

污灌土壤中有机污染物对小鼠肝肾组织的氧化损伤

高红霞, 刘英莉, 阎红, 常玉荣

摘要: [目的] 研究污灌土壤中有机污染物对小鼠肝肾组织的氧化损伤。[方法] 选取某污灌农田土壤为研究对象(下称“污灌区”), 地下水灌溉农田的土壤为对照(下称“对照区”), 采用超声振荡法提取土壤中的有机污染物, 对小鼠实验灌胃法染毒, 共分为 5 组: 试剂对照组(用二甲亚砜染毒), 对照区低、高剂量组, 污灌区低、高剂量组, 每日染毒 1 次, 连续染毒 2 周。测定肝、肾组织的总超氧化物歧化酶(T-SOD), 丙二醛(MDA), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)。[结果] 污灌区高剂量组肝组织的 MDA 含量(中位数为 1.18 nmol/mg), GSH-Px 活性(中位数为 239.97 U/mg 蛋白质), 低、高剂量组 T-SOD 活性(中位数分别为 119.70 U/mg 蛋白质和 76.72 U/mg 蛋白质)及肾组织的 GSH-Px 活性(中位数为 133.12 U/mg 蛋白质)均低于试剂对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。[结论] 该污灌区土壤有机提取物可导致小鼠肝肾组织的氧化损伤。

关键词: 污灌; 土壤; 有机污染物; 小鼠; 肝脏; 肾脏; 氧化损伤

Hepatic and Renal Oxidative Damage of Organic Pollutants in the Soil of Sewage Irrigation Area on Mice GAO Hong-xia, LIU Ying-li, YAN Hong, CHANG Yu-rong (Hebei Province Key Laboratory of Occupational Health and Safety for Coal Industry, North China Coal College, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: [Objective] To study the oxidative damage of organic extraction of the soil in sewage irrigation area on liver and kidney of mice. [Methods] Organic extractions were obtained from the soil in pollution area and control area by supersonic, and to feed the mice by gavage in different doses (once each day for 14 days). Reagent (Dimethyl sulfoxide) was fed in control group. MDA, T-SOD, and GSH-Px in liver and kidney were detected. [Results] Compared with the reagent control group, MDA (1.18 nmol/mg.prot), GSH-Px (239.97 U/mg.prot) in liver were decreased in the high-dose group of the sewage irrigation area, T-SOD (119.70 and 76.72 U/mg.prot) in liver was decreased in the low-dose group and in the high-dose group of the sewage irrigation area ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), GSH-Px (133.12 U/mg.prot) in kidney was decreased in both groups of the sewage irrigation area ($P < 0.05$). [Conclusion] Organic extraction of the soil in sewage irrigation area could induce hepatic and renal oxidative damage in mice.

Key Words: sewage irrigation; soil; organic pollutants; mice; liver; kidney; oxidative damage

污水灌溉可导致土壤和农产品污染, 这些污染物往往是一系列毒物的综合体^[1-4]。目前对某些种类有机污染物单独作用的毒性已有很多研究。但是, 环境中多种有机污染物常以混合物形式存在, 由于环境中有机污染物具有低浓度、长时间反复作用及多种混合物联合作用特点, 分别检测某种环境有机污染物的污染水平及其毒性不仅费时、费力, 其结果并不能反映出各种污染物联合作用的毒性。因此, 尽早找出切实可行的能反映出各种污染物联合毒性的指标是当务之急。本研究拟以污灌区土壤有机提取物为研究对象, 对实验动物小鼠进行染毒, 通过对肝、肾氧化损伤指标的测定, 了解有机污染物的联合毒性, 以期修订和完善土壤质量标准提供毒理学依据。

[基金项目] 河北省科学技术研究与发展项目(编号: 062761594); 河北省教育厅科学研究计划项目(编号: 2007316)

[作者简介] 高红霞(1964-), 女, 本科, 研究员; 研究方向: 环境污染与健康; E-mail: ghxgao@126.com

[作者单位] 华北煤炭医学院河北省煤矿卫生与安全实验室, 河北唐山 063000

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超声振荡器(KQ-500VDB型, 中国, 昆山超声仪器厂); K-D 浓缩器(804M型)。T-SOD活力、GSH-Px活力、MDA含量试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。丙酮、石油醚、环己烷均为分析纯(天津化学试剂厂)。

1.2 样品的采集和处理

1.2.1 土壤样品采集 于2007年5月选取某污灌农田的土壤为研究对象(下称“污灌区”), 灌溉水质为劣V类; 选取远离污灌区、采用地下水(符合生活饮用水卫生标准)灌溉农田的土壤作为对照(下称“对照区”)。按《土壤环境监测技术规范》(HJ/T 166—2004), 采用梅花形布点采集样品, 采集表层0~20 cm深的土样, 采样量1~2 kg。

1.2.2 有机物的提取 土壤样品的前处理、提取、净化, 参照文献[5]的方法进行。

1.3 动物的选择、分组和染毒

选择清洁级昆明种系小鼠50只, 体重15~20 g, 雌、雄各半, 由华北煤炭医学院实验动物中心提供。将小鼠随机分为

5 组: 试剂对照组(用二甲亚砷染毒); 对照区低、高剂量组; 污灌区低、高剂量组(本课题的相关研究显示^[4], 对照区土壤样品检测出了胺类、烷烃类有机毒物。为了增加结果的可比性, 本次研究将对照区和污灌区设置了相同的剂量组)。高、低剂量组染毒剂量分别相当于每天每千克体重 25 g、5 g 土壤干重。采用灌胃法染毒, 每日 1 次, 连续染毒 2 周。染毒 14 d 后处死, 取肝、肾组织于冰浴中制备成匀浆, 备肝、肾组织氧化损伤指标测定用。

1.4 指标测定

总超氧化物歧化酶(T-SOD), 丙二醛(MDA), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)按说明书的方法进行比色测定。

表 1 各组肝脏的氧化损伤比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Comparison of hepatic oxidative damage among different groups

组别 Group	MDA (nmol/mg.prot)			T-SOD (U/mg.prot)			GSH-Px (U/mg.prot)		
	M	Ql	Qu	M	Ql	Qu	M	Ql	Qu
试剂对照组 (Reagent control)	4.57	2.79	7.75	197.02	144.64	304.39	430.21	327.38	573.51
对照区 (Control area)									
低剂量组 (Low-dose)	2.52	1.44	4.05	181.13	104.73	210.89	467.24	353.53	564.52
高剂量组 (High-dose)	2.33	1.23	4.23	143.85	140.10	242.35	356.68	223.94	467.67
污灌区 (Sewage irrigation area)									
低剂量组 (Low-dose)	1.99	1.48	2.63	119.70*	103.02	142.84	287.38	140.56	254.51
高剂量组 (High-dose)	1.81*	1.23	2.21	76.72**	68.18	101.76	239.97*	237.30	327.20

[注]*: 与试剂对照组比较 (Compared with the control group), $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

2.2 不同采样区土壤有机提取物对小鼠肾组织的氧化损伤作用
与试剂对照组比较: 污灌区高剂量组的 GSH-Px 活性降低

1.5 统计方法

采用 SAS 8.2 软件进行统计分析, 由于资料呈偏态分布, 用中位数 (M) 表示集中趋势, 用上、下四分位数 (Qu 和 Ql) 表示离散趋势, 采用秩和检验 (Kruskal-Wallis) 进行分析。

2 结果

2.1 不同采样区土壤有机提取物对小鼠肝组织的氧化损伤作用
与试剂对照组比较: 污灌区高剂量组的 MDA 含量降低、T-SOD、GSH-Px 活性均降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 污灌区低剂量组的 T-SOD 活性均降低 ($P < 0.05$), 对照区组与试剂对照组及污灌区各组比较, 差异均未见统计学意义, 表 1。

($P < 0.01$), 污灌区各组与对照区组比较, 差异未见统计学意义 ($P > 0.05$), 表 2。

表 2 各组肾脏的氧化损伤比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of renal oxidative damage among different groups

组别 Group	MDA (nmol/mg.prot)			T-SOD (U/mg.prot)			GSH-Px (U/mg.prot)		
	M	Ql	Qu	M	Ql	Qu	M	Ql	Qu
试剂对照组 (reagent control)	2.86	2.38	3.46	55.33	23.63	97.91	214.06	186.71	239.56
对照区 (control area)									
低剂量组 (low-dose)	2.92	1.64	3.85	61.26	40.28	70.35	204.13	185.10	213.55
高剂量组 (high-dose)	2.89	1.88	4.68	55.75	35.27	64.82	155.22	140.11	171.53
污灌区 (sewage irrigation area)									
低剂量组 (low-dose)	2.47	1.22	4.02	57.65	17.13	67.58	146.94	90.11	160.12
高剂量组 (high-dose)	2.42	2.17	6.47	54.08	36.06	81.11	133.12*	112.90	145.82

[注]*: 与试剂对照组比较 (Compared with the control group), $P < 0.01$ 。

3 讨论

T-SOD、GSH-Px 是机体抗氧化系统中的重要酶类, 在维持自由基代谢平衡方面发挥着重要作用^[6]。本研究显示, 与对照组比较, 污灌区高剂量组肝组织的 T-SOD、GSH-Px 活性降低、肾组织的 GSH-Px 活性降低 ($P < 0.05$), 表明污灌区土壤有机提取物中含有致小鼠肝、肾组织氧化损伤的有机物。本课题组的相关研究显示^[4], 污灌区土壤有机提取物中含有烷烃类、苯系物及多环芳烃等有机物, 这些有机物作为外源性化合物可能抑制体内抗氧化酶活性, 使 T-SOD、GSH-Px 活性降低。丙二醛是脂质过氧化反应的产物, 其含量的变化可作为评定自由基生成及膜脂质双层机构破坏的指标^[6]。本研究显示, 与对照组比较, 污灌区高剂量组肝组织的 MDA 含量降低 ($P < 0.05$), 这一结果是否表示污灌区土壤中的有机污染物可抑制细胞内脂质过氧化, 或是影响了 MDA 的生成, 有关问题仍需进一步探讨。

参考文献:

[1] 吴迪梅, 张从, 孟凡乔. 河北省污水灌溉农业环境污染经济损失评估[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(2): 176-179
[2] 庄颖. 水中有机污染物对人体的潜在危害及预防对策. 环境与健康杂志, 2001, 18(3): 187-189.
[3] MCLACHLAN M S, CZUB G, WANIAF. The influence of vertical sorbed phase transport on the fate of organic chemicals in surface soils [J]. Environ Sci Technol, 2002, 36(22): 4860-4867.
[4] 刘英莉, 李艳, 高红霞, 等. 某污灌区土壤有机污染物成分分析[J]. 环境与职业医学, 2008, 25(2): 181-183.
[5] 高红霞, 许浩, 刘英莉, 等. 污灌土壤有机提取物对原代大鼠肝细胞 DNA 损伤的研究[J]. 现代预防医学, 2007, 34(16): 3015-3016, 3019.
[6] 邓学良, 贺性鹏, 龙鼎新, 等. 摩托车尾气对小鼠抗氧化作用及 DNA 损伤的影响[J]. 现代预防医学, 2005, 32(12): 1594-1595.

(收稿日期: 2008-10-06)

(编辑: 洪琪; 校对: 徐新春)