

· 基础研究 ·

铅暴露对生长发育期大鼠肝、肾功能及血液学指标的损伤作用研究*

徐 焰¹, 车红磊², 张建彬², 黄 萍², 柯 涛², 袁亚娟¹, 郝晓柯^{1△}, 陈景元^{2▲}
(1. 第四军医大学西京医院检验科, 西安 710032; 2. 第四军医大学预防医学院
军队劳动与环境卫生学教研室, 西安 710032)

摘 要:目的 通过检测铅中毒大鼠肝、肾功能及部分血液学指标, 阐明铅暴露对发育期大鼠肝、肾功能及血液学指标的损伤作用, 为铅中毒的毒性效应研究以及防治提供实验依据。方法 大鼠醋酸铅饮水染毒建立模型, 通过模型肝、肾功能及血液学指标的改变, 探讨铅暴露对大鼠肝、肾功能的损伤作用。结果 染铅大鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)水平较对照组显著增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 血清胆碱酯酶(CHE)水平较对照组显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 提示肝细胞损伤; 染铅大鼠血清尿素氮(BUN)、胱抑素 C(CYS-C)水平较对照组显著增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 提示肾小球率过滤及肾功能损伤; 铅暴露大鼠红细胞、血红蛋白、血小板数量下降显著, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 提示贫血及凝血机制障碍。结论 慢性铅暴露可以引起生长发育期大鼠的肝、肾功能损伤及贫血的发生。

关键词: 铅暴露; 血铅; 肝功能; 肾功能; 血红蛋白

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.36.025

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)36-3862-03

Study of damage of lead exposure on liver function, renal functions and hematologic indicators on growing rats*

Xu Yan¹, Che Honglei², Zhang Jianbin², Huang Ping², Ke Tao², Yuan Yajuan¹, Hao Xiaoke^{1△}, Chen Jingyuan^{2▲}

(1. Department of Clinical Laboratory, Xijing Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China;

2. College of Preventive Medical, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China;

3. Department of Occupational and Environmental Health, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective By testing the growing rats' liver function, kidney function and hematologic parameters, to clarify the damage of lead exposure on the growing rats' liver and renal function and hematologic parameters, then to provide an experiment basis for study and control of toxic effects of lead poisoning. **Methods** The rat model of being exposed to lead poisoning was established by use of different concentrations of lead acetate in drinking water. Dynamic monitoring of blood lead levels in rats to determine the modeling success. Through changes of liver function, kidney function and hematological indicators in the rat model, to explore the impact of lead exposure' damage on rat liver function, renal function. **Results** Rats exposed to lead in serum aspartate aminotransferase(AST), alkaline phosphatase(ALP) level compared with the control group were significantly higher($P < 0.05$). Serum cholinesterase(CHE) level compared with the control group was significantly lower($P < 0.05$). Prompts lead exposure induced liver cell injury. Rats exposed to lead in serum urea(BUN) and cystatin C(CYS-C) levels compared with the control group were significantly higher($P < 0.05$). Prompts lead exposure induced rat glomerular filtration rate and renal dysfunction. The hematological analysis showed that the lead exposure of rat red blood cells, hemoglobin and platelet count decreased significantly($P < 0.05$). Prompts lead exposure induced anemia and coagulation disorders. **Conclusion** Chronic exposure to lead can cause the damage on the growing rat's liver, function, renal function and it can also cause anemia.

Key words: lead exposure; blood lead; liver function; renal function; hemoglobin

铅是环境中普遍存在的重金属污染物之一。人体经由空气、灰尘、食物、饮用水等接触暴露, 并可在体内长期蓄积, 造成全身多系统和器官的损伤及功能障碍。儿童是铅损伤的高危易感人群, 铅对儿童的损伤呈连续的剂量-效应过程, 可导致儿童认知缺陷、心理及行为异常, 并严重危害儿童生长和发育, 铅已成为危害儿童健康的“隐形杀手”^[1-2]。儿童的铅吸收率较成人高且吸收速度快, 一旦进入体内则难以排出, 造成机体的累积损伤。目前, 铅暴露对儿童机体损伤的详细作用机制不详, 因此, 本研究采用动物实验研究铅暴露对发育早期大鼠肝、肾功能的影响及其相关的毒性作用机制, 现报道如下。

1 材料与方

1.1 材料 80 只断乳(21 d)SD 雄性大鼠, 体质量为 50~70 g, 随机分为对照组及 100 ppm、200 ppm 和 300 ppm 醋酸铅浓度组各 20 例。铅组以不同浓度醋酸铅作为饮用水供给大鼠染

毒, 对照组无限制自由饮用去离子水, 每天监测各组动物饮水量。各组大鼠分笼饲养, 染毒期间始终自由进食普通饲料, 染铅周期为 6 周。

1.2 仪器与试剂 采用醋酸铅($\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (美国 Sigma 公司); AA-6800 石墨炉原子吸收分光光度计(日本岛津公司); BH5100 五通道原子吸收光谱仪(北京博晖新光电子技术公司); 7170 全自动生化分析仪(日立公司); XE-2100 全自动血细胞分析系统(西森美康公司)。

1.3 方法

1.3.1 染铅对大鼠生长发育的影响 实验过程中, 逐日观察并记录染铅大鼠的生长发育状况, 包括: 外观、情绪、饮食及饮水等变化。每周测量体质量并观察大鼠皮毛改变。

1.3.2 染铅大鼠血铅水平检测 染毒后不同时间点(1~6 周)、不同染铅剂量组大鼠利用原子吸收光谱进行尾血铅水平

检测。

1.3.3 铅暴露对大鼠肝、肾功能的影响 2%戊巴比妥钠麻醉动物,心脏取血,血清样本分离后,利用 7170 全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中肝功能指标:天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、碱性磷酸酶(ALP)、谷氨酰转肽酶(GGT)、胆碱酯酶(CHE);肾功能指标:尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、胱抑素 C(CYS-C)。

1.3.4 铅暴露对大鼠血液学指标的影响 2%戊巴比妥钠麻醉动物,心脏取血,加入乙二胺四乙酸二钾(EDTA-2K)标本采集管中,XE-2100 全自动血液分析系统进行白细胞总数(WBC)、红细胞总数(RBC)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血小板总数(PLT)等项目的检测,输出结果。

1.3.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,检测数据采用单因素方差分析。组间两两比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 染铅对大鼠情绪及皮毛缺损程度的影响 实验全程中,对照组大鼠情绪表现正常,无异常兴奋或抑制,皮毛整齐光亮,缺损程度为 0 级,染铅各组大鼠均可见皮毛粗乱,但无掉毛现

象,缺损程度 I 级。

2.2 铅暴露对大鼠血铅水平的影响 原子吸收分光光度法检测结果证实,经过 6 周的饮水染毒,大鼠的血铅含量组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。单因素方差分析显示,血铅浓度在对照组与 100 ppm 剂量组或对照组与 200 ppm、300 ppm 剂量组之间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.3 铅暴露对大鼠肝脏功能的影响 酶学及蛋白定量检测结果证实,经过 6 周的饮水染毒,大鼠的 AST、ALP 水平增加显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。单因素方差分析显示,AST、ALP 浓度在对照组与 100 ppm 剂量组或对照组与 200 ppm、300 ppm 剂量组之间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 AST、ALP 水平在铅染毒不同剂量组组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.4 铅暴露对大鼠肾脏功能的影响 免疫浊度法和化学定量法检测结果证实,经过 6 周的饮水染毒,大鼠的 BUN、CYS-C 水平增加显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。单因素方差分析显示,BUN、CYS-C 浓度在对照组与 100 ppm 剂量组或对照组与 200 ppm、300 ppm 剂量组之间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且铅染毒不同剂量组组间比较,差异有统计学意义 $P < 0.05$),见表 3。

表 1 铅暴露对大鼠血铅水平的影响($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}, n=20$)

组别	1 周	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周
对照组	12.03±5.01	13.99±4.76	14.19±7.47	15.80±10.37	13.00±1.56	17.35±8.42
100 ppm 组	22.49±3.40*	35.18±7.94*	47.57±19.69*	93.58±29.40*	91.48±10.63*	98.48±22.56*
200 ppm 组	78.90±15.70*	113.25±11.38*	139.35±23.42*	143.63±22.65*	152.28±22.55*	185.60±27.68*
300 ppm 组	122.00±22.30*	157.92±19.73*	171.83±5.14*	186.30±24.63*	197.78±26.83*	247.15±21.67*

*: $P < 0.05$,与对照组比较。

表 2 铅暴露对大鼠肝脏功能的影响($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GGT(IU/L)	ALP(IU/L)
对照组	25.43±8.38	44.57±38.60	62.49±9.06	37.09±3.00	0.71±1.50	77.57±14.65
100 ppm 组	20.56±2.51	66.0±15.44*	54.83±6.00	34.02±1.56	0.56±0.88	135.2±21.38*
200 ppm 组	20.56±4.61	68.00±10.19*	55.19±2.95	33.28±1.14	0.63±0.74	168.25±58.79*
300 ppm 组	23.38±6.52	84.60±53.10*	59.10±7.31*	32.81±0.68	0.80±0.84	223.1±31.95*

*: $P < 0.05$,与对照组比较。

表 3 铅暴露对大鼠肾脏功能的影响($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	BUN(mmol/L)	CREA($\mu\text{mol/L}$)	UA(mmol/L)	CYS-C(mg/L)
对照组	5.95±1.67	59.57±2.43	46.14±22.00	0.26±0.09
100 ppm 组	6.94±0.60*	50.00±5.00	28.33±6.24	0.32±0.07*
200 ppm 组	7.12±1.28*	49.44±5.96	52.89±54.24	0.41±0.07*
300 ppm 组	7.67±1.12*	40.75±10.15	56.50±42.42	0.44±0.10*

*: $P < 0.05$,与对照组比较。

表 4 铅暴露对大鼠血液学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	WBC($\times 10^9/\text{L}$)	RBC($\times 10^{12}/\text{L}$)	Hb(g/L)	MCHC(g/L)	PLT($\times 10^9/\text{L}$)
对照组	5.76±1.76	8.26±0.53	144.13±5.99	353.50±3.74	1028.14±159.49
100 ppm 组	5.93±0.80	8.14±2.24*	134.50±5.90*	333.67±33.08	993.44±83.91*
200 ppm 组	6.40±1.71	7.86±2.24*	133.50±8.24*	340.63±6.59	976.75±50.47*
300 ppm 组	6.85±1.80	7.70±0.35*	132.22±6.55*	346.17±10.24	816.75±110.77*

*: $P < 0.05$,与对照组比较。

2.5 铅暴露对大鼠血液学指标的影响 血细胞分析检测结果证实,经过 6 周的饮水染毒,大鼠的 RBC、Hb、PLT 水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。单因素方差分析显示,RBC、Hb、PLT 水平在对照组与 100 ppm 剂量组或对照组与 200 ppm、300 ppm 剂量组之间比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

3 讨 论

从 2009 年至今,中国儿童铅中毒事件的不断发生,已引起政府及相关部门的高度关注^[3]。据不完全统计,中国不同地区、不同年龄段的儿童血铅浓度均值和几何标准差分别为 5.94 $\mu\text{g/dL}$ 和 1.58 $\mu\text{g/dL}$,以国际公认的儿童铅中毒诊断标准(10 $\mu\text{g/dL}$),超标率为 12.74%,高于欧美国家 1%~5% 的超标率。中国血铅污染没有明显的区域特征,主要以沈阳、南昌、云南等地为血铅浓度比较高的典型区域^[3-4]。儿童的生理特点和生活习性使其铅吸收率达成人的 5~8 倍,而排铅能力只有成人的 30%,是铅污染的最大受害者^[5]。大量动物实验也进一步证实,铅的胃肠道吸收有年龄依赖性,加之儿童较成人吸收率高(成人约 10%,儿童可达 53%),导致大量铅进入体内^[6-7]。

全血血铅浓度是监测铅暴露首选的生物标志物,在成人吸入铅中大于 50% 被转运到血液里,而其中又有超过 98% 存在于血细胞中,儿童则更高。因此,全血铅主要指红细胞铅,是一个最典型的软组织铅,这一最主要的铅暴露生物标志物,被广泛用于人群筛查、诊断、体内负荷生物监测和金属吸收剂量评价^[8-9]。

铅损伤涉及神经、血液、消化、泌尿生殖、免疫、内分泌、骨骼及牙齿等全身多系统和器官。覆盖不同年龄段儿童血铅水平对儿童发育影响的调查研究显示,0~5 岁期间的铅暴露对儿童健康的危害更为严重^[10-11]。

铅中毒早期缺乏特异性表现,消化系统常见症状为食欲减退、恶心呕吐、腹泻便秘、消化不良等肠胃机能紊乱;婴幼儿表现为厌食、哭闹;较大儿童可诉腹痛,但牙龈铅线及肠绞痛少见^[12]。上述症状与铅直接作用于平滑肌,抑制其自主运行,并使其张力增加有关。本研究证实,肝脏功能的损伤程度与铅暴露浓度呈正相关,染铅大鼠 AST 水平升高提示低铅诱导肝细胞损伤;ALP 水平升高提示低铅诱导大鼠肝细胞及骨代谢损伤;染铅大鼠 CHE 水平减低提示低铅诱导肝细胞损伤。

有研究者提出,铅是慢性肾病和高血压的诱因。铅引起的肾脏损伤包括:肾间质纤维化、肾小管退化和肾近基细胞核内包涵体等^[13]。铅中毒可引起肾小管上皮细胞减少,致使肾小管对物质的排泄和重吸收功能受损。临床上出现氨基酸尿、糖尿。晚期出现尿少、氮质血症肾功能衰竭症状。本研究显示,铅的肾脏损伤程度与铅暴露浓度呈正相关,染铅大鼠 BUN 水平升高,提示低铅诱导肾脏功能受损;染铅大鼠 CYS-C 水平升高提示低铅诱导肾小球率过功能受损。

铅通过干扰机体铁摄入和置换铁在 Hb 合成途径中酶的作用位点影响 Hb 的合成,致机体贫血。铅影响亚铁血红素生物合成途径的机制与 ALAD 活化和靶向亚铁原卟啉合成酶的作用位点有关,最终导致亚铁原卟啉合成酶具有不同效应活性从而影响 Hb 的合成^[14]。

本研究通过建立染铅大鼠损伤模型,发现铅致大鼠肝、肾功能及血液学损伤的作用靶分子,为阐明铅损伤机制提供实验支持,为铅中毒的预防及治疗措施提供借鉴。

参考文献:

[1] Luo W, Ruan D, Yan C, et al. Effects of chronic lead exposure on functions of nervous system in Chinese children and developmental rats[J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(4): 862-871

[2] Watts J. Lead poisoning cases spark riots in China[J]. *Lancet*, 2009, 374(9693): 868.

[3] Binns HJ, Campbell C, Brown MJ. Interpreting and managing blood lead levels of less Than 10 microg/dL in children and reducing childhood exposure to lead: recommendations of the centers for disease control and prevention advisory committee on childhood lead poisoning prevention[J]. *Pediatrics*, 2007, 120(5): e1285-e1298.

[4] 董兆敏, 吴世闽, 胡建英. 中国部分地区铅暴露儿童健康风险评价[J]. *中国环境科学*, 2011, 31(11): 1910-1916.

[5] Lin GZ, Wu F, Yan CH, et al. Childhood lead poisoning associated with traditional Chinese medicine: a case report and the subsequent lead source inquiry[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(13/14): 1156-1159.

[6] Wang Q, Luo W, Zheng W, et al. Iron supplement prevents lead-induced disruption of the blood-brain barrier during rat development[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007; 219(1): 33-41.

[7] Zhu ZW, Yang RL, Dong GJ, et al. Study on the neurotoxic effects of low-level lead exposure in rats[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2005, 6(7): 686-692.

[8] Barbosa F, Tanus-Santos JE, Gerlach RF, et al. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs[J]. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(12): 1669-1674.

[9] Smith D, Hernandez-Avila M, Téllez-Rojo MM, et al. The relationship between lead in plasma and whole blood in women[J]. *Environ Health Perspect*, 2002, 110(3): 263-268.

[10] Revich BA, Sharov PO, Sergeev OV. Lead and children's health: results of some Russian studies in 2000~2009[J]. *Gig Sanit*, 2011, (6): 12-16.

[11] Callan AC, Hinwood AL. Exposures to lead[J]. *Rev Environ Health*, 2011, 26(1): 13-15.

[12] Ramos CL, Barros HM, Stein AT, et al. Risk factors contributing to childhood poisoning[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2010, 86(5): 435-440.

[13] Ursula CB, Mark AP. A review of chronic lead intoxication; an unrecognized cause of chronic kidney disease[J]. *Am J Med Sci*, 2004, 327(6): 341-347.

[14] Pawlas N, Broberg K, Olewińska E, et al. Modification by the genes ALAD and VDR of lead-induced cognitive effects in children[J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(1): 37-43.