [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1999, 154(3): 256-263.
- Gillissen A, Scharling B, Jaworska M, et al. Oxidant scavenger function of ambroxol in vitro: a comparison with N-Acetylcysteine [J]. Res Exp Med, 1997, 196(3): 389-393.
- Meyer SA, Hose WA, Welch RM. Some metabolic interrelationships between toxic levels of cadmium and nontoxic levels of selenium fed to rats [J]. J Nutr, 1982, 112(5): 954-959.
- Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, et al. Cadmium induced excretion of urinary lipid peroxidation in Sprague Dawley rats [J]. Biol Trace Elem Res, 1996, 52(2): 143-154.
- Karmakar R, Banik S, Bandyopadhyay S, et al. Cadmium induced alteration of hepatic lipid peroxidation, glutathione S transferase activity and reduced glutathione level and their possible correlation with chromosomal aberration in mice, a time course study [J]. Mutat Res, 1998, 397(2): 183-190.
- Shibasaki T, Xu QY, Ohno I, et al. Effect of triethylenepentamine hexaacetic acid on the renal damage in cadmium treated Syrian hamsters [J]. Biol Trace Elem Res, 1995, 50(2): 157-165.