

竹荪多糖对砷中毒大鼠肝组织、血液及尿液中砷含量的影响*

胡 婷, 罗 鹏**

(贵州医科大学 公共卫生学院 环境污染与疾病监控省部共建教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550000)

[摘要] 目的: 探讨竹荪多糖对砷中毒大鼠体内砷含量的影响。方法: 将24只清洁级健康SD大鼠均分为对照组、模型组、竹荪干预组3组, 每组雌雄各半; 对照组以常规饲料饲养, 竹荪干预组和模型组喂饲砷含量50 mg/kg的饲料, 竹荪干预组每日以10 g/L的竹荪多糖按大鼠体质量20 mL/kg灌胃, 观察各组大鼠喂养过程中的毛发光泽度等一般情况, 记录喂养0、30、60及90 d时大鼠的体质量; 喂养3月时, 取各组大鼠血液及尿液, 并处死大鼠取肝脏组织, 采用原子荧光光谱法检测其中砷含量, 同时称取各组大鼠肝脏重量并计算脏器系数。结果: 对照组大鼠发育正常, 精神良好, 毛发有光泽, 模型组大鼠生长中等, 体态中等, 毛发较暗淡且稀疏, 竹荪干预组大鼠发育、精神及毛发光泽度介于两组之间; 与对照组相比, 饲喂相同的时间, 模型组和竹荪干预组体质量均降低, 在饲喂30 d、90 d时差异有统计学意义($P < 0.05$); 开始饲喂后, 竹荪干预组大鼠体质量与模型组相比升高, 但仅30 d时差异有统计学意义($P < 0.05$); 与对照组相比, 模型组和竹荪干预组脏器重量和脏器系数、肝砷、血砷、尿砷均升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 竹荪干预组与模型组相比, 竹荪干预组肝砷降低而尿砷升高($P < 0.05$)。结论: 竹荪多糖可以降低砷中毒大鼠肝脏、血液、尿液中的砷含量。

[关键词] 竹荪多糖; 亚砷酸钠; 砷中毒; 肝损伤; 模型, 动物; 大鼠, Sprague Dawley

[中图分类号] R151; R595.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)11-1254-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2016.11.004

Effect of Dictyophora Polysaccharide on Arsenic Content of Liver, Blood and Urine in Arsenic Poisoning Rats

HU Ting, LUO Peng

(The Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education Department of Toxicology, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550000, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of dictyophora polysaccharide on arsenic content in arsenic poisoning rats. **Methods:** A total of 24 healthy adult clean SD rats were randomly divided into control group, dictyophora polysaccharide intervention group and model group, half male and half female in each group. The control received ordinary feed. Dictyophora polysaccharide intervention group and the model group received feed of 50 mg/kg arsenic content. Meanwhile, dictyophora polysaccharide intervention group received intragastric administration of dictyophora polysaccharide (10 g/L) at 20 mL/kg every day. The rats' hair gloss and other general conditions in the feeding process were observed and the rats' body weight at 0, 30, 60 and 90 d after feeding were recorded. 3 months after feeding and treatment, the blood and urine of rats in each group were taken, and the rats were sacrificed to get the liver tissue. The content of arsenic was detected by atomic fluorescence spectrometry in rats' blood, urine and liver tissue, and the liver weight of rats in each group was calculated and the or-

* [基金项目] 国家自然科学基金(81160336); 贵州省科技厅农业攻关计划项目[黔科合 NY 字(2011)3055 号]; 贵州省教育厅基金项目[黔省专合字(2010)39 号]; 贵州省科技厅[黔科合 J 字(2010)2188]

** 通信作者 E-mail: 519484547@qq.com

网络出版时间: 2016-11-15 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20161115.1757.008.html>

gan coefficient was calculated. **Results:** The rats in the control group developed normally, the spirit was good, and the hair was glossy while the rats in model group developed relatively medium, and the hair was dark and sparse. In dictyophora polysaccharide intervention group, the rats' development, spirit and hair gloss were between control group and model group. Compared with control group, at the same time of development, the body weight of rats in model group and dictyophora polysaccharide intervention group decreased, and the differences at 30 d, 90 d after feeding were statistically significant ($P < 0.05$). After feeding, in dictyophora polysaccharide intervention group rats' body weight increased compared with that of model group, but there was significant difference at 30 d after feeding ($P < 0.05$). Compared with control group, in model group and dictyophora polysaccharide intervention group the liver weight, organ coefficient, arsenic in liver, arsenic in blood, and arsenic in urine were increased ($P < 0.05$). Compared with model group, in dictyophora polysaccharide intervention group arsenic in liver decreased while arsenic in urine increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Dictyophora polysaccharide can reduce the arsenic content in the liver, blood and urine in arsenic poisoning rats. [**Key words**] dictyophora polysaccharide; sodium arsenite; arsenic poisoning; liver injury; animal model; rats, Sprague-Dawley

砷被国际癌症研究机构(IARC)列为一级致癌物,能够通过多种途径引起肝脏的损害^[1]。由于砷在体内具有较强的蓄积性,其引起的病理改变表现为渐进性及不可逆,目前尚无敏感特异的早期检测手段和特效治疗药物^[2]。驱砷治疗临床上主要使用含巯基(-SH)类药物,如二巯基丙磺酸钠(DMPS)、二巯丙醇(MSDS)等,然而这类药物仍存在一些副作用,在对临床患者采用DMPS驱砷治疗的过程中发现,药疹的发病率较高,且会协同一些机体需要的微量元素与砷一起排出体外^[3-4];驱砷还可抑制体内正常的金属酶系统的活动,抑制细胞色素C的氧化速率,其氧化物还能抑制巯基酶系统,毒副作用较大,因此对新驱砷药的寻找值得关注。竹荪含有丰富的营养价值,其中的多糖、维生素及微量元素等多种活性成分具有抗衰老、抗疲劳、耐缺氧、抑菌、抗肿瘤、抗氧化、降血脂以及免疫调节等作用,有良好的药用价值和经济前景^[5-10]。本实验通过亚砷酸钠染毒大鼠,以竹荪多糖进行干预,观察竹荪多糖对砷中毒大鼠的驱砷效果,为探索竹荪多糖的应用价值提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

Multiwave PRO 高压微波消解仪(Anton Par,奥地利)、AF-630A 原子荧光光谱仪(北京瑞利分析仪器有限公司,中国)、ZT-12P2 组织脱水机(上海华岩仪器设备有限公司,中国)、亚砷酸钠(优级

纯,美国 Sigma 公司)、竹荪多糖(课题组提取),含亚砷酸钠饲料由第三军医大学动物实验中心制备。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及染毒方法 清洁级健康SD大鼠24只,体质量为 (180 ± 20) g,雌雄各半,购自中国人民解放军第三军医大学,合格证号[SCXK(军)2012-0011]。将24只大鼠随机分为对照组、砷联合竹荪干预组(简称竹荪干预组)、模型组,每组8只,雌雄各半。对照组以普通饲料喂饲,竹荪干预组和模型组喂饲砷含量50 mg/kg的饲料^[11],竹荪干预组同时还每日以10 g/L的竹荪多糖20 mL/kg灌胃,饲喂3个月。

1.2.2 样本采集和砷含量检测 每天观察记录大鼠毛发光洁度、色泽、分泌物、呼吸、活动度等一般情况。每周称重1次,记录实验前、饲喂30、60及90 d动物体质量变化情况。大鼠处死前禁食24 h,并用代谢笼收集大鼠尿液,-80℃冰箱保存。用1%戊巴比妥钠按照10 mg/kg麻醉,麻醉后心脏取血,收集全血4 mL,-80℃冰箱保存;大鼠处死后立即分离肝脏组织称重,计算肝脏系数,-80℃冰箱保存。分别取各组大鼠新鲜肝脏0.5 g,全血和尿液各1 mL,利用微波消解仪充分消化后,定容,待测。采用原子荧光火焰法测定砷元素含量。该方法的检出限为0.03 μg/L,RSD为1.0%,回收率为96.2%~108.8%。尿砷结果用尿肌酐校正。

1.3 统计学分析

Excel 2013 录入数据,用SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析,进一步多重比较采用Dunnett-t

检验, $P < 0.05$ 有统计学意义, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 一般情况和体质量

对照组大鼠发育正常, 精神良好, 毛发有光泽, 无脱毛现象, 竹荪干预组大鼠生长良好, 体态丰满, 毛发色泽变得暗淡, 行走正常, 活动量正常; 模型组

大鼠生长中等, 体态中等, 毛发较暗淡且稀疏, 个别大鼠背部及臀部有明显脱毛, 精神较差, 行走正常, 活动量减少。与对照组相比, 饲喂相同的时间, 模型组和竹荪干预组体质量均降低, 其中在饲喂 30 和 90 d 的模型组和竹荪干预组与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 饲喂 30 和 90 d 时, 竹荪干预组大鼠体质量与模型组相比升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠体质量变化情况 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Changes of body weight in each group

组别	体质量(g)			
	入组时	饲喂 30 d	饲喂 60 d	饲喂 90 d
对照组	267.32 ± 3.16	344.96 ± 4.34	398.81 ± 3.69	477.37 ± 16.01
模型组	266.41 ± 5.74	301.66 ± 7.85 ⁽¹⁾	347.88 ± 11.17	385.67 ± 12.94 ⁽¹⁾
竹荪干预组	266.97 ± 1.18	327.92 ± 5.11 ⁽¹⁾⁽²⁾	366.63 ± 8.65 ⁽¹⁾	442.23 ± 10.88 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与模型组比较, $P < 0.05$

2.2 肝脏重量及脏器系数

喂养 3 个月时, 与对照组大鼠脏器重量和脏器系数比较, 模型组和竹荪干预组均有所升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 竹荪干预组脏器重量和系数均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠肝脏重量及脏器系数 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The liver weight and organ coefficient of rats in each group

组别	脏器重量(g)	脏器系数(%)
对照组	10.89 ± 0.95	2.69 ± 0.36
模型组	13.01 ± 1.17 ⁽¹⁾	3.16 ± 0.77 ⁽¹⁾
竹荪干预组	11.34 ± 2.71 ⁽¹⁾⁽²⁾	2.98 ± 2.53 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与模型组比较, $P < 0.05$

2.3 肝脏、血清及尿液砷含量

喂养 3 个月时, 与对照组相比, 模型组和竹荪干预组大鼠肝砷、血砷、尿砷均升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 竹荪干预组肝砷降低而尿砷升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠肝组织、血液及尿液砷水平比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The detection results of arsenic content in rats' liver, urine and blood

组别	砷		
	肝($\mu\text{g/g}$)	血(mg/L)	尿($\mu\text{g/g} \cdot \text{Cr}$)
对照组	0.10 ± 0.10	0.10 ± 0.10	0.10 ± 0.10
模型组	6.12 ± 0.23 ⁽¹⁾	29.71 ± 2.66 ⁽¹⁾	0.41 ± 0.32 ⁽¹⁾
竹荪干预组	4.59 ± 0.12 ⁽¹⁾⁽²⁾	28.62 ± 1.46 ⁽¹⁾	0.64 ± 0.51 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与模型组比较, $P < 0.05$

毒大鼠体内砷含量的影响。研究结果示, 与对照组相比, 模型组和竹荪干预组体质量均降低, 其中在饲喂 30 d、90 d 的模型组和竹荪干预组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 脏器系数增大, 肝砷、血砷、尿砷均升高, 开始饲喂后, 竹荪干预组与模型组相比, 体质量增加, 脏器系数减小, 肝砷、血砷均降低, 尿砷升高。提示竹荪多糖可以降低砷中毒大鼠肝脏、血液、尿液中的砷含量。

砷是一种细胞原浆毒, 因与巯基有很强的亲和力, 易与含巯基酶结合^[12]。临床上主要使用含巯基类驱砷药物治疗砷中毒, 其解毒原理为药物中具有活性的巯基, 夺取已经与组织中酶系统结合的砷, 形成不易分解的化合物, 由尿排出, 并使含巯基酶恢复活性, 从而解除中毒症状^[13]。而竹荪中的多糖进入机体后, 必须消化成葡萄糖、果糖、半乳糖等单糖形式才能被吸收。在小肠上皮细胞刷状缘上有与膜相结合的载体, 葡萄糖、半乳糖与 Na^+ 分别结合在载体的不同部位, 一起进入细胞, 从而使

3 讨论

本研究将大鼠分为以普通饲料喂饲的对照组, 含砷饲料喂饲的竹荪干预组和模型组, 其中竹荪干预组每日灌胃竹荪多糖液, 3 个月后, 常规处死, 测血液、尿液、肝脏中砷含量, 以了解竹荪多糖对砷中

葡萄糖吸收^[14]。当 Na^+ 进入细胞后,细胞内 Na^+ 浓度升高,启动钠钾泵 ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶), $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶分子中有 16 个与自由基结合的巯基,易被氧化成二硫键。竹荪多糖可以降低大鼠体内砷含量的原因,可能是启动了 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶,使其与砷结合,使砷最终随尿液排出。

另外谷胱甘肽 (GSH) 是巯基酶,砷亦可与 GSH 结合,并且 GSH 还能保护某些蛋白质中的巯基,如红细胞膜和血红蛋白上的巯基。NADPH + H^+ 是 GSH 还原酶的辅酶,对维持还原型 GSH 的正常含量有重要的作用。而磷酸戊糖途径是葡萄糖在体内氧化分解的一条重要途径,主要发生在肝脏和脂肪组织、红细胞等组织细胞的胞液中,磷酸戊糖途径的产物之一就是 NADPH + H^+ ^[15]。故推测竹荪多糖可以降低砷中毒大鼠肝脏和血液中砷含量的另一个原因,可能是竹荪多糖进入机体后水解成葡萄糖,葡萄糖在肝脏和红细胞中,通过磷酸戊糖途径氧化分解,产生 NADPH + H^+ ,维持还原型 GSH 含量,GSH 自身含有的巯基和其保护下的红细胞膜和血红蛋白上巯基与砷结合,使砷最终随尿液排出。

4 参考文献

- [1] Chao D, Fu H, Xu J, et al. Physicochemical and biological properties of phosphorylated polysaccharides from *Dictyophora indusiata* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014(72):894-899.
- [2] Dong Z, Liu C, Liu Y, et al. Using publicly available data, a physiologically - based pharmacokinetic model and Bayesian simulation to improve arsenic non - cancer dose - response [J]. *Environment International*, 2016(92-93):239-246.
- [3] 李羨筠. 砷的毒性及排砷研究进展 [J]. *职业与健康*, 2012(6):742-745.
- [4] 袁娟,肖雄斌,李颖,等. 二巯基丙磺酸钠驱砷治疗所致药疹 33 例临床分析 [J]. *中国职业医学*, 2013(6):531-532.
- [5] Chao D, Fu H, Xu J, et al. Physicochemical and biological properties of phosphorylated polysaccharides from *dictyophora indusiata* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015(72):894-899.
- [6] 郑杨,邹青青,张岱,等. 竹荪的化学成分及生理活性研究进展 [J]. *食品科学技术学报*, 2013(3):39-45.
- [7] 叶敏,文竹,潘文芳,等. 红托竹荪多糖抗衰老和降血糖作用研究 [J]. *食品工业科技*, 2016(7):343-345.
- [8] 叶敏,文竹,黄家振,等. 红托竹荪多糖抗疲劳和耐缺氧作用研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2016(3):416-419.
- [9] 王宪伟. 竹荪多糖的抑菌活性研究 [J]. *安徽农业科学*, 2013(4):1415.
- [10] 韩俊洋,吴顺华. 地方性砷中毒致肝损伤机制研究进展 [J]. *中国公共卫生*, 2014(3):374-376.
- [11] 徐惠龙,杨志坚,郑金贵. 3 种食用菌对高脂血症大鼠脂质代谢的影响 [J]. *福建农林大学学报:自然科学版*, 2014(4):430-433.
- [12] 姚茂琳,张爱华,于春,等. 高砷煤烘玉米粉致大鼠砷中毒模型的建立 [J]. *中华预防医学杂志*, 2013(9):799-805.
- [13] 易春霞,王生玲,地力夏提·亚克甫. 饮水型砷中毒致人体红细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的改变及膜损伤 [J]. *疾病预防控制通报*, 2009(3):8-11.
- [14] 李羨筠,陈晓琴,张振明,等. 天然植物蜈蚣草对大鼠排砷效果评价 [J]. *中国公共卫生*, 2014(11):1408-1410.
- [15] 黄谄森,张光毅. 生物化学与分子生物学 [M]. 2 版. 科学出版社,北京:2012:88-112.
- (2016-07-27 收稿,2016-11-12 修回)
中文编辑:吴昌学;英文编辑:刘 华
- [14] 李子忠,金道超. 赤水桫欏景观昆虫志 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2006:1-409.
- [15] 李子忠,金道超. 梵净山景观昆虫志 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2006:1-780.
- [16] 李子忠,金道超. 雷公山景观昆虫志 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2007:1-759.
- [17] 陈祥盛,李子忠,金道超. 麻阳河景观昆虫志 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2010:1-519.
- [18] 罗扬,刘浪. 贵州望漠苏铁自然保护区科学考察集 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2010:1-507.
- [19] 李子忠. 贵州野生动物名录 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2011:1-678.
- [20] 戴仁怀,李子忠,金道超. 宽阔水景观昆虫志 [M]. 贵阳:贵州科技出版社,2012:1-789.
- (2016-08-01 收稿,2016-10-27 修回)
中文编辑:吴昌学;英文编辑:刘 华

(上接第 1253 页)