

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20231223001

何姣姣, 涂成龙, 戴智慧. 氯化甲基汞和硒代蛋氨酸联合暴露对大鼠体内汞的蓄积和毒性影响[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(2): 283-294

He J J, Tu C L, Dai Z H. Impact of co-exposure to methylmercuric chloride and selenomethionine on mercury accumulation and toxicity in rats [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2024, 19(2): 283-294 (in Chinese)

氯化甲基汞和硒代蛋氨酸联合暴露对大鼠体内汞的蓄积和毒性影响

何姣姣¹, 涂成龙^{1,2,*}, 戴智慧^{3,#}

1. 贵州医科大学公共卫生与健康学院, 环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵阳 561113

2. 贵州医科大学毒性检测中心, 贵阳 561113

3. 中国科学院地球化学研究所, 矿床地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081

收稿日期: 2023-12-23 录用日期: 2024-01-24

摘要: 本研究旨在通过用氯化甲基汞和硒代蛋氨酸对大鼠进行暴露, 为进一步研究汞和硒在生物体内的蓄积作用及其在体内的生物转运机制提供重要支持。冷原子荧光光谱法(cold atomic fluorescence spectrometry, CVAFS)检测大鼠汞含量; 氢化物发生原子荧光光谱法(hydride occurrence by atomic fluorescence spectroscopy, HG-AFS)检测大鼠硒含量; 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察组织形态; 单因素方差分析(One-way ANOVA)和 Bonferroni 法分析大鼠中汞和硒分布的差异性, 采用独立样本 *T* 检验(independent sample *T*-test)分析各组之间肝肾功能的差异性。结果显示, 不同性别之间雄鼠的汞和硒蓄积量高于雌鼠, 相同性别内大鼠对汞和硒的蓄积量大小为肾脏>肝脏>脑>毛发≈粪便, 且随着时间的变化汞蓄积量逐渐增加, 硒暴露组大鼠肝、肾、脑中硒的蓄积量在 30~60 d 内随暴露时间的延长持续增加, 而到 90 d 时出现了回落的现象; 硒汞联合暴露组中相同汞暴露情况下, 随着硒暴露剂量增加各组织汞蓄积量也增加; 补硒后, 汞和硒蓄积量都有所增加, 但汞蓄积量低于单汞组; 从生化指标和病理观察看, 与对照组相比, 单汞组和中硒高汞组的大鼠组织损害程度较为严重, 单硒组损害程度最轻。综上所述, 硒汞的相互作用会影响在组织中汞和硒的蓄积分布, 硒共暴露以及补硒能促进各组织对汞的吸收, 其结果受硒暴露量和补硒浓度的影响; 汞和硒蓄积量能影响大鼠各组织病理改变程度以及肝肾功能, 汞蓄积量越高对组织的损害程度越高。

关键词: 汞; 硒; 大鼠; 蓄积

文章编号: 1673-5897(2024)2-283-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Impact of Co-exposure to Methylmercuric Chloride and Selenomethionine on Mercury Accumulation and Toxicity in Rats

He Jiaojiao¹, Tu Chenglong^{1,2,*}, Dai Zhihui^{3,#}

1. School of Public Health, the Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang 561113, China

2. Toxicity Testing Center of Guizhou Medical University, Guiyang 561113, China

3. State Key Laboratory of Deposit Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China

Received 23 December 2023 accepted 24 January 2024

基金项目: 国家自然科学基金项目(42273083, 42077313)

第一作者: 何姣姣(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生态毒理学, E-mail: 1739842509@qq.com

* 通信作者 (Corresponding author), E-mail: chenglongtu@163.com

共同通信作者 (Co-corresponding author), E-mail: daizhihui@mail.gyig.ac.cn

Abstract: The aim of this study is to provide important support for further research on the accumulation and transport mechanisms of mercury and selenium *in vivo* by exposing rats to methylmercury chloride and selenomethionine. Cold atomic fluorescence spectroscopy (CVAFS) was used to detect the mercury content in rats; hydride occurrence by atomic fluorescence spectroscopy (HG-AFS) was used to detect the selenium content in rats; hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe tissue morphology; One-way ANOVA and Bonferroni methods were used to analyze the differences in mercury and selenium distribution in rats, and Independent sample *T*-test was used to analyze the differences in liver and kidney function between groups. The results showed that the accumulation of mercury and selenium in male mice was higher than that in female mice of different genders, and the accumulation of mercury and selenium in rats of the same gender was in the order of kidney>liver>brain>hair≈feces, and the accumulation of mercury gradually increased with time. The accumulation of selenium in the liver, kidney, and brain of rats exposed to selenium continued to increase with the extension of exposure time from 30 to 60 d, and a phenomenon of decline appeared at 90 d; in the combined selenium and mercury combined exposure group, under the same mercury exposure conditions, the mercury accumulation in each tissue also increased with the increase of selenium exposure dose; after selenium supplementation, both mercury and selenium accumulation increased, but the mercury accumulation was lower than that of the single mercury group; from biochemical indicators and pathological observations, compared with the control group, the single mercury group and the medium selenium high mercury group had more severe tissue damage in rats, while the single selenium group had the lowest degree of damage. In summary, the interaction between selenium and mercury can affect the accumulation and distribution of mercury and selenium in tissues. Co exposure to selenium or supplementation with selenium can promote the absorption of mercury in various tissues, and the results are influenced by the exposure level and supplementation concentration of selenium and mercury. The accumulation of mercury and selenium can affect the degree of pathological changes in various tissues and liver and kidney function in rats. The higher the accumulation of mercury, the greater the degree of tissue damage.

Keywords: mercury; selenium; rat; accumulation

汞是一种有害金属,释放到环境中会对生态系统和人类健康造成一定的风险,汞及其化合物对动物多个组织亦会产生危害,主要蓄积在肾脏,造成近端肾小管功能障碍,其中以有机汞化合物毒性最强^[1-2],具有高神经毒性、致癌性、心血管毒性、生殖毒性、免疫系统效应和肾脏毒性等^[3],由于汞及其化合物对环境的强毒性,已引起了世界各国对汞的广泛关注和重视;另一方面,硒在自然界中主要以单质硒、无机硒和有机硒(硒代蛋氨酸)的形式存在,是动物和人类必需的微量元素^[4],参与多种生物代谢过程,在生物体内起着重要的作用,硒的缺乏^[5]以及硒的过量^[6]或会对人体产生严重危害。一般而言,吸收不同外源性汞和硒化合物均能迅速地分布到各组织脏器中,但是由于各组织中的代谢半衰期不同,生物体内汞、硒的器官亲和性以肝、肾最为明显^[7-8]。

自1967年Parížek和Ostádalová^[9]首次报道硒拮抗汞的毒性效应以来,硒、汞相互作用研究就成为环境化学和毒理学领域的热点。Tinggi和Perkins^[10]

研究也发现,硒对环境中汞的行为和归宿具有重要影响,对 Hg^{2+} 、甲基汞具有抑制作用,在许多研究案例中显示出硒能有效缓解甲基汞的中毒症状。然而,尽管有许多研究探讨了硒和汞在生物体内的相互作用,但硒和汞共暴露的相互作用机制仍存在争议^[11]。本研究用氯化甲基汞和硒代蛋氨酸对大鼠进行不同时间段的暴露,探索总汞、硒在大鼠肝、肾、脑、毛发、粪便中的蓄积分布特征及其之间的相互关系,并结合肝、肾、脑组织的病理学观察,以期为进一步研究汞和硒在生物体内的蓄积作用及其在体内的生物转运机制提供重要支持。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 主要仪器和试剂

主要仪器:原子荧光仪(中国北京瑞利分析仪器有限公司, AFS-630);冷冻干燥机(中国宁波新芝生物科技股份有限公司, SCIENTZ-12N);超纯水处理系统(中国重庆市安特生, Milli-Q)。

主要试剂:氯化甲基汞($\geq 95\%$)购自美国 Sigma

公司;硒代蛋氨酸($\geq 98\%$)购自美国 Sigma 公司;硝酸(HNO_3)为优级纯,购自中国国药集团化学试剂有限公司;硒标准液($1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)购自中国阿拉丁公司;汞标准液($1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)购自中国阿拉丁公司。

1.2 动物实验

实验动物选用 Sprague-Dawley(SD)4 周龄健康大鼠,体质量(70 ± 10) g,均购自长沙市天勤生物技术有限公司,合格证号为 SCXK(湘)2019-0014,本研究经贵州医科大学伦理委员会审查批准,批准号为 2200211,大鼠在适宜湿度和温度下喂养,使用的笼子用热的洗涤剂去污并除去痕量汞。

1.3 动物给药及分组方式

查阅文献可知大鼠氯化甲基汞(MeHgCl)经口灌胃 LD_{50} 是 $58\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[12],结合相关文献^[13]设氯化甲基汞的暴露剂量为 $0.1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,成年鼠的硒代蛋氨酸最大耐受剂量(MTD)为 $2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ^[14],采用 MTD 法设 $1/5$ MTD 为单硒组($\text{Se}_{0.4}$),联合暴露组中以 $\text{MeHgCl}_{0.1}$ 和 $\text{Se}_{0.4}$ 设为高剂量, $\text{MeHgCl}_{0.05}$ 和 $\text{Se}_{0.2}$ 为中剂量。适应性喂养 1 周后,大鼠分为对照组、单汞组、单硒组($\text{Se}_{0.4}$)、中硒中汞组($\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.2}$)、中硒高汞组($\text{MeHgCl}_{0.1}+\text{Se}_{0.2}$)、高硒中汞组($\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.4}$),其中单汞组在暴露 30 d 后分为 2 组,一组继续进行 $\text{MeHgCl}_{0.1}$ 暴露,一组进行 $\text{Se}_{0.4}$ 暴露,每组大鼠 6 只。根据 30、60、90 d 不同暴露时间,暴露结束后用剃须刀收集大鼠背部毛发并置于干燥处保存;用代谢笼收集 24 h 大鼠粪便后进行冷冻干燥,便于后续元素测量;收集完毛发、粪便后经麻醉处死大鼠并心脏采血,采血结束后取出肝、肾、脑组织,一部分组织置于多聚甲醛溶液中保存进行 HE 染色,另一部分组织在冷冻干燥机 48 h 处理后进行元素测量。

1.4 总汞、硒含量测定

总汞含量测定^[15]:称取样品 $0.10\sim 0.20\ \text{g}$ 置于 $25\ \text{mL}$ 硼硅玻璃比色管中,加入 $5\ \text{mL}$ HNO_3 ,比色管口放上酸处理后的玻璃球,在 $95\ ^\circ\text{C}$ 水浴中进行 3 h 样品消解,冷却后先加入少量超纯水,然后再加入 $0.5\ \text{mL}$ BrCl 。约 24 h 后再加 2~3 滴 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液,使淡黄色退去便可加超纯水定容至 $25\ \text{mL}$ 。经 SnCl_2 还原,通过原子荧光仪用冷原子荧光光谱法(cold atomic fluorescence spectrometry, CVAFS)进行测定。

硒含量测定^[16]:称取样品 $0.05\sim 0.10\ \text{g}$ 放入特富龙消解罐中,加入 $3\ \text{mL}$ HNO_3 过夜后置于钢套中

拧紧,放入烘箱 $150\ ^\circ\text{C}$ 恒温加热 6 h。待冷却后,在通风橱内打开消解罐,向消解液中加入 $1\ \text{mL}$ H_2O_2 ,在 $90\ ^\circ\text{C}$ 的电热板上加热 60 min 至无气泡产生,后升高温度至 $110\ ^\circ\text{C}$ 蒸至近干,再加入 $6\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 定容至 $3\ \text{mL}$,然后转移到 $15\ \text{mL}$ 的离心管中于 $95\ ^\circ\text{C}$ 下水浴加热 120 min,稀释至 $10\ \text{mL}$,由原子荧光仪用氢化物发生原子荧光光谱法(hydride occurrence by atomic fluorescence spectroscopy, HG-AFS)进行测定。

总汞(T-Hg)含量用冷原子荧光光谱法(CVAFS 法)测定,硒含量采用氢化物发生原子荧光光谱法(HG-AFS 法)测定,采用汞、硒标准液体进行质量控制,每个样品测量 3 次,取平均值。

1.5 汞和硒对大鼠肝肾的毒性研究

心脏取血后在 $4\ ^\circ\text{C}$ 环境下静置 1 h, $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清液测定血清中肝、肾功能相关指标;摘取部分肝、脑、肾组织用 4% 多聚甲醛固定,将固定的组织用石蜡包埋, $4\ \mu\text{m}$ 切片,经过脱蜡脱水,苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,并在显微镜下进行肝、肾组织形态学检查。

1.6 统计学分析

实验数据采用 SPSS 25.0 软件进行分析,正态分布的数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm S$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),随后用 Bonferroni 法进行组间两两比较,2 组间比较采用独立样本 T 检验(independent sample T -test),检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果 (Results)

2.1 对大鼠肝脏、肾脏、脑组织及其毛发、粪便中汞蓄积情况的影响

如表 1 所示,汞含量与大鼠性别、大鼠组织类别、硒与汞联合暴露剂量、暴露时间均相关。总体而言,雄鼠中汞蓄积量高于雌鼠中汞蓄积量,差异具有统计学意义($P<0.05$);相同性别大鼠体内,比较各组织以及毛发、粪便的蓄积量发现,对汞的蓄积量大小依次为:肾脏>肝脏>脑>毛发 \approx 粪便,肾脏中的汞蓄积量远远高于其他组织,肝脏中汞蓄积量也高于脑,且均呈现显著性差异($P<0.05$);连续给药 30、60、90 d 后,与对照组相比,除单硒组外,其他组汞蓄积量可见明显的升高($P<0.05$),中硒高汞组大鼠中汞蓄积量最高,其次是单汞组,且随时间的增加而逐渐增加;相同汞暴露剂量情况下,随硒暴露剂量增加,各组织汞蓄积量也增加,说明硒可以促进各组织对汞的吸收,如图 1、图 2 所示。

表1 大鼠肝、脑、肾、毛发、粪便中总汞蓄积量 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ($\bar{x}\pm S, n=3$)Table 1 Total mercury accumulation in the liver, brain, kidney, hair, and feces of rats ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ($\bar{x}\pm S, n=3$)

性别 Gender	组别 Group	时间/d Time/d	肝 Liver	脑 Brain	肾 Kidney	毛发 Hair	粪便 Feces
雌 Female	MeHgCl _{0.1}	30	57.67±1.31* ^c	54.50±0.41* ^c	290.77±10.09* ^b	1.61±0.01*	2.61±0.01*
		60	157.75±1.78* ^b	113.32±0.67* ^b	857.57±1.34* ^b	3.66±0.05*	2.99±0.01*
		90	169.33±0.51* ^a	144.41±1.07* ^a	1 048.67±9.32* ^a	10.03±0.16*	4.05±0.03*
	Se _{0.4}	30	47.33±1.66 ^b	50.59±2.84* ^b	55.68±1.10 ^c	1.49±0.06	1.80±0.01
		60	56.58±2.37* ^a	59.04±0.31* ^a	66.30±0.27 ^b	2.54±0.06	3.51±0.04
		90	58.75±2.75 ^a	63.81±2.29* ^a	123.07±1.99* ^a	3.25±0.06	3.77±0.05
	MeHgCl _{0.05} +Se _{0.2}	30	93.28±2.65* ^c	68.58±0.79* ^c	143.00±3.85* ^c	1.91±0.03*	1.82±0.01
		60	114.83±1.36* ^b	95.23±2.00* ^b	272.89±1.51* ^b	3.70±0.11*	3.43±0.27*
		90	177.83±0.66* ^a	114.51±1.86* ^a	597.35±1.06* ^a	5.73±0.04*	3.71±0.01
	MeHgCl _{0.1} +Se _{0.2}	30	108.98±0.21* ^b	93.93±0.79* ^c	272.03±7.22* ^a	2.17±0.04*	2.03±0.01*
		60	272.08±1.33* ^a	222.95±1.06* ^a	927.55±19.02* ^b	5.98±0.06*	4.10±0.01*
		90	285.17±10.30* ^a	182.65±1.22* ^b	1 014.54±8.63* ^a	6.42±0.06*	3.35±0.09*
	MeHgCl _{0.05} +Se _{0.4}	30	95.67±1.70* ^c	73.50±2.41* ^c	186.12±1.00* ^c	2.09±0.12*	2.39±0.01*
		60	125.99±3.20* ^b	119.67±0.62* ^b	548.38±3.02* ^b	4.06±0.02*	3.63±0.04*
		90	190.33±1.12* ^a	140.62±0.85* ^a	671.02±1.46* ^a	6.40±0.08*	3.73±0.04
	对照组 Control	30	50.67±2.38	42.25±0.94	52.22±1.46	1.45±0.04	1.80±0.01
		60	51.58±1.76	43.25±2.81	60.13±0.53	2.48±0.05	3.43±0.05
		90	53.33±3.19	51.83±1.48	73.45±1.22	3.15±0.08	3.68±0.04
雄 Male	MeHgCl _{0.1}	30	105.75±1.34* ^{c#}	80.38±2.29* ^{c#}	394.98±17.53* ^{c#}	2.75±0.05* [#]	2.11±0.00* [#]
		60	123.83±0.77* ^{b#}	102.59±1.34* ^{b#}	618.91±1.86* ^{b#}	7.20±0.04* [#]	2.85±0.01* [#]
		90	381.58±1.33* ^{a#}	197.93±1.06* ^{a#}	1 423.72±4.55* ^{a#}	7.41±0.33* [#]	3.89±0.02* [#]
	Se _{0.4}	30	67.92±0.51* ^{b#}	61.83±1.76* ^{b#}	122.63±2.32 ^{b#}	2.07±0.04* [#]	2.06±0.02* [#]
		60	37.92±0.83* ^{c#}	44.20±0.96* ^{c#}	53.52±1.73* ^{c#}	2.93±0.02* [#]	3.36±0.07*
		90	145.00±1.54* ^{a#}	132.93±1.48* ^{a#}	222.63±4.86* ^{a#}	3.59±0.05* [#]	2.50±0.06* [#]
	MeHgCl _{0.05} +Se _{0.2}	30	103.42±2.86* ^{c#}	91.33±0.78* ^{c#}	231.78±0.26* ^{b#}	2.48±0.03* [#]	1.89±0.01* [#]
		60	111.58±1.54* ^b	101.29±0.80* ^{b#}	273.00±0.27* ^c	4.54±0.07* [#]	3.89±0.05* [#]
		90	172.75±1.54* ^{a#}	157.19±1.77* ^{a#}	390.03±0.27* ^{a#}	5.37±0.03* [#]	2.66±0.01* [#]
	MeHgCl _{0.1} +Se _{0.2}	30	129.42±1.64* ^{c#}	122.63±2.47* ^{b#}	327.06±5.77* ^{c#}	2.69±0.05* [#]	2.16±0.02* [#]
		60	213.17±0.72* ^{b#}	116.89±1.60* ^{b#}	736.23±1.77* ^{b#}	6.34±0.65 [#]	3.88±0.05 [#]
		90	398.58±2.72* ^{a#}	240.07±1.34* ^{a#}	1 191.02±2.47* ^{a#}	9.85±0.32* [#]	3.11±0.01* [#]
	MeHgCl _{0.05} +Se _{0.4}	30	120.67±0.96* ^b	100.32±2.47* ^{c#}	288.06±3.98* ^{c#}	2.45±0.05* [#]	2.22±0.02* [#]
		60	124.08±1.56* ^b	122.31±2.58* ^b	306.37±1.46* ^{b#}	5.16±0.02* [#]	3.70±0.01*
		90	175.42±0.83* ^{a#}	163.04±2.92* ^{a#}	421.31±1.71* ^{a#}	5.60±0.10*	3.22±0.04* [#]
	对照组 Control	30	63.75±1.34	55.33±0.72	118.52±2.00	2.05±0.02	1.76±0.02
		60	68.25±1.14	59.58±0.67	115.70±1.86	1.93±0.03	1.55±0.03
		90	77.50±0.74	71.93±1.60	114.50±1.62	3.65±0.02	3.79±0.05

注:数据统计采用单因素方差分析(One-way ANOVA),*表示同一性别内各组与对照组(Control)相比,汞蓄积量差异具有统计学意义($P<0.05$);[#]表示雄鼠与雌鼠相比,汞蓄积量差异有统计学意义($P<0.05$);a/a、b/b等相同字母表示同一组不同时间内汞蓄积量差异无统计学意义,a/b、a/c等不同字母表示同一组不同时间内汞蓄积量差异有统计学意义($P<0.05$)。

Note: The data was analyzed using One-way ANOVA, where * indicates that there is a statistically significant difference in mercury accumulation between each group and the control group (Control) within the same gender ($P<0.05$); [#] there is a statistically significant difference in mercury accumulation between male and female rats ($P<0.05$); the same letters such as a/a and b/b indicate that there is no statistically significant difference in mercury accumulation in the same group at different times, while different letters such as a/b and a/c indicate that there is a statistically significant difference in mercury accumulation in the same group at different time ($P<0.05$).

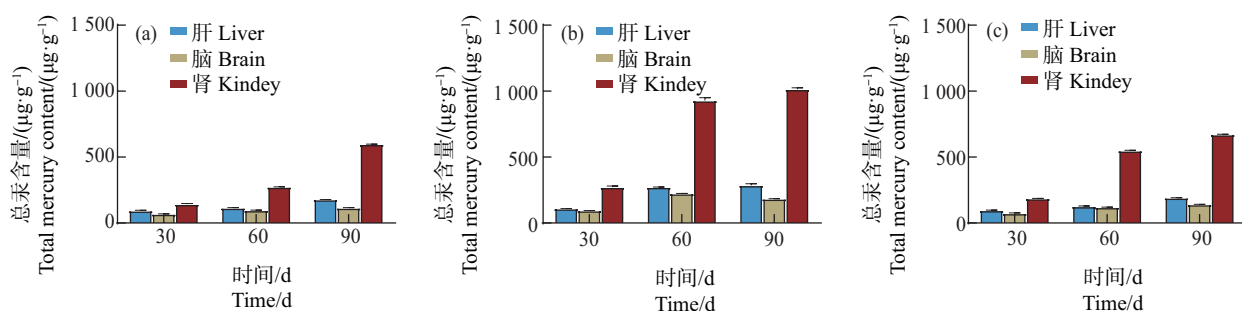


图 1 雌鼠中硒汞联合暴露组各组织总汞蓄积量的分布 ($n=3$)

注:(a) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.2}$; (b) $\text{MeHgCl}_{0.1}+\text{Se}_{0.2}$; (c) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.4}$ 。

Fig. 1 Distribution of total mercury accumulation in the combined exposure group in female rats ($n=3$)

Note: (a) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.2}$; (b) $\text{MeHgCl}_{0.1}+\text{Se}_{0.2}$; (c) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.4}$ 。

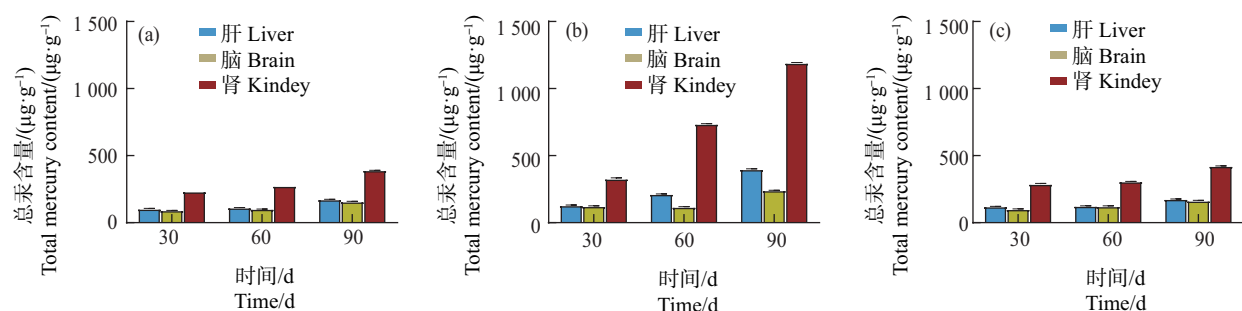


图 2 雄鼠中硒汞联合暴露组各组织总汞蓄积量的分布 ($n=3$)

注:(a) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.2}$; (b) $\text{MeHgCl}_{0.1}+\text{Se}_{0.2}$; (c) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.4}$ 。

Fig. 2 Distribution of total mercury accumulation in the combined exposure group in male rats ($n=3$)

Note: (a) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.2}$; (b) $\text{MeHgCl}_{0.1}+\text{Se}_{0.2}$; (c) $\text{MeHgCl}_{0.05}+\text{Se}_{0.4}$ 。

2.2 对大鼠肝脏、肾脏、脑组织及其毛发、粪便中硒蓄积情况的影响

如表 2 所示,硒与汞蓄积量在大鼠体内的分布规律相似,普遍以雄鼠硒蓄积量高于雌鼠且差异具有统计学意义($P<0.05$),肾脏和肝脏组织中硒蓄积量高于脑组织和毛发、粪便;硒暴露的各组大鼠中硒蓄积量在 30~60 d 暴露时间段内持续增加,而在 90 d 时,出现了下降的现象;与对照组相比,除单汞组中脑硒蓄积量与之无差异外,其余均有显著性差异($P<0.05$);联合暴露组各暴露剂量对硒的影响不大,提示汞对硒的作用较小。

2.3 补硒对单汞组大鼠蓄积作用的影响

在补硒的 60 d 过程中,补硒后各组织中汞和硒蓄积量有所增加,并且雄鼠高于雌鼠($P<0.05$);汞蓄积量总体低于同时期单汞组,补硒 30 d 时略有下降,在 30~60 d 时间段又出现回升的现象;硒蓄积量呈现上升趋势且高于同时期单汞组,但上升趋势较为缓慢,差异均具有统计学意义($P<0.05$),提示各

组织在该补硒浓度下对汞的促进吸收作用效果较小,如表 3、表 4 所示。

2.4 对肝肾功能的影响

生物体内在各种病毒性肝炎的急性期、药物中毒性肝细胞坏死时,丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷氨酰基转移酶(GGT)指标大量释放入血,是诊断肝功能的重要指标。经检测,单汞组大鼠血清中 ALT、AST 和 GGT 指标与对照组比较差异具有统计学意义,单硒组大鼠血清中 ALT、GGT 与对照组比较差异具有统计学意义($P<0.05$);血清中尿素(UREA)、肌酐(CREA-M)、尿酸(UA)等指标是反映肾功能的指标,各组大鼠血清中肾功能指标与对照组相比均无统计学差异。见表 5、表 6。

2.4.1 对肝脏组织形态的影响

显微镜下观察发现,经 HE 染色后的肝脏细胞,对照组肝脏肝小叶结构完整,肝血窦结构清晰,肝索单层细胞放射状排列(图 3(a));单硒组肝脏组织结果

表2 大鼠肝、脑、肾、毛发、粪便中硒蓄积量 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ($\bar{x}\pm S, n=3$)Table 2 Selenium accumulation in the liver, brain, kidney, hair, and feces of rats ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ($\bar{x}\pm S, n=3$)

性别 Gender	组别 Group	时间/d Time/d	肝 Liver	脑 Brain	肾 Kidney	毛发 Hair	粪便 Feces	
雌 Female	MeHgCl _{0.1}	30	15.01±0.09* ^c	1.92±0.10 ^b	39.95±0.08* ^c	0.70±0.01*	0.61±0.01*	
		60	32.90±0.23* ^a	2.86±0.08 ^a	69.96±0.11* ^a	1.25±0.04*	0.73±0.10*	
		90	21.68±0.33* ^b	2.06±0.11 ^b	45.65±0.10* ^b	0.82±0.01*	0.67±0.01*	
	Se _{0.4}	30	35.78±0.04* ^c	14.63±0.20* ^b	63.91±0.03* ^c	8.68±0.80*	8.05±0.27*	
		60	65.24±0.48* ^a	20.12±0.19* ^a	93.57±0.38* ^a	14.16±0.06*	12.52±0.02*	
		90	51.19±0.02* ^b	14.46±0.08* ^b	85.86±0.20* ^b	14.00±0.14*	11.17±0.04*	
	MeHgCl _{0.05} +Se _{0.2}	30	35.26±0.43* ^c	9.78±0.21* ^b	53.85±0.18* ^b	7.40±0.16*	3.64±0.05*	
		60	41.10±0.15* ^a	10.24±0.10* ^b	70.35±0.85* ^a	9.35±0.02*	4.80±0.02*	
		90	38.30±0.41* ^b	11.80±0.46* ^a	70.46±0.21* ^a	8.94±0.03*	4.42±0.08*	
	MeHgCl _{0.1} +Se _{0.2}	30	22.69±0.07* ^c	7.06±0.07* ^b	60.03±0.43* ^b	8.30±0.37*	2.42±0.03*	
		60	36.53±0.41* ^a	7.40±0.11* ^a	67.75±0.26* ^a	7.77±0.02*	6.19±0.11*	
		90	26.86±0.02* ^b	7.50±0.05* ^a	60.82±0.48* ^b	5.75±0.02*	3.50±0.02*	
	MeHgCl _{0.05} +Se _{0.4}	30	42.04±0.34* ^b	13.24±0.41* ^c	65.31±0.30* ^c	11.72±0.07*	7.66±0.62*	
		60	43.85±0.23* ^a	21.88±0.31* ^a	98.19±0.12* ^a	18.14±0.08*	13.26±0.05*	
		90	42.19±0.12* ^b	20.44±0.25* ^b	74.77±0.01* ^b	12.71±0.09*	11.45±0.01*	
	对照组 Control	30	17.24±0.26	2.50±0.12	30.29±0.10	0.85±0.02	0.39±0.01	
		60	10.45±0.16	2.28±0.06	27.55±0.05	0.75±0.01	0.42±0.02	
		90	9.73±0.01	2.34±0.07	25.66±0.08	0.61±0.01	0.58±0.01	
	雄 Male	MeHgCl _{0.1}	30	12.25±0.28* ^{c#}	1.97±0.09* ^c	25.39±0.36* ^{c#}	0.44±0.02* [#]	0.32±0.01* [#]
			60	29.80±0.23* ^{a#}	17.50±0.28* ^{a#}	59.29±0.50* ^{a#}	0.86±0.02* [#]	0.64±0.03* [#]
			90	20.31±0.23* ^{b#}	3.12±0.10 ^{b#}	31.42±0.47* ^{b#}	0.47±0.14* [#]	0.43±0.17* [#]
Se _{0.4}		30	40.88±0.37* ^{b#}	15.26±0.14* ^{c#}	76.56±0.18* ^{b#}	6.26±0.15* [#]	4.56±0.06* [#]	
		60	42.21±0.26* ^{a#}	22.23±0.07* ^{a#}	80.79±0.03* ^{a#}	18.48±0.01* [#]	13.16±0.02* [#]	
		90	42.20±0.13* ^{a#}	19.42±0.01* ^{b#}	68.13±0.32* ^{c#}	17.97±0.12* [#]	13.54±0.32* [#]	
MeHgCl _{0.05} +Se _{0.2}		30	23.07±0.07* ^{c#}	7.20±0.05* ^{c#}	41.08±0.09* ^{c#}	4.19±0.31* [#]	3.52±0.05*	
		60	39.65±0.67* ^{a#}	19.31±0.09* ^{a#}	82.61±0.08* ^{a#}	8.44±0.02* [#]	6.85±0.01* [#]	
		90	26.86±0.63* ^{b#}	9.24±0.05* ^{b#}	55.08±0.48* ^{b#}	7.79±0.01* [#]	5.68±0.09* [#]	
MeHgCl _{0.1} +Se _{0.2}		30	27.36±0.27* ^{b#}	7.91±0.06* ^{c#}	42.95±0.03* ^{c#}	4.48±0.09* [#]	3.02±0.01* [#]	
		60	35.38±0.40* ^{a#}	17.94±0.13* ^{a#}	72.13±0.63* ^{a#}	8.76±0.02* [#]	4.31±0.02* [#]	
		90	28.77±0.65* ^{b#}	9.00±0.10* ^{b#}	65.49±0.03* ^{b#}	7.14±0.02* [#]	2.83±0.01* [#]	
MeHgCl _{0.05} +Se _{0.4}		30	34.76±0.22* ^{c#}	13.80±0.04* ^c	43.52±0.08* ^{c#}	8.70±0.10* [#]	6.80±0.04* [#]	
		60	50.33±0.10* ^{a#}	29.24±0.06* ^{a#}	135.17±0.16* ^{a#}	16.16±0.09* [#]	14.41±0.01* [#]	
		90	37.50±0.18* ^{b#}	15.58±0.10* ^{b#}	74.97±0.01* ^b	15.78±0.01* [#]	13.25±0.10* [#]	
对照组 Control		30	16.88±0.34	3.72±0.02	39.49±0.66	1.12±0.02	1.06±0.02	
		60	15.50±0.01	3.49±0.01	38.86±0.01	1.05±0.01	0.86±0.02	
		90	15.33±0.42	3.22±0.12	23.65±0.01	0.81±0.01	0.68±0.01	

注:数据统计采用单因素方差分析(One-way ANOVA),*表示同一性别内各组与对照组(Control)相比,硒蓄积量差异具有统计学意义($P<0.05$);[#]表示雄鼠与雌鼠相比,硒蓄积量差异有统计学意义($P<0.05$);a/a、b/b等相同字母表示同一组不同时间内硒蓄积量差异无统计学意义,a/b、a/c等不同字母表示同一组不同时间内硒蓄积量差异有统计学意义($P<0.05$)。

Note: The data was analyzed using One-way ANOVA, where * indicates that there is a statistically significant difference in selenium accumulation between each group and the control group (Control) within the same gender ($P<0.05$); [#] there is a statistically significant difference in selenium accumulation between male and female rats ($P<0.05$); the same letters such as a/a and b/b indicate that there is no statistically significant difference in selenium accumulation in the same group at different times, while different letters such as a/b and a/c indicate that there is a statistically significant difference in selenium accumulation in the same group at different time ($P<0.05$).

与对照组大致类似,有少许肝脏细胞核固缩(图3(c));单汞组和中硒高汞组的大鼠肝脏发生显著病变,核固缩数量相较于其他组明显增多,肝索单层细胞放射状排列结构被明显改变,肝血窦明显增宽(图

3(b)和3(e));中硒中汞组和高硒中汞组肝脏结果大致类似,均出现核固缩以及肝血窦变宽(图3(d)和3(f));总体而言,单汞组、中硒高汞组肝脏发生病变程度最高,单硒组大鼠的肝脏病变程度最低。

表3 补硒后单汞组大鼠各组织中总汞蓄积量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)($\bar{x}\pm S, n=3$)

Table 3 Total mercury accumulation in all tissues of single-mercury group rats after selenium supplementation ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)($\bar{x}\pm S, n=3$)

性别 Gender	组别 Group	补硒时间/d Se supplement time/d	肝 Liver	脑 Brain	肾 Kidney	毛发 Hair	粪便 Feces
雌 Female	MeHgCl _{0.1}	0	57.67±1.31	54.50±0.41	290.77±10.09	1.61±0.01	2.61±0.01
		30	157.75±1.78	113.32±0.67	857.57±1.34	3.66±0.05	2.99±0.01
		60	169.33±0.51	144.41±1.07	1 048.67±9.32	10.03±0.16	4.05±0.03
	补硒组 Se supplement	30	54.50±2.84*	49.50±1.27*	117.87±1.25*	3.52±0.05*	3.56±0.08*
		60	135.67±3.70*	110.50±0.94*	317.31±2.51*	4.66±0.04*	3.76±0.04*
		0	105.75±1.34 [#]	80.38±2.29 [#]	394.98±17.53 [#]	2.75±0.05 [#]	2.11±0.01 [#]
雄 Male	MeHgCl _{0.1}	30	123.83±0.77 [#]	102.59±1.34 [#]	618.91±1.86 [#]	7.20±0.04 [#]	2.85±0.01 [#]
		60	381.58±1.33 [#]	197.93±1.06 [#]	1 423.72±4.55 [#]	7.41±0.33 [#]	3.89±0.02 [#]
		30	92.25±0.54* [#]	45.72±0.41* [#]	288.76±1.10* [#]	4.44±0.07* [#]	3.77±0.03* [#]
	补硒组 Se supplement	60	286.33±1.59* [#]	177.45±1.86* [#]	913.68±3.17* [#]	5.08±0.08* [#]	2.75±0.04* [#]

注:数据统计采用独立样本 *T* 检验,*表示与单汞组相比,差异具有统计学意义($P<0.05$);[#]表示雄鼠与雌鼠相比,汞蓄积量差异有统计学意义($P<0.05$)。

Note: Data statistics using the independent sample *T*-test; * means the difference is statistically significant compared with the MeHgCl_{0.1} group (Control) ($P<0.05$); [#] there is a statistically significant difference in mercury accumulation between male and female rats ($P<0.05$).

表4 补硒后单汞组大鼠各组织中硒蓄积量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)($\bar{x}\pm S, n=3$)

Table 4 Selenium accumulation in all tissues of single-mercury group rats after selenium supplementation ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)($\bar{x}\pm S, n=3$)

性别 Gender	组别 Group	补硒时间/d Se supplement time/d	肝 Liver	脑 Brain	肾 Kidney	毛发 Hair	粪便 Feces
雌 Female	MeHgCl _{0.1}	0	15.01±0.09	1.92±0.10	39.95±0.08	0.70±0.01	0.61±0.01
		30	32.90±0.23	2.86±0.08	69.96±0.11	1.25±0.04	0.73±0.10
		60	21.68±0.33	2.06±0.11	45.65±0.10	0.82±0.01	0.67±0.01
	补硒组 Se supplement	30	35.06±0.32*	14.33±0.40*	47.38±0.17*	3.08±0.02*	2.79±0.01*
		60	50.06±0.63*	17.15±0.39*	65.88±0.42*	19.44±0.01*	3.93±0.06*
		0	12.25±0.28 [#]	1.97±0.09	25.39±0.36 [#]	0.44±0.02 [#]	0.32±0.01 [#]
雄 Male	MeHgCl _{0.1}	30	29.80±0.23 [#]	17.50±0.28 [#]	59.29±0.50 [#]	0.86±0.02 [#]	0.64±0.03 [#]
		60	20.31±0.23 [#]	3.12±0.10 [#]	31.42±0.47 [#]	0.60±0.01 [#]	0.58±0.10
		30	38.68±0.06* [#]	12.86±0.30* [#]	62.35±0.23* [#]	14.27±0.17* [#]	9.98±0.01* [#]
	补硒组 Se supplement	60	40.02±0.02* [#]	18.44±0.11* [#]	65.18±0.33*	17.09±0.01* [#]	14.52±0.01* [#]

注:数据统计采用独立样本 *T* 检验,*表示与单汞组相比,差异具有统计学意义($P<0.05$);[#]表示雄鼠与雌鼠相比,硒蓄积量差异有统计学意义($P<0.05$)。

Note: Data statistics using the independent sample *T*-test; * means the difference is statistically significant compared with the MeHgCl_{0.1} group (Control) ($P<0.05$); [#] there is a statistically significant difference in selenium accumulation between male and female rats ($P<0.05$).

表 5 大鼠血清中肝功能指标的含量 ($U \cdot L^{-1}$) ($\bar{x} \pm S, n=3$)Table 5 The content of liver function indicators in rats serum ($U \cdot L^{-1}$) ($\bar{x} \pm S, n=3$)

组别 Group	ALT	AST	GGT
Control	39.50±6.36	115.00±19.80	0.25±0.02
MeHgCl _{0.1}	52.00±7.48*	149.71±30.89*	0.99±0.18*
Se _{0.4}	51.80±6.98*	139.60±22.04	0.02±0.04*
MeHgCl _{0.05} +Se _{0.2}	44.83±9.33	138.17±32.65	0.08±0.19
MeHgCl _{0.1} +Se _{0.2}	50.25±6.75	153.00±45.29	0.37±0.43*
MeHgCl _{0.05} +Se _{0.4}	48.00±7.44	122.00±10.00	0.17±0.08

注:数据统计采用独立样本 *T* 检验,*表示与对照组(Control)相比,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

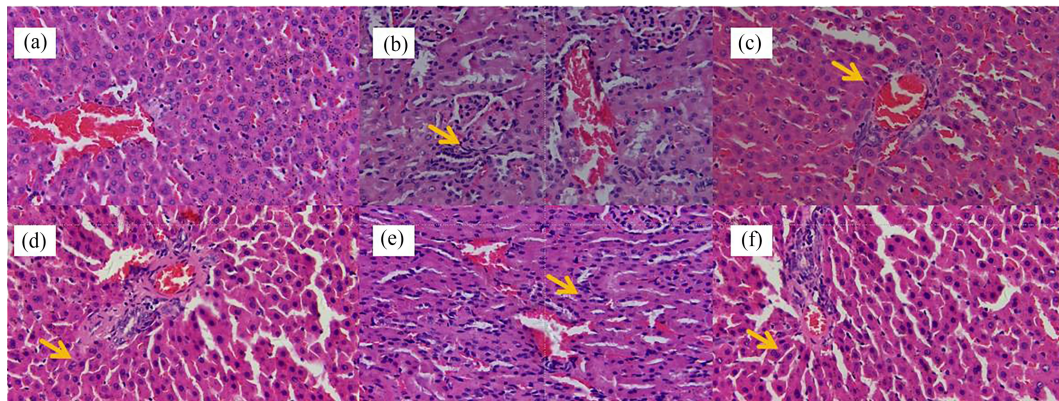
Note: Data statistics using the independent sample *T*-test; * means the difference is statistically significant compared with the control group (Control)($P<0.05$).

表 6 大鼠血清中肾功能指标的含量 ($\bar{x} \pm S, n=3$)Table 6 The content of renal function indicators in rats serum ($\bar{x} \pm S, n=3$)

组别 Group	UREA/(mmol·L ⁻¹)	CREA-M/(μmol·L ⁻¹)	UA/(μmol·L ⁻¹)
Control	5.72±0.20	69.00±4.67	107.05±0.92
MeHgCl _{0.1}	6.41±0.85	71.77±10.22	111.68±34.29
Se _{0.4}	6.29±0.44	79.40±9.37	93.63±42.24
MeHgCl _{0.05} +Se _{0.2}	6.73±1.33	70.76±16.33	101.93±45.76
MeHgCl _{0.1} +Se _{0.2}	7.05±1.10	74.45±10.36	94.85±12.06
MeHgCl _{0.05} +Se _{0.4}	6.11±0.79	69.80±21.17	91.45±6.48*

注:数据统计采用独立样本 *T* 检验,*表示与对照组(Control)相比,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

Note: Data statistics using the independent sample *T*-test; * means the difference is statistically significant compared with the control group (Control)($P<0.05$).

图 3 各组大鼠肝脏 HE 染色 ($\times 400$)

注:(a)对照组;(b)MeHgCl_{0.1}组;(c)Se_{0.4}组;(d)MeHgCl_{0.05}+Se_{0.2}; (e)MeHgCl_{0.1}+Se_{0.2}; (f)MeHgCl_{0.05}+Se_{0.4};黄色箭头表示细胞核固缩。

Fig. 3 Liver HE staining of rats in each group ($\times 400$)

Note: (a) Control group; (b) MeHgCl_{0.1} group; (c) Se_{0.4} group; (d) MeHgCl_{0.05}+Se_{0.2}; (e) MeHgCl_{0.1}+Se_{0.2};

(f) MeHgCl_{0.05}+Se_{0.4}; yellow arrows indicate condensed nuclei.

2.4.2 对肾脏组织形态的影响

对照组大鼠的肾小球及肾小管结构正常,肾小管上皮细胞核圆且位于细胞中央(图 4(a))。单硒组大鼠肾脏组织上皮细胞较对照组无明显变化,肾小

球球囊与对照组相比稍大(图 4(c));单汞组、不同硒汞比各组肾小球球囊有不同程度的增大以及出现了肾小球缺失,其中以单汞组、中硒高汞组的大鼠肾小球缺失较为严重(图 4(b)和 4(e)),中硒中汞组、高硒

中汞组在形态学上结果相似(图4(d)和4(f));与对照组相比,单汞组、中硒高汞组肾脏发生病变程度最高,单硒组大鼠的肾脏病变程度最低。

2.5 对大鼠脑组织的影响

由大鼠小脑组织 HE 染色结果可见,各组脑组织分子层、浦肯野细胞层和颗粒层均清晰可见。对照组和单硒组各层排列均匀,形态正常,核形态完整(图5(a)和5(c)),其余各组均出现浦肯野细胞层极少数神经细胞体积缩小,胞浆染色深,细胞核固缩,染色变深,核仁消失等现象;以单汞组、中硒高汞组现象较为明显,较多浦肯野细胞排列欠规整,细胞间隙显著增宽,细胞体积缩小、边界不规则,细胞浆染色加深、结构模糊,细胞核固缩、核深染,核仁模糊甚至

消失;中硒中汞组、高硒中汞组少量浦肯野细胞发生病变(图5(b)、5(d)、5(e)、5(f))。

3 讨论 (Discussion)

不同元素在生物体内有着不同的生理、生化功能,且在生物体内不同器官、组织新陈代谢的过程、途径也不相同,导致同种元素在体内的分布也不全相同。肝脏和肾脏都是重要的解毒器官^[7],同时肝脏还是新陈代谢的重要器官,负责对体内重金属的解毒。通过对不同暴露时间和性别的大鼠中汞和硒蓄积量的测定可知,雄鼠蓄积量高于雌鼠且随着暴露时间的增加汞蓄积量也在增加,Newland 和 Reile^[8]在前期研究中也证明了成年雄鼠体内硒汞含

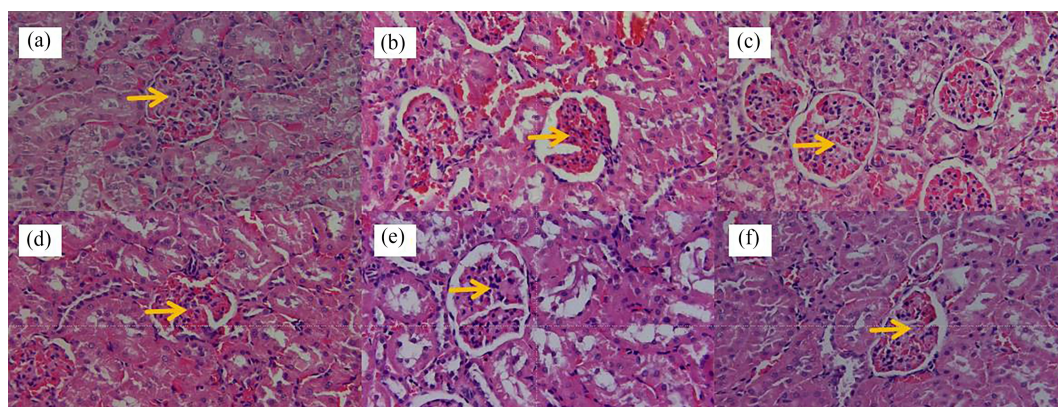


图4 各组大鼠肾脏 HE 染色 ($\times 400$)

注:(a)对照组;(b)MeHgCl_{0.1}组;(c)Se_{0.4}组;(d)MeHgCl_{0.05}+Se_{0.2}; (e)MeHgCl_{0.1}+Se_{0.2}; (f)MeHgCl_{0.05}+Se_{0.4};黄色箭头表示肾小球。

Fig. 4 Kidney HE staining of rats in each group ($\times 400$)

Note: (a) Control group; (b) MeHgCl_{0.1} group; (c) Se_{0.4} group; (d) MeHgCl_{0.05}+Se_{0.2}; (e) MeHgCl_{0.1}+Se_{0.2}; (f) MeHgCl_{0.05}+Se_{0.4}; yellow arrows indicate glomeruli.

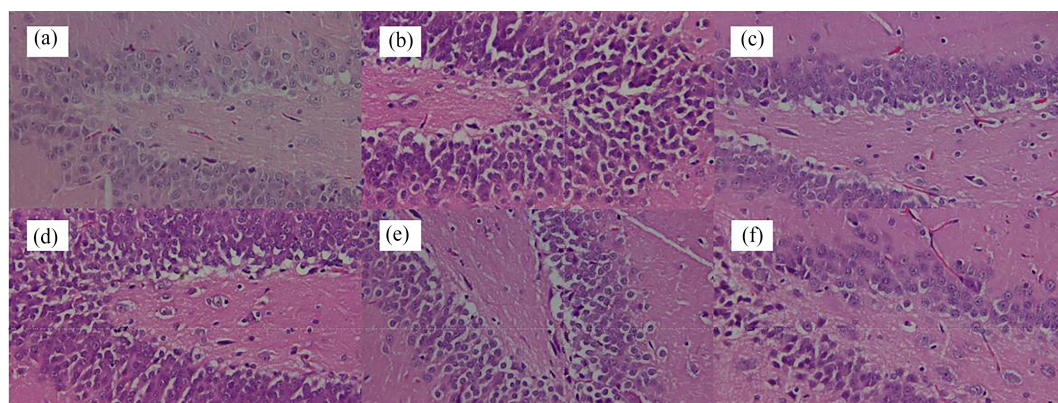


图5 各组大鼠小脑 HE 染色 ($\times 400$)

注:(a)对照组;(b)MeHgCl_{0.1}组;(c)Se_{0.4}组;(d)MeHgCl_{0.05}+Se_{0.2}; (e)MeHgCl_{0.1}+Se_{0.2}; (f)MeHgCl_{0.05}+Se_{0.4}。

Fig. 5 Brain HE staining of rats in each group ($\times 400$)

Note: (a) Control group; (b) MeHgCl_{0.1} group; (c) Se_{0.4} group; (d) MeHgCl_{0.05}+Se_{0.2}; (e) MeHgCl_{0.1}+Se_{0.2}; (f) MeHgCl_{0.05}+Se_{0.4}.

量高于雌鼠;对大鼠肝、肾、脑、毛发和粪便中的汞和硒蓄积量测定的结果显示,中硒高汞组的汞蓄积量高于其他组,其次是单汞组,说明了硒的联合暴露会促进各组织对汞的吸收,Liu等^[19]也证明了汞和硒共给药组各脏器汞水平明显升高,但与Tinggi和Perkins^[10]对硒和汞的研究则得到了相反的结论,他们认为硒对汞等重金属具有拮抗作用,通过分析发现产生这种差异是由于研究对象的选择以及暴露顺序、暴露剂量等原因;单硒组中的硒蓄积量高于其他组,其次是高硒中汞组,程金平等^[20]用含硒的大米喂养大鼠后硒在各组的分布也证明了这一结论;汞和硒蓄积量在各组织中蓄积情况为肾脏的蓄积量均高于肝脏中的蓄积量,脑汞蓄积量明显低于其他组织,这可能与汞易和含巯基的蛋白质结合从而较难通过血脑屏障有关^[21],但各组脑汞蓄积量与对照组相比均有显著性差异,说明仍有少部分汞进入大鼠脑组织;毛发和粪便中的汞和硒蓄积量最低,说明肾脏和肝脏是汞和硒的主要蓄积器官^[7-8],而毛发和粪便排出汞和硒的贡献较小,王丽鑫^[22]对硒在生物体内的代谢和毒性中也说明了毛发和粪便中蓄积量较低;补硒后,各组织中汞和硒蓄积量有所增加,但低于同时期的单汞组,在补硒30 d时间内略有下降,30~60 d时间段又出现回升的现象,硒蓄积量呈现上升趋势,但上升趋势较为缓慢,与硒汞联合暴露组进行比较发现,各组织在该补硒浓度下对汞的促进吸收作用效果小于同浓度下的硒共暴露,景晖等^[23]对甲基汞中毒大鼠补硒后也发现,长期高剂量补硒会增加组织中汞的蓄积量,且补硒浓度越高效果越明显,说明本研究的补硒浓度还较低,对汞的促进吸收作用较小;硒汞联合暴露时,两元素会互相影响对方的蓄积情况,相同汞暴露剂量条件下,汞蓄积量随硒暴露量增加而增加,该现象在肝脏和脑中最为明显,但汞对硒的影响比硒对汞的影响明显,这与硒暴露剂量、暴露时间相关。

肾脏和肝脏是最主要的蓄积器官,且有研究表明会对肝脏、肾脏造成损伤^[24-25],因此对肝肾功能的监测有一定的必要性,根据肝功能相关的生化指标表明,单汞组大鼠中的ALT、AST和GGT指标与对照组比较有显著性差异,ALT、AST是肝内活性最强的2种转氨酶,是反映肝细胞受损伤的主要指标^[26],其活性变化能反映肝细胞的变化;对应肝脏的组织形态学观察发现,单汞组和中硒高汞组的大鼠肝脏组织结构受到严重损害,导致肝脏细胞出现大量核

固缩、核凋亡以及肝血窦变宽的现象,其余组肝脏组织也均受到一定程度的影响。根据肾功能相关生化指标可以看出,各组尿素(UREA)、肌酐(CREA-M)、尿酸(UA)等指标与对照组比较无显著性差异,但对肾脏组织形态学观察发现,大鼠肾脏组织结构出现损害,其中以单汞组和中硒高汞组最为严重,造成肾脏中的肾小球缺失、肾小球囊增大等损害,虽然生化指标的检测与形态学观察有一定的区别,但恰好可以提示我们对汞和硒毒性的监测时需参考多种诊断方式;当汞及其化合物暴露后,少量汞通过血脑屏障与蛋白结合会对大脑皮层和小脑造成损伤^[1],对大鼠小脑切片组织病理学观察发现,脑组织出现了不同程度的病变,包括细胞间隙增宽、核固缩、胞浆染色加深等,由结果可以看出,不论是生化指标还是形态学观察,单硒组对肝、肾、脑组织的损害均不明显,说明本研究中硒对各组织影响较小或者剂量未达到引起组织发生病变的程度,而汞暴露组对肝、肾、脑组织造成了不同程度的损害,本次研究结果表明组织损伤与汞的蓄积量密切相关,汞蓄积量越高,组织病变越明显,这与田悦等^[27]使用朱红膏对大鼠进行皮肤给药导致高剂量组对组织损伤更为严重结果一致,因此加强对汞的关注必不可少。

综上所述,不同性别间雄鼠中的汞和硒蓄积量高于雌鼠,相同性别内大鼠对汞和硒的蓄积量大小为肾脏>肝脏>脑>毛发≈粪便,且随着暴露时间的变化汞蓄积量逐渐增加^[20],硒暴露组大鼠中肝、肾、脑的硒蓄积量在30~60 d内随暴露时间的延长而持续增加,但到90 d时出现了回落的现象;汞和硒联合暴露组中,相同汞暴露剂量情况下,随硒暴露剂量增加,各组织汞蓄积量也随之增加,说明在一定条件下的汞和硒联合暴露会使硒促进各组织对汞的吸收;补硒后,汞和硒蓄积量都有所增加,但汞蓄积量低于同时期的单汞组,说明该补硒浓度对汞的促进吸收作用较小;从生化指标和病理观察看,单汞组以及中硒高汞组对大鼠组织的损害程度较为明显,单硒组损害程度最轻,说明汞蓄积量越高,对组织的损害程度越明显,该现象提示在汞和硒的危害研究中,对汞的研究要更为重要。研究结果揭示了硒汞相互作用会影响组织中汞和硒蓄积量的分布,硒共暴露以及补硒能促进各组织对汞的吸收,其结果受硒汞暴露量和补硒浓度的影响;汞和硒蓄积量能影响大鼠各组织病理改变程度以及肝肾功能,汞蓄积量越高对组织的损害程度越高。该结果可为研究汞和硒

在大鼠中的相互作用提供新的数据,为减少汞对人体健康的危害和国家汞污染控制提供支持。

通信作者简介:涂成龙(1978—),男,博士,教授,主要研究方向为生态毒理学。

共同通信作者简介:戴智慧(1988—),女,博士,高级工程师,主要研究方向为矿床地球化学。

参考文献 (References):

- [1] Yang L X, Zhang Y Y, Wang F F, et al. Toxicity of mercury: Molecular evidence [J]. *Chemosphere*, 2020, 245: 125586
- [2] Carrasco L, Benejam L, Benito J, et al. Methylmercury levels and bioaccumulation in the aquatic food web of a highly mercury-contaminated reservoir [J]. *Environment International*, 2011, 37(7): 1213-1218
- [3] 冯新斌, 史建波, 李平, 等. 我国汞污染研究与履约进展[J]. *中国科学院院刊*, 2020, 35(11): 1344-1350
Feng X B, Shi J B, Li P, et al. Progress of mercury pollution research and implementation of Minamata Convention in China [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2020, 35(11): 1344-1350 (in Chinese)
- [4] Li Y X, Zhu N L, Liang X J, et al. A comparative study on the accumulation, translocation and transformation of selenite, selenate, and SeNPs in a hydroponic-plant system [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 189: 109955
- [5] Raymond L J, Ralston N V C. Mercury: Selenium interactions and health implications [J]. *Neurotoxicology*, 2020, 81: 294-299
- [6] Brozmanová J, Mániková D, Vlčková V, et al. Selenium: A double-edged sword for defense and offence in cancer [J]. *Archives of Toxicology*, 2010, 84(12): 919-938
- [7] 联合国环境规划署, 世界卫生组织编. 霍本兴译. 环境卫生基准-1-汞[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 80-85
- [8] Burk R F, Hill K E. Regulation of selenium metabolism and transport [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2015, 35: 109-134
- [9] Parizek J, Ostádalová I. The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication [J]. *Experientia*, 1967, 23(2): 142-143
- [10] Tinggi U, Perkins A V. Selenium status: Its interactions with dietary mercury exposure and implications in human health [J]. *Nutrients*, 2022, 14(24): 5308
- [11] Ralston N V, Ralston C R, Blackwell J L 3rd, et al. Dietary and tissue selenium in relation to methylmercury toxicity [J]. *Neurotoxicology*, 2008, 29(5): 802-811
- [12] Chang L. *Toxicology of Metals* [M]. Boca Raton, USA: CRC Lewis Publishers, 1996: 1057
- [13] Beyrouty P, Chan H M. Co-consumption of selenium and vitamin E altered the reproductive and developmental toxicity of methylmercury in rats [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2006, 28(1): 49-58
- [14] Tsunoda M, Johnson V J, Sharma R P. Increase in dopamine metabolites in murine striatum after oral exposure to inorganic but not organic form of selenium [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, 39(1): 32-37
- [15] 邓彩云, 孙宝飞, 黎健, 等. 宫内甲基汞暴露对子代大鼠学习记忆及海马区 FOXP2 表达的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2020, 37(7): 585-589
Deng C Y, Sun B F, Li J, et al. Effects of intrauterine methylmercury exposure on learning and memory and FOXP2 expression in hippocampus of offspring rats [J]. *Journal of Environment and Health*, 2020, 37(7): 585-589 (in Chinese)
- [16] 朱建明, 李璐, 秦海波, 等. 高压密闭罐溶样-氢化物原子荧光法测定环境样品中的硒[J]. *矿物学报*, 2008, 28(2): 187-190
Zhu J M, Li L, Qin H B, et al. Determination of total selenium in environmental samples by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry with PTFE bomb [J]. *Acta Mineralogica Sinica*, 2008, 28(2): 187-190 (in Chinese)
- [17] 王心如. 毒理学基础[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 37-45
- [18] Newland M C, Reile P A. Blood and brain mercury levels after chronic gestational exposure to methylmercury in rats [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 1999, 50(1): 106-116
- [19] Liu J H, Cui J S, Wei X, et al. Investigation on selenium and mercury interactions and the distribution patterns in mice organs with LA-ICP-MS imaging [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1182: 338941
- [20] 程金平, 刘晓洁, 冀秀玲, 等. 总汞、甲基汞和硒在汞暴露大鼠脑、肝、肾中的分布[J]. *中国环境科学*, 2006, 26(3): 376-379
Cheng J P, Liu X J, Ji X L, et al. Distribution of total mercury, methyl mercury and selenium in rat brain, liver and kidney of rats exposure to mercury [J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(3): 376-379 (in Chinese)
- [21] 王祖光, 崔丽巍, 赵甲亭, 等. 硒对汞毒性的拮抗作用及机理[J]. *中国科学: 化学*, 2016, 46(7): 677-687

- Wang Z G, Cui L W, Zhao J T, et al. Selenium and mercury in biological and ecological systems: Interactions and mechanisms [J]. *Scientia Sinica Chimica*, 2016, 46 (7): 677-687 (in Chinese)
- [22] 王丽鑫. 动物体内硒、汞的分布、毒性效应及相互作用的研究[D]. 成都: 四川大学, 2002: 2
Wang L X. Study on the distribution, toxicity and interaction between selenium and mercury in animals [D]. Chengdu: Sichuan University, 2002: 2 (in Chinese)
- [23] 景晖, 李玉锋, 沈越, 等. 亚硒酸钠对甲基汞中毒大鼠的影响研究[J]. *山地农业生物学报*, 2014, 33(2): 55-60
Jing H, Li Y F, Shen Y, et al. Effects of sodium selenite on methyl mercury poisoned rats [J]. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 2014, 33(2): 55-60 (in Chinese)
- [24] 武瑞, 康世良, 徐世文, 等. 硒对汞致雏鸡肝功能损伤的拮抗作用[J]. *中国兽医科技*, 2001, 31(7): 8-10
Wu R, Kang S L, Xu S W, et al. The antagonistic effects of selenite on the damage of liver function initiated mercury [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2001, 31(7): 8-10 (in Chinese)
- [25] 孙炜, 李晶, 徐兆发, 等. 汞致急性肾损伤量效关系的探讨[J]. *中国公共卫生*, 2004, 20(1): 89-90
Sun W, Li J, Xu Z F, et al. Study on dose-effect relationship between exposure to mercury and acute nephrotoxicity [J]. *China Public Health*, 2004, 20(1): 89-90 (in Chinese)
- [26] 惠天朝, 施明华, 朱荫涓. 硒对罗非鱼慢性镉中毒肝抗氧化酶及转氨酶的影响[J]. *中国兽医学报*, 2000, 20(3): 264-266
Hui T C, Shi M H, Zhu Y M. Effects of selenium on antioxidant enzymes and transaminases of liver in cadmium chronic toxic *Tilapia nilotica* [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2000, 20(3): 264-266 (in Chinese)
- [27] 田悦, 黄建梅, 王晓烨, 等. 朱红膏中汞在破损皮肤模型大鼠体内的蓄积及毒性[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(8): 34-39
Tian Y, Huang J M, Wang X Y, et al. Accumulation and toxicity of mercury in Zhuhong ointment in rats with damaged skin model [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2019, 25(8): 34-39 (in Chinese)
- ◆