

氟砷聯合作用對肝腎損傷的研究

劉開泰* 王國荃 肖碧玉 姜 平 張 晨
馬麗英 馮東明

KAI-TAI LIU*, GUO-QUAN WANG, BI-YU XIAO, PING JANG, CHEN ZHANG, LI-YING MA,
DONG-MING FENG

新疆醫學院預防醫學系環境衛生學教研室, 830054新疆省烏魯木齊市新醫路8號
Environment Sanitation Faculty, Department of Preventive Medicine, Xinjiang Medical College, Urumqi, Xinjiang.

*通訊作者Correspondence author.

目標：作者採用亞慢性動物實驗的方法，探討砷氟聯合作用對肝、腎的影響，相互作用的方式、規律和損傷機制。**方法：**以氯化鈉、三氧化二砷與生理食鹽水餵食大鼠，觀察LD₅₀及內生性酵素(超氧化物歧化酶、谷胱甘肽過氧化物酶)、巰基和其他無機元素之含量。**結果：**1.砷氟聯合作用對肝、腎組織SOD、GSH-Px酶活性和-SH含量均有影響，對肝組織中的Zn、Fe、Ca和Mg及腎組織Mg、Ca、Sr、Al，砷與氟之間存在拮抗作用。因為拮抗作用減弱了單純砷和單純氟對肝組織Ca和Mg代謝的影響。2.砷對腎臟Fe有明顯蓄積作用，氟不具有拮抗砷對Fe的蓄積作用；砷具拮抗氟對Cr影響的作用。3.砷氟聯合作用對腎臟Mn有明顯的蓄積作用，顯示砷與氟在對腎臟Mn的影響方面為協同作用。**結論：**砷氟聯合作用對肝、腎的損傷，一方面是砷和氟的直接作用，另一方面是砷氟通過影響肝、腎組織酶活性而引起自由基平衡紊亂及無機元素紊亂而造成損傷。儘管砷氟聯合作用在對肝臟、腎臟多項指標影響方面呈拮抗作用，而這種拮抗作用也是通過組織細胞的代謝活動來體現的，因此不可避免地要影響組織細胞正常代謝活動，而造成肝臟和腎臟的損傷。(中華衛誌 1999；18(附冊 1)：52-56)

關鍵詞：氟、砷、脂質過氧化、抗氧化酶類、無機元素、肝臟、腎臟。

Study on injury of the combination of arsenic and fluoride in liver and kidney.

Objectives: By using the method of sub-chronic animal experiments, the authors studied the pattern and mechanism of injury on liver and kidney of rat in the combination of arsenic and fluoride. **Methods:** Feeding the solution (NaF, As₂O₃ and Saline) for rat to observe LD₅₀ and analyze the contents of endogenous enzyme, glutathione peroxidase (GSH-Px) and the malondialdehyde (MDA), sulphhydryl group (-SH) and Zn, Fe, Ca and Mg. **Results:** 1. Arsenic combines with fluoride had effects on the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and the contents of sulphhydryl group (-SH) in liver and kidney. It also showed that there were antagonistic effects on Zn, Fe, Ca and Mg in liver and Mg, Ca, Sr, Al in kidney. Due to the antagonism, the effects of arsenic plus fluoride on antioxidation, Ca and Mg in rat liver were lower than the effects of them when used alone. (2) Arsenic caused to accumulate the contents of Fe but fluoride couldn't antagonize this effect. In the effect of Cr, arsenic could reduce the action of fluoride. (3) The action of the combination of arsenic and fluoride could store up the content of Mn. In this respect, there was synergism between arsenic and fluoride. **Conclusions:** The harms of arsenic and fluoride in liver and kidney have two aspects. One is the direct action. The other is indirect action—the disturbance of free radical balance and abnormal of metabolism of some inorganic elements. Although antagonism in many indices existed in liver and kidney, it had also been showed in processes of metabolism of cells. As a result, normal metabolism of cells could hardly avoid having been disturbed and the injury occurred in liver and kidney. (Chin J Public Health. (Taipei): 1999;18(suppl 1):52-56)

Key words: arsenic, fluoride, lipid peroxidation, antioxidases, inorganic element, liver, kidney.

前 言

氟砷兩種元素聯合中毒是世界上罕見的病症。新疆奎屯地區從60年代起，為解決飲水資源不足而大量開採地下水，由於缺乏對水源的系統檢驗分析，致使當地居民長期(15-20年)飲用氟、砷含量過高的水(氟砷含量均超過國家生活飲用水水質標準)而導致當地居民中出現了氟中毒和砷中毒及其聯合中毒患者。國內外學者對氟、砷對健康的影響已經做了大量的研究工作，研究結果表明氟和砷均可造成機體肝、腎等組織臟器的損傷[1-4]。

但對氟砷同時存在時的相互作用，特別是反應亞慢性低劑量接觸時，對肝、腎聯合作用影響的研究目前尚未見報導。我國除新疆外，內蒙、貴州等省區近年來也先後發現了大面積的氟砷聯合中毒病區。因此，對氟砷聯合中毒對肝、腎影響的研究，探討其相互作用方式、規律和損傷機制，為防治工作提供科學依據具有重要的現實意義。為此，我們採用亞慢性動物實驗的方法，從脂質過氧化、抗氧化和無機元素等方面，對氟砷聯合作用對肝、腎的影響進行了專題研究。

材料與方法

一、實驗動物與分組

實驗動物採用上海醫科大學實驗中心提供體重為140-160克Wistar大鼠56隻(質量合格證書號0000569)，隨機分為四組，每組雌雄各半，計有氟組(飲用含150 mg/L氟化鈉的水溶液)、砷組(飲用含75 mg/L三氧化二砷的水溶液)、氟砷組(飲用含150 mg/L氟化鈉和75 mg/L三氧化二砷的混合水溶液)和對照組(飲用蒸餾水)。染毒劑量根據受試動物LD₅₀確定。

本研究染毒劑量為1/10 LD₅₀，按大鼠每日飲水量平均20 mL計算，氟化鈉染毒劑量為20 mg/kg/d，配製150 mg/L水溶液；三氧化二砷染毒劑量為10 mg/kg/d，配製75 mg/L水溶液；氟砷聯合染毒溶液的配製為300 mg/L氟化鈉與150 mg/L三氧化二砷等體積混合，

混合液含氟化鈉150 mg/L，三氧化二砷75 mg/L。

二、觀察指標

- (一) 脂質過氧化(MDA)的測定：採用TBA顯色法[5]。
- (二) 超氧化物歧化酶(SOD)的測定：採用鄰苯三酚自氧化法[6]。
- (三) 谷胱甘肽過氧化物酶(GSH-Px)的測定：採用DTNB直接法[7]。
- (四) 巰基(-SH)的測定：採用鹽酸N-(1-萘基)-乙烯二胺比色法[8]。
- (五) 無機元素的測定：採用JY-70P型電感耦合等離子體光源光量計(ICP)測定Cu、Fe、Cr、Zn、Pb、Sr、Al、Mg和Ca等無機元素。

三、實驗方法

實驗周期為六個月，在此期間觀察受試大鼠一般飲食活動情況、體重變化和死亡情況及氟斑牙的發生情況等。於染毒六個月處死受試大鼠，取肝、腎稱取0.3克左右製備肝、腎組織勻漿，測定酶類。其餘肝、腎組織置80℃烤箱烘乾，測定無機元素。

結 果

(一) 受試大鼠一般情況

在整個實驗過程中，對照組大鼠活動正常，毛髮光亮。染毒組普遍活動少，皮毛不舒展，無光澤，染毒後期萎靡不振，並有脫毛現象，各組大鼠染毒前體重均無顯著差異，均衡性較好。染毒後，體重雖隨染毒時間的增加而增加，但不均衡。實驗結束時，體重為對照組>氟組>氟砷組>砷組。各組動物死亡率為氟組>氟砷組>砷組>對照組。染毒一個月後氟組開始出現氟斑牙，染毒兩個月後氟組和氟砷組均100%出現氟斑牙，其餘二組均未出現。

(二) 肝臟脂質過氧化和抗氧化酶類及無機元素含量見表一至表三。

(三) 腎臟脂質過氧化和抗氧化酶類及無機元

表一 各實驗組大鼠肝臟SOD、GSH-Px活性和MDA、-SH含量比較

組 別	MDA (nmol/mg pro)	SOD (U/mg pro)	GSH-Px (U/mg pro)	-SH (μg/mg pro)
對照組	7.40±3.68	122.81±26.32	386.40±74.48	79.13±13.64
染氟組	9.99±2.37	98.25±18.53 ^{ad}	246.57±39.46 ^{bd}	48.25±8.92 ^{bd}
染砷組	6.47±2.48	99.83±7.56 ^{ac}	241.12±39.64 ^{bd}	49.51±6.27 ^{bd}
染氟砷組	7.88±3.08	120.30±17.56	382.28±65.49	66.96±18.93

註：與對照組比較 a: P<0.05 ; b: P<0.01 , 與染氟砷組比較 c: P<0.05 ; d: P<0.01

表二 各實驗組大鼠肝臟Zn、Ca、Mg和Fe含量比較 (μg/g)

組 別	Zn	Ca	Mg	Fe
對照組	280.43±143.22	826.38±207.91	521.25±44.17	710.44±300.85
染氟組	225.89±81.43 ^f	519.13±140.06 ^{bc}	394.17±49.79 ^{bd}	791.91±255.32 ^f
染砷組	745.29±278.06 ^{bd}	629.63±140.02 ^a	420.31±40.76 ^b	1315.47±409.90 ^{bd}
染氟砷組	247.01±131.62	771.60±149.97	470.73±53.99 ^b	898.65±280.68

註：與對照組比較a: P<0.05 ; b: P<0.01 , 與染氟砷組比較 c: P<0.05 ; d: P<0.01 , 與染砷組比較 f: P<0.01

表三 各實驗組大鼠肝臟Mn、Cu、Sr、Pb和Cr含量比較 (μg/g)

組 別	Mn	Cu	Sr	Pb	Cr
對照組	2.06±0.86	11.17±5.51	0.80±0.29	5.99±2.81	7.49±3.98
染氟組	1.85±0.24	9.01±1.38	0.56±0.08	4.95±2.25	6.25±2.05
染砷組	3.27±1.83	11.40±4.10	0.75±0.31	7.05±2.98	10.11±5.59
染氟砷組	2.51±2.11	9.20±5.08	0.68±0.14	6.10±2.31	8.70±3.71

註：各實驗組間含量比較 P>0.05

素含量見表四至表六。

討 論

機體內酶活性和無機元素含量的相對恒定是維持機體正常生理功能的重要條件。肝、腎組織酶活性和無機元素含量的異常改變，將會影響其結構與功能。已有資料證實，過量氟和砷進入機體都會引起肝、腎的損傷。本次亞慢性氟砷聯合中毒實驗結果顯示：

(一) 對肝臟脂質過氧化、抗氧化能力和無機元素的影響

各染毒組大鼠肝臟MDA含量與對照組無明顯差異，但氟組和砷組肝組織SOD、GSH-Px活性和-SH含量明顯低於對照組和氟砷

組。而氟砷組SOD、GSH-Px活性接近對照組，-SH含量低於對照組，提示在對肝組織SOD、GSH-Px活性和-SH含量影響方面，氟與砷之間存在拮抗作用，這種拮抗作用在-SH這一指標表現較弱，為什麼氟砷聯合作用時肝組織SOD和GSH-Px活性與對照組差別無顯著性？

其原因有兩方面：一是氟和砷在吸收過程中產生了拮抗，彼此減弱了對方在腸道中的吸收。二是氟直接或間接對三價砷轉化為五價砷具有促進作用，五價砷又可增加氟的排泄。同時五價砷與酶的結合不穩定，能自行水解，使酶的活性恢復，從而使氟砷相互減弱毒作用。氟砷聯合作用使肝臟-SH含量減少，可能是引起肝臟損傷的主要原因之一。

表四 各實驗組大鼠腎臟SOD、GSH-Px活性和MDA、-SH含量比較

組 別	MDA(nmol/mg pro)	SOD(U/mg pro)	GSH-Px(U/mg pro)	-SH(μ g/mg pro)
對照組	3.16 \pm 1.45	92.46 \pm 26.47	454.41 \pm 92.16	68.82 \pm 17.96
染氟組	4.46 \pm 1.32	58.76 \pm 24.93 ^b	327.32 \pm 111.78 ^{ae}	43.84 \pm 8.33 ^b
染砷組	5.11 \pm 1.23 ^a	41.79 \pm 18.07 ^b	243.14 \pm 54.95 ^{bd}	39.80 \pm 9.05 ^{bc}
染氟砷組	4.24 \pm 0.74	50.54 \pm 26.27 ^b	399.37 \pm 72.76	51.56 \pm 12.02 ^b

註：與對照組比較 a: P<0.05 ; b: P<0.01 , 與染氟砷組比較 c: P<0.05 ; d: P<0.01 , 與染砷組比較 f: P<0.05

表五 各實驗組大鼠腎臟Fe、Mn、Cr、Zn和Pb含量比較 (μ g/g)

組 別	Fe	Mn	Cr	Zn	Pb
對照組	623.97 \pm 260.25	1.25 \pm 0.38	10.58 \pm 5.35	372.96 \pm 184.40	10.66 \pm 6.07
染氟組	584.68 \pm 280.83 ^{df}	0.98 \pm 0.24 ^d	4.98 \pm 2.57 ^{ade}	404.75 \pm 245.34	10.71 \pm 3.93
染砷組	917.52 \pm 258.67 ^b	1.33 \pm 0.61	10.97 \pm 6.43	398.28 \pm 163.71	14.99 \pm 8.56
染氟砷組	1056.25 \pm 130.23 ^b	2.42 \pm 1.19 ^{bc}	14.32 \pm 5.62	570.69 \pm 203.42	16.80 \pm 9.12

註：與對照組比較 a: P<0.05 ; b: P<0.01 , 與染氟砷組比較 c: P<0.05 ; d: P<0.01 , 與染砷組比較 e: p<0.05 ; f: P<0.01

表六 各實驗組大鼠腎臟Mg、Ca、Sr和Al含量比較 (μ g/g)

組 別	Mg	Ca	Sr	Al
對照組	456.06 \pm 80.60	942.32 \pm 184.38	1.13 \pm 0.18	142.63 \pm 47.95
染氟組	338.46 \pm 40.27 ^{bc}	650.38 \pm 121.71 ^{bd}	0.91 \pm 0.26 ^{bd}	72.71 \pm 20.87 ^{bd}
染砷組	323.05 \pm 48.08 ^{bc}	688.32 \pm 66.04 ^{bd}	0.87 \pm 0.17 ^{bd}	78.37 \pm 24.55 ^{bd}
染氟砷組	414.12 \pm 66.79	954.55 \pm 155.59	1.22 \pm 0.18	144.14 \pm 54.18

註：與對照組比較 b : P<0.01 , 與染氟砷組比較 c : P<0.05 ; d : P<0.01

砷組肝組織Zn、Fe 含量明顯高於對照組、氟組和氟砷組，但後三組間無明顯差異。從砷組與氟砷組肝組織Zn、Fe含量的差別可以看出，氟具有拮抗砷對肝臟Zn、Fe影響的作用。肝組織Ca和Mg含量各染毒組均低於對照組，說明氟和砷對肝臟的Ca和Mg的代謝均有影響，而氟砷聯合染毒組Ca和Mg含量升高並接近對照組水平，說明氟砷聯合作用減弱了單純氟和單純砷對肝組織Ca和Mg代謝的影響，顯示出氟和砷對肝臟Ca和Mg的影響屬拮抗作用。

(二) 對腎臟脂質過氧化、抗氧化能力和無機元素的影響

砷組腎組織MDA含量明顯高於對照組。氟組、砷組和氟砷組SOD活性均明顯低於對照組，氟組和砷組GSH-Px活性也明顯低於對

照組，而氟砷組與對照組無明顯差別，但與砷組有顯著差別。三個染毒組-SH含量均明顯低於對照組，同時砷組-SH含量顯著低於氟砷組。砷組和氟砷組Fe的含量明顯高於對照組和氟組。Ca、Mg、Sr和Al含量對照組顯著高於氟組和砷組，但與氟砷組無差別。Cr含量氟組明顯低於對照組、砷組和氟砷組。Mn含量氟砷組明顯高於對照組、氟組和砷組，而對照組與氟組和砷組無明顯差異。上述結果表明：

1. 砷可使腎組織脂質過氧化反應增強，這與Ramos等人報導一致[9]。並對Fe有明顯蓄積作用。同時氟不具有拮抗砷對Fe的蓄積作用。氟對腎臟Cr有明顯的影響，而砷和氟砷聯合作用對Cr則無明顯影響，說明砷具有拮抗氟對

Cr影響的作用。

2. 氟砷聯合作用對腎臟SOD、GSH-Px活性和-SH含量的影響小於單純氟和單純砷的影響。單純氟和單純砷對腎臟Mg、Ca、Sr、Al含量均有影響，而氟砷聯合作用時則無明顯影響，說明氟與砷對腎臟這些指標的影響屬拮抗作用。
3. 氟砷聯合作用對腎臟Mn有明顯的蓄積作用，顯示氟與砷在對腎臟Mn的影響方面具有協同作用。

綜上所述，氟砷對肝、腎的損傷，一方面是氟和砷的直接作用，另一方面是氟砷通過影響肝、腎組織酶活性而引起自由基平衡紊亂及無機元素紊亂而造成損傷。儘管氟砷聯合作用在對肝臟、腎臟多項指標影響方面呈拮抗作用，而這種拮抗作用也是通過組織細胞的代謝活動來體現的。因此，不可避免地要影響組織細胞正常代謝活動而造成肝臟和腎臟的損傷。

參考文獻

1. 戴強、謝瑤雲、劉文杰：小鼠實驗性砷中毒腎小球電鏡觀察。新疆大學學報(自然科學版) 1991；增刊：41。
2. Kessabi M, Hamliri A, Braun JP. Experimental acute sodium fluoride poisoning in sheep renal, hepatic and metabolic effect. *Fluoride* 1987;**20**:41.
3. Ademuyiwa O, Elsenhars B, Nguyen PT et al. Arsenic-copper interaction in the kidney of rat. *Pharmacol Toxicity* 1996;**78**:154-60.
4. Cittanova ML, Lelongt B, Verpont MC et al. Fluoride ion toxicity in human kidney collecting duct cells. *Anesthesiology*. 1996; **84**:428-35.
5. 陳順志、金有餘、李常淳等：過氧化脂質TBA顯色的三種方法學比較。臨床檢驗雜誌1984；**2**：16。
6. 袁樹勤、王志有、翁清清等：鄰苯三酚自氧化法測定超氧化物歧化酶活性。醫藥工業1983；16。
7. 夏奕明、朱蓮珍：血和組織中谷胱甘肽過氧化物酶活力的測定方法。衛生研究1987；**16**：29。
8. 周恒鋒：職業中毒檢驗。第1版。北京：人民衛生出版社，1976；505-507。
9. Ramos O, Carrizales L, Mejia J et al. Arsenic increased lipid peroxidation in rat tissues by a mechanism independent of glutathione levels. *Environmental Health Perspective* 1995;(suppl 1):85-8.

