

表 3 氟化钠对 BV-2 细胞培养液中 NO 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

NaF ($\mu\text{g/ml}$)	1 h	6 h	12 h	24 h	R 值	P 值
0	0.402 $\pm$ 0.260	1.234 $\pm$ 0.268	2.802 $\pm$ 0.353	4.158 $\pm$ 1.036	0.935	0.000
1	0.600 $\pm$ 0.222	1.117 $\pm$ 0.365	3.311 $\pm$ 0.801	3.763 $\pm$ 0.777	0.863	0.000
5	1.119 $\pm$ 0.257*	1.175 $\pm$ 0.304	2.802 $\pm$ 0.595	4.441 $\pm$ 0.739	0.934	0.000
10	1.119 $\pm$ 0.463*	1.117 $\pm$ 0.405	2.746 $\pm$ 0.339	3.763 $\pm$ 0.944	0.881	0.000
25	1.489 $\pm$ 0.222*	1.292 $\pm$ 0.101	2.350 $\pm$ 0.196	3.876 $\pm$ 0.595	0.929	0.000
50	1.489 $\pm$ 0.222*	1.760 $\pm$ 0.365	1.616 $\pm$ 0.353*	2.463 $\pm$ 0.098	0.777	0.003
R 值	0.693	0.601	-0.760	-0.613		
P 值	0.001	0.008	0.000	0.007		

注: 与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

传导过程。但过多的活性氧自由基就会有破坏作用, 主要有细胞膜破坏、血清抗蛋白酶失活、基因损伤导致细胞变异。本实验研究结果显示, 氟化钠能够增加细胞内 ROS 含量, 说明氟能够引起小胶质细胞过氧化, 产生活性氧自由基; 50 $\mu\text{g/ml}$ NaF 处理组, 细胞内 ROS 含量与暴露时间正相关, 说明随暴露时间延长, 活性氧自由基在细胞内逐渐蓄积; 1、5 $\mu\text{g/ml}$ NaF 处理组, 细胞内 ROS 含量与暴露时间负相关, 这可能与细胞中抗氧化系统的代偿能力有关。

一氧化氮由 L-精氨酸受 NOS 催化产生, 脑组织中含有 NOS, 并可产生一氧化氮的细胞有神经元、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、小胶质细胞和星形胶质细胞等^[4]。iNOS 能够持续大量地催化 NO 产生, 而 NO 具有潜在神经毒性, 过量 NO 可通过多种途径损伤膜性结构、蛋白质及 DNA, 导致神经元坏死或凋亡^[5,6]。本实验研究结果显示, BV-2 细胞短时间 (1、6 h) 暴露于氟化钠, 细胞培养液 NO 含量与染氟剂量正相关, 推测在氟暴露早期, 一氧化氮合酶水平升高, 催化生成 NO; 随暴露时间延长 (12、24 h), 细胞培养液 NO 含量随染氟剂量增加而降低, 推测长时间大剂量氟暴露, 可能会抑制一氧化氮合酶活性, 需要今后进一步研究。本研究还发现, 随着时间的增加, 每个浓度组细胞培养液中 NO 含量均增加, 说明随暴露时间延长, NO 在培养液中逐渐蓄积; 0 $\mu\text{g/ml}$ NaF 处理组, 细胞培养液中 NO 含量与暴露时间正相关, 可能由于

染毒时培养液中血清的消耗刺激了 NO 的生成。

参考文献:

- [1] 谭郁彬. 氟对机体代谢及各系统的影响 [J]. 中国地方病防治杂志, 1994, 9 (4): 230.
- [2] Wang Y N, Xiao K Q, Liu J L, *et al.* Effect of long term fluoride exposure on lipid composition in rat liver [J]. Toxicology, 2000, 146: 161-169.
- [3] Guan Z Z, Xiao K Q, Zheng X Y, *et al.* Changed cellular membrane lipid composition and lipid peroxidation of kidney in rats with chronic fluorosis [J]. Arch Toxicol, 2000, 74: 602-608.
- [4] De Vente J, Hopkins D A, Markerink-van Ittersum M, *et al.* Distribution of nitric oxide synthase and nitric oxide-receptive, cyclic GMP-proceducing structures in the rat brain [J]. Neuroscience, 1998, 87: 207-241.
- [5] Haas J, Storch-Hagenlocher B, Biessmann A, *et al.* Inducible nitric oxide synthase and argininosuccinate synthetase: co-induced in brain tissue of patients with Alzheimer's dementia and following stimulation with β -amyloid 1-42 in vitro [J]. Neuroscience Letters, 2002, 322 (2): 121-125.
- [6] Law A, Gauthier S, Quirion R. Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type [J]. Brain Res Brain Res Rev, 2001, 35 (1): 73-96.

纳米硫化铅包裹方式对毒代动力学的影响

Package mode of lead sulfide nanoparticles on toxicokinetics in mice

李清钊¹, 徐厚君¹, 曹燕花¹, 郝玉兰¹, 郑国颖¹, 闫立成¹, 刘钊²

LI Qing-zhao, XU Hou-jun¹, CAO Yan-hua¹, HAO Yu-lan¹, ZHENG Guo-ying¹, YAN Li-chang¹, LIU Zhao²

(1. 河北联合大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000; 2. 南开大学环境科学学院, 天津 300192)

摘要: 126 只昆明小鼠随机分为 3 个组, 分别给予未包裹、巯基乙酸包裹、巯基乙醇包裹纳米硫化铅。采用腹腔注射法一次性染毒 0.2 ml (200 mg/kg)。于染毒后第 0.5、1、6、12、24、36、48 小时各时点取血, 检测血铅含量。随着小鼠染毒时间的增加, 血铅上升到一定峰值后逐渐降低。小鼠

染毒后 48 h 内, 3 组样品中血铅浓度呈未包裹组 > 巯基乙酸组 > 巯基乙醇组, 毒代动力学铅浓度-时间曲线符合一级吸收二室模型, 毒代动力学参数显示, 巯基乙醇组代谢最快, 而未包裹组代谢最慢。提示包裹后纳米硫化铅在血中含量低, 代谢速度快。

关键词: 纳米硫化铅; 电感耦合等离子体质谱仪; 毒代动力学

中图分类号: R114

文献标识码: B

收稿日期: 2011-03-15; 修回日期: 2011-06-07

作者简介: 李清钊 (1963—), 女, 高级实验师, 研究方向: 环境毒理学。

文章编号: 1002-221X(2012)01-0046-03

纳米材料是指物质结构在三维空间内至少有一维处于纳米尺寸 (0.1~100 nm, 1 nm = 10⁻⁹ m)^[1]或由纳米单元构成的新型材料,随着纳米材料被迅速普及和广泛应用,其对人体健康以及环境的潜在影响,已经引起公众的广泛关注。纳米硫化铅是新型荧光发光材料、新型太阳能电池板和半导体材料,本课题利用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS)^[2]检测不同时间血铅含量,研究包裹后纳米硫化铅粒子与未包裹粒子在体内代谢的情况。

1 材料与方法

1.1 材料

清洁级健康雄性小鼠 126 只,体重约 20 g,购自北京华康实验有限公司,动物号 SCXK (京) 2009-0004,动物房 SYXK (冀) 2005-0038。

未包裹的纳米硫化铅 PbS I (球状粒径 20 nm), 巯基乙酸包裹的纳米硫化铅 PbS II (球状粒径 20 nm), 巯基乙醇包裹的纳米硫化铅 PbS III (球状粒径 20 nm), 均由南开大学环境科学与工程学院提供。硝化液: 硝酸、高氯酸。

电子天平、电热板、离心机、7500 型电感耦合等离子体质谱联用仪 (ICP-MS) (美国 Agilit 公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及染毒,实验开始前将小鼠进行 1 周的适应性饲养。随机分为 3 组,分别为 PbS I、PbS II、PbS III 组,每组 42 只。塑料笼饲养,自由饮水、进食,饲养室温度在 22℃ 左右,环境干燥,通风良好。将不同的纳米硫化铅加生理盐水配制成浓度 20 mg/ml 的混浊液,经过充分的超声振荡使液体均匀。每组分别一次性腹腔注射 3 种不同的纳米硫化铅 (按 200 mg/kg 给药)。于小鼠腹腔注射染毒后第 0.5、1、6、12、24、36、48 小时,每个时间点取 6 只小鼠,自眼部采血,消化后用 7500 型电感耦合等离子体发射质谱仪 (ICP-MS) 进行铅的定量分析。

1.2.2 仪器测定条件 本次实验用 7500 型电感耦合等离子体质谱仪 (美国 ICP-MS) 测定血铅含量。仪器主要参数: 载气 1.18 L/min, 辅助气 1.14 L/min, 等离子气 15.0 L/min, 等离子体发生器发射功率 1 400 W, 雾化器 SCF, 雾室温度 2.5℃, 内标液²⁰⁹Bi, 溶液进样速度 1 ml/min, 进样时间 1 min, 稀硝酸冲洗时间 30 s, 超纯水冲洗时间 30 s。

表 1 小鼠腹腔注射给药后血铅毒代动力学参数

组别	Ke (1/h)	T _{1/2} (h)	AUC	V [(mg/kg)/(μg/ml)]	CL [(mg/kg)/h·(μg/g)]
PbS I	0.023 4 ± 0.036 3	28.670 9 ± 4.859	221.848 ± 7.362 7	12.049 2 ± 2.602 6	0.960 4 ± 0.083 6
PbS II	0.066 0 ± 0.005 6*	11.008 7 ± 3.921 6*	126.650 7 ± 4.457 8*	53.786 8 ± 4.984 1*	1.333 8 ± 0.436 0
PbS III	0.074 1 ± 0.077 9*#	5.467 5 ± 0.279 6*#	53.777 1 ± 1.353 5*#	69.687 6 ± 2.888 1*#	3.371 3 ± 1.063 36*#
F 值	63.426	33.871	842.156	199.606	11.414
P 值	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	0.009

注: 与 PbS I 相比, * P<0.01; 与 PbS II 相比, #P<0.01。

由表 1 可知, 巯基乙醇组的毒代动力学参数与未包裹组、巯基乙酸组差异均有统计学意义; 而未包裹组的 CL 与巯基乙

1.2.3 样品测定 准确配制一系列标准溶液, 使铅的浓度为 1、20、60、100 μg/ml, 上机进行测定, 以强度为纵坐标, 浓度 (μg/ml) 为横坐标, 绘制样品的标准工作曲线。Pb 标准溶液回归方程:

$$Y = 3.701E - 0.03X + 8.871E - 0.05, r = 0.999 9$$

血消化液测定条件同标准曲线, 根据测定结果, 计算出血铅含量。

1.3 数据处理

一次腹腔给药后, 测得不同时间点的血铅浓度, 数据用 3p97 软件处理房室模型并计算药代动力学参数, 速率常数 Ke、半衰期 T_{1/2}、曲线下面积 AUC、分布容积 V、清除率 CL, 然后用 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 方法学考察

本方法灵敏度高, 检出限为 0.15 μg/L。连续 2 d 检测方法的日间精密度的相对标准偏差 <5%, 稳定性符合生物样品分析的要求, 所作标准曲线 r≥0.999。

2.2 毒代动力学研究

各组染毒后 0~48 h 铅浓度经统计学 ($\bar{x} \pm s$) 处理, 得染毒后各采样时间点的血铅浓度。以采样时间为横坐标, 分别以血样品中铅浓度为纵坐标, 做出血铅浓度-时间曲线, 见图 1。

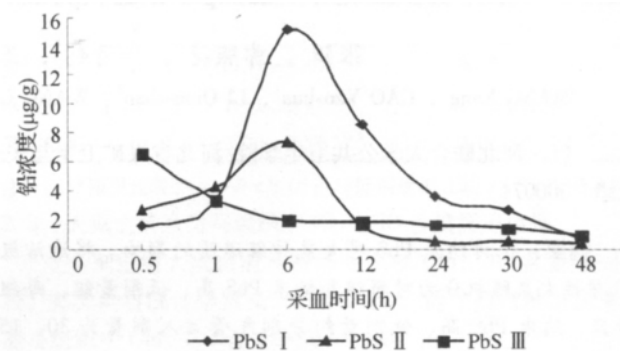


图 1 血浆中铅元素的铅浓度-时间曲线

由图 1 可见, 随着染毒时间的增加, 血铅元素含量达到一定的峰值后呈逐渐降低的趋势。PbS I 组、PbS II 组在 6 h 达到高峰, PbS III 组在 0.5 h 达到高峰。达峰值时浓度关系为, PbS I > PbS II > PbS III。小鼠腹腔一次给药后血铅毒代动力学参数, 见表 1。

酸组差异无统计学意义, 其余的毒代动力学参数差异明显。其中巯基乙醇组 T_{1/2} 和 AUC 最小, 而 Ke 和 V 最大; 而未包裹

组的 K_e 和 V 最小, 说明未包裹的硫化铅 PbS I 清除速度最慢, 分布范围最广, 巯基乙醇包裹的硫化铅 PbS III 清除速度最快, 分布范围最小。提示未包裹纳米硫化铅比包裹纳米硫化铅在血中消除慢、代谢慢、停留时间长且含量高, 3 组的血铅关系为 PbS I > PbS II > PbS III。包裹纳米硫化铅中, 巯基乙醇包裹的比巯基乙酸包裹的在血中代谢速度快、消除快、停留时间短、含量低。

3 讨论

本实验结果表明, 小鼠血铅为一级二室模型, 我们根据所获得的毒代动力学参数用 SPSS 软件进行方差分析, 结果显示纳米硫化铅在体内消除、代谢、停留时间及含量依次为 PbS I > PbS II > PbS III, 水溶性最好的巯基乙醇包裹的纳米 PbS 清除、代谢最快, 分布范围、含量最小, 未包裹的硫化铅 PbS I 清除、代谢最慢, 分布范围、含量最大。原因是纳米 PbS 用巯基乙酸和巯基乙醇包裹后, 形成 $Pb-SH$ (巯基) 结构, 包裹后纳米 PbS 外端的 $-COOH$ (羧基) 和 $-OH$ (羟基) 具有良好的水溶性, 巯基乙醇的 $-OH$ 亲水性好于巯基乙酸的 $-COOH$, Pb 和 $-SH$ 结合被包在中间, 外端是亲水基团, 这样就降低了铅和机体的接触, 使毒性降低, 外端良好的亲水基团有利于

体内代谢。有研究表明巯基对于铅急性中毒具有解毒作用^[3], 铅染毒后立即给巯基, 能显著降低小鼠血、肝和肾中铅的含量, 提高急性铅染毒小鼠的存活率。实验结果提示包裹后纳米硫化铅毒性减轻, 提示有毒的纳米粒子用无毒或低毒的材料包裹后, 可以有效地减小毒性, 包裹材料的选择应该遵循的原则是毒性低、包裹效果好、基团亲水性好和有特殊用途。纳米材料种类繁多, 理化性质各异, 不同修饰的同一种纳米材料毒性也有差异, 有必要从多角度对其安全性进行研究, 以便为制定纳米材料安全应用提供有价值的依据。

参考文献:

- [1] Roco M C. Progress in governance of converging technologies integrated from the nanoscale (Review) [J]. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1093: 1-23.
- [2] 侯晓燕, 李永芳, 李雪飞. 微波消解测定人发中五种微量元素的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13 (4): 435.
- [3] 智绪平, 金亚平, 于飞, 等. 二巯基丁二酸和钙、维生素 C 联合应用对铅中毒小鼠体内铅水平的影响 [J]. 卫生研究, 2006, 35 (5): 639.

纳米 PbS 经呼吸道染毒对大鼠神经递质的影响

Effect of lead sulfide nanoparticles exposure by respiratory tract on neurotransmitters in rats

张阳¹, 曹燕花¹, 李清钊¹, 王广增¹, 张中瑞¹, 江冬萍¹, 刘钊²,

ZHANG Yang¹, CAO Yan-hua¹, LI Qing-zhao¹, WANG Guang-zeng¹, ZHANG Zhong-rui¹, JIANG Dong-ping¹, LIU Zhao²

(1. 河北联合大学公共卫生学院/河北省煤矿卫生与安全实验室, 河北 唐山 063000; 2. 南开大学环境工程与科学学院, 天津 300071)

摘要: 探讨纳米 PbS 对大鼠神经递质的影响。将清洁级 SD 雄性大鼠随机分为对照组和纳米 PbS 高、低剂量组, 每组 10 只, 纳米 PbS 高、低剂量组分别气管注入剂量为 30、15 mg/kg 粒径 20 nm 纳米 PbS 混悬液 1 ml, 对照组灌注等体积生理盐水, 每周 1 次, 连续 3 个月, 测定其学习记忆能力、全血及海马组织中铅含量、血清及海马组织中神经递质含量。与对照组比较, 染毒组大鼠错误反应次数较高, 且潜伏期延长; 全血及海马组织中铅含量增高; 血清及海马组织中神经递质含量降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。提示纳米 PbS 经呼吸道染毒可能导致血清及海马组织中神经递质含量降低, 进而损伤学习记忆能力。

关键词: 纳米 PbS; 呼吸道染毒; 神经递质; 学习记忆

中图分类号: R114 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2012)01-0048-03

纳米 PbS 是一种重要的半导体材料, 已被广泛应用于发

光二极管 (LED)、生物荧光探针、摄影及太阳能接收器等方面, 在其生产制造和应用过程中, 与人体产生了广泛的接触。研究表明^[1], 纳米材料由于其特殊的理化性质, 可相对容易地通过血脑屏障到达脑部, 因此, 研究纳米 PbS 颗粒的潜在神经毒性具有重要意义。本次研究通过建立纳米 PbS 经呼吸道亚慢性染毒模型, 对血清及海马组织中的 Glu、NO 含量及 NOS 活性进行测定和分析, 探讨纳米 PbS 对神经递质的影响, 为进一步阐明纳米 PbS 神经毒性作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Y 型电迷宫 (张家港市仪器厂), 7500 型电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP-MS) (美国 Thermo 公司), 62311 型电热板 (浙江嘉兴县新腾电器厂), CA94089 连续光谱酶标仪 (美国分子仪器公司 Molecular Devices), FA2004 型电子天平 (上海精科天平厂), 纳米硫化铅 (由南开大学环境工程与科学学院提供), 硝酸 (优级纯) (天津市风船化学试剂科技有限公司), 高氯酸 (优级纯) (天津正成化学制品有限公司), 谷氨酸 (Glu)、一氧化氮 (NO)、一氧化氮合酶 (NOS) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.2 动物选择及分组

收稿日期: 2011-07-15; 修回日期: 2011-10-20

作者简介: 张阳 (1984—), 女, 在读硕士研究生, 从事分子毒理学研究, E-mail: yangzhang85@126.com。

通讯作者: 曹燕花, E-mail: flower_cyh@163.com。