

氨基脲诱导的SD大鼠氧化应激与 肝脏代谢损伤研究

黄卉颖^{1,2}, 贺永健^{1,2}, 刘 焕^{1,2}, 郑冬冬^{1,2}, 肖雪蔓^{1,2}, 柳春红^{1,2*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广州 510642; 2. 广东省食品质量安全重点实验室, 广州 510642)

摘要: **目的** 研究氨基脲(semicarbazide, SEM)诱导的SD雄性大鼠氧化应激与肝脏代谢损伤。**方法** 随机将44只SD雄性大鼠均分4组: 对照组(C组)与SEM低、中、高剂量组(L组、M组、H组), SEM剂量分别为0.0、7.5、15.0、30.0 mg/(kg·bw), 连续灌胃28 d。利用酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定大鼠血清SEM含量、血清与肝脏活性氧(reactive oxygen species, ROS)与8-异前列腺素F_{2α} (8-isoprostaglandin F_{2α}, 8-iso-PGF_{2α})含量、肝脏代谢酶细胞色素P450 (cytochrome P450, CYP450)、鸟苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(uridine diphospho-glucuronosyl transferases, UGT)、谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)与谷胱甘肽硫转移酶pi (glutathione S-transferase pi, GSTpi)指标以及大鼠尿液SEM含量。**结果** 对比C组, 各组血清SEM含量极显著升高($P<0.01$), M组、H组血清ROS与H组肝匀浆8-iso-PGF_{2α}含量极显著上升($P<0.01$)。L组($P<0.05$)、M组、H组($P<0.01$)肝脏CYP450活力均显著下降。M、H组UGT活力与GSTpi含量显著降低($P<0.05$), GST活力无显著性。SEM尿液排泄量随时间波动, 第10 d达到排泄峰值。**结论** SEM短期重复染毒使其在大鼠体内蓄积, 影响机体氧化应激与肝脏代谢酶活性, 氧化应激可能对不同代谢酶产生不同抑制作用。

关键词: 氨基脲; 氧化应激; 肝脏代谢酶; 毒性效应

Study on semicarbazide-induced oxidative stress and hepatic metabolic damage in SD rats

HUANG Hui-Ying^{1,2}, HE Yong-Jian^{1,2}, LIU Huan^{1,2}, ZHENG Dong-Dong^{1,2},
XIAO Xue-Man^{1,2}, LIU Chun-Hong^{1,2*}

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the oxidative stress and liver metabolic damage in SD rats under semicarbazide (SEM) induction. **Methods** 44 SD male rats were randomly divided into 4 groups: Control (C) group and SEM low (L), medium (M) and high (H) dose groups with SEM doses of 0.0, 7.5, 15.0 and 30.0 mg/(kg·bw),

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2019B020210002)、广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目(2019KJ130)、广东省食品质量安全重点实验室(2020B1212060059)

Fund: Supported by the Key-Area Research and Development Program of Guangdong Province (2019B020210002), the Generic Technique Innovation Team Construction of Modern Agriculture of Guangdong Province (2019KJ130), and the Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety (2020B1212060059)

*通信作者: 柳春红, 博士, 教授, 主要研究方向为营养与食品安全。E-mail: liuch@scau.edu.cn

*Corresponding author: LIU Chun-Hong, Ph.D, Professor, College of Food Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China. E-mail: liuch@scau.edu.cn

respectively, then intragastrically administrated for 28 d. Enzyme-linked immuno sorbent assay method was used to measure the content of serum SEM, the content of reactive oxygen species (ROS) and 8-isoprostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α) in rat serum and liver respectively, liver metabolic enzymes index such as cytochrome P450 (CYP450), uridine diphospho-glucuronosyl transferases (UGT), glutathione S-transferase (GST) and glutathione S-transferase pi (GSTpi), and the content of urinary SEM. **Results** Compared with group C, serum SEM content was highly significantly increased in all groups ($P<0.01$), and there was an increasing statistical significant trend in serum ROS levels in groups M and H as well as liver homogenate 8-iso-PGF2 α levels in group H ($P<0.01$). Liver CYP450 activity decreased significantly in groups L ($P<0.05$) and groups M and H ($P<0.01$). In addition, the activity of UGT and GSTpi content dropped significantly in M and H groups ($P<0.05$), and the activity of GST showed no significant change. SEM urinary excretion fluctuated with time, and reached the peak on the 10th day. **Conclusion** Short-term repeated exposure to SEM causes its accumulation in rats and affected oxidative stress and hepatic metabolic enzyme activity in the body. In addition, oxidative stress might have different inhibitory effects on different metabolic enzymes.

KEY WORDS: semicarbazide; oxidative stress; hepatic metabolizing enzymes; toxic effects

0 引言

氨基脲(semicarbazid, SEM)属于一种食品污染物,它能够与动物组织蛋白质结合并残留于动物体内,可损伤心脏、肝和肾等脏器^[1],同时还表现出雄性生殖毒性^[2]和弱致癌性^[3]。由于 SEM 还是硝基咪唑类药物的特征代谢物,其常用于判断食用动物的养殖过程中硝基咪唑类药物的使用与否,该类药物曾广泛应用于水产养殖业,以预防与治疗细菌性烂鳃、赤皮病等各类水产动物疾病^[4]。已有研究表明水生环境中的 SEM 可能对水生生物存在不利影响,扰乱鱼类内分泌系统^[5],对生命体存在一定威胁,而该类 SEM 又可通过食物链传递给人类^[6],对人类的长远健康不利。目前,硝基咪唑类在我国被列为禁用药物。另外,外界迁移和食品的生产加工过程亦可产生 SEM。用于食品包装的塑料垫圈常使用偶氮二甲酰胺作为发泡剂,其在高温处理下会分解生成 SEM,从而污染食品^[7];面粉增筋剂中使用的偶氮甲酰胺最终亦可产生 SEM,从而残留于食品之中^[8]。综上,复杂多样的污染途径加大了 SEM 的暴露风险,因此有必要针对 SEM 的各项毒性效应进行研究,以期达到保障人体健康的目的。其中,关于 SEM 的氧化应激与肝脏代谢相关数据较少,探索 SEM 在动物体内生理效应,仍需更多且更深入的研究。

代谢作为生物体正常生长繁殖的基础,能够反映出当前条件下机体运转状态,揭示物质或刺激等对生物体的影响规律。肝脏代谢酶分为两相参与生物代谢反应^[9],I相反应代谢酶主要为细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450),其参与脂溶性药物反应,生成一系列极性基团,引起机体解毒或增毒,是机体消除药物、调节毒物毒性效应的限速步骤;II相反应代谢酶主要将I相代谢反应生成的极性基团与体内高极性化合物结合,提升代谢产物水溶性,方便肾脏、胆、汗腺、泪腺等组织器官进行排泄^[10]。在毒理学研究中,氧化应激水平是观测机体损伤程度的常用指标,而肝脏的药物

代谢、解毒、生物活化功能则使得肝毒性及其相关酶活性成为检测重心^[11-12]。本研究所选II相反应代谢酶有鸟苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(uridine diphospho-glucuronosyl transferases, UGT)、谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)与谷胱甘肽硫转移酶 pi (glutathione S-transferase pi, GSTpi)均与氧化应激调控密切相关。

本研究选用 SPF 级 Sprague-Dawley (SD)雄性大鼠,经过 28 d SEM 经口重复染毒,从大鼠氧化应激、肝脏代谢酶及 SEM 泌尿排泄的角度出发,阐述 SEM 对 SD 大鼠的毒性,丰富 SEM 基础毒性资料,为进一步完善 SEM 的安全风险评估结果提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

SEM(纯度 $\geq 99\%$,美国 Sigma 公司);磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)溶液(北京索莱宝科技有限公司);活性氧(reactive oxygen species, ROS)测定试剂盒、8-异前列腺素 F2 α (8-isoprostaglandin F2 α , 8-iso-PGF2 α)测定试剂盒、CYP450 总活力测定试剂盒、UGT 测定试剂盒、GST 测定试剂盒、GSTpi 测定试剂盒、SEM 测定试剂盒、总蛋白测定试剂盒(上海江莱生物科技有限公司)。

5810R 台式冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);JX-FSTPRP-1 全自动样品冷冻研磨仪(上海净信实业技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 试验动物与分组

SPF 级 SD 雄性大鼠 44 只,4~5 周龄,体重 100~120 g,一批次购于广东省医学动物试验中心,试验动物合格证号:SCXK(粤)2013-0002。适应性饲养一周后,按体重采用随机

区组设计分组法分为 4 组: 对照组(C 组)、SEM 低剂量组[L 组, SEM: 7.5 mg/(kg·bw)]、中剂量组[M 组, SEM: 15 mg/(kg·bw)]、高剂量组[H 组, SEM: 30 mg/(kg·bw)], 剂量参照 GB 15193.22—2014《食品安全国家标准 28 天经口毒性试验》以半数致死量(median lethal dose, LD₅₀)的 10%~25% 作为 28 d 经口毒性试验的最高剂量组。每组 11 只, 单笼饲养。试验期间每天上午 9:00 灌胃, 灌胃体积为 1 mL, 连续染毒 28 d, 对照组用等体积蒸馏水灌胃。饲养期间, 大鼠自由摄食、饮水, 动物室温度 22~24 °C, 相对湿度 45%~55%。

1.2.2 食物利用率测定

SEM 灌胃染毒期间, 每隔 4 d (4 d 为一个灌胃期)测量一次大鼠体重及饲料食用情况, 记录数据, 并根据体重的增长调整给药量。大鼠食物利用率依照公式(1)计算。

$$\text{食物利用率}(\%) = \frac{\text{体重增加克数}}{\text{饲料消耗量}} \times 100 \quad (1)$$

1.2.3 尿液收集

SEM 灌胃染毒期间, 前 3 d 利用大鼠代谢笼每天收集各组 24 h 尿液, 之后每隔 7 d 收集 1 次, 收集后测定尿液体积并将样本置于 -80 °C 冰箱待测。尿液中 SEM 测定采用酶联免疫法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA), 步骤参照试剂盒说明书。

1.2.4 组织样品制备与测定

SEM 灌胃染毒结束后, 麻醉大鼠后摘除眼球取血, 将采血管静置于 4 °C 冰箱 30 min, 再于 4 °C、3000 r/min 离心 15 min, 最后取上清液于 1.5 mL 离心管中, 封口置于 -80 °C 冰箱保存待测。大鼠处死后分离肝脏、肾脏以及睾丸, 用已预冷的 pH 7.4 的 PBS 溶液冲洗并吸干待测。

于肝脏的固定位置准确称取 1 g 肝脏组织后用 PBS 清洗, 吸干水分放入 10 mL 离心管中, 按照 1:9 (m:V) 将 1 g 肝脏和 9 mL PBS 溶液混合, 低温研磨得到 10% 匀浆后, 在 4 °C、2000 r/min 离心 10 min, 取上清液分装于 2 mL 离心管中, 封口置于 -80 °C 冰箱保存, 用于肝组织 ROS、8-iso-PGF2 α 测定。

最后准确称取适量肝脏剪碎后用预冷的 Tris-HCl 缓冲液反复冲洗, 按照 1:4 (g:mL) 加入相应预冷的 Tris-HCl 缓冲液, 匀浆后制成 20% 肝匀浆, 在 4 °C 温度下 10000 g 离心 20 min, 取上清液于超速离心机中在 4 °C 温度下 100000 g 离心 60 min, 离心结束后所得上清液即为肝胞液, 淡红色沉淀即为肝微粒体。将肝微粒体以 Tris-HCl 缓冲液稀释, 分装后封口置于 -80 °C 冰箱保存。肝胞液用于检测 GST 活力, 肝微粒体用于检测 CYP450 总活力、GSTpi 含量以及 UGT 活力。血清与肝组织中的 ROS、8-iso-PGF2 α 、SEM、CYP450 总活力、GSTpi 含量、UGT 活力、GST 活力测定均采用 ELISA 试剂盒, 蛋白浓度采用考马斯亮蓝法, 步骤参照试剂盒说明书。

1.2.5 脏器系数测定

将分离、清洗、吸干完成的肝脏、肾脏和睾丸置于天平中分别称重, 利用公式(2)计算其脏器系数。

$$\text{脏器系数}(\%) = \frac{\text{脏器湿重}(\text{g})}{\text{体重}(\text{g})} \times 100 \quad (2)$$

1.2.6 统计学分析

运用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析, 试验数据用平

均值±标准偏差表示, 多组间差异性比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。进一步进行组间两两比较, 当方差齐时, 采用 LSD 检验; 当方差不齐, 采用 Tamhane's 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示显著极显著^[13]。

2 结果与分析

2.1 大鼠食物利用率

SEM 染毒期间各组大鼠的食物利用率见表 1。纵向对比可知, 各组大鼠食物利用率随时间增长均显下降趋势, 但无显著性($P > 0.05$); 横向对比可知, L、M 剂量组大鼠总食物利用率与 C 组相比无显著性差异($P > 0.05$), H 组大鼠总利用率显著低于 C 组($P < 0.05$)。该现象表明高剂量 SEM 染毒显著降低了 SD 大鼠的食物利用率。

表 1 SEM 染毒对大鼠食物利用率的影响(% , n=11)
Table 1 Effects of SEM staining on food utilization in rats (% , n=11)

组别	C 组	L 组	M 组	H 组
灌胃期 1	36.07±1.97	34.99±3.59	34.04±5.29	31.11±5.06*
灌胃期 2	31.78±2.23	30.47±3.18	31.69±6.66	29.86±3.61
灌胃期 3	33.14±3.46	33.04±3.48	28.48±9.03	31.09±5.30
灌胃期 4	24.48±3.35	23.54±2.52	25.58±5.19	23.15±2.96
灌胃期 5	21.52±3.22	21.66±1.82	21.62±3.18	21.02±3.22
灌胃期 6	20.31±3.28	19.95±4.39	18.08±6.73	18.78±5.63
灌胃期 7	23.68±3.30	22.61±1.77	22.12±4.52	21.49±5.30
总利用率	27.07±1.56	26.39±1.96	25.94±4.31	23.50±3.52*

注: * $P < 0.05$ 表示与同期对照组相比, 有显著性差异, 下同。

2.2 大鼠脏器系数

SEM 染毒结束后各组大鼠的脏器系数(肝脏、肾脏、睾丸)见表 2。一般的, 脏器系数下降时表示器官萎缩, 存在退行性变化, 上升时表示充血、水肿、增生肥大性变化等^[14]。数据显示, 各组大鼠的肝脏系数均无显著性差异($P > 0.05$); M、H 组大鼠的肾脏系数极显著高于 C 组大鼠($P < 0.01$); H 组大鼠的睾丸系数显著高于 C 组大鼠($P < 0.05$)。该结果揭示肾脏和睾丸都是 SEM 在动物体内产生毒作用的靶器官, 且肾脏对 SEM 毒性的敏感性更强。

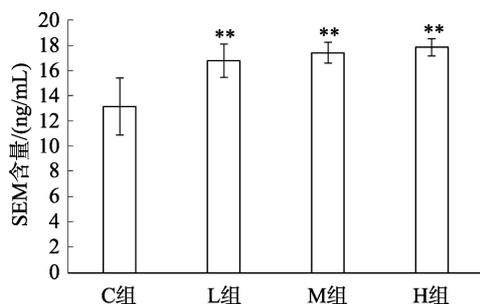
表 2 SEM 染毒对大鼠脏器系数的影响(n=11)
Table 2 Effects of SEM staining on rat organ coefficients (n=11)

组别	肝脏系数/%	肾脏系数/%	睾丸系数/%
C	3.04±0.23	0.62±0.03	0.79±0.05
L	3.02±0.24	0.64±0.04	0.83±0.07
M	3.08±0.43	0.69±0.07**	0.83±0.14
H	3.05±0.28	0.70±0.09**	0.91±0.10*

注: ** $P < 0.01$ 表示与对照组相比, 有极显著性差异, 下同。

2.3 大鼠血清中 SEM 含量

各组大鼠在染毒结束后其血清中 SEM 浓度如图 1。该图显示, 各剂量染毒组大鼠血清中 SEM 浓度均极显著高于 C 组($P < 0.01$), 且随着染毒剂量的增加, 血清 SEM 含量有逐渐升高趋势, 但各试验组间无显著性差异, 说明在本研究设置的剂量范围内, 血清 SEM 含量不存在剂量依赖性。



注: ** $P < 0.01$ 表示与对照组相比, 有极显著性差异, 下同。

图 1 染毒结束后大鼠血清中 SEM 含量($n=11$)

Fig.1 SEM content in rat serum at the end of contamination ($n=11$)

2.4 SEM 对大鼠血清和肝匀浆 ROS 的影响

SEM 对大鼠血清和肝匀浆中 ROS 含量的影响如图 2。相对于 C 组, M 组和 H 组大鼠血清 ROS 含量均极显著升高($P < 0.01$), 肝匀浆 ROS 结果未出现显著性。ROS 是一类氧化活性高、化学性质活泼的粒子, 过量 ROS 会对机体内生物大分子造成损伤^[15], 因此 ROS 指标可以辅助判断机体生理生化功能是否正常。

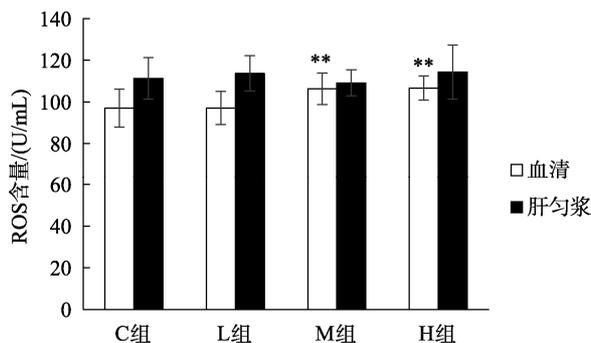


图 2 SEM 对大鼠血清和肝匀浆中 ROS 含量的影响($n=11$)

Fig.2 Effects of SEM on ROS content in serum and liver homogenates of rats ($n=11$)

2.5 SEM 对大鼠血清和肝匀浆 8-iso-PGF2 α 的影响

SEM 对大鼠血清和肝匀浆中 8-iso-PGF2 α 含量的影响如图 3。8-iso-PGF2 α 作为细胞膜磷脂花生四烯酸裂解后产生并释放的前列腺素类似物, 其在体液中广泛存在、含量稳定、不受饮食等外界因素的影响波动, 且会在机体氧化应激水平升高时大量产生, 因此可作为评价机体氧化应激的生物标志物使用^[16-17]。该图显示, 相对于 C 组, 仅有 H 组大鼠肝匀浆中的 8-iso-PGF2 α 含量极显著升高($P < 0.01$),

其余组别随染毒剂量增加存在微弱上升趋势, 但无显著性差异($P > 0.05$), 由此可见, 8-iso-PGF2 α 一定程度上可体现大鼠肝脏氧化应激水平。

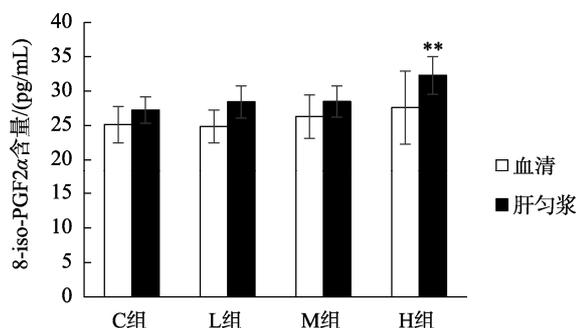
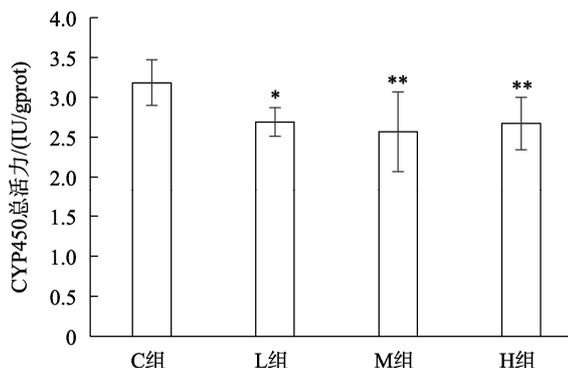


图 3 SEM 对大鼠血清和肝匀浆中 8-iso-PGF2 α 含量的影响($n=11$)

Fig.3 Effects of SEM on 8-iso-PGF2 α content in serum and liver homogenates of rats ($n=11$)

2.6 SEM 对大鼠肝脏 CYP450 总活力的影响

各组大鼠在染毒结束后肝脏中 CYP450 总活力如图 4。由图可知, 与 C 组相比, SEM 染毒使 L 组($P < 0.05$)、M 组和 H 组($P < 0.01$)大鼠肝脏中 CYP450 总活力极显著下降。CYP450 属于一组血红蛋白酶, 可催化内源物质的合成和降解以及外源物质的代谢^[18], 因此 SEM 对 CYP450 的抑制可说明机体代谢解毒能力显著降低。



注: * $P < 0.05$ 表示与对照组相比, 有显著性差异, 下同。

图 4 SEM 对大鼠肝脏中 CYP450 总活力的影响($n=11$)

Fig.4 Effects of SEM on the total activity of CYP450 in rat liver ($n=11$)

2.7 SEM 对大鼠肝脏 UGT 总活力的影响

各组大鼠在染毒结束后肝脏中 UGT 活性如图 5。由图可知, 与 C 组相比, M、H 组肝脏 UGT 活性显著下降($P < 0.05$)。UGT 可催化葡萄糖醛酸化反应。同样, SEM 可显著降低肝脏代谢解毒能力。

2.8 SEM 对大鼠肝脏 GST 活力与 GSTpi 含量的影响

各组大鼠在染毒结束后肝脏中 GST 活力及 GSTpi 含量

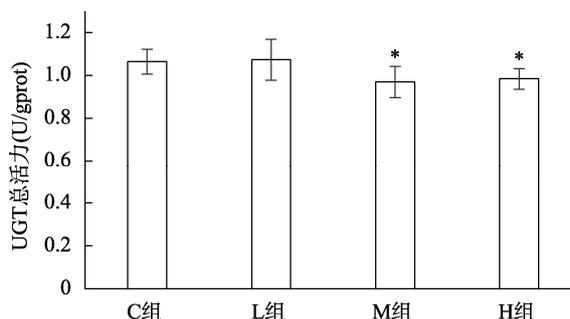
的影响如图 6 所示。由图 6 可知, SEM 染毒对大鼠肝脏 GST 活力无显著影响, 但 M 组、H 组大鼠肝脏中 GSTpi 含量与对照组相比显著减少($P<0.05$)。GST 可通过催化部分侵入体内毒物的亲电子基团与还原型谷胱甘肽的巯基偶联, 从而使毒物水溶性增强后易于排出, 达到解毒的效果^[19], 而哺乳动物 GSTpi 是最普遍存在且表达最丰富的 GST, 在 II 相反应中起重要作用^[20]。该结果表明 SEM 染毒对大鼠肝脏 GST 活力与 GSTpi 含量的影响有一定差异性。

2.9 大鼠尿液中 SEM 含量的动态情况

各组大鼠在染毒 28 d 内尿液中单位肌酐 SEM 含量和 SEM 总量见图 7。肌酐作为一种消除尿液浓缩或稀释情况对毒物浓度产生影响的物质, 时常被用于作为尿液排泄物浓度的校正参数。从整体上看, 除第 3 d 的 L 组、M 组、第 28 d 的 M 组单位肌酐 SEM 含量、M 组前 3 d 以及各试验组第 28 d 的 SEM 总量以外, 各染毒剂量组大鼠尿液中单位肌酐 SEM 含量和 SEM 总量均显著或极显著高于 C 组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。从折线走势可以看出, 大鼠尿液 SEM 排泄量大致在第 1 d 产生小高峰, 第 2、3 d 出现小低谷; 除 H 组外, 各试验组单位肌酐 SEM 含量在第 10 d 达到最高, H 组最高峰出现在第 1 d。

各组大鼠在染毒前 3 d 尿液中 SEM 排出总量和排泄率

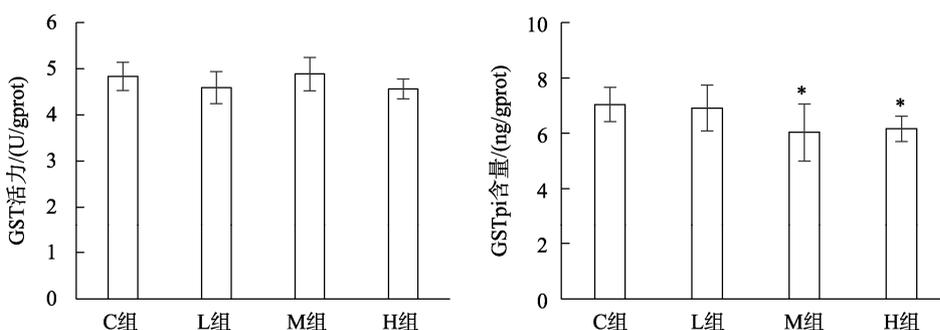
见表 3。染毒组大鼠在前 3 d 通过尿液排出的 SEM 总量均显著高于对照组大鼠($P<0.05$), 其中 L 组与 H 组大鼠排出总量显著高于 M 组大鼠($P<0.05$)。SEM 在各染毒组大鼠中前 3 d 通过尿液排出的 SEM 总量较少, L 组大鼠排泄率显著高于 M 组、H 组($P<0.05$)。尿液作为代谢组学常用的生物样本, 能够直观地表现机体所受代谢损伤强度与排毒能力大小, 该结果有助于判断 SEM 在机体内的残留情况, 并以此分析大鼠体内 SEM 的蓄积强度与大鼠解毒能力。结果表明, 大鼠暴露于 SEM 时, 机体自发代谢 SEM 能力较弱, 蓄积强度较高。



注: *表示与对照组相比, $P<0.05$ 。

图 5 SEM 对大鼠肝脏中 UGT 总活力的影响($n=11$)

Fig.5 Effects of SEM on the total activity of UGT in rat liver ($n=11$)



注: *表示与对照组相比, $P<0.05$ 。

图 6 SEM 对大鼠肝脏中 GST 活力和 GSTpi 含量的影响($n=11$)

Fig.6 Effects of SEM on GST activity and GSTpi content in rat liver ($n=11$)

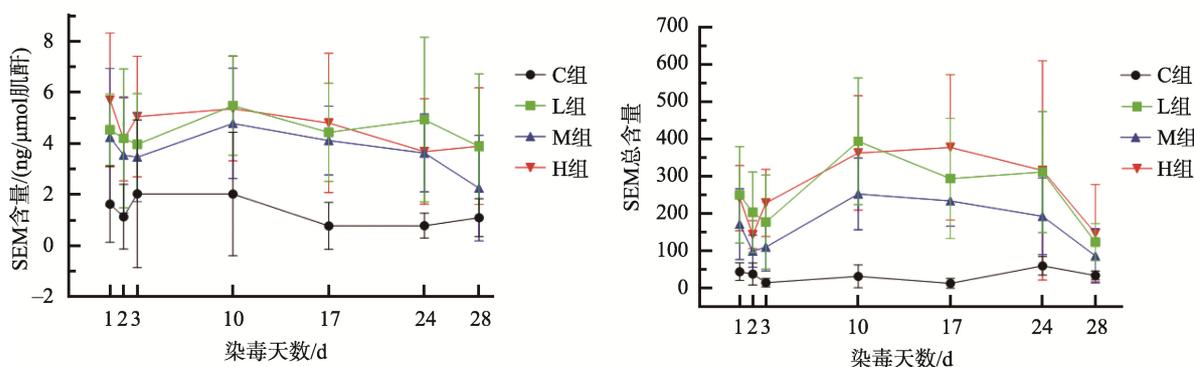


图 7 各组大鼠在染毒 28 d 内排出尿液中单位肌酐 SEM 含量和 SEM 总含量变化($n=11$)

Fig.7 Variation of SEM content per unit creatinine and total SEM content in the excreted urine of rats from each group during the 28 d of poisoning ($n=11$)

表 3 各组大鼠染毒前 3 天尿液中 SEM 排出情况($n=11$)
Table 3 Excretion of SEM in the urine of rats in each group 3 days before poisoning ($n=11$)

组别	前 3 d 排出总量/ng	前 3 d 总排泄率/%
C	92.87±39.45 ^c	/
L	632.91±349.07 ^a	0.0124±0.0068 ^A
M	368.96±154.56 ^b	0.0022±0.0018 ^B
H	679.38±143.84 ^a	0.0044±0.0006 ^B

注: 不同小写字母表示组间存在显著性差异, $P<0.05$, 不同大写字母表示组间存在极显著性差异, $P<0.01$ 。

3 结论与讨论

毒物对生物体的一般毒性影响与毒物的蓄积性相联系。脏器系数可用于反映体内毒性物质对特定脏器的大致毒性作用、评价动物内脏器官的损伤程度, 常用于探寻毒物作用的靶器官^[21]。本研究中, 结合各试验组大鼠血清 SEM 浓度检测结果与尿液 SEM 排出情况, 发现 SEM 在血清内明显残留, 尿液排出率低, 证明 SEM 在 SD 大鼠体内存在蓄积性, 且由于染毒组的肾脏脏器系数与 C 组存在显著性差异, 肾脏又是机体的排泄器官, 说明该器官可能在 SEM 毒性影响下产生功能学变化, 造成 SEM 排泄受阻, 提升了 SEM 蓄积量, 加深 SEM 对机体的损害。李嘉^[1]的研究亦表明 SEM 在昆明小鼠体内滞留, 蓄积量的增加抑制了体重增长的速度。除此之外, 染毒组睾丸的脏器系数变化证明 SEM 存在生殖毒性, 而 MARANGHI 等^[22]的试验发现 SEM 能影响大鼠的睾丸管直径, 进而影响雄性生殖能力。

另一方面, SEM 暴露下生物体氧化应激水平大小与肝脏代谢酶活性有密切关系。SEM 染毒条件下, 机体氧化应激水平发生改变, 但不同的代谢酶活性受影响的程度不一样。本研究中各组 CYP450 总活力受到抑制, 而氧化应激是 CYP450 下调的重要因素^[23], 当氧化应激水平上升, CYP450 的表达和活性将降低^[24]; II 相反反应代谢酶 UGT 的活性在不同氧化应激条件下存在不一致的结果, 可能与机体自我防护能力与细胞解毒能力相关^[25]; GST 也参与氧化应激反应调控, 其可抵抗 ROS 所导致的细胞损伤, 若相关基因缺失将导致细胞抗氧化能力大幅度减小^[26]; GSTpi 作为 GST 的一种亚型^[27]。因此, 本研究中各 SEM 染毒组 ROS 含量在 M 组、H 组血清中出现显著升高, 可能是导致 CYP450、UGT 和 GSTpi 下降的原因。同时, SEM 的分子结构存在氨基这一亲水极性基团, 与 II 相反反应可能存在更多关联性。结合各组尿液 SEM 单位肌酐排泄量于 10 d 处达到小峰值后下降的结果, SEM 对肝脏代谢酶的强烈抑制作用可能发生在灌胃 10 d 左右或之后, 此时机体正常的代谢通路被抑制, 导致排泄受阻。高 ROS 水平与高 8-iso-PGF2 α 水平都能表示机体处于强氧化应激状态, 标志机体受到氧化损伤。从图 1、图 2 观

察各组 ROS 水平与 8-iso-PGF2 α 水平的异同, 发现 2 项指标显著性强度在不同样本中存在区别: 在 SEM 暴露条件下, 血清的 ROS 指标变化更明显, 而肝匀浆中 8-iso-PGF2 α 指标显著性更强。该结果表明不同的组织器官中同一内源代谢物质含量可能存在固有差异。孙博等^[28]便发现对照组血清中 8-iso-PGF2 α 含量约为腹腔液的 2.3 倍, 试验组血清中 8-iso-PGF2 α 含量约为腹腔液的 5 倍。这可能是由于血液主要负责输送氧气, 血清监测 ROS 更为便捷可靠, 而 8-iso-PGF2 α 是脂质过氧化的生物标志物^[29], 前体物质花生四烯酸又可作为酒精性肝损伤、丙型肝炎病毒、非酒精性脂肪性肝炎和大多数药源性肝损伤的标志物^[30], 使得利用肝匀浆监测 8-iso-PGF2 α 数值效果更好。此现象提示, 检测机体氧化损伤程度可根据不同组织器官对不同指标的敏感程度设计具有针对性的监测指标。因此可得, SEM 在大鼠体内可产生蓄积性, 可能引起食物利用率与脏器系数显著变化, 影响摄食与排泄等正常生理功能; SEM 的短期重复染毒影响机体氧化应激与肝脏代谢酶活性, 氧化应激标志物 ROS 与 8-iso-PGF2 α 水平在不同组织、器官中表达水平存在差异, 机体氧化应激可能对不同代谢酶产生不同程度的抑制作用。

参考文献

- 李嘉. 食品添加剂副产物氨基胍的毒理学研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
LI J. Toxicology study on semicarbazide of food additive by-production [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2008.
- 朱乐玫, 袁萍, 张贝贝, 等. 原花青素对氨基胍致雄性小鼠生殖毒性的拮抗作用[J]. 实用预防医学, 2012, 19(2): 165-168.
ZHU LM, YUAN P, ZHANG BB, et al. Antagonism of procyanidins on semicarbazide-induced reproductive toxicity in male mice [J]. Pract Clin Med, 2012, 19(2): 165-168.
- European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to semicarbazide in food [J]. EFSA J, 2005, 3(6): 1-36.
- 陈昌福, 王玉堂. 替代硝基呋喃类和孔雀石绿禁用药物的药物筛查报告(连载一)[J]. 中国水产, 2012, (6): 58-61.
CHEN CF, WANG YT. Drug screening report for alternative nitrofurans and peacock green banned drugs (serial one) [J]. China Fish, 2012, (6): 58-61.
- GAO S, WANG W, TIAN H, et al. An emerging water contaminant, semicarbazide, exerts an anti-estrogenic effect in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2014, 93: 280-288.
- 曹爱玲, 余绍锋, 陈怡琳, 等. 动物源食品中呋喃西林及其代谢物氨基胍研究进展[J]. 中国动物检疫, 2019, 36(6): 62-67.
CAO AL, YU ZF, CHEN YL, et al. Research progress on nitrofurazone and its metabolite of semicarbazide in animal-derived food [J]. China Anim Health Inspect, 2019, 36(6): 62-67.
- 马卉, 魏云计, 顾蓓蓓, 等. 浅谈动物源性产品中氨基胍的来源及控制[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(17): 183-185.
MA H, WEI YJ, GU BB, et al. Analysis of origin and control of semicarbazide in animal products [J]. Food Res Dev, 2015, 36(17): 183-185.
- 胡荷, 刘小玲, 于晖, 等. 江西省面制品中氨基胍污染监测分析[J]. 中

- 国卫生检验杂志, 2018, 28(3): 340–342.
- HU H, LIU XL, YU H, *et al.* Monitoring and analysis of semicarbazide contamination in flour products in Jiangxi [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2018, 28(3): 340–342.
- [9] 严卫星, 丁晓雯. 食品毒理学[M]. 北京, 中国农业大学出版社, 2009.
- YAN WX, DING XW. Food toxicology [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2009.
- [10] 宁晨青, 孟强, 刘克辛. 肝脏转运体和代谢酶在化学性肝损伤中的作用[J]. 药物评价研究, 2017, 40(9): 1203–1209.
- NING CQ, MENG Q, LIU KX. Role of hepatic transporters and metabolic enzymes in chemical substances induced liver injury [J]. *Drug Eval Res*, 2017, 40(9): 1203–1209.
- [11] 羊菲, 金若敏. 基于中药特点的肝毒性研究与思考[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(1): 1–10.
- YANG F, JIN RM. Research and considerations on hepatotoxicity based on characteristics of Chinese material medica [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai*, 2020, 34(1): 1–10.
- [12] 吴梓田, 李会军. 反应性活性中间体的发现对中药中呋喃类成分致肝毒性研究的启示[J]. 药物生物技术, 2020, 27(2): 160–164.
- WU ZT, LI HJ. The discovery of reactive intermediates and its enlightenments on hepatotoxicity induced by furan-containing compounds in Chinese herbal medicine [J]. *Pharm Biotechnol*, 2020, 27(2): 160–164.
- [13] 王颖. 试验设计与 SPSS 应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- WANG X. Experimental Design and Application of SPSS [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [14] 孙建新, 安娟, 连军. 影响试验动物脏器重量及脏器系数因素分析[J]. 试验动物科学, 2009, 26(1): 49–51.
- SUN JX, AN J, LIAN J. Analysis of the factors affecting the weight and coefficient of viscera in experimental animals [J]. *Lab Anim Sci*, 2009, 26(1): 49–51.
- [15] 李喜存, 赵家义. 活性氧在非小细胞肺癌肿瘤免疫中的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(11): 1295–1298.
- LI XC, ZHAO JY. Role of reactive oxygen species in tumor immunity of non-small cell lung cancer [J]. *Chin J Cancer*, 2020, 27(11): 1295–1298.
- [16] VAN'TERVE TJ, LIH FB, JELSEMA C, *et al.* Reinterpreting the best biomarker of oxidative stress: The 8-iso-prostaglandin F_{2α}/prostaglandin F_{2α} ratio shows complex origins of lipid peroxidation biomarkers in animal models [J]. *Free Radical Biol Med*, 2016, 95: 65–73.
- [17] ZIMET Z, BILBAN M, MARC MM, *et al.* 8-isoprostane as oxidative stress marker in coal mine workers [J]. *Biomed Environ Sci*, 2016, 29(8): 589–593.
- [18] LIU XN, LIANG P, GAO XW, *et al.* Induction of the cytochrome P450 activity by plant allelic chemicals in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, (Hübner) [J]. *Pestic Biochem Phys*, 2006, 84(2): 127–134.
- [19] 杨海灵, 聂力嘉, 朱圣庚, 等. 谷胱甘肽硫转移酶结构与功能研究进展[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2006, 25(1): 19–24.
- YANG HL, NIE LJ, ZHU SG, *et al.* Structure and catalytic mechanism of the glutathione transferases [J]. *J Chengdu Univ Sci Technol Ed*, 2006, 25(1): 19–24.
- [20] HOLLEY SL, FRYER AA, HAYCOCK JW, *et al.* Differential effects of glutathione S-transferase pi (GSTP1) haplotypes on cell proliferation and apoptosis [J]. *Carcinog*, 2007, 28: 2268–2273.
- [21] 詹纯列, 李权超, 徐本法, 等. SPF 小型猪主要脏器重量脏器系数的测定[J]. 中国比较医学杂志, 2001, 11(4): 215–217.
- ZHAN CL, LI QC, XU BF, *et al.* The measurement of weight of main organs and organ coefficient in SPF miniature pig [J]. *Chin J Comp Med*, 2001, 11(4): 215–217.
- [22] MARANGHI F, TASSINARI R, LAGATTA V, *et al.* Effects of the food contaminant semicarbazide following oral administration in juvenile Sprague-Dawley rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(2): 472–479.
- [23] XIE Y, HAO H, WANG H, *et al.* Reversing effects of lignans on CCl₄-induced hepatic CYP450 down regulation by attenuating oxidative stress [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1): 213–21.
- [24] XU M, TANG H, ZHOU XR, *et al.* Effects and mechanisms of sub-chronic exposure to copper nanoparticles on renal cytochrome P450 enzymes in rats [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2018, 63: 135–146.
- [25] YANG N, SUN R, LIAO X, *et al.* UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) and their related metabolic cross-talk with internal homeostasis: A systematic review of UGT isoforms for precision medicine [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 121: 169–183.
- [26] 梁嘉颖, 郑毅春, 李子涛, 等. 男性不育症患者 GST 基因多态性与精子质量、氧化应激、细胞凋亡的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(6): 719–722, 726.
- LIANG JY, ZHENG YC, LI ZT, *et al.* The correlation of GST gene polymorphism with sperm quality, oxidative stress and apoptosis in patients with male infertility [J]. *J Hainan Med Univ*, 2018, 24(6): 719–722, 726.
- [27] SINGH S. Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015, 75(1): 1–15.
- [28] 孙博, 申爱荣. 子宫内膜异位症并不孕患者血清、腹腔液中 8-iso-PGF_{2α} 及 GSH-Px 的表达[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(27): 3936–3938.
- SUN B, SHEN AR. Signification of 8-iso-PGF_{2α} and GSH-Px in blood serum and peritoneal fluid of patients with endometriosis and infertility [J]. *Matern Child Health Care China*, 2010, 25(27): 3936–3938.
- [29] COCATE PG, NATALI AJ, OLIVEIRA AD, *et al.* Fruit and vegetable intake and related nutrients are associated with oxidative stress markers in middle-aged men [J]. *Nutrition*, 2014, 30(6): 660–665.
- [30] 胡聪, 吴琳静, 熊印华, 等. 脂质组学在肝脏疾病中的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(1): 6–12.
- HU C, WU LJ, XIONG YH, *et al.* Research progress of lipomics in liver diseases [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2021, 37(1): 6–12.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



黄卉颖, 硕士, 主要研究方向为营养与食品安全。

E-mail: nightingale_caged@qq.com



柳春红, 博士, 教授, 主要研究方向为营养与食品安全。

E-mail: liuch@scau.edu.cn