

# 多种营养素联合拮抗铅中毒的实验研究

张成海<sup>1</sup>, 金亚平<sup>2</sup>, 陈叶<sup>2</sup>, 姜义林<sup>2</sup>, 陆春伟<sup>2</sup>, 李革新<sup>2</sup>, 李北利<sup>2</sup>, 孙贵范<sup>2</sup>

(1. 沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024; 2. 中国医科大学公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110001)

**摘要:** 目的 探讨多种营养素联合应用对铅毒性的拮抗作用。方法 采用正交设计以铅对抗氧化系统的影响为检测指标, 对维生素 C、维生素 E、维生素 B<sub>1</sub> 和 B<sub>6</sub> 及钙、锌、硒、乙酰半胱氨酸、蛋氨酸和牛磺酸等 10 种已知对铅毒性有拮抗作用的营养素进行小鼠实验研究。结果 铅引起了小鼠血 SOD 活性升高和肝 GSH 含量的下降。营养素干预后, 某些营养素可明显改善铅引起的氧化应激反应, 使 SOD 活性和 GSH 含量恢复到正常含量, 以乙酰半胱氨酸、蛋氨酸和维生素 B<sub>1</sub> 的作用最明显。本研究未见铅对血 GSH-Px 活性和血清 MDA 含量产生明显影响。结论 多种营养素联合干预可对铅毒性产生明显协同干预效果。

**关键词:** 铅中毒; 氧化应激; 营养素; 抗氧化作用

中图分类号: R135.11 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)02-0078-04

## Experimental study on joint effects of nutrients against lead poisoning

ZHANG Cheng-hai<sup>1</sup>, JIN Ya-ping<sup>2</sup>, CHEN Ye<sup>2</sup>, JIANG Yi-lin<sup>2</sup>, LU Chun-wei<sup>2</sup>, LI Ge-xin<sup>2</sup>, LI Bei-li<sup>2</sup>, SUN Gui-fan<sup>2</sup>

(1. Shenyang Municipal Ninth People's Hospital, Shenyang 110024, China; 2. School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China)

**Abstract; Objective** Exploring the joint effects of nutrients against the toxicity of lead. **Method** Applying orthogonal design, taking the anti-oxidative system as indices, 10 nutrients were tested by animal experiments. The nutrients are Vitamin C, Vitamin E, Vitamin B<sub>1</sub>, Vitamin B<sub>6</sub>, calcium, zinc, selenium, N-acetyl-cysteine, methionine and taurine, which have been known to have the effects against toxicity of lead. **Result** The activity of SOD in blood increased and the level of GSH in liver were decreased in lead poisoned mice. The activities of SOD and levels of GSH might restore to normal levels by the intervention of some nutrients, such as N-acetyl-cysteine, methionine and VitB<sub>1</sub>. The effect of lead on the activity of GSH-Px and the level of serum MDA were not found in this research. **Conclusion** Synergy effect of nutrients against lead poisoning could be achieved by joint administration of multi-nutrients.

**Key words:** Lead poisoning; Oxidative stress; Nutrients; Anti-oxidative effect

当前, 低含量铅暴露引起的中毒尤其是儿童铅中毒的防治成为研究的一个热点<sup>[1,2]</sup>。铅毒性机制中的氧化应激学说为铅中毒防治的研究提供了新思路。人类膳食中的天然营养素由于具有较强的抗氧化功能, 并且对人体无毒、副作用, 故在铅毒性的防治工作中备受关注<sup>[3]</sup>。但到目前为止, 大多数报道仅限于研究单一营养素对铅中毒的防治作用。由于人类膳食的多样性且单一营养素的作用相对较弱, 未能得到理想的实验结果。各类营养素对铅毒性的拮抗位点不同, 在同时强化多种营养素的情况下, 很可能通过不同的拮抗机制而获得较强的协同作用效果。故本实验以铅对抗氧化系统的影响为检测指标, 采用正交设计对多种营养素协同拮抗铅毒性作用进行小鼠实验研究, 为铅

中毒的防治工作提供新线索。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象

选择雌性昆明种小鼠(为今后研究经母体铅接触对子代的影响提供数据), 生后 21 d 龄, 体质量 15~20 g, 饲养期间喂饲全价颗粒饲料。饲料和小鼠均由中国医科大学实验动物中心提供。

### 1.2 实验设计

营养素干预前, 小鼠分为实验组和对照组, 实验组 60 只, 对照组 8 只。营养素干预时, 实验组小鼠按 10 因素 2 含量的正交表进行随机分组, 共 12 组, 每一实验组有 5 只小鼠重复。

### 1.3 干预营养素和含量

营养素分 3 类, 元素类, 包括钙 (Ca)、锌 (Zn) 和硒 (Se); 维生素类, 包括维生素 C (VitC)、维生素 E (VitE)、维生素 B<sub>1</sub> (VitB<sub>1</sub>) 和 B<sub>6</sub> (VitB<sub>6</sub>); 氨基酸类, 包括 N-乙酰半胱氨酸 (NAC)、蛋氨酸 (Met) 和牛磺酸 (Tau) 等, 共 10 种营养素。每一营养素选

收稿日期: 2002-11-22; 修回日期: 2003-01-28

基金项目: 教育部留学归国人员科研启动基金项目 (教外司留 2000-479); 辽宁省科技厅博士启动基金项目 (2001102049)

作者简介: 张成海 (1964-) 男, 副主任医师, 研究方向: 工业毒理

取 2 个剂量含量, 给予或不给予。剂量含量的选取参照文献报道[4~11], 选取最佳作用剂量含量, 按每千克体重进行换算。

### 1. 4 实验方法

将醋酸铅溶于蒸馏水中, 由小鼠自由摄取, 饮水中含质量分数 0.1% 的醋酸铅<sup>4</sup>。染铅 6 周后断尾采血测定血铅 (PbB) 含量、 $\delta$ -氨基- $\gamma$ -酮戊酸脱水酶 ( $\delta$ ALAD) 活性和血红蛋白 (Hb) 含量以判定铅对小鼠的影响。然后, 在继续染铅的同时, 按正交表设计给每组小鼠灌胃投予不同配伍的营养素, 每周 3 次, 共 4 周。在最后一次投予营养素的次日处死小鼠, 取血和脏器测定如下指标。

### 1. 5 检测指标

全血铅含量 (PbB): 原子吸收分光光度石墨炉法 (SPECTR-AA 40P, VARIAN)。血红蛋白 (Hb) 含量: 氰化高铁血红蛋白形成法。血  $\delta$ -氨基- $\gamma$ -酮戊酸脱水酶 ( $\delta$ ALAD) 活性: 临床标准检测法-比色法。血清脂质过氧化物 (MDA) 含量: 硫代巴比妥酸比色法<sup>[12]</sup>。肝还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量: DTNB 法<sup>[12]</sup>。全血抗氧化酶 (SOD、GSH-Px) 活性: 亚硝酸盐法和 DTNB 法<sup>[12]</sup>。

### 1. 6 统计方法

检测数据用 SPSS 软件进行方差和 *t* 检验分析。正交表统计分析先计算极差, 然后进行方差检验。

## 2 结果

### 2. 1 营养素干预前铅对小鼠的影响 (表 1)

表 1 营养素干预前对小鼠各检测结果汇总 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	体质量 (g)	PbB ( $\mu\text{mol/L}$ )	Hb (g/L)	$\delta$ ALAD (U/g Hb)
实验组	60	32.07 $\pm$ 3.07	3.29 $\pm$ 0.493	124.1 $\pm$ 10.8	133.3 $\pm$ 68.3
对照组	8	33.38 $\pm$ 3.02	0.69 $\pm$ 0.351**	148.9 $\pm$ 15.8**	299.6 $\pm$ 213.2**

与对照组比较 \*\*  $P < 0.01$

表 1 表明, 实验组小鼠的 PbB 含量、Hb 含量和  $\delta$ ALAD 活性与对照组比较均有显著降低; 实验组小鼠体质量与对照组比较差异无显著性。

### 2. 2 营养素干预后各实验组小鼠抗氧化系统各指标的变化 (见表 2)

表 2 营养素干预后各实验组小鼠抗氧化指标检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	血清 MDA (nmol/ml)	全血 GSH-Px (U/g Hb)	全血 SOD (U/mg Hb)	肝组织 GSH ( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ 湿重)
1	5	11.38 $\pm$ 3.55	251.8 $\pm$ 54.9	23.57 $\pm$ 2.65*	220.8 $\pm$ 42.6*
2	5	10.60 $\pm$ 1.46	389.5 $\pm$ 102.8** $\Delta\Delta$	20.18 $\pm$ 1.67 $\Delta$	285.7 $\pm$ 62.1 $\Delta$
3	5	11.65 $\pm$ 4.27	171.0 $\pm$ 29.9	21.05 $\pm$ 0.62 $\Delta$	260.5 $\pm$ 33.7 $\Delta$
4	5	8.62 $\pm$ 0.47	326.6 $\pm$ 143.9** $\Delta\Delta$	21.19 $\pm$ 2.03 $\Delta$	250.3 $\pm$ 43.1
5	5	12.57 $\pm$ 3.82	145.8 $\pm$ 21.3	21.06 $\pm$ 1.30 $\Delta$	290.8 $\pm$ 18.7 $\Delta$
6	5	8.86 $\pm$ 0.50	393.4 $\pm$ 138.4** $\Delta\Delta$	21.29 $\pm$ 0.69 $\Delta$	240.6 $\pm$ 43.4
7	5	10.59 $\pm$ 1.71	345.3 $\pm$ 74.2** $\Delta\Delta$	20.67 $\pm$ 1.42 $\Delta$	265.6 $\pm$ 17.3 $\Delta$
8	5	10.26 $\pm$ 0.92	324.0 $\pm$ 73.7** $\Delta\Delta$	21.90 $\pm$ 0.90	260.7 $\pm$ 62.7 $\Delta$
9	5	11.39 $\pm$ 1.28	330.1 $\pm$ 17.3** $\Delta\Delta$	19.84 $\pm$ 0.77 $\Delta$	241.4 $\pm$ 65.8
10	5	9.62 $\pm$ 0.19	380.7 $\pm$ 20.2** $\Delta\Delta$	21.54 $\pm$ 0.80 $\Delta$	252.8 $\pm$ 37.1
11	5	10.04 $\pm$ 0.82	271.8 $\pm$ 76.3	21.54 $\pm$ 1.27 $\Delta$	227.2 $\pm$ 25.1*
12	5	11.79 $\pm$ 2.83	483.6 $\pm$ 57.9** $\Delta\Delta$	21.28 $\pm$ 1.00 $\Delta$	228.8 $\pm$ 31.6*
对照组	8	10.03 $\pm$ 1.31	221.0 $\pm$ 92.5	20.55 $\pm$ 1.87 $\Delta$	257.6 $\pm$ 34.7 $\Delta$

注: 第 1 组的各营养素干预含量均为 0, 为单纯染铅组。

各组与对照组比较, \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$ ; 各组与单纯染铅组比较,  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

表 2 表明, 对照组小鼠的血清 MDA 含量与单纯染铅组及其他各组比较差异均无显著性。对照组小鼠血 GSH-Px 活性与单纯染铅组小鼠比较差异无显著性, 但第 2、4、6、7、8、9、10、12 组小鼠血 GSH-Px 活性与对照组和单纯染铅组比较均明显升高。单纯染铅组小鼠的

血 SOD 活性与对照组比较明显升高, 除第 8 组外, 其余 10 组小鼠血 SOD 活性与单纯染铅组比较均明显降低, 但与对照组比较差异均无显著性。单纯染铅组小鼠肝组织 GSH 含量与对照组比较有显著降低, 第 2、3、5、7、8 组小鼠肝组织 GSH 含量与单纯染铅组比较明显

升高,除 11、12 组外的各营养素干预组小鼠肝组织 GSH 含量与对照组比较差异无显著性。

### 2.3 正交设计统计分析结果

#### 2.3.1 营养素干预对血 SOD 活性的影响 表 3 表

表 3 营养素干预后各组小鼠血 SOD 活性变化正交统计表

分组	VitC	VitE	VitB <sub>1</sub>	VitB <sub>6</sub>	Ca	Zn	Se	NAC	Met	Tau	平均
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	23.57
2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	20.18
3	1	1	2	2	2	1	1	1	2	2	21.05
4	1	2	1	2	2	1	2	2	1	1	21.19
5	1	2	2	1	2	2	1	2	1	2	21.06
6	1	2	2	2	1	2	2	1	2	1	21.29
7	2	1	2	2	1	1	2	2	1	2	20.67
8	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	21.90
9	2	1	1	2	2	2	1	2	2	1	19.84
10	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	21.54
11	2	2	1	2	1	2	1	1	1	2	21.54
12	2	2	1	1	2	1	2	1	2	2	21.28
M <sub>1</sub> 值	21.24	21.18	21.28	21.58	21.44	21.50	21.44	21.73	21.60	21.53	
M <sub>2</sub> 值	21.15	21.33	21.24	20.96	21.07	21.00	21.09	20.79	20.92	20.99	
R 值	-0.23	0.15	-0.03	-0.61	-0.37	-0.49	-0.35	-0.94	-0.67	-0.55	
P 值								0.019	0.097		

明, NAC 和 Met 对血 SOD 活性的影响最明显, 其极差分别为 -0.94 和 -0.67 U/mg·Hb, 其方差检验的 P 值分别为 0.019 和 0.097, 小于单侧检验的界值 0.10, 具有统计学意义。

#### 2.3.2 营养素干预对肝 GSH 含量的影响 表 4 表明, VitB<sub>1</sub> 和 NAC 对肝 GSH 含量的影响最明显, 其极差分别为 19.3 和 24.6 μg/100 mg 湿重, 其方差检验

表 4 营养素干预后各组小鼠肝 GSH 含量变化正交表统计结果

分组	VitC	VitE	VitB <sub>1</sub>	VitB <sub>6</sub>	Ca	Zn	Se	NAC	Met	Tau	平均
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	220.8
2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	285.7
3	1	1	2	2	2	1	1	1	2	2	260.5
4	1	2	1	2	2	1	2	2	1	1	250.3
5	1	2	2	1	2	2	1	2	1	2	290.8
6	1	2	2	2	1	2	2	1	2	1	240.6
7	2	1	2	2	1	1	2	2	1	2	265.6
8	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	260.7
9	2	1	1	2	2	2	1	2	2	1	241.4
10	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	252.8
11	2	2	1	2	1	2	1	1	1	2	227.2
12	2	2	1	1	2	1	2	1	2	2	228.8
M <sub>1</sub> 值	257.1	256.2	241.6	255.4	248.5	246.9	248.2	238.9	252.0	244.8	
M <sub>2</sub> 值	245.7	247.0	260.9	247.4	254.2	255.9	254.0	263.5	250.4	257.6	
R 值	-11.4	-9.2	19.3	-8.0	5.7	9.0	5.8	24.6	-1.6	12.8	
P 值			0.099					0.034			

的 P 值分别为 0.099 和 0.034, 小于单侧检验的界值 0.10, 具有统计学意义。

### 3 讨论

既往研究表明, 氧化应激是铅致机体损伤的重要机制之一<sup>[13]</sup>。本研究结果也表明, 铅可引起小鼠血

SOD 活性升高和肝 GSH 含量下降。说明铅可降低体内抗氧化物含量, 而 SOD 活性升高很可能是对铅引起超氧自由基增多的继发反应。营养素干预后的检测

结果显示, 营养素干预可显著改善铅对血 SOD 活性和肝 GSH 含量的影响, 使一些营养素干预组的 SOD 活性和肝 GSH 含量恢复到正常含量。说明营养素干预可有效降低铅引起的氧化应激反应, 从而保护铅中毒时由于氧化应激而引起的继发性机体损伤。

极差是给予了某种营养素干预的各实验组小鼠血 SOD 活性或肝 GSH 含量的平均值与未给予该营养素的各实验组小鼠该指标平均值的差。营养素配伍的正交表统计分析结果显示: 对于 SOD 活性的改变, 以 NAC 和 Met 的极差最大, 而对于肝 GSH 含量, 以 NAC 和 VitB<sub>1</sub> 的极差最大, 且均有统计学意义。说明该 3 种营养素可有效地改善铅引起的氧化应激反应, 从而保护铅对机体的损伤。同时我们可以看到, 营养素在改善铅氧化应激反应中具有一定的协同作用效果。各实验组小鼠的血 SOD 活性和肝 GSH 含量的均值很好地反映了这一点, 平均值最高的一组正好是同时给予了该两种营养素组。这进一步说明, 虽然单一营养素干预对改善氧化应激有一定的作用, 但如果同时给予多种营养素, 由于营养素间的协同作用, 可以产生更明显的拮抗作用效果。

本实验中, 未见铅对血清 MDA 含量有明显的影响, 说明铅对机体的氧化损伤很可能正处在代偿阶段, 铅对 SOD 活性的影响也间接地证明了这一点。另外虽也未见铅对血 GSH-Px 活性有明显的影响, 但从营养素干预对 GSH-Px 活性的影响中, 我们发现硒营养素干预可显著提高 GSH-Px 活性, 极差为 118.53 U/g Hb, 是硒营养素非干预组均值的 1/2。GSH-Px 是体内重要的含硒酶, 硒是该酶的活性中心。硒营养素干预后, 提升了体内的硒含量, 进而可提高 GSH-Px 活性。我们的实验结果与这一推测一致, 说明本实验结果基本反映了体内的变化。

综合以上的实验结果, 联合投予营养素可明显改

善铅引起的氧化应激反应。这种改善作用以 NAC、Met 和 VitB<sub>1</sub> 的作用最明显。同时我们也看到同时强化多种营养素可取得更强协同作用效果。

#### 参考文献:

- [1] 金亚平, 胡荣, 张军, 等. 营养素在铅中毒防治中的作用 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2002, 20: 392-394.
- [2] 贺锡雯. 中国儿童铅中毒基础研究概况及值得注意的问题 [J]. 中华预防医学杂志, 1999, 33: 265.
- [3] 赖建强, 荫士安. 某些营养素对铅毒性的影响 [J]. 国外医学卫生学分册, 1999, 26 (2): 95-96.
- [4] 逯晓波, 李北利, 金亚平, 等. 铅致幼鼠脑脂质过氧化的实验研究 [J]. 中国医科大学学报, 2002, 31 (3): 184-186.
- [5] McGowan C. Influence of Vitamin B<sub>6</sub> status on aspects of lead poisoning in rats [J]. Toxicol Lett, 1989, 47: 87-93.
- [6] Bratton GR, Zmudzki J, Bell MC, et al. Thiamin (Vitamin B<sub>1</sub>) effects on lead intoxication and deposition of lead in tissue; therapeutic potential [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1981, 59: 164-172.
- [7] Ercal N, Treeratphan P, Hammond TC, et al. In vivo indices of oxidative stress in lead-exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2,3-dimercaptosuccinic acid or N-acetylcysteine [J]. Free Radic Biol Med, 1996, 21: 157-161.
- [8] Flora SJ, Kumar D, Das Gupta S. Interaction of zinc, methionine or their combination with lead at gastrointestinal or post-absorptive level in rats [J]. Pharmacol Toxicol, 1994, 68: 3-7.
- [9] Flora SJ, Tandon SK. Beneficial effects of zinc supplementation during chelation treatment of lead intoxication in rats [J]. Toxicology, 1990, 64: 129-139.
- [10] Llobet JM, Domingo JL, Paternain JL, et al. Treatment of acute lead intoxication. A quantitative comparison of a number of chelating agents [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1990, 19: 185-189.
- [11] Othman AI, El Missiry MA. Role of selenium against lead toxicity in male rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 1998, 12: 345-349.
- [12] 庞战军, 周玫, 陈媛. 自由基医学研究方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 121-147.
- [13] Hande Gurer, Nuran Ercal. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2000, 29: 927-945.

(上接第 77 页) 害。再结合现场生产的调查, 重质芳烃采样出口温度达 80~90 °C, 车间空气中有部分挥发物。另外, 产品出厂为手工装车, 工人有一定的接触。因此, 笔者认为应当重视重质芳烃对接触人群的潜在危害, 进一步加强对重质芳烃作业环境的监测和作业人群的健康监护。

#### 参考文献:

- [1] 尹松年, 王淑洁, 毕文芳. 工业化学品毒性鉴定规范及实验方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 15-19.
- [2] 黄辛纾, 陈星若. 环境化学物致突变致畸致癌试验方法 [M]. 杭

州: 浙江科学技术出版社, 1985. 249-270.

- [3] 杨树勤. 卫生统计学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 76-86.
- [4] 黄勤. 小鼠精子畸形试验在毒理学上的应用 [J]. 浙江医科大学学报, 1986, 15 (4): 182.
- [5] Topham JC. Chemical mutagens principles and methods for their detection [M]. Vol 8 plenum press, 1983. 201.
- [6] Jeulin G, Feneux D, Serres C, et al. Sperm factors related to failure of human in vitro fertilization [J]. J Rep Fert, 1986, 76: 735.
- [7] Lauwerys R, Roels H, Genet P, et al. Fertility of male works exposed to cadmium, lead or manganese [J]. Am J Epidemiol, 1992, 135: 1208-1209.