

N-乙酰半胱氨酸对醋酸铅致肾小管上皮细胞损伤的保护作用

周蓉 徐雅虹 陈闽东 沈杰 冯雪芳 陈希

(同济大学附属杨浦医院肾内科, 上海市杨浦区中心医院肾内科, 上海 200090)

【摘要】 目的 观察 N-乙酰半胱氨酸(NAC)对醋酸铅致肾小管上皮细胞系(HK-2)损伤过程中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)表达的影响,并探讨其机制。**方法** 将体外培养至少 2~5 代对数生长期的 HK-2 细胞分为空白对照组;醋酸铅刺激组(分别用 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 刺激以确定最佳刺激浓度);NAC 预处理组(用 5 $\mu\text{mol/L}$ NAC 预处理 2 h 后加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅)。采用 CCK-8 法检测 HK-2 的增殖能力,用流式细胞术检测 HK-2 的细胞周期,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞上清液中 NGAL 水平,用流式细胞术检测细胞活性氧(ROS)含量。**结果** 各浓度醋酸铅刺激后 6、12、24、48 h HK-2 的增殖能力[吸光度(A)值]均较空白对照组显著降低,且以 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组降低更显著(6 h 为 0.53 ± 0.02 比 0.64 ± 0.02 , 12 h 为 0.46 ± 0.02 比 0.65 ± 0.02 , 24 h 为 0.35 ± 0.02 比 0.68 ± 0.02 , 48 h 为 0.26 ± 0.02 比 0.74 ± 0.02 , 均 $P < 0.05$), 12 和 24 h HK-2 的细胞周期均呈现 G0/1 期阻滞[5 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组 12 h 为 $(56.2 \pm 1.2)\%$, 24 h 为 $(60.6 \pm 0.7)\%$; 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组 12 h 为 $(71.2 \pm 2.0)\%$, 24 h 为 $(79.6 \pm 2.8)\%$];刺激 12、24、48、72 h 各浓度醋酸铅组 HK-2 上清液中 NGAL 含量均较空白对照组明显增加,以 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组刺激 72 h 增加更显著($\mu\text{g/L}$: 1.212 ± 0.015 比 0.749 ± 0.040 , $P < 0.05$)。50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组和 NAC 预处理组 HK-2 内 ROS 含量均较空白对照组显著增多,但 NAC 预处理组低于醋酸铅刺激组[A 值($\times 10^3$): 34.72 ± 1.67 比 68.31 ± 1.53];50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组和 NAC 预处理组刺激 24、48 h HK-2 的增殖能力均低于空白对照组,但 NAC 预处理组高于 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组,以刺激 48 h 增加更显著(A 值: 0.65 ± 0.01 比 0.57 ± 0.01);50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组和 NAC 预处理组 HK-2 上清液中 NGAL 水平均较空白对照组显著增加,但 NAC 预处理组低于 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组($\mu\text{g/L}$: 4.12 ± 0.11 比 7.61 ± 0.06 , 均 $P < 0.05$)。**结论** 醋酸铅对 HK-2 有直接损伤作用,主要通过诱导 HK-2 细胞生成过量的 ROS,抑制其细胞分裂增殖;而抗氧化剂 NAC 可显著改善醋酸铅诱导的过氧化应激。NGAL 是判断急性铅性肾病的可靠的肾损伤标志物。

【关键词】 醋酸铅; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 肾小管上皮细胞; N-乙酰半胱氨酸

Protective effects of N-acetylcysteine on renal tubule epithelial cell injury induced by lead acetate Zhou Rong, Xu Yahong, Chen Mindong, Shen Jie, Feng Xuefang, Chen Xi. Department of Nephrology, Yangpu Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200090, China; Department of Nephrology, Yangpu Central Hospital, Shanghai 200090, China

Corresponding author: Xu Yahong, Email: spot_dog@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of N-acetylcysteine (NAC) on the expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in the course of the human renal tubule epithelial cell line (HK-2) injury induced by lead acetate and to approach its possible mechanism. **Methods** The HK-2 cells cultured in vitro were divided into blank control group, 5 $\mu\text{mol/L}$ and 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate groups, NAC pretreatment group (after pretreatment with 5 $\mu\text{mol/L}$ NAC for 2 hours, 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate was added). The proliferation of HK-2 cells was tested by CCK-8 method, the cell cycle was tested by flow cytometry, and the levels of cell supernatant NGAL were tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The reactive oxygen species (ROS) generation was test with flow cytometry. **Results** The proliferation of HK-2 cells [absorbance (A) value] was significantly lowered after 6, 12, 24, 48 hours cultivation with each lead acetate compared with those in the blank control group, and the degree of decrease in 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group was more obvious (6 hours: 0.53 ± 0.02 vs. 0.64 ± 0.02 , 12 hours: 0.46 ± 0.02 vs. 0.65 ± 0.02 , 24 hours: 0.35 ± 0.02 vs. 0.68 ± 0.02 , 48 hours: 0.26 ± 0.02 vs. 0.74 ± 0.02 , all $P < 0.05$). The cell cycles of HK-2 cells were blocked in G0/1 phase after 12 hours and 24 hours cultivation with 5 and 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate solution [5 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group 12 hours: $(56.2 \pm 1.2)\%$, 24 hours: $(60.6 \pm 0.7)\%$, 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group 12 hours: $(71.2 \pm 2.0)\%$, 24 hours: $(79.6 \pm 2.8)\%$]. After 12, 24, 48, 72 hours cultivation with various lead acetate groups, the levels of supernatant NGAL were significantly higher than that in blank control group, and the degree of decrease in 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group after 72 hours of stimulation was the most significant (1.212 ± 0.015 vs. 0.749 ± 0.040 , $P < 0.05$). In 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group and NAC pretreatment group, the levels of ROS were higher significantly

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.013

基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会面上项目(20114299)

通讯作者: 徐雅虹, Email: spot_dog@126.com

than that in blank control group, but the level of ROS was lower in NAC pretreatment group than that in 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group [A value ($\times 10^3$): 34.72 ± 1.67 vs. 68.31 ± 1.53 , $P < 0.05$]. In 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group and NAC pretreatment group, after stimulation for 24, 48 hours, the proliferation of HK-2 cells was lower significantly than that in the blank control group, but the proliferation in NAC pretreatment group was higher than that in 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group, and the increase was more remarkable at 48 hours stimulation (A value: 0.65 ± 0.01 vs. 0.57 ± 0.01 , $P < 0.05$). Both in 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group and NAC pretreatment group, the levels of NGAL in supernatant were higher than that in the blank control group, but it was lower in NAC pretreatment group than that in 50 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate group ($\mu\text{g/L}$: 4.12 ± 0.11 vs. 7.61 ± 0.06 , $P < 0.05$). **Conclusions** Lead acetate has direct HK-2 renal tubule epithelial cells toxicity, mainly via inducing the cells generating excessive ROS and inhibiting the cell division and proliferation, while NAC, an antioxidant, can markedly improve the peroxidation stress induced by lead acetate. NGAL may play a reliable role as a renal injury biomarker to estimate acute renal disease induced by lead.

【Key words】 Lead acetate; Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Kidney epithelial cell; N-acetylcysteine

铅广泛分布于自然界,可污染空气、饮水、土壤和食品,长期低剂量的铅进入机体后,由于其蓄积作用,可侵害机体的多个系统器官。肾脏是铅毒性作用的主要靶器官之一,铅性肾病危害隐匿,很难早期发现。既往研究证实,铅中毒肾损伤主要表现为肾小管上皮细胞肿胀、坏死,但目前尚缺乏能及时有效提示铅性肾损伤的生物标志物^[1-2]。探讨目前急性肾损伤(AKI)早期标志物中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)在铅性肾病早期肾小管上皮细胞中的表达情况,为临床铅性肾病的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料和试剂:人肾小管上皮细胞系(HK-2)购于中国科学院;RPMI1640培养基和0.05%胰酶(美国Hyclone公司);胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司);醋酸铅(德国Sigma公司);N-乙酰半胱氨酸(NAC)试剂(上海基尔顿公司);2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二磺基苯)-2H-四唑单钠盐(CCK-8,株式会社日本同仁产品);NGAL酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(美国R&D公司)。流式细胞仪(型号:FACSCalibur,德国BD公司);全自动酶标仪(型号:ELx800,美国伯腾公司);CO₂细胞培养箱(型号:Thermo8000,美国Thermo公司)。

1.2 实验分组:用含15%小牛血清的RPMI1640培养基于37℃、5%二氧化碳(CO₂)培养箱中常规培养HK-2细胞,取培养第2~5代对数生长期的细胞进行试验。将细胞分为空白对照组和5、50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组;NAC预处理组(5 $\mu\text{mol/L}$ NAC预处理2 h后加入50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅)。

1.3 实验方法

1.3.1 CCK-8法细胞增殖试验:制备HK-2细胞,用胰蛋白酶消化,稀释至浓度为 $(1 \sim 5) \times 10^4$ 个/mL,

取100 μL 置于96孔培养板,每组细胞每块板接种3个复孔,每孔 $(1 \sim 5) \times 10^3$ 个;各组加入相应刺激液,空白对照加入100 μL 培养液。将细胞培养板置于37℃、5% CO₂的培养箱中培养过夜,每个孔加入100 μL 按1:10体积比混合CCK-8,继续孵育1 h,然后用微板分光光度计测定450 nm波长处的吸光度(A值)。

1.3.2 用流式细胞仪检测细胞周期的变化:制备HK-2悬液,均匀接种于6孔板内,待细胞生长至80%~90%融合状态时,加无血清RPMI 1640培养液培养2 h后,加醋酸铅刺激12、24 h,将培养好的细胞用0.25%胰酶消化,使其成为单个细胞,充分吹打混匀细胞悬液并收集至流式专用管中;离心收集细胞,弃上清液后用磷酸缓冲液(PBS)洗涤2~3次,加入1 mL的上样缓冲液[含20 μL 碘化丙啶(PI)、50 μL 核糖核酸酶(RNA)酶、1 μL 20%乙基苯基聚乙二醇(NP-40)、1 mL PBS],重悬后室温避光放置10 min,用流式细胞仪分析细胞周期。

1.3.3 用ELISA法检测HK-2细胞上清液中NGAL水平:制备细胞悬液接种于6孔板中,待细胞融合后,加不含血清的RPMI 1640培养液2 h,各组加入相应刺激液,检测刺激前和刺激12、24、48、72 h后各组NGAL含量,每组3个复孔,操作严格按说明书进行。

1.3.4 用流式细胞术检测各组HK-2中活性氧(ROS)含量:制备HK-2悬液接种于6孔板上,待细胞生长至80%~90%融合状态时,加无血清RPMI 1640培养液2 h后,各组加入相应刺激液,培养24 h后,制备成细胞悬液,PBS洗涤2~3次,离心收集细胞,加入50 $\mu\text{mol/L}$ 染色工作液100 μL ,制成1 000 μL 的混匀细胞液,在暗室静置10 min后检测ROS含量,每组3个复孔。

1.4 统计学方法:使用SPSS 13.0软件进行数据统

表 1 不同浓度醋酸铅溶液刺激 HK-2 细胞后细胞增殖能力及细胞培养上清液中 NGAL 表达的变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	细胞增殖能力 (A 值)					NGAL ($\mu\text{g/L}$)			
		刺激前	刺激 6 h	刺激 12 h	刺激 24 h	刺激 48 h	刺激 12 h	刺激 24 h	刺激 48 h	刺激 72 h
空白对照组	3	0.62 ± 0.02	0.64 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.68 ± 0.02	0.74 ± 0.02	0.760 ± 0.025	0.749 ± 0.025	0.736 ± 0.025	0.749 ± 0.040
5 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组	3	0.62 ± 0.02	0.58 ± 0.02 ^a	0.54 ± 0.02 ^a	0.48 ± 0.02 ^a	0.42 ± 0.02 ^a	0.937 ± 0.050 ^a	1.037 ± 0.025 ^a	1.033 ± 0.060 ^a	0.826 ± 0.040 ^a
50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组	3	0.62 ± 0.02	0.53 ± 0.02 ^b	0.46 ± 0.02 ^b	0.35 ± 0.02 ^b	0.26 ± 0.02 ^b	0.749 ± 0.025 ^{ab}	1.052 ± 0.025 ^{ab}	1.183 ± 0.025 ^{ab}	1.212 ± 0.015 ^{ab}

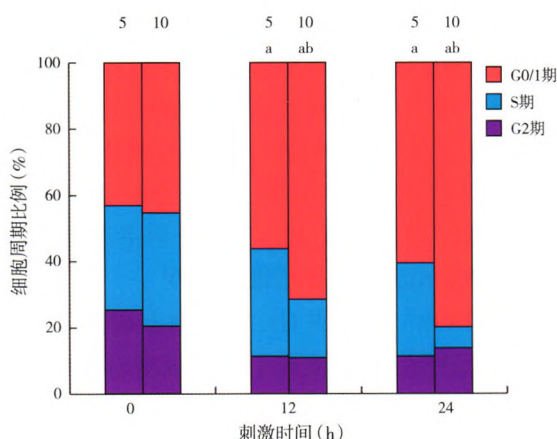
注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 5 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组比较,^b $P < 0.05$

计,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞增殖试验结果 (表 1): 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组刺激 6、12、24、48 h HK-2 细胞的增殖能力均较空白对照组显著降低,且 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组各时间点 HK-2 细胞增殖能力均显著低于 5 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组 (均 $P < 0.05$)。

2.2 细胞周期变化 (图 1; 表 2): 采用 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的醋酸铅溶液分别刺激 HK-2 细胞 12、24 h,均能使 HK-2 细胞阻滞在 G0/1 期,并呈时间依赖性,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。



注:5 为 5 $\mu\text{mol/L}$, 10 为 10 $\mu\text{mol/L}$;与刺激前 G0/1 期比较,^a $P < 0.05$;与刺激 12 h G0/1 期比较,^b $P < 0.05$

图 1 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅溶液刺激 HK-2 细胞后细胞周期的变化表 2 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅溶液刺激 HK-2 细胞后细胞周期的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	G0/1 期比例 (%)		
		刺激前	刺激 12 h	刺激 24 h
5 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组	3	43.3 ± 3.3	56.2 ± 1.2 ^a	60.6 ± 0.7 ^{ab}
50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组	3	45.0 ± 1.9	71.2 ± 2.0 ^a	79.6 ± 2.8 ^{ab}

注:与刺激前比较,^a $P < 0.05$;与刺激 12 h 比较,^b $P < 0.05$

2.3 各组 HK-2 细胞培养上清液中的 NGAL 水平 (表 1): 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组刺激 12、24、48、72 h 后 HK-2 细胞 NGAL 分泌量均较空白对照组显著增加,且 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组各时间点的 NGAL 分泌量均高于 5 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组 (均 $P < 0.05$)。

2.4 各组细胞 ROS 含量 (表 3): 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组和 NAC 预处理组 HK-2 细胞内 ROS 含量均较空白对照组显著增多;但 NAC 预处理组显著低于 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组 (均 $P < 0.05$)。

表 3 各刺激组 HK-2 细胞 ROS 含量和 NGAL 分泌量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	ROS (A 值, $\times 10^3$)	NGAL ($\mu\text{g/L}$)
空白对照组	3	11.30 ± 1.07	2.53 ± 0.05
50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组	3	68.31 ± 1.53 ^a	7.61 ± 0.06 ^a
NAC 预处理组	3	34.72 ± 1.67 ^b	4.12 ± 0.11 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组比较,^b $P < 0.05$

2.5 NAC 对 HK-2 细胞增殖能力的影响 (表 4): 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组、NAC 预处理组刺激后 24、48 h HK-2 细胞增殖能力均显著低于空白对照组,但 NAC 预处理组 HK-2 细胞增殖能力要高于 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组 (均 $P < 0.05$)。

表 4 各刺激组 HK-2 细胞增殖能力的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	细胞增殖能力 (A 值)		
		刺激前	刺激 24 h	刺激 48 h
空白对照组	3	0.25 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.76 ± 0.01
50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组	3	0.25 ± 0.00	0.39 ± 0.01 ^a	0.57 ± 0.01 ^a
NAC 预处理组	3	0.25 ± 0.01	0.43 ± 0.01 ^{ab}	0.65 ± 0.01 ^{ab}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组比较,^b $P < 0.05$

2.6 NAC 对 HK-2 细胞分泌 NGAL 的影响 (表 3): 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组和 NAC 预处理组 HK-2 细胞

胞 NGAL 分泌量均高于空白对照组,但 NAC 预处理组 HK-2 细胞 NGAL 分泌量则显著低于 50 $\mu\text{mol/L}$ 醋酸铅刺激组(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

随着环境污染的日趋严重,人类生活与铅的联系日益密切。既往研究提示,铅中毒可引起肾脏损害^[3-5],铅所导致的慢性肾损伤严重影响着铅作业工人的健康^[6-7]。铅对肾脏的损害主要分为 3 个时期:早期为铅对肾小管的可逆性损害,主要表现在近曲小管机能异常,形成特征性的铅包涵体等;中期为慢性不可恢复的慢性肾脏病,主要表现在肾小管间质纤维化、萎缩等;晚期为肾脏功能衰竭^[1]。铅性肾病危害隐匿,缺乏有效的检测手段和治疗方法。本研究发现,醋酸铅能够通过氧化应激机制直接损伤肾小管上皮细胞,且损伤呈时间依赖性和浓度依赖性,抗氧化剂 NAC 能够有效预防肾小管上皮细胞的损伤,NGAL 则能及时提示肾小管上皮细胞的损伤程度。分析其机制,可以发现醋酸铅能够诱导肾小管上皮细胞产生过量氧化应激产物,从而损伤肾小管上皮细胞,这说明氧化应激是醋酸铅致肾小管上皮细胞损伤的主要机制之一,这与既往文献^[5,8]报道相一致。

NAC 是一种常用的抗氧化剂,能有效缓解氧化应激产物的过度生成,文献报道 NAC 能够进入体内合成大量谷胱甘肽(GSH),改变细胞氧化还原状态,对治疗肺缺血/再灌注(I/R)损伤诱导的细胞凋亡、高氧肺损伤、肺纤维化均有显著疗效^[9-13];更有研究提示,在脓毒症大鼠模型中应用 NAC 能够显著改善脓毒性休克大鼠的预后^[14]。然而, NAC 在重金属肾损伤中的应用却少有报道,有文献报道急性肾小管性损伤的主要病理表现为炎性细胞的侵入,大量炎性因子与氧化应激产物的堆积对肾脏的损害尤为重要^[15]。本研究使用 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 NAC 预处理 HK-2 2 h 后,显示能够有效减少醋酸铅诱导 HK-2 细胞内过量 ROS 产物的生成,并改善 HK-2 细胞在铅性环境下的活性和周期阻滞。在职业性铅接触人群中,能定期给予小剂量的 NAC 类药物或许能改善铅接触人群的肾脏损害。

根据 GBZ79-2013 职业性急性中毒性肾病诊断标准^[16],当血铅 $\geq 2.9 \mu\text{mol/L}$ 或尿铅 $\geq 0.58 \mu\text{mol/L}$ 就可考虑铅中毒肾损伤,并且最新的诊断指南中增加了以 48 h 内肌酐和尿量的动态变化作为主要的诊断标准,揭示了铅性肾病早期诊断的重要性。然而以血肌酐(SCr)作为评价肾功能状态有着一定的

局限性,例如 SCr 明显升高需要一定的时间窗,对于老年人适用性差。此外,SCr 水平与个体胖瘦、营养、性别等诸多因素相关,更限制了 SCr 作为肾损伤早期标志物的应用。既往曾报道 β_2 -微球蛋白、视黄醇结合蛋白、 α_1 -微球蛋白、NAG 等可作为铅性肾病损伤的早期尿液标志物,但研究也发现,这些生物标志物在提示铅所致肾早期损伤的时间窗较晚^[12]。因此,能否发现更早期、更敏感的铅性肾病肾损伤标志物将有助于患者的诊断与治疗。

NGAL 是最早由瑞典 Venge 和丹麦 Kjeldsen 在人中性粒细胞 B 颗粒中发现的一种糖蛋白。在正常肾组织中,NGAL 呈低水平表达,当接触肾毒性物质或发生缺血性损伤后,皮质肾小管、血液、尿液中就会大量蓄积^[17]。因此,NGAL 因其出现时间早,检测环境稳定,特异性高,被认为是目前 AKI 的最佳标志物之一^[18],然而 NGAL 在铅性肾病中的研究资料较少。本研究发现,当醋酸铅刺激 HK-2 后, HK-2 能够向外界分泌释放 NGAL,并且 NGAL 的分泌量和醋酸铅的浓度和作用时间相关,呈显著的剂量依赖性和时间依赖性。当使用 5 $\mu\text{mol/L}$ 低浓度醋酸铅溶液刺激 HK-2 细胞 12 h 后, HK-2 细胞上清液中即可检测出高水平的 NGAL,并且 NGAL 的分泌时间可持续 72 h。而预先给予 NAC 溶液能显著缓解 HK-2 细胞的氧化应激损伤,同时也能减少细胞上清液中 NGAL 的分泌,并且当 HK-2 细胞出现细胞周期停滞时,NGAL 即能出现显著变化,提示 NGAL 可能可以作为急性铅性肾损伤良好的早期标志物。然而,限于本实验为体外实验,NGAL 是否能应用于临床并及时反映急性铅性肾病的早期损伤,有待于临床大样本铅接触人群尿液分析的进一步证实,这也是本课题组今后进一步的研究方向。

综上所述,醋酸铅对 HK-2 细胞有直接损伤作用,主要通过诱导 HK-2 细胞生成过量的 ROS,从而抑制其细胞分裂增殖;抗氧化剂 NAC 可显著改善醋酸铅诱导的过氧化应激。AKI 标志物 NGAL 能够及时提示醋酸铅对 HK-2 的损伤,可能是判断急性铅性肾病可靠的肾损伤标志物。

参考文献

- [1] Navarro-Moreno LG, Quintanar-Escorza MA, González S, et al. Effects of lead intoxication on intercellular junctions and biochemical alterations of the renal proximal tubule cells [J]. Toxicol In Vitro, 2009, 23(7): 1298-1304.
- [2] Rastogi SK. Renal effects of environmental and occupational lead exposure [J]. Indian J Occup Environ Med, 2008, 12(3): 103-106.
- [3] Ekong EB, Jaar BG, Weaver VM. Lead-related nephrotoxicity: a review of the epidemiologic evidence [J]. Kidney Int, 2006, 70

- (12): 2074-2084.
- [4] Sun HW, Ma DJ, Chao CY, et al. Lead distribution in blood and organs of mice exposed to lead by vein injection [J]. Environ Technol, 2009, 30(10): 1051-1057.
- [5] Liu CM, Ma JQ, Sun YZ. Quercetin protects the rat kidney against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2010, 30(3): 264-271.
- [6] de Kort WL, Verschoor MA, Wibowo AA, et al. Occupational exposure to lead and blood pressure: a study in 105 workers [J]. Am J Ind Med, 1987, 11(2): 145-156.
- [7] 蒋云生, 罗季安. 长期低浓度铅接触人群的铅性肾病[J]. 中华肾脏病杂志, 1991, 7(4): 226-228.
- [8] 洪玮, 付欣, 周问渠, 等. 醋酸铅对体外培养大鼠肾小管上皮细胞的毒性损伤[J]. 激光生物学报, 2011, 20(3): 315-318.
- [9] 张铮, 沈华, 秦海东, 等. N-乙酰半胱氨酸对大鼠肺缺血/再灌注损伤诱导细胞凋亡的保护机制[J]. 中华危重病急救医学, 2012, 24(2): 111-115.
- [10] 李晓峰, 欧阳彬, 吴健锋, 等. N-乙酰半胱氨酸对急性呼吸窘迫综合征肺纤维化的抑制作用[J]. 中华危重病急救医学, 2011, 23(10): 599-601.
- [11] 谭利平, 许峰, 匡凤梧. N-乙酰半胱氨酸对高氧肺损伤保护机制与 p38 丝裂素活化蛋白激酶途径的相关性研究[J]. 中华危重病急救医学, 2010, 22(8): 469-472.
- [12] 吴河水, 金鑫, 田元, 等. N-乙酰半胱氨酸对小鼠肝部分缺血/再灌注后肝肺损伤的保护作用[J]. 中华危重病急救医学, 2007, 19(7): 394-397.
- [13] 胡杰, 陆元兰, 曾慧, 等. N-乙酰半胱氨酸对急性肺损伤大鼠肺组织转化生长因子- β 1 表达影响的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(1): 51-53.
- [14] 夏斌, 胡森. N-乙酰半胱氨酸复合去铁胺治疗改善脓毒症大鼠存活率[J]. 中华危重病急救医学, 2004, 16(3): 147.
- [15] 高嘉妍, 张大宁, 张勉之. 补肾活血法对顺铂诱导急性肾损伤小鼠的治疗作用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(6): 405-407.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GBZ79-2013 职业性急性中毒性肾病的诊断[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [17] Cai L, Rubin J, Han W, et al. The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2010, 5(12): 2229-2235.
- [18] Schiff H, Lang SM. Update on biomarkers of acute kidney injury: moving closer to clinical impact? [J]. Mol Diagn Ther, 2012, 16(4): 199-207.

(收稿日期: 2015-10-15)

(本文编辑: 邸美仙 李银平)

• 会讯 •

首期中国腹部心肺复苏技术高级救护师培训班成功举办

本着“借鉴国际心肺复苏指南、践行中国心肺复苏方略”的指导思想,由中国研究型医院学会主办、中国研究型医院学会心肺复苏学专业委员会组织多家相关学术团体承办的国家继续教育项目“首期中国腹部心肺复苏技术高级救护师培训班”于2015年12月11日至13日在北京成功举行。开幕式上,中国急诊心肺复苏奠基人、南京医科大学终身教授王一镡及中国工程院院士、武警总医院院长郑静晨为“中国腹部心肺复苏培训中心”揭牌,并授予德美瑞公司为“中国腹部心肺复苏技术培训中心”,标志着中国开始组织并推动全国腹部心肺复苏技术普及培训。

培训班上,王一镡教授、郑静晨院士,中国医学科学院、中国协和医科大学院校学术委员会委员兼心肺肺专题委员会主任程显声教授,中国研究型医院学会心肺复苏学专业委员会主任委员、中华医学会科普分会主任委员、中国腹部心肺复苏学创始人、全军“十二五”医学科技心肺复苏重点项目首席专家、武警总医院急救医学中心主任王立祥教授等,就腹部心肺复苏技术的理论机制及在急救医学、灾害救援、心肺脑复苏等领域的应用进行了精彩讲述。整个培训课程汇聚了30余位专家学者有关腹部心肺复苏技术的最新科研和临床实践,旁征博引,引经据典,培训课程后进行了腹部提压心肺复苏实践操作培训。学员们完成全部培训课程并顺利通过理论知识及实践操作考试,从王一镡教授及王立祥教授手中接过腹部心肺复苏高级救护师资质证书,成为中国腹部心肺复苏技术的使用者和推广者,并将在今后的临床工作中造福更多的患者!

此次培训班是我国的第一个腹部心肺复苏技术培训班,也是腹部心肺复苏技术面向医务工作者及社会群众普及的一个重大转折点,腹部心肺复苏新技术将应用于更加广泛的急救领域,并被更多的人所熟知认同。同时,腹部提压心肺复苏技术不仅属于中国,更将走向世界,在全球心肺复苏领域打造出属于中国的原创标签,开辟具有中国特色的个体化心肺复苏之路。



王一镡教授亲自操作腹部提压心肺复苏仪



(刘亚华, 马文君)