

铅染毒大鼠血液中铅与其他元素含量的相关性研究

闫赖赖¹, 刘丽萍², 牛 刚³, 翁智辉¹, 王京宇¹

- (1. 北京大学公共卫生学院中心实验室, 北京 100191;
2. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013;
3. 北京牛牛基因技术有限公司, 北京 100088)

摘要:研究了铅染毒大鼠血液中铅与其他元素之间的关系。选取 75 只健康的 4 周龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠(SD 大鼠), 随机分为 25 组, 各组染毒剂量均不相同。在实验开始的第 40、80、120 天, 分别从各组中随机选取 1 只大鼠, 乙醚麻醉后取股动脉血。用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定血中的 24 种元素含量, 并对铅与其他元素做相关分析。研究发现: 在不同染毒周期, 染毒剂量与血铅浓度的关系各有不同。血铅浓度随染毒时间的延长而升高, 但染毒剂量在 $5\sim 70\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 80 天染毒组的血铅浓度反而高于 120 天染毒组; 血铅与其他元素含量的相关性随染毒周期的变化而变化。

关键词:电感耦合等离子体质谱(ICP-MS); 相关性; 铅染毒大鼠; 血铅; 元素

中图分类号: O 657. 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2009)05-0295-05

Correlation Research between Lead and Other Elements in the Blood of Lead-Exposed Rats

YAN Lai-lai¹, LIU Li-ping², NIU Gang³, WENG Zhi-hui¹, WANG Jing-yu¹

- (1. School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China;
2. Beijing Centers for Diseases Control and Prevention, Beijing 100013, China;
3. Beijing N&N Gene-Tech Company, Ltd, Beijing 100088, China)

Abstract: The correlative characteristics between lead and other elements in the blood of rats exposed to lead were studied. Totally 75 healthy 4-week-old male Sprague-Dawley rats (SD rats) were randomly divided into 25 groups. Doses of lead acetate were different in terms of groups respectively. One rat each group was selected randomly at the beginning of the experiment stage of 40, 80, 120 days. Under ether anesthesia, blood was obtained from femoral artery. Concentrations of 24 elements in the blood were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and correlation analysis was done between Pb and other elements. The results indicate that the relation between exposure doses and concentration of blood lead are different at different exposure stages. With the increase of

the exposure time the concentration of blood lead is rising. However, at the exposure dose of $5\text{--}70\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, the concentration of blood lead in the 80-day exposure group is higher than 120-day exposure group. Correlation of concentration of blood lead and other elements changes at different exposure cycle.

Key words: inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); correlation; lead-exposed rats; blood lead; elements

铅在血中浓度维持不长,易转移到其他组织脏器中,其浓度只反映近期铅接触情况^[1-2]。对于长期慢性铅接触,则观察到血铅水平与智力损伤程度、早期肾脏损害不相互平行的现象^[3-4]。因此,血铅浓度能否作为体内铅蓄积的“金标准”受到质疑。根据生命元素组学理论:给定组织器官中的元素之间存在着一定数量的“特异相关元素对”,反映着元素之间的协同、拮抗或既协同又拮抗的复杂互作关系^[5],仅选取其中少量元素进行研究的“以偏概全”思路已经显现出局限性。本实验采取“大剂量范围,小浓度间隔”的短、中、长期染毒方法,对铅染毒大鼠血液中 24 种元素的浓度进行测定,研究铅与其他元素相关性及其变化趋势,为寻找脏器铅蓄积水平的多元素综合指标提供理论和实验基础。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Agilent 7500a 电感耦合等离子体质谱仪;美国 Agilent 公司产品;CEM Mars 5 微波消解仪;BS110S 电子天平;德国赛得利斯公司产品;Milliplus 超纯水处理系统。

稀土混合标准液(Nd、Sm、Gd、Dy、Er、Yb、Y、Sc 等),内标溶液为铑(Rh)、铼(Re);多元素混合标准溶液(Na、Mg、Al、Mn、Co、Ni、Cu、Zn、Se、Mo、Sb、Pb、Th、U),内标溶液为钪(Sc)、锗(Ge)、铋(Bi),以上均购于美国 Agilent 公司。Rb、Cs 的单元素金属标准溶液,内标溶液为铑(Rh),购于国家钢铁材料测试中心钢铁研究所。牡蛎粉标准物质(NBS 1566b),硝酸(默克级)。

1.2 实验动物及分组

取 75 只 4 周龄 SD 雄性大鼠(80~100 g),由北京大学医学部动物实验中心提供,饲养于医学部实验动物中心动物室,2 级环境。适应性喂养 1 周后,将大鼠背部的毛发剃去,并根据体重随机分为 25 个剂量组,每组 3 只,按照每 100 g 体重 1.0 mL 灌胃液对大鼠进行隔天灌胃,各剂

量组的灌胃剂量分别为 0、0.1、0.5、1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,根据体重的增加同步增加灌胃量。

1.3 样品预处理及测定

1.3.1 样品预处理 实验的第 40、80、120 天,分别从每个剂量组随机取 1 只大鼠,乙醚麻醉后,取 4 mL 股动脉血于肝素抗凝管中,冷冻保存,待测。取 2 mL 血液于消解罐中,加入 6 mL 浓硝酸,冷消化 2 h,随后微波消解 2 遍,其参数列于表 1。转移并定重至 25 g,摇匀待测。

表 1 微波消解参数

Table 1 Microwave digestion operating parameters

步骤	功率/ W	爬坡时间/ min	压力/ MPa	控制温度/ °C	保持时间/ min
1	1 200	5	3.447 5	120	3
2	1 200	8	3.447 5	160	5
3	1 200	5	3.447 5	190	15

1.3.2 仪器测定条件 使用调谐液调整仪器各项指标,使仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标达到测定要求。优化后的仪器参数列于表 2。

1.3.3 干扰及消除 选择受干扰程度最低的同位素作为该元素的分析同位素,采用内标校正法克服基体效应,选用适当的内标元素补偿基质干扰。内标选择原则:⁸²Se、⁹⁵Mo、¹⁴²Nd、¹⁵²Sm、¹⁵⁸Gd、¹⁶⁴Dy、¹⁶⁸Er、¹⁷⁴Yb、¹²¹Sb 选用内标¹⁸⁷Re;⁸⁹Y、⁸⁵Rb、¹³³Cs、⁴⁵Sc 选用内标¹⁰³Rh;²³Na、²⁴Mg、²⁷Al、⁵⁵Mn、⁵⁹Co、⁶⁰Ni 选用内标⁴⁵Sc;⁶³Cu、⁶⁶Zn 选用内标⁷²Ge;²⁰⁸Pb、²³²Th、²³⁸U 选用内标²⁰⁹Bi。

1.4 质量控制

按照微生物的标准以及在特定的环境和营养状态下饲养,并做好实验记录。实验使用的仪器均经过国家质检部门检定和校准。

表 2 ICP-MS 的操作参数

Table 2 Operational parameters of ICP-MS

操作参数	工作条件
射频功率/W	1 380
载气流速/(L · min ⁻¹)	1.18
辅助气流速(L · min ⁻¹)	0
雾化室温度	2
蠕动泵转速/(r · s ⁻¹)	0.1
采样深度/mm	8.5
采样点数	3
重复次数	3
雾化器	Barbinton 雾化器
采样锥	Ni 锥

在应用电感耦合等离子体质谱法测定样品前,采用方法精密度、加标回收和标准参考物质进行质控。相对标准偏差均小于 5%;样品加标回收率为 85%~115%;所测牡蛎粉标准参考物质(NBS 1566b)的测定值均介于标准值范围内;所测元素浓度超出标准曲线线性范围的样品,稀释后重新测定。

1.5 统计分析

将所有原始实验数据录入计算机,建立 excel 数据库。用 SPSS 12.0 软件对所有元素做整体相关,满足正态性的采用 Pearson 相关,不满足的用 Spearman 相关。最后整理出所有元素的相关矩阵表进行比较分析,以 $P < 0.05$ 判断其相关的显著性。

2 结果

2.1 血铅浓度与灌胃剂量的关系

随着醋酸铅灌胃剂量的增加,40、80、120 天染毒组大鼠血铅浓度整体呈上升趋势,示于图 1,图 2。其中,40 天染毒组血铅浓度与灌胃剂量呈良好的线性关系,相关系数为 0.94;80、120 天染毒组血铅浓度与灌胃剂量的线性趋势变差,呈“波动”上行。灌胃剂量为 5~70 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,80 天染毒组血铅浓度高于 120 天染毒组。

2.2 血铅浓度与染毒时间的关系

当灌胃剂量小于 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,随染毒时间延长,血铅浓度升高;灌胃剂量在 5~70 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,血铅浓度的时间趋势关系被打破,80 天

染毒组的血铅浓度反而高于 120 天染毒组;当灌胃剂量大于 140 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,血铅浓度随染毒时间的延长又上升,示于图 3。

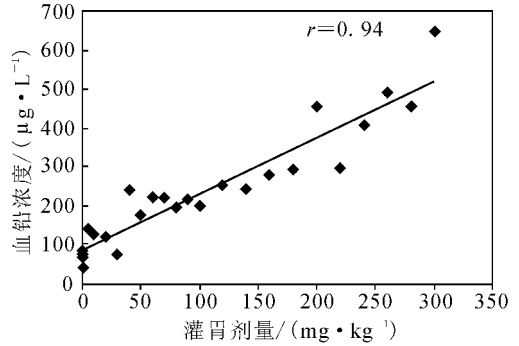


图 1 40 天染毒组的剂量趋势

Fig. 1 Dose trends at 40-day exposed group

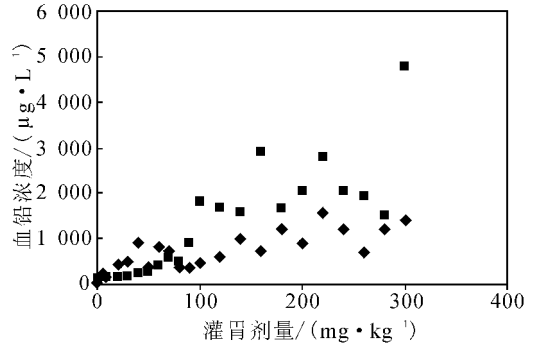


图 2 不同染毒周期的剂量趋势

Fig. 2 Dose trends at different exposure cycle

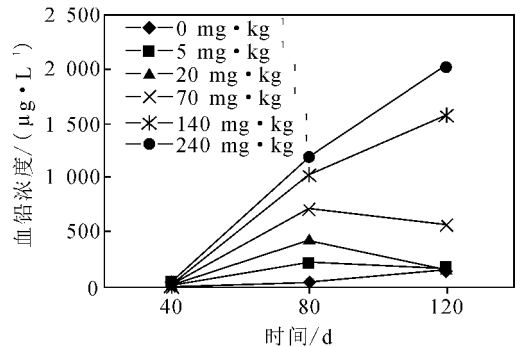


图 3 不同剂量组的时间趋势

Fig. 3 Time trend at different dose groups

2.3 血铅与其他元素浓度的相关性

对所研究的 24 种元素进行相关性分析,结果表明:血铅浓度与 Al、Sc、Co、Rb、Mg、Nd、Sm、Gd、Dy、Er、Yb 元素浓度间无统计学相关 ($P > 0.05$);血铅浓度与血 Se、Sb、Cs、U、Th 浓

度仅在 40 天染毒组相关有统计学意义 ($P < 0.05$); 而与 Mo、Na、Mn、Ni、Cu、Zn、Y 元素浓度之间在 40 天染毒组相关是没有统计学意义

的; 但在 80 天或者是 120 天染毒组相关具有有统计学意义, 其中与 Na、Mn、Ni、Mo 为正相关, 与血 Cu、Zn、Y 为负相关, 结果列于表 3。

表 3 血铅浓度与其他元素的相关

Table 3 Correlations of concentration of blood lead and other elements

元素	Se	Sb	Cs	U	Th	Mo	Na	Mn	Ni	Cu	Zn	Y
$r(40)$	0.60	-0.70	-0.47	-0.90	-0.93	0.12	-0.12	0.02	-0.32	0.28	0.27	0.13
P 值	**	**	*	**	**	—	—	—	—	—	—	—
$r(80)$	0.13	0.01	-0.31	0.03	-0.39	-0.30	0.48	-0.11	-0.03	0.18	-0.20	-0.60
P 值	—	—	—	—	—	—	*	—	—	—	—	**
$r(120)$	0.38	0.24	-0.40	-0.19	-0.34	0.42	0.53	0.55	0.56	-0.55	0.61	-0.48
P 值	—	—	—	—	—	*	**	**	**	**	**	*

注: $r(40)$ 、 $r(80)$ 、 $r(120)$ 分别指 40 天、80 天、120 天染毒组铅与其他元素的相关系数;

** 表示 $P < 0.01$, * 表示 $P < 0.05$, — 表示 $P > 0.05$

3 讨论

血铅浓度的上升不仅与灌胃剂量、染毒时间有关, 而且依赖于暴露类型^[6]。研究结果表明, 40 天染毒组血铅浓度的上升与灌胃剂量呈现良好的线性关系, 而 80、120 天染毒线性关系较差。当染毒周期较短时, 铅较为稳定的蓄积在血液中, 通过粪便、转移等途径代谢的铅很少, 使得血铅浓度持续上升, 与灌胃剂量呈现良好的线性关系; 随染毒时间的延长, 血铅浓度过高, 达到一定浓度便向其他组织大量转移, 导致血铅浓度与灌胃剂量之间的线性关系被破坏。血铅越高, 铅进入肾、骨组织的量越多^[7]; 当血铅过低时, 肾、骨组织释放铅进入血液, 铅通过吸收、蓄积、排出、转移等方式在体内维持着动态平衡。血铅向体内其他脏器大量转移时, 浓度值的确定还有待反复的实验研究。

血铅浓度时间趋势的研究表明, 当灌胃剂量在 $5 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 80 天染毒组的血铅浓度反而高于 120 天染毒组, 可能的原因为 120 天染毒组的血铅浓度过高, 达到了一个向组织脏器转移的阈值, 转移到其他组织脏器或通过尿、粪便排泄所致, 具体原因还需设计专门试验来证明。铅在血液中的毒代动力学特点, 也从侧面反映了血铅作为铅蓄积的指标存在一定的缺陷。

生物体内的各种元素处于一种相互平衡的状态, 如果改变其中某种元素的浓度, 其他元素的浓度也会发生相应的改变^[8]。铅在血液中的蓄积, 必然也会影响其他元素的正常浓度范围。

以往的动物实验显示, 血铅的升高对血中 Cu、Zn 等元素的含量有一定影响。何瑞芳^[9]认为, 血铅浓度上升可引起血 Zn 下降和血 Cu 升高; 李伟等^[10]研究发现, 醋酸铅染毒 SD 大鼠, 使骨、肾组织中 Cu 含量降低 ($P < 0.05$), 但对血 Cu 含量没有直接影响; 王桂兰等^[11]连续 9 周对雄性 SD 大鼠醋酸铅灌胃, 结果血 Zn 含量降低 ($P < 0.05$)。研究结果显示, 血 Cu、Zn 浓度出现下降趋势, 血铅与 Cu、Zn 为负相关。铅^[12-13]的部分毒性在于与 Cu、Zn 等金属的竞争, 主要是影响与这些金属有关的蛋白酶的功能, 竞争性抑制 Cu、Zn, 从而加速其代谢速率, 导致血液中上述元素浓度的下降。肾、骨等组织脏器中元素向血液中转移动^[14], 所以在一定程度上模糊了血铅与血 Cu、Zn 之间的关系。但随着染毒时间的延长, 铅的持续毒性作用, 被竞争性抑制的元素大量排出体外, 元素之间的关系最终会真实的反映出来。以往的研究结果之所以不同, 一定程度上是由于染毒剂量与染毒时间的不同, 导致生命元素在血液、脏器间的转移, 从而掩盖了它们与铅之间的真实关系, 本实验的设计克服了上述因素。研究发现, 有类似相关的元素还有 Ni、Y、Na、Mn、Mo, 上述元素在以往文献中尚未有相关报道。

本实验发现血铅浓度与 Se、Sb、Cs、U、Th 元素浓度仅在 40 天组相关有统计学意义 ($P < 0.05$)。可能是铅对上述元素确实存在短期效应, 也可能是由于血铅导致其他元素的代谢紊乱而引起虚假相关, 需要进一步实验研究来论证。

4 结 论

血铅浓度的变化与灌胃剂量与染毒周期有关,血铅浓度的变化存在阈值;血铅浓度与其他元素的相关类型复杂多样,但有一定的规律;血铅本身的波动限制了其作为体内脏器铅蓄积指标的可能。

致谢:北京市东城区科委在实验经费方面给予的大力支持。

参考文献:

[1] 梁振山,张发贵,杨华平. 环境铅污染及其所致的儿童铅中毒[J]. 河南预防医学杂志,2002,13(3): 183-187.

[2] 顾永祚,顾兴平. 环境铅污染与健康[J]. 四川环境,1998, 17(1):1-7.

[3] TERESA S B, BARBARA D B. What is the meaning of non-linear dose-response relationships between blood lead concentrations and IQ? [J]. Neuro Toxicology, 2006,27:520-524.

[4] GUILLAUME G, BRUNO L, THIERRY M, et al. Biomonitoring of the adverse effects induced by the chronic exposure to lead and cadmium on kidney function: usefulness of α -glutathione *S*-transferase [J]. Science of the Total Environment, 2007, 377: 165-172.

[5] 熊依杰, 欧阳荔, 王京宇, 等. 生命元素组学的重要组成部分: 给定组织中元素的特异相关性研究 [J]. 质谱学报, 2006, 27(增刊): 35-37.

[6] 刘凤琴,倪燕君. 一次和多次投用醋酸铅制剂后大鼠体内铅的毒性动力学[J]. 国外医学:医学地理分册,1999,20(4):176.

[7] 冯 昶,范广勤,李 伟. 铅染毒与大鼠骨中锌、钙、铜的相关性研究[J]. 江西医学院学报,2003, 43(6):54-55.

[8] 柴巍中,王京宇,欧阳荔. 从生命元素的发展历史和互作关系看当前生命元素研究的现状和局限以及开展全元素研究的重要意义[J]. 微量元素与健康研究,2003,20(5):54-58.

[9] 何瑞芳,张 艳,杨艳旭,等. 铅中毒幼鼠血铅、锌、铜、铁、钙水平变化[J]. 实用儿科临床杂志,2006, 21(14):936-937.

[10] 李 伟,范广勤,熊华宏. 铅染毒对大鼠体内铜元素的影响研究[J]. 现代预防医学,2006,33(10): 1 878-1 879.

[11] 王桂兰,刘双军,吕 萍,等. 长期低铅染毒对大鼠心肌微粒体膜脂质过氧化影响[J]. 卫生研究, 1996,25(5): 265-267.

[12] NIKLOWITZ W J, YEAGER D W. Interference of Pb with essential brain tissue Cu, Fe and Zn as main determinant in experimental tetraethyllead encephalopathy[J]. Life Sci, 1973, 13: 897-908.

[13] Center for disease control. Preventing lead poisoning in young children [M]. Atlanta: CDC, 1991: 1-5.

[14] 王雪飞,张 杰,张智勇. 铅对大鼠体内锌、铜、铁和锰含量的影响[J]. 核化学与放射化学,2004, 26(4):216-219.

=====

2010 年《分析测试学报》征订启事

《分析测试学报》是由中国分析测试协会、中国广州分析测试中心共同主办的全国性学术刊物,中文核心期刊。国内刊号:CN 44-1318/TH;国际标准刊号:ISSN 1004-4957;国际刊名化代码 CODEN: FCEXES;邮发代号:46-104;国外代号:BM 6013;广告经营许可证:440000100186。

刊登质谱学、光谱学、色谱学、波谱学、电化学、电子显微学等方面的分析测试新理论、新方法、新技术,介绍新仪器装置在生物、医药、化学化工、商检、食品检验等方面的实验技术。本刊被美国化学文摘、日本科技文献速报、俄罗斯文摘、英国分析文摘(AA)、中国学术期刊综合评价数据库(CA-JCED)统计刊源、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊等知名数据库收录)。

本刊为月刊,国内外公开发行人。大 16 开,单价:12.00 元/册,全年 144 元。请在全国各地邮局订阅。补订办法:邮局汇款至广州市先烈中路 100 号《分析测试学报》编辑部,邮编:510070,电话:(020)87684776 或 37656606,http://www.fxcsxb.com(可在线投稿),E-mail:fxcsxb@china.com。