

李潭, 李雅文, 赵昕蕊, 等. 原花青素对镉致小鼠肝肾损伤的保护作用 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (2): 46-53.

LI T, LI Y W, ZHAO X R, et al. Proanthocyanidins alleviates cadmium-induced damage to liver and kidney in mice [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (2): 46-53.

## 原花青素对镉致小鼠肝肾损伤的保护作用

李潭<sup>1#</sup>, 李雅文<sup>1,2#</sup>, 赵昕蕊<sup>1</sup>, 李彬<sup>1</sup>, 刘丹<sup>1</sup>, 仝锡帅<sup>1,3</sup>, 卞建春<sup>1,4,5</sup>,  
刘学忠<sup>1,4,5</sup>, 袁燕<sup>1</sup>, 邹辉<sup>1</sup>, 刘宗平<sup>1,4,5</sup>, 顾建红<sup>1,4,5\*</sup>

(1. 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009;

2. 东海县畜牧兽医站, 江苏 连云港 222399;

3. 中国教育部农业和农产品安全国际联合研究实验室, 江苏 扬州 225009;

4. 江苏高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009;

5. 江苏省人兽共患病学重点实验室, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 旨在研究低聚原花青素 (OPC) 对镉 (Cd) 致小鼠肝肾损伤的保护作用。Cd 与不同剂量 OPC (50 和 100 mg/kg) 单独或联合处理 6 月龄 BALB/c 雌性小鼠 3 个月, 称取小鼠体重, 计算肝脏和肾脏脏系数, 自动生化分析仪检测肝肾相关血液生化指标, HE 染色观察肝脏和肾脏组织病理学变化, 试剂盒测定超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性和丙二醛 (MDA) 含量, 透射电镜观察线粒体和细胞核形态, 免疫组化分析半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 表达情况, Western blot 法检测 Caspase-3、B 淋巴细胞瘤 2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达水平。结果: 与对照组相比, Cd 组小鼠体重与肝肾脏系数降低, 血清乳酸脱氢酶活性 (LDH) 和磷 (P) 含量升高, 肝组织出现水样变性、少量细胞脂肪变性、单核炎性细胞浸润、肝细胞索排列紊乱, 肾囊腔扩张、散在单核炎性细胞浸润, 肾小管上皮细胞坏死和脱落, 肝脏和肾脏组织 SOD、GSH-Px 活性下降, 而 MDA 水平升高, 线粒体和细胞核损伤, 促凋亡蛋白 Caspase-3 升高, Bcl-2/Bax 比值降低。与 Cd 组相比, OPC + Cd 联合处理组上述指标均明显改善。提示: OPC 能缓解 Cd 致小鼠肝肾损伤, 是 Cd 中毒的潜在治疗剂。

**关键词:** 原花青素; 镉; 肝脏; 肾脏; 氧化应激; 凋亡

中图分类号: S852 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)02-0046-08

## Proanthocyanidins alleviates cadmium-induced damage to liver and kidney in mice

LI Tan<sup>1#</sup>, LI Yawen<sup>1,2#</sup>, ZHAO Xinrui<sup>1</sup>, LI Bin<sup>1</sup>, LIU Dan<sup>1</sup>, TONG Xishuai<sup>1,3</sup>, BIAN Jianchun<sup>1,4,5</sup>,  
LIU Xuezhong<sup>1,4,5</sup>, YUAN Yan<sup>1</sup>, ZOU Hui<sup>1</sup>, LIU Zongping<sup>1,4,5</sup>, GU Jianhong<sup>1,4,5\*</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Donghai County Animal Husbandry and Veterinary Station, Lianyungang 222399, China;

3. Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety, the Ministry of Education of China, Yangzhou 225009, China;

4. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China;

5. Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** In order to investigate the potential effects of oligomeric proanthocyanidins (OPC) against cadmium (Cd) -induced damage to liver and kidney in mice, 6-month-old BALB/c female mice were used in this study and were treated with Cd and/or different dosages of OPC (50 and 100 mg/kg) alone or in combination for three months. Then, the weight, blood biochemical indexes related to the liver and kidney; the organ coefficients, histopathological changes and morphology of mitochondria and cell nuclei of the liver and kidney; the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and content of malondialdehyde (MDA) in these organs; and the

收稿日期: 2024-03-15; 修回日期: 2024-12-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31872534, 31872533, 31302154); 江苏省自然科学基金项目 (BK20181452); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)

第一作者: 李潭, 男, 硕士研究生; 李雅文, 女, 硕士研究生。<sup>#</sup>共同第一作者

\* 通信作者: 顾建红, 教授, 主要从事动物营养代谢病与中毒病研究, E-mail: jhgu@ yzu. edu. cn。

expression of Caspase-3, B lymphoblastoma 2 (Bcl-2) and Bcl-2 associated X protein (Bax) therein were calculated. The results were as follows: Compared with the control group, the weight of mice and the coefficients of liver and kidney reduced in the group treated by Cd, the lactate dehydrogenase (LDH) activity and phosphorus content in the serum increased. Watery degeneration, a small amount of cellular steatosis, mononuclear cell infiltration appeared in the liver, and the arrangement of hepatocyte cords was disordered. Renal capsule dilated, mononuclear cells infiltrated, renal tubular epithelial cells necrosis and shedding occurred in the kidney. Activities of SOD and GSH-Px in the liver and kidney decreased, while the MDA levels therein were elevated. Mitochondrion and cell nucleus there were also damaged. The pro-apoptotic protein Caspase-3 was raised and the Bcl-2/Bax ratio was reduced. Compared with the Cd group, the above indexes in the OPC + Cd combined treatment group were significantly improved. These data indicated that OPC alleviated Cd-induced liver and kidney damage in mice and might be a potential therapeutic agent for Cd poisoning.

**Keywords:** oligomeric proanthocyanidins; cadmium; liver; kidney; oxidative stress; apoptosis

镉 (cadmium, Cd) 是一种重金属污染物, 也是一种高致癌物。Cd 的半衰期较长, 进入人和动物体内在机体器官长期蓄积, 对人和动物的健康造成巨大的威胁<sup>[1]</sup>。现有证据表明, Cd 可诱导氧化应激, 对肾<sup>[2]</sup>、肝<sup>[3]</sup>、脾<sup>[4]</sup>、睾丸<sup>[5]</sup>以及骨骼<sup>[6]</sup>等产生毒性作用。肝脏和肾脏是机体毒物代谢的主要器官, 也是 Cd 毒性作用的主要靶器官<sup>[7]</sup>。有研究已经发现缓解 Cd 致肝脏和肾脏损伤的物质<sup>[8-9]</sup>, 但效果甚微, 因此进一步寻找缓解 Cd 毒性的物质仍为当前动物 Cd 毒性损伤防治研究的重点。

低聚原花青素 (OPC) 是一种存在于许多蔬菜、花卉、水果和坚果中的天然多酚生物类黄酮, 是原花青素的核心抗氧化成分。在功能上 OPC 具有抗氧化、抗炎、抗过敏、防龋齿、抗肿瘤等多种生物学活性<sup>[10]</sup>。已有研究表明, OPC 具有高度的生物可利用性, 是更好的自由基清除剂和组织氧化损伤的抑制剂, 可有效缓解对苯甲二酸诱导的 DNA 碎裂<sup>[11-12]</sup>, 缓解黄曲霉素、阿霉素和重金属所致的肝、肾等组织器官的损伤<sup>[13-14]</sup>, 缓解铅引起的肝脏和心脏代谢功能障碍<sup>[15-16]</sup>, 缓解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的肾脏细胞线粒体损伤<sup>[17-19]</sup>。然而, OPC 在 Cd 致小鼠肝脏和肾脏损伤中的作用研究较少。

本试验采用 Cd 与 OPC 单独或联合处理小鼠 3 个月, 计算肝脏和肾脏脏系数, 观察肝肾病理变化, 血液生化相关指标水平, 线粒体和细胞核损伤情况, 氧化应激水平以及凋亡相关蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)、B 淋巴细胞瘤 2 (Bcl-2) 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 的表达情况, 从临床和分子水平评估 OPC 对 Cd 致肝脏和肾脏损伤的保护作用, 为进一步揭示其保护作用机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

OPC 购自上海源叶科技有限公司; 氯化镉 (CdCl<sub>2</sub>) 购自 Sigma-Aldrich -LRB 公司; 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (SOD)

以及丙二醛 (MDA) 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 一抗购自 Santa Cruz 公司;  $\beta$ -actin 一抗购自武汉三鹰生物技术有限公司; 所有二级抗体均购自 Jackson ImmunoResearch 公司; 其他试剂均为分析级别。

### 1.2 动物试验

20 只 6 月龄 BALB/c 雌性小鼠购自扬州大学实验动物中心。试验之前, 小鼠在环境温度 (23~25 °C) 和相对湿度 48%~52% 环境下自由摄食和饮水, 适应性饲养 1 周。1 周后随机分为 4 组 (每组 5 只): 对照组, 自由饮水, 按照体重灌服去离子水; Cd 组, 50 mg/L CdCl<sub>2</sub> 水自由饮水; Cd+OPC 联合处理组 I (OPC I), 50 mg/L CdCl<sub>2</sub> 水自由饮水, OPC 按照 50 mg/kg 灌胃; Cd+OPC 联合处理组 II (OPC II), 50 mg/L CdCl<sub>2</sub> 水自由饮水, OPC 按照 100 mg/kg 灌胃。OPC 灌胃 2 d 一次, 饲喂 3 个月, 所有小鼠在最后一次灌服 OPC 后 24 h 屠宰采样。研究方案均经扬州大学动物护理与使用委员会批准 (批准文号: SYXK [Su] 2021-0027)。

### 1.3 血液生化指标测定

采用全自动血液生化分析仪对以下血清指标进行分析: 碱性磷酸酶 (ALP)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, 直接胆红素 (DBIL)、白蛋白 (ALB)、球蛋白 (GLO)、白球比 (A/G)、总蛋白 (TP)、尿素 (UREA)、肌酐 (CREA)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、钙 (Ca) 和无机磷酸盐 (P) 含量。

### 1.4 脏器系数测定

小鼠在最后一次灌服 OPC 后 24 h 称量体重, 2% 戊巴比妥钠麻醉, 脱颈椎处死, 取出肝脏和肾脏, 分别称重。计算肝脏与肾脏的脏器系数: 脏器系数 = 器官重量/体重×100%。

### 1.5 组织切片

收集小鼠肝脏和肾脏组织, 切成 3 mm<sup>3</sup> 厚组织块并浸入 4% 多聚甲醛, 于 4 °C 固定 24 h。样品在乙醇

梯度溶液 (70%、85%、95%、100%) 中脱水, 每个浓度梯度浸泡 1 h, 随后浸泡于二甲苯中透明, 浸蜡, 包埋后切成厚度为 5  $\mu\text{m}$  的切片。将石蜡切片脱蜡后, 通过梯度乙醇脱水 (乙醇浓度分别为 70%、95%、100%), 再进行苏木精染色、分色、伊红染色、脱水、封片。

### 1.6 细胞超微结构观察

将小鼠肝脏和肾脏组织置于冰上, 分别切成 2  $\text{mm}^3$  的小块, 浸入新配制的 2.5% 戊二醛中室温固定 2 h 后 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜。将切片在 PBS 中冲洗 3 次, 然后用四氧化锇固定组织, 脱水, 包埋。使用切片器切片, 然后用醋酸铀酰和柠檬酸铅染色。随后使用透射电镜观察并拍照。

### 1.7 氧化应激指标检测

根据试剂盒说明书, 检测肝脏和肾脏组织匀浆中 GSH-Px、SOD 活性以及 MDA 含量。

### 1.8 免疫组化法检测 Caspase-3 蛋白表达

肝脏和肾脏组织切片抗原修复后用 Caspase-3 抗体孵育。棕色颗粒为 Caspase-3 阳性反应物。使用载玻片扫描仪对载玻片进行扫描和成像, 并对 Caspase-3 阳性面积进行统计分析。

### 1.9 Western blot 检测凋亡相关蛋白表达情况

用含有蛋白酶抑制剂混合物的裂解缓冲液 (10  $\text{mmol/L}$  Tris, 150  $\text{mmol/L}$  NaCl, 5  $\text{mmol/L}$  EDTA, 1% Triton X-100, 10  $\text{mmol/L}$  NaF, 1  $\text{mmol/L}$  PMSF) 冰上裂解肝脏和肾脏组织, 超声裂解获得组织匀浆, 提取蛋白质。煮沸, 调整蛋白浓度后将等量的蛋白质裂解物进行 10% SDS-PAGE 分析, 然后转移至 PVDF

膜上。将 PVDF 膜泡在 0.05% 吐温-20 的 Tris 缓冲液 (TBST) 制备的封闭液 (5% 脱脂奶粉) 中封闭 2 h。Caspase-3、Bax、Bcl-2 和  $\beta$ -actin 一抗 (1:1 000 稀释) 4  $^{\circ}\text{C}$  温育过夜。PVDF 膜用 TBST 洗涤 6 次, 每次 5 min, 然后用 HRP 标记的二抗 (1:10 000 稀释) 室温温育 1.5 h。TBST 洗膜 6 次, 每次 5 min, 使用增强化学发光 (ECL) 方法进行检测, 使用 ImageJ 分析条带灰度值。

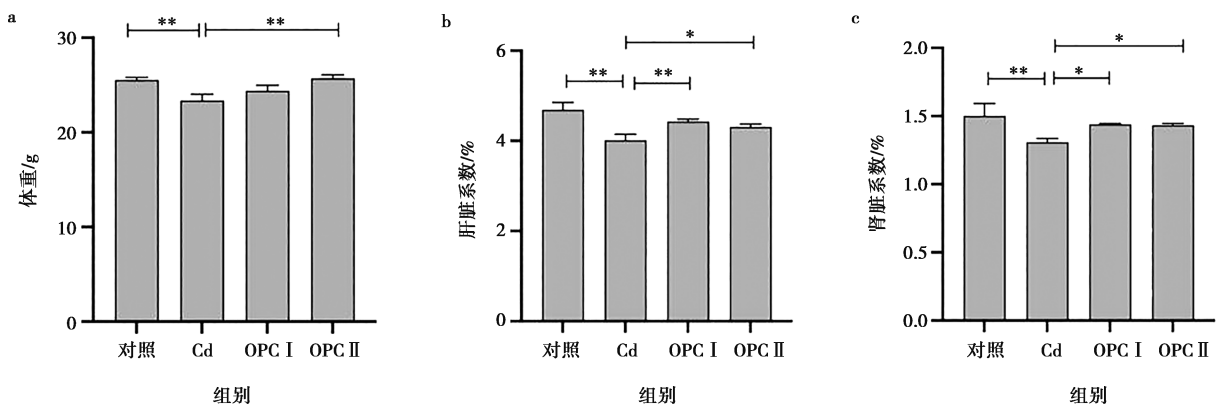
### 1.10 统计与分析

使用 SPSS 26.0 软件, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 计算显著性, 结果以 “平均数 $\pm$ 标准差” 表示。 $P<0.05$  表示差异显著,  $P<0.01$  表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 OPC 缓解 Cd 对小鼠肝脏和肾脏脏器系数的影响

小鼠适应性饲养 1 周开始试验, Cd 与 OPC 单独或联合处理 3 个月后称量每只小鼠的体重, 安乐死, 取肝脏和肾脏称重, 计算脏器系数。由图 1 可见, 与对照组相比, Cd 组小鼠体重, 肝脏和肾脏脏器系数均极显著降低 ( $P<0.01$ )。与 Cd 组比较, 联合处理组小鼠体重升高, 其中 OPC II 组体重极显著 ( $P<0.01$ ) 升高; 肝脏和肾脏脏器系数有所恢复, OPC I 和 OPC II 组肝脏脏器系数极显著 ( $P<0.01$ ) 或显著 ( $P<0.05$ ) 升高; OPC I 和 OPC II 组肾脏脏器系数均显著升高 ( $P<0.05$ )。



\* 表示  $P<0.05$ , \*\* 表示  $P<0.01$ 。下同。

图 1 OPC 缓解 Cd 对小鼠体重、肝脏和肾脏脏器系数的影响 ( $n=3$ )

### 2.2 OPC 缓解 Cd 对小鼠血液生化指标的影响

Cd 暴露及 OPC 联合处理后小鼠肝脏与肾脏相关血液生化指标变化见表 1。Cd 组 ALT 活性较对照组升高, 差异不显著 ( $P>0.05$ ), 但联合处理组 ALT

活性均显著低于 Cd 组 ( $P<0.05$ ), OPC II 组 AST/ALT 比值显著高于 Cd 组 ( $P<0.05$ )。Cd 组 LDH 活性较对照组显著升高 ( $P<0.05$ ), 联合处理组 LDH 活性均低于 Cd 组, 但差异不显著 ( $P>0.05$ )。Cd 组

血清P含量较对照组显著升高 ( $P<0.05$ ), 联合处理组P含量均显著低于Cd组, 其中OPC II组差异显著 ( $P<0.05$ )。

表1 OPC缓解Cd对小鼠血清生化指标的影响 ( $n=3$ )

指标	对照组	Cd组	OPC I组	OPC II组	参考值
TP/ ( $g \cdot L^{-1}$ )	46.10±5.13	51.40±1.18	49.50±4.65	50.50±7.00	47.20~49.54
ALB/ ( $g \cdot L^{-1}$ )	17.50±2.28	20.30±0.90	19.10±2.91	18.30±1.33	31.60~34.80
GLO/ ( $g \cdot L^{-1}$ )	28.70±3.20	32.90±2.91	30.40±1.80	32.10±5.82	14.20~17.60
A/G	0.61±0.05	0.60±0.04	0.60±0.07	0.60±0.07	—
肝功能					
DBIL/ ( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )	1.00±0.15	1.10±0.06	1.10±0.26	0.90±0.10	0.43~0.71
ALT/ ( $U \cdot L^{-1}$ )	48.70±4.73	56.30±3.79	39.00±6.08 <sup>#</sup>	36.70±11.5 <sup>#</sup>	26.65~35.67
AST/ ( $U \cdot L^{-1}$ )	140.70±27.26	144.40±29.80	145.30±30.08	147.40±31.00	112.92~145.20
AST/ALT	2.90±0.42	2.60±0.65	3.80±0.76	4.20±0.97 <sup>#</sup>	—
ALP/ ( $U \cdot L^{-1}$ )	99.30±6.80	95.00±5.20	89.10±7.98	92.30±8.69	178.26~203.22
LDH/ ( $U \cdot L^{-1}$ )	728.30±124.90	1183.10±304.48 <sup>*</sup>	941.70±162.55	889.00±30.08	759.14~1161.16
肾功能					
UREA/ ( $mmol \cdot L^{-1}$ )	6.50±0.85	5.90±0.86	6.80±0.39	6.10±0.08	3.14~4.16
CREA/ ( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )	11.80±1.89	8.60±0.86	10.40±2.42	9.90±1.32	9.34~12.62
Ca/ ( $mmol \cdot L^{-1}$ )	2.20±0.170	2.30±0.04	2.30±0.19	2.30±0.11	2.03~2.11
P/ ( $mmol \cdot L^{-1}$ )	1.90±0.02	2.40±0.21 <sup>*</sup>	1.90±0.28	1.80±0.49 <sup>#</sup>	2.56~3.06

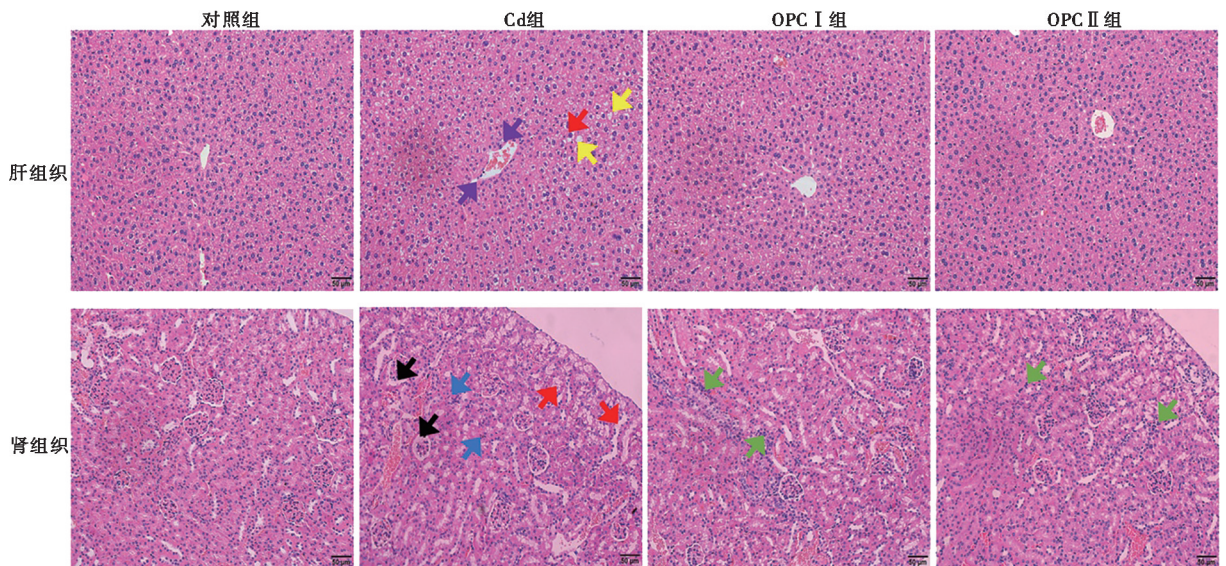
注: 同行数据肩标\*表示Cd组与对照组相比差异显著 ( $P<0.05$ ), 肩标<sup>#</sup>表示联合处理组与Cd组相比差异显著 ( $P<0.05$ )。

### 2.3 OPC缓解Cd对肝脏和肾脏的组织损伤

肝脏与肾脏组织切片采用HE染色, 光学显微镜观察分析结果见图2。肝组织切片显示, 与对照组相比, Cd组肝脏出现明显的形态学变化, 肝脏组织可见较多肝细胞水样变性, 胞质疏松淡染; 少量肝细胞脂肪变性, 胞质内出现大小不一的圆形空泡; 单核炎性细胞浸润, 肝细胞索排列紊乱。而联合处理组肝脏

结构较Cd组明显改善。

肾组织切片显示, 与对照组相比, Cd组肾囊腔扩张, 散在的单核炎性细胞浸润, 肾小管上皮细胞坏死和脱落。而联合处理组肾皮质肾小球质地正常, 仍可见散在的单核炎性细胞浸润, 但与Cd组相比均有所改善。



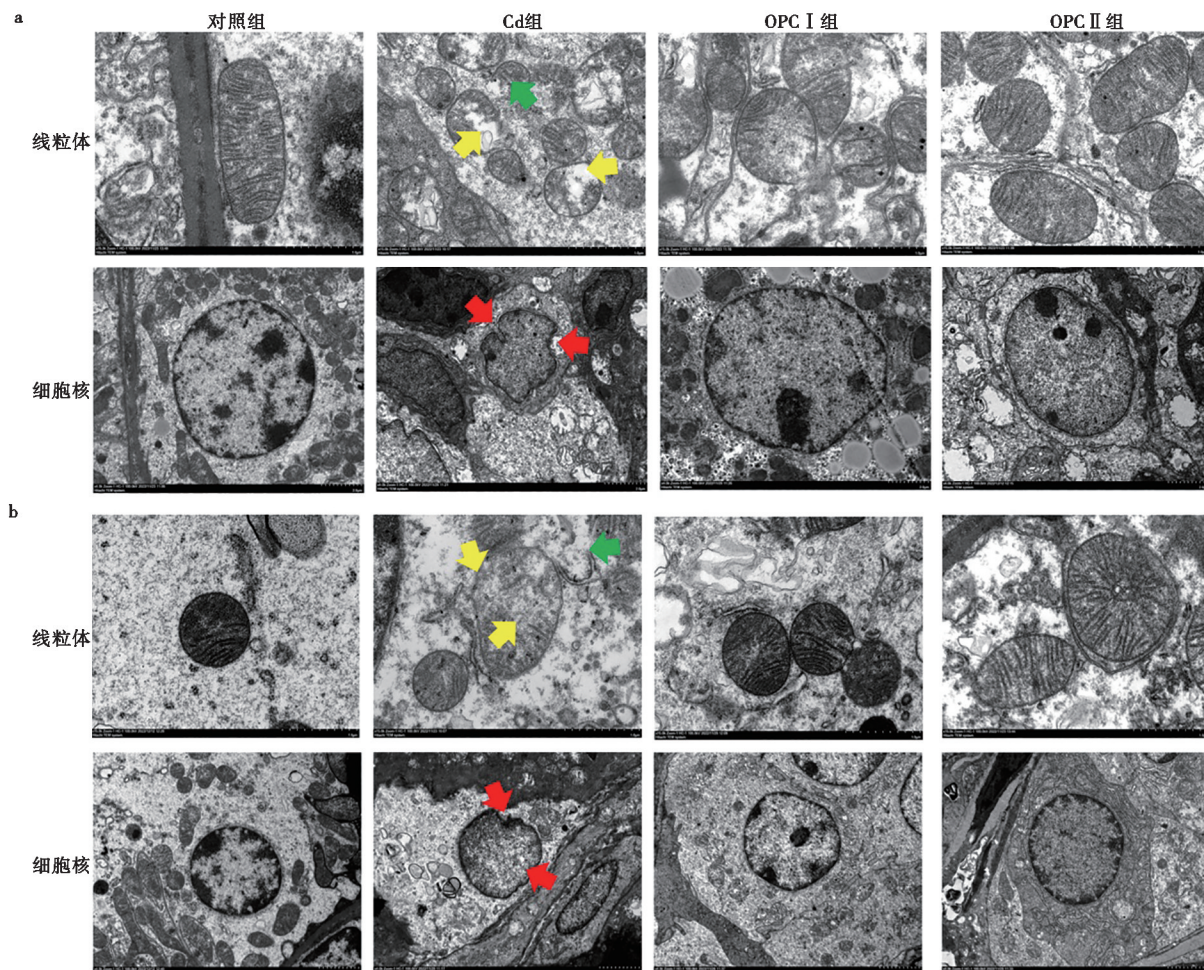
Cd组肝细胞胞质疏松淡染(红色箭头), 胞质内出现大小不一的圆形空泡(黄色箭头), 单核炎性细胞浸润(紫色箭头); Cd组肾囊腔扩张(黑色箭头), 散在的单核炎性细胞浸润(蓝色箭头), 肾小管上皮细胞坏死脱落(红色箭头), 联合处理组仍可见散在的单核炎性细胞浸润(绿色箭头)。比例尺: 50  $\mu m$ 。

图2 OPC缓解Cd对肝脏和肾脏的组织损伤 ( $n=3$ )

### 2.4 OPC 缓解 Cd 对小鼠肝脏和肾脏细胞损伤

肝脏和肾脏组织超微结构见图 3。对照组肝脏和肾脏细胞核呈圆形，线粒体结构完整，线粒体脊清晰可见。Cd 组肝脏和肾脏细胞核出现明显凹陷和变形；

线粒体明显空泡化，线粒体膜破裂，嵴断裂。与 Cd 组相比，联合处理组细胞核和线粒体的损伤减轻，形态结构趋于完整。



Cd 组肝脏和肾脏细胞核出现明显凹陷和变形 (红色箭头)，线粒体明显空泡化 (绿色箭头)，线粒体嵴断裂 (黄色箭头)。比例尺：线粒体 1 μm，细胞核 2 μm。

图 3 OPC 缓解 Cd 对小鼠肝脏 (a) 和肾脏 (b) 细胞损伤

### 2.5 OPC 缓解 Cd 诱导的肝脏和肾脏氧化应激

通过测定小鼠肝脏和肾脏中 SOD、GSH-Px 的活性和 MDA 含量评估肝脏与肾脏氧化应激状态。肝脏 (图 4a) 和肾脏 (图 4b) 的结果一致。与对照组相比，Cd 组肝脏和肾脏中的 MDA 含量显著增加 ( $P < 0.05$ )，而联合处理组 MDA 含量显著 ( $P < 0.05$ ) 或极显著 ( $P < 0.01$ ) 低于 Cd 组。与对照组相比，Cd 组肝脏和肾脏中 GSH-Px 和 SOD 活性显著 ( $P < 0.05$ ) 或极显著降低 ( $P < 0.01$ )，而联合处理组肝脏和肾脏中 GSH-Px 和 SOD 活性较 Cd 组显著升高 ( $P < 0.05$ )。

### 2.6 OPC 对 Cd 诱导肝脏和肾脏细胞凋亡相关蛋白的影响

通过免疫组织化学方法和 Western blot 法分别检

测了凋亡相关蛋白 Caspase-3 及 Bax、Bcl-2 的表达情况。图 5 免疫组化结果显示，与对照组相比，Cd 组肝脏 (图 5a) 和肾脏 (图 5b) 中 Caspase-3 的表达量极显著升高 ( $P < 0.01$ )，联合处理组 Caspase-3 表达量则较 Cd 组显著 ( $P < 0.05$ ) 或极显著下降 ( $P < 0.01$ )，并且 OPC II 处理组 Caspase-3 表达量极显著低于 OPC I 组，呈剂量依赖性。

Western blot 结果与免疫组织化学检测结果一致，与对照组相比，Cd 处理组肝脏 (图 5c) 和肾脏 (图 5d) 中 Caspase-3 表达水平极显著升高 ( $P < 0.01$ )，Bcl-2/Bax 的比值极显著下降 ( $P < 0.01$ )。联合处理组肝脏和肾脏的 Caspase-3 表达水平显著 ( $P < 0.05$ ) 或极显著 ( $P < 0.01$ ) 低于 Cd 组，联合处理组 Bcl-2/Bax 的比值均显著高于 Cd 组 ( $P < 0.05$ )。

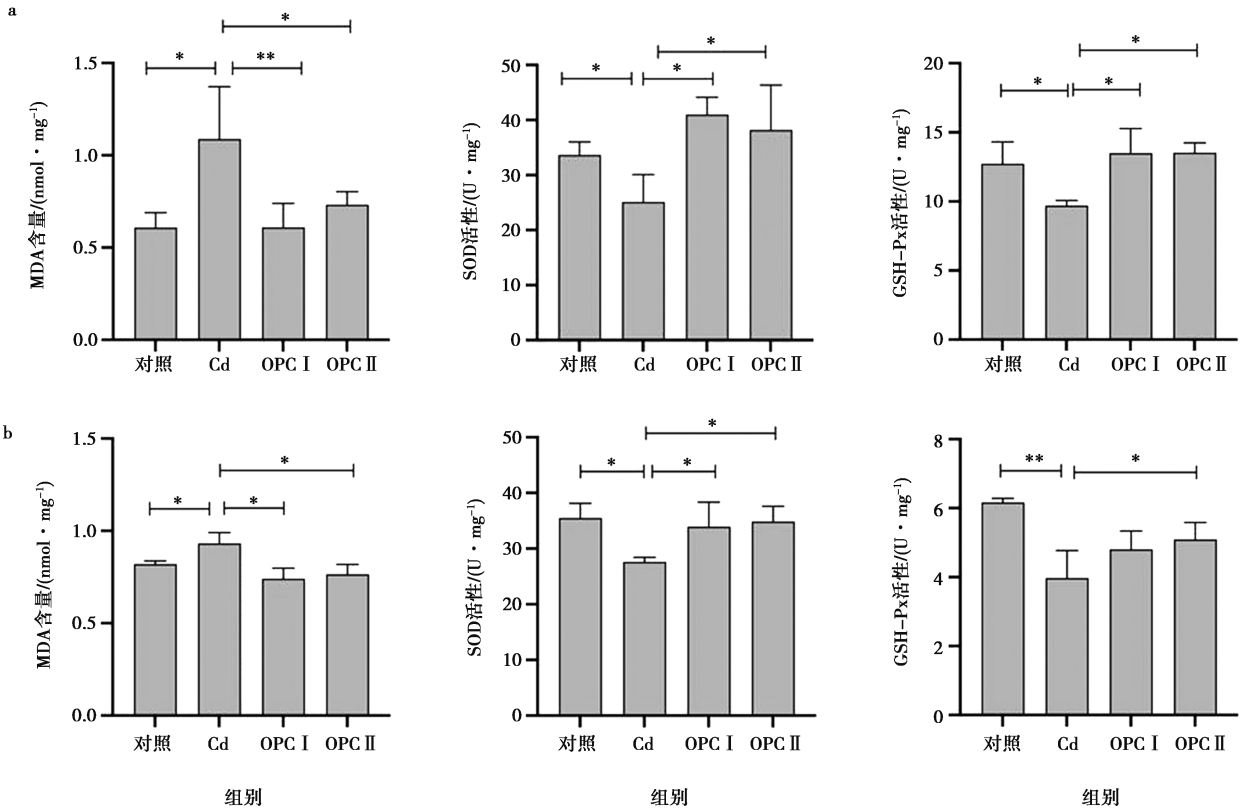
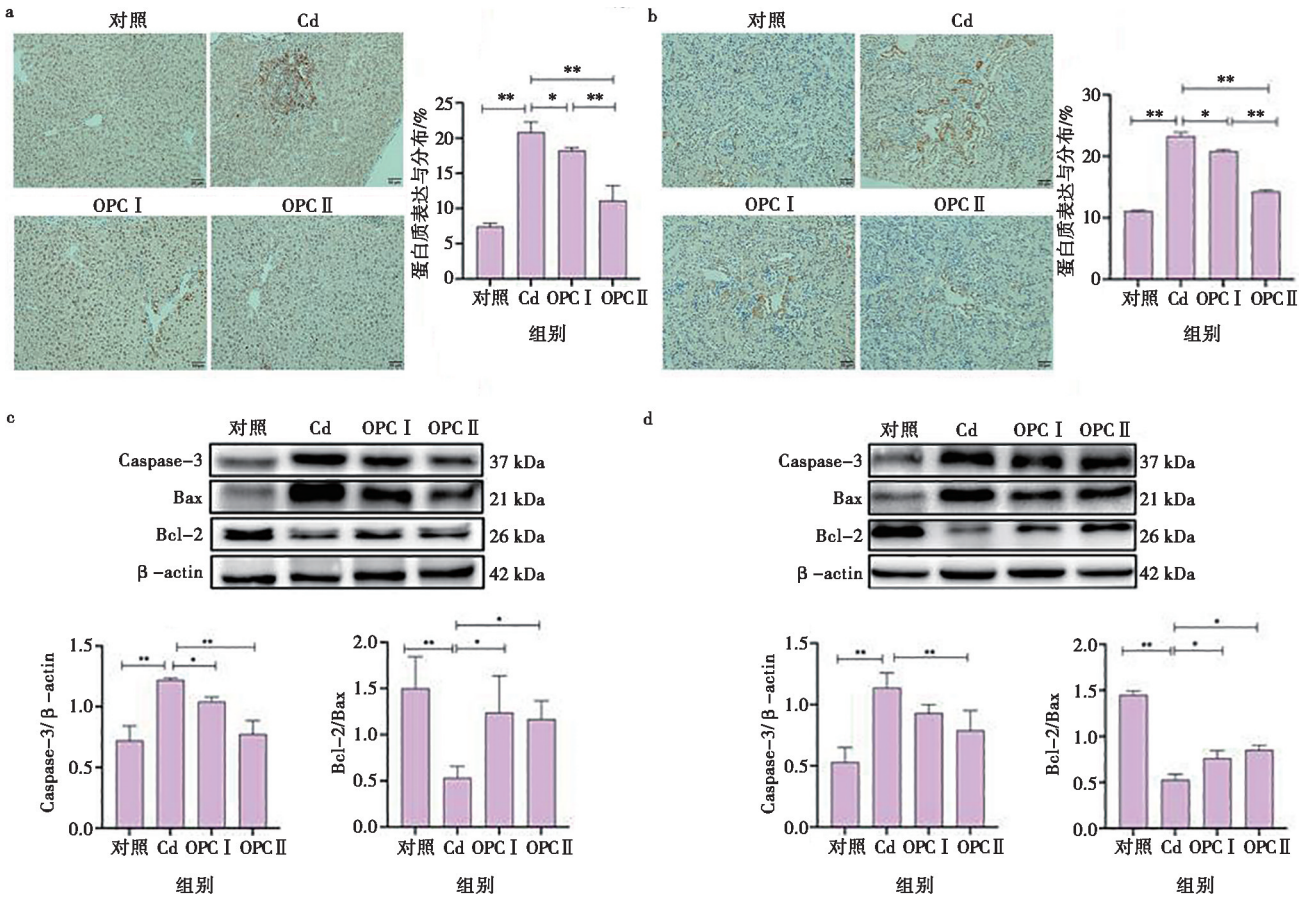


图4 OPC缓解Cd诱导的小鼠肝脏(a)和肾脏(b)氧化应激(n=3)



a. 肝脏 Caspase-3 免疫组化检查; b. 肾脏 Caspase-3 免疫组化检查; c. 肝脏样品 Western blot 检测; d. 肾脏样品 Western blot 检测。比例尺: 50 μm。

图5 OPC对Cd诱导小鼠肝脏和肾脏细胞凋亡相关蛋白表达水平的影响(n=3)

### 3 讨论

Cd 是一种可以在机体内长期蓄积的重金属污染物, 被国际癌症研究机构 (IARC) 归为一类致癌物<sup>[20]</sup>, 可以通过呼吸系统、消化系统和皮肤系统进入人和动物体内, 并在各个器官蓄积, 难以代谢。寻找有效缓解 Cd 致肝肾损伤的保护剂一直是防治 Cd 中毒性疾病的重点。OPC 是一种天然化合物, 被证明是一种有效的抗氧化剂和自由基清除剂<sup>[21]</sup>, 在缓解肝肾损伤方面发挥着重要作用<sup>[22-25]</sup>。然而, OPC 对 Cd 暴露下小鼠肝脏和肾脏损伤的保护作用鲜有报道。本试验旨在观察 Cd 对小鼠肝脏、肾脏造成的损伤情况, 进一步探究 OPC 对 Cd 致肝肾损伤的保护作用, 为深入研究 Cd 毒性的防治策略提供依据。

本研究中 Cd 和 OPC 分别通过自由饮水和灌胃的方式单独或联合处理 6 月龄 BALB/c 雌性小鼠 3 个月, 通过小鼠体重、肝脏和肾脏脏器系数、相关血液生化指标、病理变化、超微结构改变、氧化应激指标及凋亡相关蛋白的检测, 揭示 OPC 对 Cd 致小鼠肝脏和肾脏损伤的保护作用。

课题组及前人研究发现, Cd 处理会导致肝脏和肾脏损伤<sup>[26-29]</sup>。与本研究结果相似, Cd 单独处理后小鼠体重、肝脏和肾脏脏器系数较对照组明显下降; 肝功能相关血清指标 ALT 活性、LDH 活性, 肾功能相关指标血清 P 水平均较对照组升高; 肝细胞变性, 肝索排列紊乱, 炎性细胞浸润, 肝细胞线粒体与细胞核损伤; 肾囊腔扩张, 肾小管上皮细胞坏死脱落, 炎性细胞浸润, 肾脏细胞线粒体与细胞核受到损伤。OPC 与 Cd 联合处理组小鼠体重、肝脏和肾脏脏器系数有所恢复, 接近正常组; 肝功能相关血清指标 ALT 活性、LDH 活性, 肾功能相关指标血清 P 水平均较 Cd 单独处理组降低; 肝脏和肾脏结构损伤有所改善。以上结果说明, Cd 可致小鼠肝脏和肾脏损伤, OPC 可以缓解 Cd 所致的小鼠肝脏和肾脏损伤。

氧化应激是体内氧化与抗氧化作用失衡的一种状态。各种因素引发的氧化应激是致肝脏和肾脏损伤的病理生理基础。机体存在两类抗氧化系统, 一类是包括 SOD、GSH-Px 的酶抗氧化系统; 另一类是包括维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽的非酶抗氧化系统。MDA 可间接反映细胞损伤程度, 因此也常作为评价氧化应激水平的指标<sup>[30]</sup>。本研究检测了肝脏和肾脏抗氧化酶 SOD、GSH-Px 活性和组织 MDA 水平, 结果显示, Cd 暴露导致小鼠肝脏和肾脏中 MDA 含量的增加, SOD 和 GSH-Px 活性明显降低。OPC 作为非酶抗氧化剂, 与 Cd 联合处理后 MDA 水平较 Cd 单独处理组明显降低, SOD 和 GSH-Px 活性则显著升高,

与 Wang 等<sup>[31]</sup>报道的 OPC 对酒精诱导的肝脏脂肪变性和损伤具有良好的保护作用相似。研究表明, Cd 会诱导肝脏与肾脏氧化应激, OPC 能够缓解 Cd 诱导的肝脏和肾脏氧化应激。

氧化应激可以引起细胞凋亡, 抗氧化应激则可以阻止细胞发生凋亡。本研究结果显示, Cd 组肝脏和肾脏中凋亡相关蛋白 Caspase-3 表达量较对照组升高, Bcl-2/Bax 的比值较对照组降低; OPC 与 Cd 联合处理组 Caspase-3 表达量较 Cd 单独处理组下降, Bcl-2/Bax 的比值较 Cd 单独处理组上升。Bcl-2 可以作为氧化还原促进细胞内源性抗氧化酶, 如 SOD、GSH-Px 活性的升高, 可阻止细胞进入凋亡过程<sup>[32]</sup>。与本研究中 Cd 抑制 SOD、GSH-Px 活性, OPC 缓解 Cd 对 SOD、GSH-Px 活性的抑制作用一致。研究表明, Cd 能够诱导小鼠肝脏和肾脏细胞凋亡, 而 OPC 可以缓解 Cd 对小鼠肝脏和肾脏细胞凋亡的诱导作用。

### 4 结论

Cd 可降低小鼠体重, 诱导小鼠肝脏和肾脏细胞氧化应激和细胞凋亡致肝脏和肾脏损伤, 改变血液肝脏和肾脏相关生化指标; OPC 作为抗氧化剂可以缓解 Cd 诱导的小鼠肝脏和肾脏细胞氧化应激和细胞凋亡, 缓解 Cd 导致的肝脏和肾脏损伤, 是 Cd 中毒的潜在治疗剂。

### 参考文献:

- [1] TANG K K, LIU X Y, WANG Z Y, et al. Trehalose alleviates cadmium-induced brain damage by ameliorating oxidative stress, autophagy inhibition, and apoptosis [J]. *Metallomics*, 2019, 11 (12): 2043-2051.
- [2] WANG L, LI J, LI J, et al. Effects of lead and/or cadmium on the oxidative damage of rat kidney cortex mitochondria [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2010, 137 (1): 69-78.
- [3] GONG Z G, WANG X Y, WANG J H, et al. Trehalose prevents cadmium-induced hepatotoxicity by blocking Nrf2 pathway, restoring autophagy and inhibiting apoptosis [J]. *J Inorg Biochem*, 2019, 192: 62-71.
- [4] CHEN M, LI X, FAN R, et al. Selenium antagonizes cadmium-induced apoptosis in chicken spleen but not involving Nrf2-regulated antioxidant response [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017, 145: 503-510.
- [5] MOMENI H R, ESKANDARI N. Curcumin protects the testis against cadmium-induced histopathological damages and oxidative stress in mice [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 39 (5): 653-661.
- [6] HE S, ZHUO L, CAO Y, et al. Effect of cadmium on osteoclast differentiation during bone injury in female mice [J]. *Environ Toxicol*, 2020, 35 (4): 487-494.

- [7] WAN N, XU Z, LIU T, et al. Ameliorative effects of selenium on cadmium-induced injury in the chicken ovary: mechanisms of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in cadmium-induced apoptosis [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2018, 184 (2): 463-473.
- [8] LUO T, LIU G, LONG M, et al. Treatment of cadmium-induced renal oxidative damage in rats by administration of  $\alpha$ -lipoic acid [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017, 24 (2): 1832-1844.
- [9] LI R, YUAN C, DONG C, et al. *In vivo* antioxidative effect of isoquercitrin on cadmium-induced oxidative damage to mouse liver and kidney [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2011, 383 (5): 437-445.
- [10] ZHANG L, WANG Y, LI D, et al. The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins [J]. *Food Funct*, 2016, 7 (3): 1273-1281.
- [11] BAGCHI D, BAGCHI M, STOHS S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention [J]. *Toxicology*, 2000, 148 (2/3): 187-197.
- [12] BAGCHI D, GARG A, KROHN R L, et al. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice [J]. *Gen Pharmacol*, 1998, 30 (5): 771-776.
- [13] DENG Z J, ZHAO J F, HUANG F, et al. Protective effect of procyanidin B<sub>2</sub> on acute liver injury induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in rats [J]. *Biomed Environ Sci*, 2020, 33 (4): 238-247.
- [14] EI-SAYED E M, MANSOUR A M, EI-SAWY W S. Protective effect of proanthocyanidins against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31 (11): e21965.
- [15] YANG D, JIANG H, LU J, et al. Dietary grape seed proanthocyanidin extract regulates metabolic disturbance in rat liver exposed to lead associated with PPAR $\alpha$  signaling pathway [J]. *Environ Pollut*, 2018, 237: 377-387.
- [16] YANG D, LI S, GAO L, et al. Dietary grape seed procyanidin extract protects against lead-induced heart injury in rats involving endoplasmic reticulum stress inhibition and AKT activation [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 62: 43-49.
- [17] RIGOTTI M, CERBARO A F, SILVA I D R, et al. Grape seed proanthocyanidins prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis via SIRT 1 activation in embryonic kidney cells [J]. *J Food Biochem*, 2020, 44 (3): e13147.
- [18] 刘丹. 原花青素缓解镉致鸡软骨细胞外基质损伤 [D]. 扬州: 扬州大学, 2023.
- [19] 李雅文. 原花青素对镉抑制 MC3T3-E1 细胞成骨分化及致小鼠骨损伤的缓解作用 [D]. 扬州: 扬州大学, 2023.
- [20] 闻双全, 王亮, 方兰, 等. BNP3L 介导的线粒体自噬在镉致大鼠大脑皮质神经元凋亡中的作用 [J]. *畜牧与兽医*, 2025, 57 (1): 50-56.
- [21] CHEDEA V S, BRAICU C, CHIRILĂ F, et al. Antioxidant/prooxidant and antibacterial/probacterial effects of a grape seed extract in complex with lipoxygenase [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 313684.
- [22] WANG S, LIU Z, WANG Y, et al. Grape seed extract proanthocyanidin antagonizes aristolochic acid I-induced liver injury in rats by activating PI3K-AKT pathway [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2023, 33 (2): 131-140.
- [23] AMER M A, OTHMAN A I, EI-MISSIRY M A, et al. Proanthocyanidins attenuated liver damage and suppressed fibrosis in CCl<sub>4</sub>-treated rats [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2022, 29 (60): 91127-91138.
- [24] WANG Z S, SHU B, HAN Q, et al. Effects of grape seed-derived proanthocyanidin B<sub>2</sub> pretreatment on oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis of renal tubular epithelial cells in renal ischemia-reperfusion injury model of mice [J]. *Int Urol Nephrol*, 2023, 55 (10): 2599-2610.
- [25] HASSAN H A, AI-RAWI M M. Grape seeds proanthocyanidin extract as a hepatic-reno-protective agent against gibberellic acid induced oxidative stress and cellular alterations [J]. *Cytotechnology*, 2013, 65 (4): 567-576.
- [26] ZOU H, SUN J, WU B, et al. Effects of cadmium and/or lead on autophagy and liver injury in rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2020, 198 (1): 206-215.
- [27] WAN X, XING Z, OUYANG J, et al. Histomorphological and ultrastructural cadmium-induced kidney injuries and precancerous lesions in rats and screening for biomarkers [J]. *Biosci Rep*, 2022, 42 (6): BSR20212516.
- [28] GOBE G, CRANE D. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 198 (1): 49-55.
- [29] SUN J, YU F, WANG T, et al. The role of DRP<sub>1</sub>-PINK<sub>1</sub>-Parkin-mediated mitophagy in early cadmium-induced liver damage [J]. *Toxicology*, 2022, 466: 153082.
- [30] BARRERA G, PIZZIMENTI S, DAGA M, et al. Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7 (8): 102.
- [31] WANG Z, SU B, FAN S, et al. Protective effect of oligomeric proanthocyanidins against alcohol-induced liver steatosis and injury in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458 (4): 757-762.
- [32] STEINMAN H M. The Bcl-2 oncoprotein functions as a pro-oxidant [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (8): 3487-3490.