

doi:10.3969/j.issn.2095-1035.2021.03.003

低浓度含铅细颗粒物暴露 大鼠体内生物转运研究

夏栋林^{1,2} 仇昀¹ 王乡儿¹ 陈超¹
张小鑫¹ 袁善美³ 顾海鹰¹ 胡勇²[✉]

(1. 南通大学 公共卫生学院, 江苏 南通 226019;
2. 南京大学 现代工程与应用科学学院, 南京 210023; 3. 南通职业大学 江苏 南通 226019)

摘要 食品接触性塑料制品、可再生资源、汽车尾气中含有低浓度铅。铅等重金属体内蓄积严重影响机体健康,但机体长期暴露于铅环境的代谢依然未知。以低剂量含铅细颗粒物暴露为场景,探讨其在大鼠体内的生物转运及体内分布。通过比较每日吸入染毒(7.05 ± 0.83) $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 及经口染毒 0.42 $\mu\text{g}/\text{d}$,连续染毒 28 d。结果显示含铅细颗粒物入血的速度比经口途径快,在肺内蓄积浓度达(4.2 ± 0.67) $\mu\text{g}/\text{g}$,与经口染毒组比较有显著统计学差异($P < 0.01$);排泄方面,吸入含铅细颗粒物以粪便、尿液形式排出为主,与经口染毒组比较具有体内蓄积量大、排泄慢、在股骨和肋骨内蓄积量大的特点。因此,吸入含铅细颗粒物暴露体内蓄积量大,代谢速度慢,暴露危害比经口途径更大。

关键词 含铅细颗粒物; 吸入染毒; 代谢; 蓄积

中图分类号: O657.31; TH744.11 文献标志码: A 文章编号: 2095-1035(2021)03-0012-06

The Biological Transport of Low Concentrations Pb-containing Fine Particulate Matter in Rats

XIA Donglin^{1,2}, QIU Yun¹, WANG Xianger¹, CHEN Chao¹,
ZHANG Xiaoxin¹, YUAN Shanmei³, GU Haiying, HU Yong²[✉]

(1. School of Public Health, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226019, China;
2. College of Engineering and Applied Sciences, Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210093, China;
3. Nantong Vocational University, Nantong, Jiangsu 226019, China)

Abstract Accumulation of fine particulate matter, such as lead, food contact plastic products or automobile exhaust, is one of the most important risk factors for human health. The Pb-containing fine particulate matter was chosen to study the biological transport and biodistribution after inhalation exposure in rats. After exposure, blood, urine, feces, important organs, and bones were collected regularly, of which Pb

收稿日期: 2021-02-16 修回日期: 2021-02-15

基金项目: 国家重点研究与开发计划(2018YFF0215500); 南通市科技项目(JC2019139, JC2019050); 江苏省高校自然科学研究面上项目(19KJB430032)

作者简介: 夏栋林,男,博士,主要从事纳米医学研究。

* 通信作者: 胡勇,教授。E-mail: hvyong@nju.edu.cn

引用格式: 夏栋林,仇昀,王乡儿,等. 低浓度含铅细颗粒物暴露大鼠体内生物转运研究[J]. 中国无机分析化学, 2021, 11(3):12-17.

XIA Donglin, QIU Yun, WANG Xianger, et al. The Biological Transport of Low Concentrations Pb-containing Fine Particulate Matter in Rats[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2021, 11(3):12-17.

levels were tested by atomic absorption meter. Pb-containing fine particles, with $(7.05 \pm 0.83) \mu\text{g}/\text{m}^3$, entered the blood faster after inhalation exposure and accumulated in lung at a higher concentration ($4.2 \pm 0.67) \mu\text{g}/\text{g}$, and which was significant difference compared with the oral administration group ($P < 0.01$). Pb-containing fine particles were excreted mainly through urine at low excretion rate, and most of them were accumulated in rib and femur. We can draw that Pb-containing fine particulate matter increased lung exposure and accumulation in bone after inhalation exposure.

Keywords fine particulate matter containing lead; inhalation exposure; metabolism; accumulation

前言

大气细颗粒物(Particulate Matter, PM)是大气中多种污染物的富集载体,成分复杂,尤其是存在许多重金属(如铅)。这些重金属能够以大气细颗粒物的形式通过呼吸途径进入人体,并长时间沉积。因这些颗粒物难以被生物降解,从而在人体中长期不断向血液释放,甚至可以穿过血脑屏障对中枢神经系统造成影响。特别是长时间干扰人体内蛋白质及酶的功能,造成慢性损伤。

铅是人类环境中接触最频繁的有毒重金属污染之一^[1]。随着铅的广泛应用,铅污染的暴露风险无处不在,如含铅塑料制品作为食品接触材料、可再生资源中残留的铅等。调查发现,我国成人血铅水平高于发达国家,儿童血铅水平更是达到了 $70 \mu\text{g}/\text{L}$ 左右,要比发达国家高出 2~3 倍^[2]。自 2000 年我们全面禁止销售含铅汽油,空气中的铅污染得到了巨大改善。但随着我国汽车保有量的快速增长,汽车尾气中的铅细颗粒物污染形成的低浓度、长时间暴露危险不容忽视。铅在颗粒物状态更容易穿透生物体内的细胞膜进入体内,并且在体内产生累积毒性效应^[3-7]。研究发现低浓度铅暴露会随着暴露时间的增加,导致越来越高的中枢神经系统疾病发生率、孕产妇流产和发育畸形等问题^[8-9],甚至造成婴幼儿智力、记忆力、神经行为的障碍^[10]。但目前低浓度、长期含铅细颗粒物吸入暴露后,在体内生物转运及体内分布并没有相关报道。因此,本文以含铅细颗粒物为研究对象,模拟长期、低浓度暴露,研究其在大鼠体内的吸收、分布与代谢,为含铅细颗粒物的毒性研究提供数据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

AA-6800 原子吸收光谱仪(日本岛津公司);HOPE-MED 8050 动式染毒控制系统(天津开发区合普工贸有限公司);SFC-3BT 呼吸粉尘采样器(常

州德杜精密仪器有限公司);大气颗粒物 $\text{PM}_{2.5}$ 采样器(TAS)(培德国际有限公司);JY2500 汽油发动机(福建省佳友机电);马尔文粒度仪(Zetasizer Nano ZS 90);汽油为中国石化 92# 汽油;硝酸铅购自西陇化工股份有限公司。

1.2 模拟环境的建立

如图 1 所示,将汽油发动机尾气接入动静式染毒柜中:汽油发动机发动引擎后(转速 3 600 r/min),排放的尾气经排气软管直接接入染毒柜,通过补充清洁空气来控制染毒柜中 $\text{PM}_{2.5}$ 的浓度,将实验动物放置染毒柜中进行染毒。利用大气颗粒物 $\text{PM}_{2.5}$ 采样器采集模拟环境中的细颗粒物,随后消化,并利用原子吸收光谱仪测定铅浓度、利用马尔文粒度仪进行粒径分析。

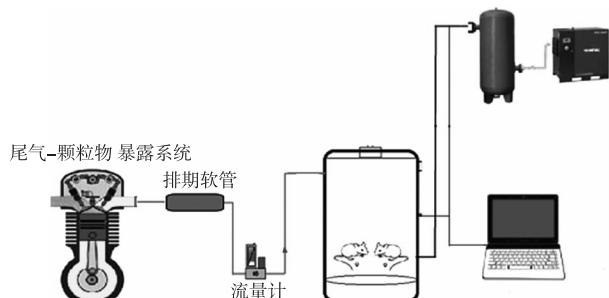


图 1 模拟环境系统示意图

Figure 1 Schematic of simulation environment.

1.3 实验分组与处理

雄性 SD 大鼠 30 只,体重(180 ± 20) g,由南通大学实验动物中心提供。将实验动物随机分为 3 组:对照组、经口染毒组(灌胃)、吸入染毒组。每组 10 只大鼠。对照组采用生理盐水灌胃。经口染毒组以硝酸铅为铅来源。吸入染毒组以模拟环境进行染毒,每天 10 h,连续染毒 28 d。

1.4 样本的收集

染毒后,将实验动物饲养于代谢笼中,12 h 开始第一次收集尿液和粪便,之后于 1、2、3、7、10、14、21、28 d 收集尿液和粪便;染毒后 72 h 开始第一次

眼眶取血,之后于 7、10、14、21、28 d 采集血样,检测血铅含量变化。

1.5 样品处理

按照姚朝英等^[11]报道的方法,将血液、尿液、粪便或者烘干的脏器组织放入烧杯中,按 1 g 组织或 1 mL 液体加入混合酸(硝酸:高氯酸=5:1),室温过夜消化,直至乳液澄清。次日,将烧杯置于电热板上加热煮沸,直到白烟冒尽,消解完全后即得白色残渣。用去离子水分 3 次冲洗烧杯内的白色残渣,利用 10 mL 试管定容冲洗液,摇匀,待测,同时做平行空白。

1.6 铅浓度测定

采用原子吸收光谱法测定铅的浓度,仪器工作参数为波长 283.3 nm,狭缝 0.7 nm,灯电流 10 mA,积分时间 5 s,乙炔流量 1.2 L/min,空气流

量 7.5 L/min,燃烧器高度 6 mm,氘灯背景校正。

1.7 统计分析

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,数据结果均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间的比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 构建的模拟环境含铅细颗粒物情况

所有的 SD 大鼠饲养于屏障系统中,对该屏障系统空气质量进行监测,结果如图 2 所示,清洁空气粒子细颗粒物浓度为 $(7.69 \pm 3.21) \text{ mg/m}^3$,铅浓度为 $(0.12 \pm 0.03) \mu\text{g/m}^3$;粒径范围为 $(90.39 \pm 45.01) \text{ nm}$ 。构建的低浓度铅污染环境中,PM_{2.5} 浓度高达 $(515.16 \pm 8.79) \text{ mg/m}^3$,铅浓度为 $(7.05 \pm 0.83) \mu\text{g/m}^3$,粒径范围为 $(271.20 \pm 148.70) \text{ nm}$ 。

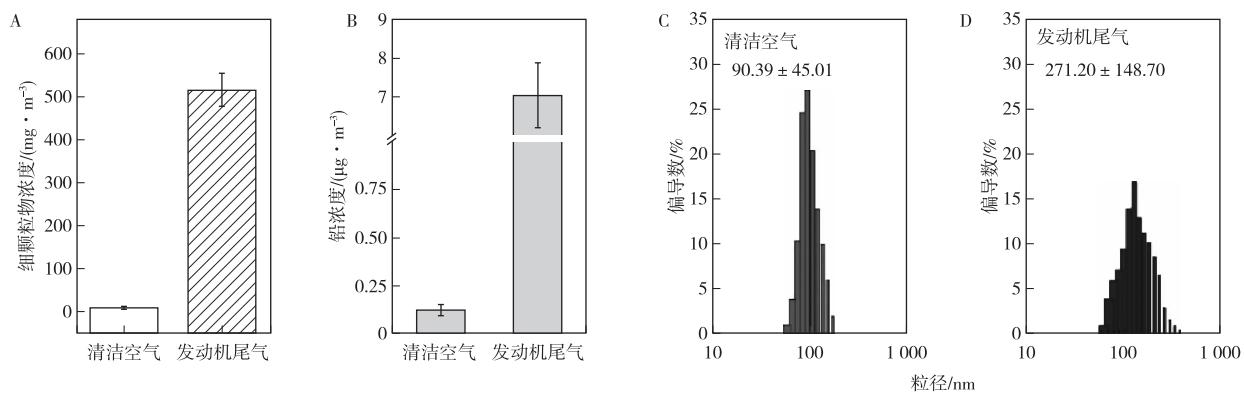


图 2 清洁空气和发动机尾气构建的低浓度铅污染环境指标比较。(A)细颗粒物浓度,(B)铅浓度,(C)清洁空气,(D)低浓度铅污染环境粒径分布

Figure 2 The environmental indicators of the clean air and the microenvironment of low concentration lead.
(A)The concentration of PM_{2.5}, (B)The concentration of Pb, (C)Clean air,
(D)The particle size distribution low concentration of lead.

2.2 各组给药浓度

对构建的模拟环境中细颗粒物中的铅浓度进行检测。按照大鼠气体呼吸量为($50 \sim 101 \text{ mL/min}$),由此估计汽车尾气组每天染毒 10 h,吸入的铅含量约为 $(0.21 \sim 0.42) \mu\text{g/d}$ 。因此,阳性对照组(经口染毒组)为了达到相同的铅摄入量,以硝酸铅为替代,进行灌胃,浓度采用 $0.42 \mu\text{g/d}$,连续 28 d。

吸入染毒组按照铅浓度为 $(0.12 \pm 0.03) \mu\text{g/m}^3$ 染毒,每天 10 h,连续 28 d。

2.3 血铅、铅代谢及体重变化

铅进入体内后将进入血液循环。见图 3A,吸入染毒组和经口染毒组的血铅浓度随着染毒时间延长而逐步上升,直到染毒结束 28 d 达到峰值。比较经口染毒组和吸入染毒组的血铅变化,

可以看出,经口染毒组铅入血速度更快。但染毒在 28 d 结束后,继续观察血铅的变化,可以发现:经口染毒组的血铅浓度迅速下降。这可能是由于染毒结束后,不再有铅从肠道吸收入血。但血铅中浓度依然比对照组高,这主要是由于转移到骨、脏器等内的铅向血液中释放。而吸入染毒组的血铅从 28 d 后明显要高于经口染毒组,这与前期染毒过程中在肺内蓄积了大量的铅后,逐步向血液释放导致,这一点可以从对各组肺内的铅浓度进行检测结果得到验证。

重金属的代谢主要是通过粪便及尿液。图 3B 是各组 56 d 内大鼠粪铅含量的变化。经口染毒组粪铅含量从染毒第 1 周开始到染毒结束(4 周),粪铅含量达到 $3.0 \mu\text{g/g}$ 以上,远高于吸入染毒组的

1.56~2.13 $\mu\text{g/g}$,二者具有统计学差异($P<0.01$)。而染毒结束后,粪铅浓度迅速下降。图3C是56 d内尿铅的变化,吸入染毒组的尿铅浓度迅速上升,直到染毒结束。经口染毒组尿铅虽有上升,但要小于吸入染毒组。并且同粪铅浓度曲线相似,染毒结束(28 d)后,尿铅浓度迅速下降。结合图3B、3C的结果,可以看出经口途径、吸入途径染毒均主

要是通过粪便排泄,另外尿液排泄是吸入染毒后排泄的另一条主要途径。

三组大鼠的平均体重结果如图3D所示。56 d内阴性对照组体重迅速增加,吸入染毒组和经口染毒组体重增加缓慢。与对照组相比,不论是经口染毒组还是吸入染毒组,与对照组比较均有统计学差异($P<0.01$)。

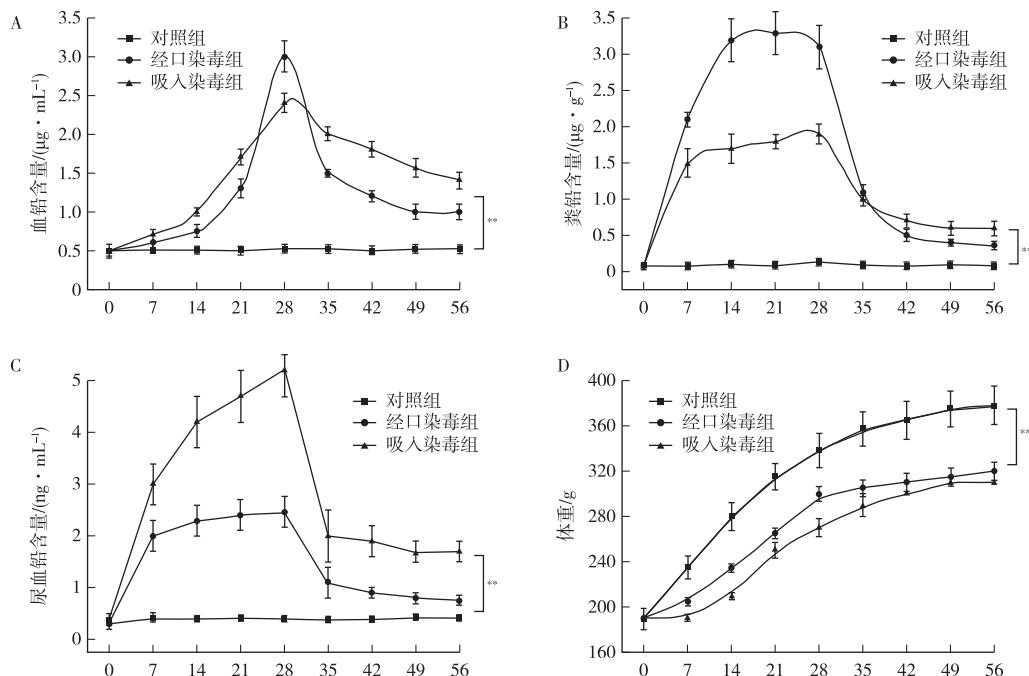


图3 染毒后血铅、粪铅、尿铅浓度和体重变化。1~28 d为染毒期(28 d),29~56 d为观察期。

(A) 血铅浓度变化;(B) 粪铅浓度变化;(C) 尿铅浓度变化;(D) 体重变化曲线。

(吸入染毒组与经口染毒组比较, $**P<0.01$)

Figure 3 The curve of Pb concentration in the blood, feces, urinary and the change of body weight. The rats were exposed to $\text{PM}_{2.5}$ for 28 d and following 28 d observation period. The curve of (A) Blood lead, (B) Fecal lead, (C) Urinary lead, (D) The change of body weight. ($P<0.01$, significant compared with oral administration group).**

2.4 铅的体内分布

由染毒后血铅、铅代谢及体重变化,推测吸入染毒组铅在体内蓄积量大。由此我们对染毒期内肺部铅浓度变化进行检测。如图4A所示,随着染毒时间的延长,吸入染毒组肺内铅明显高于其他组,有统计学差异($P<0.01$)。说明大量的铅细颗粒物能够在肺内沉积。56 d后,各组铅在各脏器的分布,如图4B所示。经口染毒组和吸入染毒组各脏器铅含量均有所增加,且肺、肾、脾及心内铅含量增加,与对照组相比,有统计学意义($P<0.01$)。染毒后经过28 d,吸入染毒组的肺铅仍然

远远高于经口染毒组肺铅含量($P<0.01$)。图4B显示了各组骨铅含量的变化,吸入染毒组股骨、尾骨、肋骨铅含量均高于对照组及经口染毒组,有统计差异($P<0.01$)。铅在骨骼组织分布顺序为:肋骨>股骨>尾骨。

结合图3、4的结果,可以看出吸入染毒组在体内的蓄积量比较大,因此对残留铅的比例进行计算,如图4D,经过28 d的染毒,28 d正常饲养后,经口染毒组铅的残留量是 $18.98\% \pm 4.56\%$,而吸入染毒组铅的残留量高达 $33.71\% \pm 7.38\%$,远高于经口染毒组($P<0.01$)。

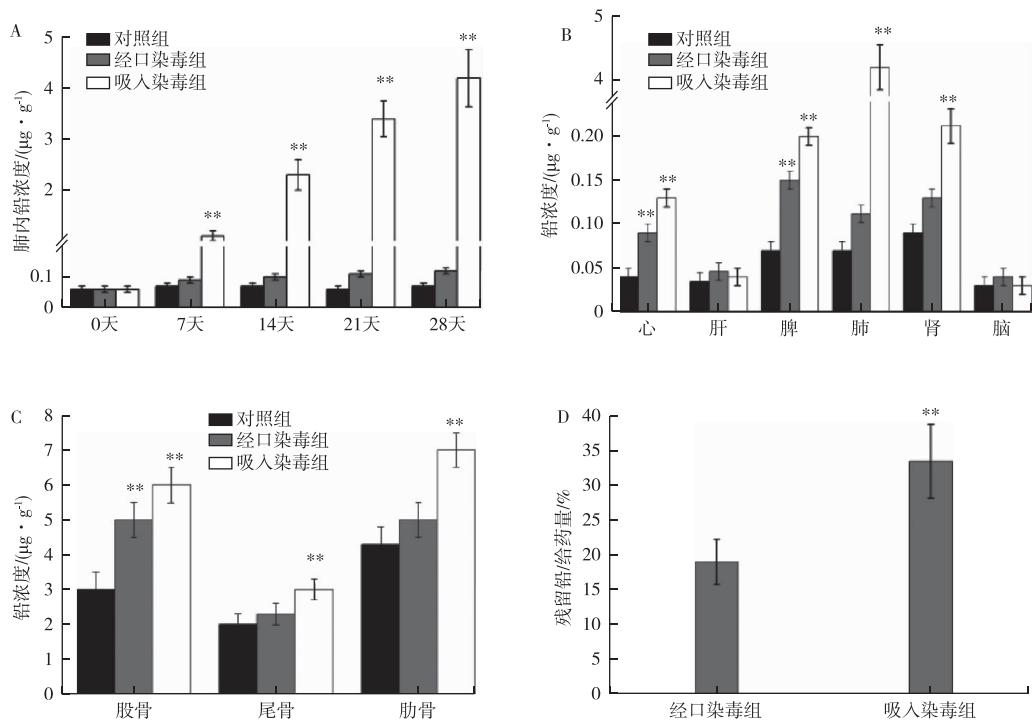


图 4 铅的体内分布。(A) 染毒期内肺铅浓度变化;(B) 56 d 后各组重要脏器铅含量;(C) 56 d 后骨铅浓度;(D) 吸入染毒组与经口染毒组铅残留量比较, ** $P < 0.01$

Figure 4 In vivo distribution of Pb. (A) The change of Pb concentration in lung during inhalation exposure. (B) The concentrations of Pb in major organs in each group after 56 d. (C) the bone level of lead after 56 d. (D) The residue of Pb in the oral exposure group, and the inhalation group, ** $P < 0.01$.

3 讨论

重金属铅的暴露呈现细颗粒化及低浓度化,虽然目前规定的血铅阈值水平为 0.1 mg/mL^[12],但有证据表明铅的安全阈值无法确定。因此必须考虑任何铅暴露风险因素,特别是不同暴露途径与时间^[13-14]。暴露途径的不同,意味着金属在体内的吸收和组织分布不同,对机体的危害不同。本实验比较了不同暴露途径(亚急性经口和吸入毒性实验)对大鼠进行铅染毒,结果发现在吸入染毒和经口染毒组体重均增加缓慢,且吸入染毒组体重明显下降,可能与吸入染毒后,大量铅在肺内蓄积,并不断向血液、脏器等转移,从而使得大鼠处在高铅污染状态,影响了大鼠的生长发育。

在低浓度下持续暴露于铅导致其在体内积聚,并分布于各个器官如:肝脏、肾脏、肺脏、胰腺、脾脏,最终累积在骨骼中^[15]。铅暴露人群的尸体解剖研究也表明,在软组织中,肝脏是储存最多的器官(33%),其次是肾脏。对儿童血铅进行分析发现,铅在骨骼、肾脏和肺脏中含量较高^[16]。也有人用同位素实验证明了铅在大鼠体内的分布,主要在肝和肾

脏中,睾丸、心脏、脑中的铅含量较低,但并未对骨骼铅分布情况进行研究。本实验研究了不同暴露途径(亚急性经口和吸入毒性实验)染毒后大鼠体内血铅、粪铅、尿铅、脏器铅、骨铅含量的变化,在大鼠所有器官和组织中都有发现铅的分布。其中吸入染毒后,大量的铅以细颗粒物的形式进入体内,在肺内大量蓄积。

铅的代谢主要通过肾过滤和尿粪排泄,少量铅也排泄在汗液,头发和指甲,剩余分布到软组织和骨。本研究中发现经口染毒组中 81.02% 的铅可以通过尿粪排泄掉,剩余部分才缓慢入血;而吸入染毒组的铅可以通过尿液排泄,尿粪总排泄率约为 66.29%,导致大量在肺内沉积,进而加重了骨沉积。

4 结论

针对食品接触性塑料制品、可再生资源、汽车尾气等低浓度铅暴露,开展了大鼠低浓度含铅细颗粒物暴露体内生物转运研究。通过对吸入染毒及经口染毒后体内分布、排泄,得出含铅细颗粒物吸入更容易在体内(肺)蓄积,具有入血速度快、肺内沉积量

大的特点。最终主要在股骨和肋骨内蓄积,且排泄慢,体内铅残留含量更高,危害更大。因此,低浓度、长时间含铅细颗粒物的环境暴露对人体的危害需引起人们重视。

参考文献

- [1] KIM E, WICKRAMASURIYA S S, SHIN T K, et al. Bioaccumulation and toxicity studies of lead and mercury in laying hens: Effects on laying performance, blood metabolites, egg quality and organ parameters[J]. J. Poult. Sci., 2019, 56(4): 277-284.
- [2] LIU C C, CHI C H, YEN S C, et al. Blood lead and zinc levels and their impact on health of free-living small carnivores in Taiwan, Republic of China[J]. J. Wildl. Dis. Jan., 2020, 56(1): 157-166.
- [3] 陈璐,李霞,李增梅,等.微波消解-电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定山东小麦中铬、镍、铜、砷、镉、铅、锌的含量及质量控制[J].中国无机分析化学,2020,10(3):66-70.
CHEN Lu, LI Xia, LI Zengmei, et al. Determination and quality control of chromium, nickel, copper, arsenic, cadmium, lead and zinc in whe at in Shandong province by ICP-MS with microwave digestion [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2020,10(3):66-70.
- [4] HIGAZY A, HASHEM M, ELSHAFEI A, et al. Development of anti-microbial jute fabrics via in situ formation of cellulose-tannic acid-metal ion complex[J]. Carbohydr. Polym., 2010, 79(4): 890-897.
- [5] 欧朝接,吴琼婧,韦东,等.微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定稻谷中铬、镍、铜、砷、镉、铅的含量[J].中国无机分析化学,2019,9(2):5-8.
OU Chaojie, WU Qiongjing, WEI Dong, et al. Determination of chromium, nickel, copper, arsenic, cadmium and lead in rice by ICP-MS with microwave digestion[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2019,9(2):5-8.
- [6] ZHANG Q, LUO Q, YUAN X Y, et al. Atmospheric particulate matter 2.5 promotes the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells[J]. Oncol. Lett., 2017, 13(5): 3445-3450.
- [7] YAN L, GONG C H, YING L Y, et al. PM_{2.5} affects establishment of immune tolerance in newborn mice by reducing PD-L₁ expression[J]. J. Biosciences., 2019, 44(2):41.
- [8] OBI-EZEANI C N, DIOKA C E, MELUDU S C, et al. Blood pressure and lipid profile in automechanics in relation to lead exposure[J]. Indian J Occup Environ Med., 2019;23(1):28-31.
- [9] SPANIER A J, MCLAINE P, GILDEN R C. Screening for elevated blood lead levels in children and pregnant women[J]. JAMA., 2019, 321(15):1464-1465.
- [10] ZHU J, FANG X Z, DAI Y J, et al. Nitrate transporter 1.1 alleviates lead toxicity in Arabidopsis by preventing rhizosphere acidification[J]. J. Exp. Bot., 2019, 70(18):6363-6374.
- [11] 姚朝英,任兰,徐笑寒.火焰原子吸收光谱法测定尘铅前处理方法的研究[J].化学分析计量,2012,21(6): 50-52.
YAO Chaoying, REN Lan, XU Xiaohan. Pretreatment methods of lead dust determined by flame atomic absorption spectrometry [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2012, 21(6):50-52.
- [12] TRIPATHY A, PRAMANIK S, MANNA A, et al. Design and development for capacitive humidity sensor applications of lead-free Ca, Mg, Fe, Ti-oxides-based electro-ceramics with improved sensing properties via physisorption[J]. Sensors(Basel), 2016, 16(7):113.
- [13] KUMAR S P, KUMAR S M, SINGH Y R, et al. Attenuation of lead-induced neurotoxicity by omega-3 fatty acid in rats[J]. Ann Neurosci., 2018, 24 (4): 221-232.
- [14] BARANOWSKA-BOSIACKA I, STRUŻYŃSKA L, GUTOWSKA I, et al. Perinatal exposure to lead induces morphological, ultrastructural and molecular alterations in the hippocampus[J]. Toxicology, 2013, 303(7):187-200.
- [15] ALBISHTUE AA, YIMER N, ZAKARIA MZA, et al. The role of edible bird's nest and mechanism of averting lead acetate toxicity effect on rat uterus[J]. Vet World Jul., 2019, 12(7):1013-1021.
- [16] ZAHRAN S, MIELKE H W, WEILER S, et al. Children's blood lead and standardized test performance response as indicators of neurotoxicity in metropolitan New Orleans elementary schools [J]. Neurotoxicology, 2009, 30(6):888-897.