

对苯二甲酸染毒及干预条件下大鼠泌尿系统变化

刘美霞, 宋 玲, 赵人璋, 杨 俊, 龚 楠, 王守林, 王心如

(南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 研究对苯二甲酸 (TPA) 染毒和碳酸氢钠 (NaHCO_3) 干预条件下大鼠膀胱结石发生率及尿液中酶、蛋白、pH 的变化。方法 设 5%TPA 染毒组、5%TPA+4% NaHCO_3 干预组、4% NaHCO_3 组和对对照组; 采用饲喂法对大鼠持续染毒 90 天, 收集大鼠尿液; 测定其中 α_1 -MG、 β_2 -MG 含量和 AST、LDH、 γ -GT、ALP 活性及尿 pH, 同时观察膀胱结石发生情况。结果 5%TPA 染毒组大鼠膀胱结石发生率为 58.30%, 其他组未见结石; 染毒组尿低分子质量蛋白、尿酶和尿酸度明显高于对照组及干预组 ($P < 0.05$), 干预组与对照组差异无显著性。结论 NaHCO_3 对 TPA 引起的泌尿系统毒性损伤有保护作用, 并通过提高尿 pH 水平抑制 TPA 诱导的膀胱结石的形成。

关键词: 对苯二甲酸; 碳酸氢钠; 泌尿系统

中图分类号: O623.611 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)02-0065-03

Changes in urinary system of rats exposed to terephthalic acid and the effect of drug intervention

LIU Mei-xia, SONG Ling, ZHAO Ren-cheng, YANG Jun, GONG Nan, WANG Shou-lin, WANG Xin-nu

(School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 210029)

Abstract objective To investigate the changes in bladder stone incidence, urinary enzyme, protein and pH both in TPA exposed rats and NaHCO_3 . Four group rat were exposed to the diet with 5% TPA, 5% TPA+4% NaHCO_3 , 4% NaHCO_3 and normal diet, respectively for 90 days. At the end of exposure, the urine samples were collected to determine the concentrations of α_1 -MG and β_2 -MG, the activities of AST, LDH, γ -GT, ALP and the value of pH. The bladder stone was also investigated. **Results** The incidence of bladder stone in rats exposed to 5% TPA was 58.30%, but no bladder stone was found in other groups. The urinary enzyme, α_1 -MG or β_2 -MG and acidity of the 5%TPA exposed group were significantly higher than those of control group and intervention group, but there was no statistical difference between intervention group and control group. **Conclusion** NaHCO_3 might protect the urinary system damage induced by TPA exposure, probably it works by elevating urine pH.

Key words: Terephthalic acid; Sodium bicarbonate; Urinary system

对苯二甲酸 (terephthalic acid, TPA) 是最常用的工业原料之一, 主要用于生产晶状合成树脂、聚酯纤维等。有文献报道, TPA 可引起大鼠膀胱结石、肾炎、肾组织萎缩等泌尿系统损伤^[1]; 短期实验中, 碳酸氢钠 (NaHCO_3) 能明显抑制 TPA 诱导的膀胱结石的形成^[2], 但其长期效果如何, 通过何种途径发挥其抑石作用以及对 TPA 引起的泌尿系统损伤是否具有保护作用, 目前尚未见报道。本研究拟通过 90 天亚慢性实验, 观察 TPA 染毒及 NaHCO_3 干预条件下, 大鼠膀胱结石、尿蛋白、尿酶及尿 pH 的变化, 进一步

探讨 TPA 对大鼠肾毒效应和膀胱结石的可能机制。

1 材料与方法

1.1 受试物与试剂

实验使用同一批 TPA, 由中国仪征化纤集团公司提供, 以高效液相色谱 (HPLC) 分析法测得其纯度为 99.99%; NaHCO_3 购于江苏省医药总公司; α_1 -微球蛋白 (α_1 -MG) 和 β_2 -微球蛋白 (β_2 -MG) 放射性免疫试剂盒为中国原子能科学研究所产品; 天冬氨酸转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH)、 γ -谷氨酰转氨酶 (γ -GT)、碱性磷酸酶 (ALP)、肌酐 (Cr) 试剂盒购自南京科华生物技术有限公司。

1.2 动物及分组

SD 大鼠, 96 只, 雌雄各半, 体质量 90~110g, 5 周龄, 购自上海实验动物中心必凯公司 (沪动合证字 150 号)。将动物预养 1 周后, 用 SAS 程序随机分为 4

收稿日期: 2001-12-03; 修回日期: 2002-01-17

基金项目: 国家卫生部基金 (3-92-109), 江苏省科技厅自然科学基金 (BS92033)

作者简介: 刘美霞 (1976-), 女, 江苏南通人, 硕士, 研究方向: 工业毒理。

组: 5%TPA 染毒组 (A 组), 5%TPA+4%NaHCO₃ 干
预组 (B 组), 4%NaHCO₃ 组 (C 组) 和对照组 (D
组); 将 TPA 和 NaHCO₃ 分别按 5%和 4%的比例拌入
饲料, 饲喂法连续染毒 90 天, 并记录动物每日摄食
量。实验期间, 每日温度为 (23 ±4)℃, 湿度为
45%~65%, 动物自由饮水。

1. 3 样本收集和指标测定

染毒第 90 天, 每组随机选择 16 只动物, 雌雄各
半 (TPA 雄性染毒组仅余 6 只), 用一次性尿杯, 利
用大鼠的提鼠排尿反射, 收集新鲜尿液, 立刻用 1ml
一次性注射器取其中 0.5ml, 梅特勒-托利多生产的
MI229KP1 离子效场 pH 计测定其 pH 值; 剩余尿液以
全自动生化分析仪 (法国 HYCEL 生产, Lisa-500 型)
测定 AST、LDH、γ-GT、ALP 活性; 所有尿酶测定均
在收尿后 6 小时内完成。染毒第 91 天, 将动物放入
洁净代谢笼中, 以二甲苯为防腐剂, 收集 12 小时尿
液 (8: 00~20: 00)^[3], 代谢笼收尿期间, 动物自由
饮水, 但不予饲料。所收的尿样置于-20℃冰箱中保
存, 待以 Charmacial 公司生产的 Wizard1470 测 α₁-MG、

β₂-MG, 具体方法见试剂盒说明。所有尿液指标均用
尿 Cr 校正。

1. 4 数据处理

所有数据均用 SPSS8.0 FOR WINDOWS 软件包分
析, 根据数据性质分别采用精确概率法和相应的单因
素方差分析 (One Way ANOVA) 比较各组间差异。

2 结果

2. 1 膀胱结石、血尿及动物死亡情况

染毒第 12 天, TPA 染毒组部分大鼠开始出现持
续肉眼血尿, 并陆续死亡; 解剖后发现死亡动物膀胱
充血、肿大, 充满大量结石, 其他系统未发现异常。
染毒结束后, 以尿常规试纸测各组大鼠尿中隐血情
况, 所有动物解剖后观察膀胱结石发生情况, 结果见
表 1。从表 1 可以看出, 仅 TPA 染毒组发现膀胱结
石、血尿 (及隐血)、动物死亡; 干预组、NaHCO₃ 组
及对照组均未发现这三种现象。染毒组大鼠膀胱结石
和血尿 (及隐血) 发生率及动物死亡率均显著高于对
照组 ($P<0.01$) 和干预组 ($P<0.01$)。

表 1 不同实验组大鼠膀胱结石、血尿及动物死亡发生率 (%)

组别		膀胱结石			血尿（隐血）			动物死亡		
		雄	雌	合计	雄	雌	合计	雄	雌	合计
A	例数	11	3	14	9	2	11	6	2	8
	发生率	91.7	25.0	58.3 **△△	75	16.7	45.8 **	50.0	16.7	33.3 **△△
B	例数	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	发生率	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	例数	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	发生率	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	例数	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	发生率	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注: 每组单性别动物数均为 12。
* * 与对照组比较 $P<0.01$; △△与干预组比较 $P<0.01$ 。

2. 2 尿蛋白与尿 pH

由表 2 可见, 染毒组尿 pH 值显著低于对照组
($P<0.01$) 和干预组 ($P<0.01$); NaHCO₃ 组显著高
于对照组 ($P<0.01$); 干预组与对照组之间差异无
显著性 ($P>0.05$)。尿蛋白 α₁-MG, 雌雄大鼠的反应
不相同, 雄性大鼠各组均高于对照组 ($P<0.05$),

染毒组亦显著高于干预组 ($P<0.05$); 但在雌性大
鼠中, 染毒组与对照组、干预组之间的差异不明显。
单纯给予 NaHCO₃ 时, 尿中 α₁-MG 显著高于对照组
($P<0.05$)。染毒组雌雄大鼠尿 β₂-MG 高于对照组
($P<0.05$), 且干预组雄性大鼠 β₂-MG 水平明显低于
染毒组 ($P<0.05$)。

表 2 不同实验组大鼠尿 pH、尿 α₁-MG 和 β₂-MG 的改变 ($\bar{x} \pm s$)

组别	pH		α ₁ -MG (mg/molCr)		β ₂ -MG (mg/molCr)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
A	5.37±0.16*△	5.46±0.23*△	351.34±83.19*△	381.41±366.74	63.84±18.45*△	28.50±10.75*
B	5.68±0.08	5.75±0.19	147.21±89.28*	255.29±236.26	12.05±8.69	19.05±12.15
C	8.61±0.22*	8.83±0.19*	149.88±68.52*	385.13±233.65*	14.15±6.09	25.90±17.25
D	5.99±0.26	5.93±0.18	62.36±49.30	77.88±47.13	12.84±10.54	11.62±8.68

注: 每组样本数为 16, 雌雄各半, 仅 A 组雄性大鼠数为 6。
* 与对照组比较 $P<0.05$; △与干预组比较 $P<0.05$ 。

2.3 尿酶活性变化

表 3 显示, 染毒组雌雄大鼠尿酶的变化并不一致, 雄性大鼠尿 γ -GT 和 LDH 活性明显高于对照组 ($P < 0.05$), 雌性大鼠尿 AST 和 ALP 活性明显高于对照组 ($P < 0.05$)。采用 NaHCO_3 干预后, 两性别大鼠

表 3 不同实验组大鼠尿酶活性的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	γ -GT (U/mmolCr)		LDH (U/mmolCr)		AST (U/mmolCr)		ALP (U/mmolCr)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
A	197.12 $\pm$ 95.37 [*] Δ	127.03 $\pm$ 59.33	52.46 $\pm$ 21.56 [*] Δ	30.92 $\pm$ 7.95 Δ	10.19 $\pm$ 2.70	8.39 $\pm$ 2.76 [*] Δ	137.30 $\pm$ 63.83	51.83 $\pm$ 10.25 [*] Δ
B	77.90 $\pm$ 33.10	91.40 $\pm$ 33.62	10.92 $\pm$ 3.33	6.49 $\pm$ 1.97	3.97 $\pm$ 1.40	4.49 $\pm$ 0.43 [*]	60.68 $\pm$ 29.10	20.08 $\pm$ 4.72 [*]
C	76.26 $\pm$ 43.56	74.97 $\pm$ 12.57	11.45 $\pm$ 11.26	8.71 $\pm$ 10.11	3.74 $\pm$ 2.14	4.31 $\pm$ 0.69 [*]	67.09 $\pm$ 35.75	33.39 $\pm$ 7.58 [*]
D	79.50 $\pm$ 36.23	74.94 $\pm$ 39.33	12.22 $\pm$ 9.80	11.22 $\pm$ 6.63	3.06 $\pm$ 0.97	2.83 $\pm$ 1.04	55.95 $\pm$ 23.79	42.29 $\pm$ 7.68

注: 每组样本数为 16, 雌雄各半, 仅 A 组雄性大鼠数为 6。

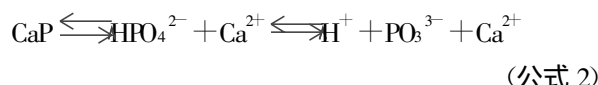
* 与对照组比较 $P < 0.05$; Δ 与干预组比较 $P < 0.05$ 。

3 讨论

TPA 引起的泌尿系统毒性主要表现为膀胱结石、膀胱肿瘤和肾毒效应。本研究发现, TPA 是强诱发结石因子, 5%TPA 染毒组大鼠膀胱结石的发生率、血尿率 (包括隐血检出率)、动物死亡率均明显高于对照组; 雄性大鼠的发生率约为雌性大鼠的 3~4 倍。TPA 还可引起 α_1 -MG、 β_2 -MG 和部分尿酶的改变。 α_1 -MG 和 β_2 -MG 均为尿中的低分子质量蛋白, 都可通过肾小球滤过膜, 并被肾近曲小管重吸收, 一般认为是判定肾近曲小管受损敏感而特异的指标^[4]。实验结果提示, TPA 可引起肾小管, 尤其是近曲小管的损伤。

实验也证实, 长期给予 NaHCO_3 可完全抑制 TPA 诱导的膀胱结石。这一结果与 Heck 短期干预实验 (2 周) 结果一致^[2]。TPA 在体内代谢极为迅速, 染毒后 24h 内 60%~90% 的 TPA 以原形从体内排出, 在体内无蓄积^[3]。可见, 只要改变 TPA 的成石条件与环境, 无论长期 NaHCO_3 干预实验还是短期干预实验, 都能完全抑制 TPA 诱导的膀胱结石形成。尿 pH 的改变为 NaHCO_3 干预 TPA 诱导的膀胱结石形成过程中最为显著的现象; TPA 染毒组大鼠尿 pH 明显低于干预组, 而干预组与对照组无显著性差异; 提示长期给予 NaHCO_3 , 将尿 pH 提高到正常水平, 破坏 TPA 形成膀胱结石的酸性环境, 就能抑制结石形成。可见, TPA 引起的尿液酸化是 TPA 诱导膀胱结石的主要机制。我们曾采用 FT-IR 和旋转阳极 X 衍射法分析发现, TPA 诱导的膀胱结石的主要成分为 CaTPA 和磷酸钙 (CaP), 即尿 Ca、尿 TPA 和尿磷酸盐为成石的主要因子。TPA 和磷酸盐在尿中的溶解度与尿 pH 密切相关^[6]:

的尿酶均明显下降, 与染毒组差异显著 ($P < 0.05$), 但雌性大鼠干预组与对照组仍有统计学差异 ($P < 0.05$)。 NaHCO_3 组各尿酶与对照组相比, 除雌性大鼠 AST 和 ALP 与对照组有差异 ($P < 0.05$), 其余均与对照组在同一水平。



从以上公式可以看出, 尿 pH 值增加, 即 H^+ 浓度降低时, 公式 1 的化学平衡右移, 可使 TPA 不断溶解排出, 不易沉淀形成结石; 反之, 尿 pH 值下降, 易形成结石。同样, 对于公式 2, 尿 pH 值增加, HPO_4^{2-} 的溶解度也增加, CaP 晶体不断溶解, 抑制了膀胱结石的形成; 反之, 尿 pH 值下降, 易形成结石。

实验结果还提示, 干预组尿蛋白和尿酶变化呈现整体降低趋势 ($P < 0.05$), 但干预组与对照组相比, 除雄性大鼠 α_1 -MG 和雌性大鼠 AST、ALP 外, 其余的尿蛋白和尿酶差异均无显著性, 提示 NaHCO_3 干预后不能完全避免 TPA 引起的肾毒效应。实验中采用的 NaHCO_3 剂量可能略高于动物所能承受的剂量水平, 故还须进一步探索能抑制结石和肾毒效应, 而本身又不至于对肾产生不良影响的 NaHCO_3 剂量水平。

参考文献:

- [1] 漆少廷, 徐锡坤, 王心如, 等. 对苯二甲酸亚慢性肾毒效应的研究 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16 (5): 402-403.
- [2] Rochelle Wolkowski-Tyl, Theodory Y Chin. Effects of selected therapeutic agents on urolithiasis induced by terephthalic acid in the male weanling Fischer 344 rats [J]. Fund appl toxicol, 1983, 3: 552-558.
- [3] 丛玉隆, 马骏龙. 当代尿液分析技术与临床 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1998. 131-132, 146-152.
- [4] 杨宜娥, 吕莎. 尿蛋白和尿酶对肾脏疾病的早期诊断价值 [J]. 临床内科杂志, 1999, 16 (2): 75-76.
- [5] 姚宏伟, 王心如, 王顶贤, 等. 对苯二甲酸的毒代动力学研究 [J]. 卫生研究, 2001, 3 (1): 23-24, 27.
- [6] Henry d'A, Heck. Chemical urolithiasis 2. Thermodynamic aspects of bladder stone induction by terephthalic acid and dimethyl terephthalate in weanling Fischer 344 rats [J]. Fund appl toxicol, 1981, 1: 299-308.

