

镉、铅、汞、砷和铬致肾损伤机制的研究进展

申云帅, 胡建安

(中南大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 湖南 长沙 410078)

摘要: 重金属镉、铅、汞、砷和铬是最常见的环境和职业危害因素。不同的重金属对人体损伤的表现不尽相同,但都具有肾损伤特性。多年来,国内外学者对这些重金属的肾损伤机制进行了较多的研究。本文综述了其氧化应激、细胞凋亡、金属硫蛋白、生物膜损伤和细胞内 Ca^{2+} 平衡失调的几种肾损伤机制。

关键词: 肾; 细胞凋亡; 金属硫蛋白; 生物膜

中图分类号: R995 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2013)04-0766-03

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2013.04.028

随着工业的发展,重金属对环境的污染及其造成人群的危害日益严重。镉、铅、汞、砷和铬是最主要的环境和职业危害因素,主要通过呼吸道和消化道进入人体,可对人的神经系统、呼吸系统、消化系统和泌尿系统等多个系统造成急慢性损伤。作为人最主要的排泄器官,肾是重金属进入人体后重要的蓄积器官和靶器官,因而其结构和功能易受到损伤。本文对镉、铅、汞、砷和铬导致肾损伤的氧化应激、细胞凋亡、金属硫蛋白、生物膜损伤和细胞内 Ca^{2+} 平衡失调机制进行了综述。

1 氧化应激

氧化应激是重金属肾损伤的主要机制之一。一般认为,氧化应激参与早期肾小管损伤,最终导致肾小管转运功能缺陷。活性氧类(reactive oxygen species, ROS)数量在抗氧化防御系统可控范围内具有生理作用,它们作为活化的转导信号调控许多细胞内的信号通路^[1]。正常情况下,细胞的抗氧化防御系统能够将 ROS 产生的影响降低到最小;当 ROS 的数量超过抗氧化酶和 ROS 分子的清除能力时,就会造成 DNA、蛋白质和线粒体的损伤、脂质过氧化作用及细胞凋亡^[2]。

镉被认为可通过取代氧化还原活性金属(铜和铁)发生芬顿反应参与自由基的形成^[3]。镉也可通过活化黄嘌呤氧化酶、血红素氧化酶导致机体内 ROS 的大量产生,进而使生物膜上的多聚不饱和脂肪酸发生脂质过氧化而损伤膜结构^[4]。

铅可引起 ROS 增加导致氧化应激,损伤细胞重要生物大分子(脂质、蛋白质和 DNA)。铅可能主要是通过其对 δ -ALA 的亲氧化作用和对膜脂的直接作用产生大量的超氧阴离子自由基、羟自由基和过氧化氢发生氧化应激^[5]。铅能诱导人肾近曲小管上皮人胚肾细胞(human embryonic kidney cells, HK-2)氧化应激及线粒体损伤。铅诱导的 HK-2 细胞氧化应激可能主要是由羟自由基引起的。

Nava 等^[6]发现氯化汞(HgCl_2)的毒性与产生 ATP 的线粒体内膜表面积减小有着密切关系,汞参与氧化代谢进而导

致 ROS 的产生。 Hg^{2+} 可改变线粒体内膜的通透性,使得汞不参加氧化代谢,从而导致过氧化氢的产生。汞也可以增强诱导型一氧化氮合酶 mRNA 和蛋白的表达,使得机体产生大量一氧化氮自由基等^[7]。Sener 等^[8]证明,汞可以引起超氧阴离子自由基和羟自由基的产生。ROS 激活细胞内信号转导途径及转录因子可直接造成蛋白、脂质及 DNA 等生物大分子的氧化性损伤^[9-10]。

砷可引起细胞内过氧化物,超氧阴离子自由基、羟自由基和过氧化氢增多,造成 DNA 氧化性损伤,生成 8-羟基-2-脱氧鸟嘌呤^[11]。而近年来的研究表明,除了 ROS,活性氮族也可造成核酸损伤^[12]。Pineda-Zavaleta 等^[13]发现,砷暴露可造成儿童体内 NO 生成增多。砷可能通过 ROS 引起 DNA 的氧化损伤,通过活性氮主要引起 RNA 的损伤^[14]。

六价铬是很强的氧化剂,在氧化过程中被还原产生多种中间产物 Cr(V)、Cr(IV)和自由基等,最终形成稳定的三价态。与体内的还原剂如抗坏血酸和硫醇等和六价铬反应时可能会产生有机自由基,从而形成 ROS,过量的 ROS 会对细胞内蛋白质和 DNA 造成损伤,产生氧化应激^[15]。

2 细胞凋亡

镉诱导产生大量 ROS,大量 ROS 导致线粒体膜电位的改变,细胞色素 c(cytochrome c, Cyt c)进入细胞质中,作为凋亡体激活胱天蛋白酶 9 途径是镉引起细胞凋亡可能的途径^[16]。Lee 等^[17]通过实验证明,在微摩尔剂量镉暴露 3~6 h 情况下,大鼠肾近端小管细胞发生凋亡;同时指出,其凋亡机制与线粒体凋亡因子、钙蛋白酶和胱天蛋白酶的相互作用有关,镉的暴露量和时间对其凋亡起到决定作用。镉可以诱导 HEK293 细胞凋亡,线粒体可能发挥重要作用;研究表明,镉可以直接引起 HEK293 细胞线粒体功能障碍,通透性增加、呼吸抑制和氧化应激的发生,这可能提示镉引起的 HEK293 细胞线粒体凋亡途径的存在^[18]。

铅诱导 HK-2 细胞凋亡,其可能机制是铅损坏 HK-2 细胞线粒体膜,导致 Cyt c 的释放,先后激活胱天蛋白酶 9 和胱天蛋白酶 3,进而引起胱天蛋白酶依赖性细胞凋亡。ROS 启动的、线粒体介导的细胞凋亡可能是铅诱导的 HK-2 细胞损伤的主要途径。铅可通过细胞凋亡和细胞坏死引起肾小管上皮细胞的死亡,氧化应激诱导的细胞凋亡是细胞死亡的主要机制^[19]。

基金项目: 国家自然科学基金(81072331);教育部中央高校基本科研业务费前沿研究重点项目(721500014)

作者简介: 申云帅(1983-),男,硕士研究生;胡建安(1955-),男,教授,博士生导师,主要从事氧化代谢酶与化学物毒性作用研究。

通讯作者: 胡建安, E-mail: jiananhu@xysm.net, Tel: (0731) 84805460, Fax: (0731) 84803006

汞通过氧化应激产生 ROS 除直接引起生物膜脂质过氧化导致细胞不可逆损伤外,还可通过激活 P38 促分裂原活化的蛋白激酶等多途径介导细胞凋亡^[20]。肾是 HgCl₂ 排泄、蓄积和毒性主要器官。线粒体是细胞能量产生的主要部位,是细胞的活力、生存和死亡的调节中心。HgCl₂ 具有极强的与巯基分子结合的能力和亲电性,通过氧化损伤和抑制线粒体呼吸功能,最终引起细胞凋亡。研究表明,汞可使线粒体内自由基含量增加,刺激线粒体膜上蛋白酶活力改变,提高线粒体膜的通透性,影响 ATP 合成,导致 Cyt c 释放,进而诱导细胞凋亡^[21]。

砷中毒可引起肾小球细胞凋亡^[22]。砷致细胞凋亡的机制可能与脂质过氧化和甲基化有关,脂质过氧化产生多种自由基和非自由基产物,如脂自由基(L·, LO·以及 LOO·),易穿透并扩散进入细胞核,直接攻击 DNA 或 mRNA,与碱基起加合反应,引起 DNA 突变并可导致细胞癌变^[23];砷在体内主要通过甲基化进行代谢,二甲基砷可导致 DNA 损伤断裂,加重对肾损伤的作用。另外,砷还可通过与细胞中大分子的巯基结合而产生毒性效应;核糖聚合酶是 DNA 损伤修复中重要的酶之一,砷可与核糖聚合酶结合,干扰 DNA 的修复^[23-24]。

3 金属硫蛋白

金属硫蛋白是一类广泛存在于生物体内富含半胱氨酸、低分子量的以及可被金属诱导产生的金属结合蛋白。金属硫蛋白在重金属解毒,维护机体内稳态,增强机体适应能力等方面发挥着重要的生物学作用,是一种可以抵抗外源性损伤的细胞防御性蛋白。研究发现,镉在肾的积累主要通过肾小管上皮细胞受体介导的自由滤过和镉金属硫蛋白的内吞作用进入细胞,在内涵体和溶酶体的降解作用下,Cd²⁺ 被释放入细胞质,可产生 ROS 并激活细胞死亡途径^[25]。

肾是无机汞的主要靶器官,Hg²⁺ 与巯基有很强的亲和力,与肾组织中含巯基蛋白结合是汞所致肾损伤的主要病理基础,它可使体内一些重要的活性基团活性丧失,影响蛋白质功能,扰乱机体的生理生化功能,导致毒性效应。Hg²⁺ 可诱导金属硫蛋白的表达,金属硫蛋白的表达可以部分拮抗 Hg²⁺ 的肾毒性作用^[26-27]。但是,金属硫蛋白与二价金属离子具有较强的亲和力,金属硫蛋白结合了人体必需的 Zn²⁺ 和 Cu²⁺,造成人体离子紊乱,对肾产生毒性^[28]。

4 生物膜损伤

镉肾毒性机制与脂质过氧化有关。镉可通过增强膜脂质过氧化和改变细胞内的抗氧化系统而在不同的组织诱导生物膜的氧化损伤^[29]。镉可通过活化黄嘌呤氧化酶和血红素氧化酶导致机体内 ROS 的大量产生,进而通过使生物膜上的多聚不饱和脂肪酸发生脂质过氧化而损伤膜结构^[4]。

铅通过与膜蛋白的巯基作用,改变了膜的结构及稳定性,使其流动性降低、通透性增强。铅可影响线粒体能量产生及抑制 ATP 酶,进而影响细胞膜的运输功能。

研究表明,HgCl₂ 可造成线粒体膜流动性显著降低。膜脂质过氧化程度增加会导致膜结构紊乱,膜有序性下降,膜蛋白构象的改变,这种变化也会对膜的流动性产生影响^[30]。膜流动性降低将抑制膜酶系统,损害受体功能,使其不能正常发

挥作用,进而抑制了线粒体的呼吸功能,影响能量代谢^[31]。

细胞膜损伤是铬所致细胞损伤的重要结果。生物膜的流动性和通透性改变可引起细胞功能紊乱和病理改变。Fatima 等^[32]发现,重铬酸钾的肾毒性可能由它对刷状缘细胞膜的损伤引起。另有研究发现,大鼠肾细胞膜中胆固醇水平显著升高而磷脂水平显著降低,提示细胞膜结构发生了改变。肾质膜碱性磷酸酶、总 ATP 酶,Na⁺-K⁺-ATP 酶活性也显著降低,而添加抗坏血酸可以减轻这些酶活性降低的程度^[33]。

5 细胞内 Ca²⁺ 平衡失调

汞可导致细胞内 Ca²⁺ 平衡失调,使细胞内 Ca²⁺ 浓度升高,从而造成细胞损伤。尽管钙参与细胞兴奋性的控制、细胞代谢和细胞形态的维持及细胞周期的调控等生理过程,但高浓度的细胞内 Ca²⁺ 可引发一系列的损伤过程,甚至导致细胞死亡。Zhang 等^[34]利用 MDCK 细胞证明汞能够独立激活 K⁺ 通道,增加细胞内 Ca²⁺ 浓度,通过使用 Fura-2 作为钙离子敏感染料,表明 Hg²⁺ 诱导细胞 Ca²⁺ 浓度升高的存在。

6 展望

目前看来,重金属镉、铅、汞、砷和铬主要通过氧化应激、细胞凋亡和生物膜损伤机制导致肾损伤;金属硫蛋白在镉与汞对肾的损伤过程中起一定的作用;细胞内 Ca²⁺ 平衡失调,在汞的肾损伤作用时有所表现。这些重金属所致肾损伤机制相对独立又相互影响。迄今为止,任何一种金属的肾损伤机制都未被完全阐明,重金属的肾损伤机制尚待深入研究。

参考文献:

- [1] Leonard SS, Harris GK, Shi X. Metal-induced oxidative stress and signal transduction[J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, **37**(12):1921-1942.
- [2] Magder S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? [J]. *Crit Care*, 2006, **10**(1):208.
- [3] Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence[J]. *Mol Cell Biochem*, 2004, **266**(1-2):37-56.
- [4] Suzuki CA, Cherian MG. Effects of cadmium-metallothionein on renal organic ion transport and lipid peroxidation in rats[J]. *J Biochem Toxicol*, 1988, **3**:11-20.
- [5] Ahamed M, Siddiqui MK. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions[J]. *Clin Chim Acta*, 2007, **383**(1-2):57-64.
- [6] Nava M, Romero F, Quiroz Y, Parra G, Bonet L, Rodríguez-Ilturbe B. Melatonin attenuates acute renal failure and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, **279**(5):F910-F918.
- [7] Sarwar Alam M, Kaur G, Jabbar Z, Javed K, Athar M. *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, **45**(6):910-920.
- [8] Sener G, Sehirli AO, Ayanoglu-Dülger G. Melatonin protects against mercury(II)-induced oxidative tissue damage in rats[J]. *Pharmacol Toxicol*, 2003, **93**(6):290-296.
- [9] Bubici C, Papa S, Dean K, Franzoso G. Mutual cross-talk between reactive oxygen species and nuclear factor-kappa B: molecular basis and biological significance[J]. *Oncogene*, 2006, **25**(51):6731-6748.
- [10] Wei YH, Lee HC. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging[J]. *Exp Biol Med*

- (*Maywood*), 2002, **227**(9):671-682.
- [11] Yamauchi H, Aminaka Y, Yoshida K, Sun G, Pi J, Waalkes MP. Evaluation of DNA damage in patients with arsenic poisoning: urinary 8-hydroxydeoxyguanine[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2004, **198**(3):291-296.
- [12] Kawanishi S, Hiraku Y, Pinlaor S, Ma N. Oxidative and nitrate DNA damage in animals and patients with inflammatory diseases in relation to inflammation-related carcinogenesis [J]. *Biol Chem*, 2006, **387**(4):365-372.
- [13] Pineda-Zavaleta AP, García-Vargas G, Borja-Aburto VH, Acosta-Saavedra LC, Vera Aguilar E, Gómez-Muñoz A, et al. Nitric oxide and superoxide anion production in monocytes from children exposed to arsenic and lead in region Lagunera, Mexico[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2004, **198**(3):283-290.
- [14] Sun XC, Yang G, Li QJ, Ye JX, Chen M, Liu XF, et al. RNA damage induced by arsenic trioxide in the kidney of mice[J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res*(中国组织工程研究与临床康复), 2007, **11**(25):4906-4908.
- [15] Dayan AD, Paine AJ. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: review of the literature from 1985 to 2000 [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2001, **20**(9):439-451.
- [16] Gobe G, Crane D. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney[J]. *Toxicol Lett*, 2010, **198**(1):49-55.
- [17] Lee WK, Abouhamed M, Thévenod F. Caspase-dependent and -independent pathways for cadmium-induced apoptosis in cultured kidney proximal tubule cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, **291**(4):F823-F832.
- [18] Mao WP, Zhang NN, Zhou FY, Li WX, Liu HY, Feng J, et al. Cadmium directly induced mitochondrial dysfunction of human embryonic kidney cells[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2011, **30**(8):920-929.
- [19] Wang L, Wang H, Hu M, Cao J, Chen D, Liu Z. Oxidative stress and apoptotic changes in primary cultures of rat proximal tubular cells exposed to lead[J]. *Arch Toxicol*, 2009, **83**(5):417-427.
- [20] Donnahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR. Review article: the role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury[J]. *J Urol*, 1999, **162**(1):196-203.
- [21] Gao J, Xu ZF, Deng Y, Xu B, Guan K, Xin X. Effects of mercury on ATPase and mitochondrial membrane potential in rat renal cortex [J]. *China Occup Med*(中国职业医学), 2009, **36**(6):461-463.
- [22] Li YH, Zhu GX, Li N, Wu ZJ. Effect of chronic arsenic poisoning on configuration and apoptosis of renal glomerulus cells[J]. *Chin J Public Health*(中国公共卫生), 2008, **24**(9):1149-1150.
- [23] Li Y. Mechanism of arsenic poisoning [J]. *Foreign Med Sci*(*Sec Hygiene*)(国外医学(卫生学分册)), 2001, **28**(5):261-264,314.
- [24] Zhang M, Chen TX, Hu XX, Chen C, Pan Y. Effects of chronic arsenic poisoning on DNA injuries and cell apoptosis of cerebral cortex in rats[J]. *J Guiyang Med Coll*(贵阳医学院学报), 2007, **32**(4):390-392.
- [25] Johri N, Jacquillet G, Unwin R. Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney[J]. *Biometals*, 2010, **23**(5):783-792.
- [26] Tchounwou PB, Ayensu WK, Ninashvili N, Sutton D. Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health[J]. *Environ Toxicol*, 2003, **18**(3):149-175.
- [27] Tandon SK, Singh S, Prasad S, Mathur N. Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2001, **39**(6):571-577.
- [28] Xu ZF, Yang JH, Yin ZW, Yu JM, Sun YW, Li J. Effects of several materials on oxidative damage induced by mercury in kidney of rats[J]. *Chin Occup Med*(中国职业医学), 2005, **32**(3):5-8.
- [29] Stohs SJ, Bagchi D, Hassoun E, Bagchi M. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2000, **19**(3):201-213.
- [30] Gao J, Xu ZF, Tian Z, Liu HJ, Tian YW, Xu B. Effect of mercury exposure on membrane fluidity of renal mitochondria in rats [J]. *Chin J Ind Med*(中国工业医学杂志), 2010, **23**(2):118-119.
- [31] Sun D, Gilboe DD. Ischemia-induced changes in cerebral mitochondrial free fatty acids, phospholipids, and respiration in the rat [J]. *J Neurochem*, 1994, **62**(5):1921-1928.
- [32] Fatima S, Arivarasu NA, Banday AA, Yusufi AN, Mahmood R. Effect of potassium dichromate on renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2005, **24**(12):631-638.
- [33] Dey SK, Nayak P, Roy S. Alpha-tocopherol supplementation on chromium toxicity: a study on rat liver and kidney cell membrane [J]. *J Environ Sci*(China), 2003, **15**(3):356-359.
- [34] Zhang Y, Chen R, Wang SR, Zeng WC. Study on protective effects of HO-1 against rat renal cell apoptosis caused by mercury [J]. *Mod Med J*(现代医学), 2007, **35**(4):287-290.

Progress in mechanisms of kidney damage induced by cadmium, lead, mercury, arsenic and chromium

SHEN Yun-shuai, HU Jian-an

(*Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China*)

Abstract: Cadmium, lead, mercury, arsenic and chromium are the most common environmental and occupational hazards. They all cause damage to the kidney, despite the difference in the damage to the human body. Mechanisms of kidney damage by these heavy metals have been studied for many years. This paper summarized mechanisms of kidney damage, including oxidative stress, apoptosis, metallothionein, biofilm injury and imbalance of intracellular Ca^{2+} .

Key words: kidney; apoptosis; metallothionein; biofilms

Foundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China(81072331); and Basic Scientific Research Funds of the Central Subordinates University from Education Ministry(721500014)

Corresponding author: HU Jian-an, E-mail: jiananhu@xysm.net, Tel:(0731)84805460, Fax:(0731)84803006

(收稿日期: 2012-10-15 接受日期: 2013-03-14)

(本文编辑: 付良青)