

## 实验技术与方法

## 排铅食品对铅中毒小鼠的排铅作用

陈玉柱 张惠英 汪 岭 张鹏举  
(宁夏医科大学,宁夏 银川 750004)

**摘要:**目的 评价排铅食品对铅中毒小鼠的排铅功效。方法 选用90只18~22g昆明种雄性小鼠,随机分为6组:阴性对照组,醋酸铅模型组,阳性药物组,排铅受试物低剂量组、中剂量组和高剂量组。除阴性对照组自由饮用去离子水外,其他各组均自由饮用1.00g/L醋酸铅水溶液染毒。30d后,剂量组按人体推荐摄入量0.60g/(kg BW·d)的5、10和20倍经口灌胃排铅受试物,阳性药物组灌胃二巯基丁二酸(dimercaptosuccinic acid)溶液,模型对照组和阴性对照组灌胃去离子水。1个月后测定全血、肝、股骨、肾和脑中铅含量。结果 排铅食品3个剂量组血、肝、肾和脑铅含量比醋酸铅模型组明显降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),高、中剂量组股骨铅含量比醋酸铅模型组明显降低( $P < 0.01$ )。结论 排铅食品具有明显促进小鼠体内铅排出作用。

**关键词:**排铅食品;铅中毒;小鼠

中图分类号:R135.11 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2010)03-0254-04

## Lead-Eliminating Effect of a Lead-Excreting Food on Lead Poisoning in Mice

CHEN Yu-zhu, ZHANG Hui-ying, WANG Ling, ZHANG Peng-ju  
(Ningxia Medical University, Ningxia Yinchuan 750004, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the lead-eliminating effectiveness of a lead-excreting food on lead poisoning in mice.

**Methods** Ninety Kunming male mice with body weight of 18-22 g were randomly divided into six groups; negative control group, lead poisoning model group, positive control (lead-eliminating medicine) group, and low, medium and high dose lead-excreting food treated groups. Except the negative control group freely drinking deionized water, other groups were drinking water contained 1.00 g/L of lead acetate freely for 30 days for lead exposure. The mice in treated groups were given the lead-excreting food by gavage, based on 5-, 10- and 20-fold of the recommended dosage for human consumption (0.60 g/(kgBW·d)). The mice in the positive control group were given dimercaptosuccinic acid (DMSA) solution, and the mice in model control group and negative control group were given deionized water by gavage. The lead content of whole blood, liver, femur, kidney and brain was determined a month later. **Results** The lead content in blood, liver, kidney and brain of the three lead-excreting food treated groups was significantly lower than that of the lead poisoning model group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); The lead content in the femur of high and medium dose lead-excreting food groups was significantly lower than the lead poisoning model group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The lead-excreting food is effective in eliminating lead from mice.

**Key words:** Lead-Excreting Food; Lead Poisoning; Mice

铅在环境中广泛存在,环境铅污染已成为影响人类健康的一个重要公共卫生问题。根据张帅明等<sup>[1]</sup>的研究,中国城市0~6岁儿童血铅总体均值为59.52 μg/L,血铅水平 $\geq 100$  μg/L占10.45%。由于停止使用含铅汽油及实施了一系列环境干预措施,我国儿童血铅呈逐年下降趋势,大部分铅中毒的儿童以低水平、亚临床铅暴露为主<sup>[2]</sup>。而低水平、亚临床铅暴露对儿童的神经智力、行为发育和体格

发育产生有害影响。针对这部分儿童,研制安全有效、经济方便和可持续食用的排铅保健食品对预防和辅助治疗铅中毒具有重要的现实意义。本排铅食品主要是以绿豆粉、甘草粉、枸杞粉和大枣粉为原料制成,为验证该食品的排铅功效,对该排铅食品进行了排铅实验。

## 1 材料与方法

## 1.1 受试物

排铅食品为红黄砂状粉末,根据人体推荐摄入量0.60g/(kgBW·d)配成相应浓度的悬浮液,供灌胃用。

收稿日期:2009-09-27

作者简介:陈玉柱 男 硕士生 研究方向为儿童保健品 E-mail: chenyzhu129@yahoo.com.cn

通信作者:张惠英 女 教授 研究方向为公共营养

## 1.2 动物及饲养

清洁级昆明种小鼠,质量合格证号为[SCXK(宁)2005-0001],雄性,体重18~22 g,共90只,由宁夏医科大学实验动物中心提供。于温度22~25℃,湿度45%~55%的环境中饲养,实验动物室合格证号为:[SYXK(宁)2005-0001]。小鼠在实验动物室随机分笼,每笼7~8只,自由摄食、饮水,饲养观察1周后用于实验。

## 1.3 主要试剂和仪器

硝酸(保证试剂,北京化学试剂厂);高氯酸(保证试剂,天津市鑫源化工有限公司);三水醋酸铅(分析纯,西安化学试剂厂);铅标准品(中国计量科学院);二巯基丁二酸胶囊(上海新亚药业闵行有限公司);肝素钠(万邦医药公司);去离子水。

原子吸收光谱分光光度计TAS-990(北京普析通用),石墨管;电热板;移液器;分析天平(梅特勒-托利多)。

## 1.4 模型制备

随机将90只小鼠分为阴性对照组、醋酸铅模型组、阳性药物组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组15只,各分2笼饲养。阴性对照组饮用含12.5 μL/L醋酸的去离子水;醋酸铅模型组、阳性药物组及受试样品各剂量组饮用1.00 g/L醋酸铅水溶液(称取3.00 g三水醋酸铅,溶于3 000 ml去离子水中;相当于 $Pb^{2+}$  546.20 mg/L),溶液中加入12.5 μL/L醋酸酸化以防铅盐、铅氢氧化物凝聚<sup>[3]</sup>。连续30 d。

## 1.5 排铅试验

30 d后,低、中、高剂量组分别以3、6和12 g/kgBW剂量受试物灌胃(相当于人体推荐摄入量的5、10和20倍)。称取受试物,用去离子水分别配成0.15、0.30和0.60 g/ml的悬浮液备用。阳性药物使用二巯基丁二酸胶囊(根据二巯基丁二酸胶囊

成人口服剂量1.50 g/d 60 kgBW,实验前把250 mg二巯基丁二酸胶囊定溶于200 ml水中,则阳性药物配置的浓度是1.25 mg/ml),给药方式和剂量同临床(连续给药3 d,停药4 d)。小鼠按0.20 ml/10gBW体积灌胃,阴性对照组和醋酸铅模型组灌胃等体积去离子水,除阳性药物组外,每天1次,连续30 d根据小鼠体重增长情况每周调整灌胃体积。

## 1.6 观察指标

实验期间每周称量小鼠体重1次;于末次给予动物受试样品或去离子水,24 h后,摘眼球取血于肝素钠抗凝管中(-20℃冰箱中保存),脱颈处死动物,留取肝、股骨、肾和脑。以4+1(体积比)的浓硝酸+高氯酸加热消化。用石墨炉原子吸收分光光度法测定全血和组织铅含量<sup>[4]</sup>。

## 1.7 统计学分析

实验数据采用SPSS 11.5统计软件统计分析,小鼠体重变化采用重复测量的方差分析;其余数据用单因素方差分析,用LSD法作两两比较。

## 2 实验结果

### 2.1 染毒组小鼠饮水量及铅摄入量

实验期间,记录每笼小鼠(7~8只)每周饮用液体量,以实验前4周(模型制备试验阶段)每组小鼠的每周饮用水的平均值计算实验期间每组小鼠的铅摄入量。由表1可见,造模期间醋酸铅模型对照组、阳性药物组、低、中、高剂量组小鼠(每组15只)平均每周饮用铅水量分别为569.25、560.25、561.25、571.25和570.25 ml,各组铅暴露剂量基本相同,各组血铅和组织铅测定值具有可比性。实验后4周,阴性对照组、醋酸铅模型组、阳性药物组和3个剂量组小鼠饮用去离子水总量有逐组降低趋势,其中,中、高剂量组与阴性组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表2。

表1 模型制备阶段各笼小鼠每周饮用去离子水或醋酸铅溶液总量(ml)

组别	笼别	第1周	第2周	第3周	第4周	平均每笼每周	平均每组每周
阴性对照组	第1笼	335	308	341	440	356.00	754.25 ± 98.34
	第2笼	375	472	308	438	398.25	
醋酸铅模型组	第1笼	329	284	251	343	301.75	569.25 ± 92.22 <sup>a</sup>
	第2笼	289	211	238	332	267.00	
阳性药物组	第1笼	279	289	236	330	283.50	560.25 ± 102.21 <sup>a</sup>
	第2笼	282	256	207	362	276.75	
低剂量组	第1笼	307	293	272	337	302.25	561.25 ± 78.97 <sup>a</sup>
	第2笼	253	238	212	333	259.00	
中剂量组	第1笼	266	271	229	323	272.25	571.25 ± 87.89 <sup>a</sup>
	第2笼	282	277	263	374	299.00	
高剂量组	第1笼	240	236	224	302	250.50	570.25 ± 76.69 <sup>a</sup>
	第2笼	314	305	281	379	319.75	

注:<sup>a</sup>为与阴性对照组比较 $P < 0.01$ 。第4周为9天。

表2 排铅试验阶段各笼小鼠每周饮用去离子水总量(ml)

组别	笼别	第5周	第6周	第7周	第8周	平均每笼每周	平均每组每周
阴性对照组	第1笼	348	519	444	498	452.25	916.00 ± 125.97
	第2笼	405	528	447	475	463.75	
醋酸铅模型组	第1笼	360	487	467	340	413.50	842.25 ± 145.72
	第2笼	417	531	426	341	428.75	
阳性药物组	第1笼	282	449	388	430	387.25	773.00 ± 127.68
	第2笼	308	429	398	408	385.75	
低剂量组	第1笼	274	458	369	385	371.50	736.75 ± 116.30
	第2笼	308	406	387	360	365.25	
中剂量组	第1笼	291	459	419	441	402.50	713.50 ± 122.08 <sup>a</sup>
	第2笼	240	329	345	330	311.00	
高剂量组	第1笼	213	323	308	232	291.75	667.00 ± 122.60 <sup>bc</sup>
	第2笼	272	427	418	384	375.25	

注:<sup>a</sup>为与阴性对照组比较  $P < 0.05$ ,<sup>b</sup>为与阴性对照组比较  $P < 0.01$ ,<sup>c</sup>为与醋酸铅模型组比较  $P < 0.05$ ;第8周为9天。

2.2 排铅食品对小鼠一般情况及体重变化的影响

造模期间,染毒各组小鼠生长发育正常,无明显中毒症状,无死亡。实验后4周,随着实验时间的推移,除阴性对照组外,其他各组部分小鼠出现了皮肤(如尾部、阴囊部位)不同程度的损伤,但阳性药物组和3个剂量组小鼠损伤部位愈合较快,且精神状态良好;而醋酸铅模型组小鼠于实验第5周末出现尾尖坏死,脱落,尾部红肿,并可见四肢苍白贫血症状。

实验前4周(模型制备阶段),除中剂量组外,染毒各组小鼠体重较阴性对照组略有降低,但各组各时点体重变化差异无统计学意义。实验后4周(排铅试验阶段),随着时间的变化,醋酸铅模型组与阴性对照组比较,小鼠体重变化差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),而阳性药物组和3个剂量组到实验第7、8周与阴性对照组比较,小鼠体重变化差异无统计学意义,但到第8周与醋酸铅模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表3。

表3 实验期间各组小鼠体重情况( $\bar{x} \pm s, g$ )

组别	初重	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	第7周	第8周
阴性对照组	20.42 ± 1.18	27.56 ± 2.83	33.29 ± 2.68	36.26 ± 3.21	39.39 ± 3.84	42.63 ± 4.35	43.79 ± 4.22	44.31 ± 4.12	45.43 ± 4.03
醋酸铅模型组	20.31 ± 1.48	26.76 ± 2.54	32.01 ± 2.46	34.87 ± 2.35	36.93 ± 3.25	38.00 ± 3.82 <sup>b</sup>	39.51 ± 3.14 <sup>b</sup>	40.92 ± 3.58 <sup>b</sup>	38.19 ± 5.89 <sup>b</sup>
阳性药物组	20.48 ± 1.43	26.95 ± 2.36	32.76 ± 2.20	35.92 ± 3.78	37.44 ± 4.36	41.50 ± 3.95 <sup>c</sup>	42.62 ± 3.49 <sup>c</sup>	43.58 ± 3.48 <sup>c</sup>	44.60 ± 3.46 <sup>d</sup>
低剂量组	20.43 ± 0.72	27.02 ± 1.87	31.88 ± 2.06	34.57 ± 2.47	36.89 ± 2.65	39.14 ± 3.90 <sup>b</sup>	41.43 ± 3.93	42.15 ± 3.72	42.26 ± 3.53 <sup>d</sup>
中剂量组	20.92 ± 1.60	28.02 ± 2.70	33.45 ± 2.62	36.54 ± 2.76	39.43 ± 2.87	41.40 ± 3.04 <sup>c</sup>	42.94 ± 3.43 <sup>d</sup>	44.36 ± 3.55 <sup>d</sup>	45.38 ± 3.51 <sup>d</sup>
高剂量组	20.77 ± 1.46	27.25 ± 2.01	31.79 ± 2.55	35.45 ± 3.30	38.04 ± 3.80	38.97 ± 2.74 <sup>b</sup>	40.78 ± 2.53 <sup>a</sup>	42.08 ± 2.55	43.50 ± 2.42 <sup>d</sup>

注:<sup>a</sup>为与阴性对照组比较  $P < 0.05$ ,<sup>b</sup>为与阴性对照组比较  $P < 0.01$ ,<sup>c</sup>为与醋酸铅模型组比较  $P < 0.05$ ,<sup>d</sup>为与醋酸铅模型组比较  $P < 0.01$ 。

2.3 排铅食品对小鼠血铅和组织铅的影响

醋酸铅模型组与阴性对照组比较,前者小鼠全血、肝、股骨、肾、脑铅含量都显著高于后者,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),表明造模成功。3个剂量组及阳性药物组血、肝、肾、脑铅含量低于醋酸铅模型

组,差异有统计学意义( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。3个剂量组及阳性药物组骨铅含量低于醋酸铅模型组,其中高、中剂量组与醋酸铅模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表4。

表4 排铅配方对小鼠血铅和组织铅的影响( $\bar{x} \pm s, \mu g/g$ )

组别	动物数	血铅	肝铅	骨铅	肾铅	脑铅
阴性对照组	12	0.029 ± 0.011	0.06 ± 0.021	0.70 ± 0.17	0.15 ± 0.09	0.072 ± 0.03
醋酸铅模型组	12	0.457 ± 0.089 <sup>a</sup>	2.56 ± 0.68 <sup>a</sup>	117.41 ± 38.02 <sup>a</sup>	6.51 ± 1.49 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.16 <sup>a</sup>
阳性药物组	12	0.197 ± 0.079 <sup>ac</sup>	1.84 ± 0.40 <sup>ac</sup>	107.51 ± 14.99 <sup>a</sup>	4.01 ± 1.28 <sup>ac</sup>	0.52 ± 0.18 <sup>ab</sup>
低剂量组	12	0.238 ± 0.075 <sup>ac</sup>	1.97 ± 0.44 <sup>ac</sup>	108.53 ± 16.05 <sup>a</sup>	5.52 ± 1.40 <sup>ab</sup>	0.48 ± 0.15 <sup>ac</sup>
中剂量组	12	0.188 ± 0.061 <sup>ac</sup>	1.89 ± 0.33 <sup>ac</sup>	89.27 ± 22.50 <sup>ac</sup>	4.03 ± 2.03 <sup>ac</sup>	0.44 ± 0.17 <sup>ac</sup>
高剂量组	12	0.168 ± 0.073 <sup>ac</sup>	1.81 ± 0.62 <sup>ac</sup>	84.26 ± 27.39 <sup>ac</sup>	3.94 ± 1.38 <sup>ac</sup>	0.38 ± 0.18 <sup>ac</sup>

注:<sup>a</sup>为与阴性对照组比较  $P < 0.01$ ;<sup>b</sup>为与醋酸铅模型组比较  $P < 0.05$ ;<sup>c</sup>为与醋酸铅模型组比较  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

实验结果表明,在染铅模型成立的前提下,高、中、低剂量受试物均可显著降低小鼠血铅、肝铅、肾铅、脑铅水平,其中高、中剂量受试物可显著降低小鼠骨铅水平。根据卫生部《保健食品检验与评价技术规范实施手册》(2003年版)规定<sup>[5]</sup>,可判定受试物具有促进排铅作用。

本实验选用的是高铅动物模型,模型制备期间的各小鼠饮醋酸铅溶液,小鼠一般情况 & 小鼠体重变化与采用同样制模方法的研究结果相似<sup>[6,7]</sup>。但实验的后4周,小鼠饮水量,一般情况及体重均有显著变化。小鼠在试验的后4周饮水量较前4周有增加趋势,这与小鼠体重增加有关,另外醋酸铅模型组在试验的后4周的饮水量较其他组增加的更多,而该组小鼠体重增加较其他组则是最少的,这可能与小鼠体内铅含量高,造成的机体损伤更严重有关,可能尤以肾脏损害有关,但目前尚缺乏慢性铅中毒致肾脏损害不同阶段尿量变化与饮水量关系的资料,其原因有待进一步探讨。

实验中发现,饮用醋酸铅溶液各组部分小鼠出现了皮肤(如尾部、阴囊部位)不同程度的损伤,其中以醋酸铅模型组小鼠损伤严重,在不排除小鼠因相互撕咬致皮肤损伤外,还可能是铅中毒达到一定的浓度和一定的时间后,铅对皮肤也会造成一定的损害。但铅是否引起皮肤损伤,国内鲜见相关报道。此外实验中发现醋酸铅模型组小鼠出现了尾尖坏死,脱落以及四肢苍白的贫血症状,且体重增长较阴性对照组明显缓慢,到第8周时体重较前降低。说明以这种方法制模,虽然小鼠在前期没有表现明显的中毒症状,但随着时间的延长,铅在小鼠体内的重新分布,以及超过生物体对铅损害的代偿期反应,就会表现出明显的中毒症状。这也与在采用预防性高铅动物模型实验中醋酸铅模型组未见尾尖坏死症状相符。由于小鼠尾尖离心脏较远,且主要是末梢循环血,加上铅对血液红细胞的破坏,血液携氧功能下降,所以铅中毒小鼠首先表现的明显症状很可能是尾尖的缺血缺氧性坏死。此种情况鲜见报道,其具体原因有待进一步探讨。

本实验研究发现,本排铅食品对小鼠血、肝、骨、肾、脑具有明显的排铅效果且能较好地保持小鼠体重增长。本排铅食品主要是以绿豆粉、枸杞粉、大枣粉和甘草粉为原料制成,其中枸杞、大枣、甘草是卫

生部公布的药食同源物品。根据已有的研究证明:①绿豆提取物可提高铅中毒大鼠的铅排出量,降低骨铅和肝铅,这可能与绿豆提取物中含绿豆蛋白、多肽、鞣酸、黄酮类化合物有关<sup>[8]</sup>;②枸杞多糖具有明确的促体内排铅作用,可降低染铅小鼠体内血铅、骨铅含量<sup>[9]</sup>;③甘草本身不能诱发小鼠精子畸形,并能明显降低醋酸铅诱发的小鼠精子畸形频率<sup>[10]</sup>;④现代药理学研究证明,红枣能增加家兔血清总蛋白和白蛋白含量,保护肝脏功能。大枣多糖对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)所致小鼠急性肝损伤有保护作用,并有抗疲劳作用及明显减轻衰老模型小鼠免疫器官的萎缩及脑老化。而且,在前期的体外排铅率实验也证实本食品具有较好的排铅效果<sup>[11]</sup>。另外,从排铅效果看,本排铅食品的排铅功能与阳性药物的排铅功能基本相同,但由于阳性药物在排铅的同时能排除机体其他矿物质,故本排铅食品对机体其他矿物质的影响是否优于阳性药物,有待下一步探讨。

### 参考文献

- [1] 张帅明,戴耀华,谢晓桦,等. 中国15城市儿童血铅水平及影响因素现状调查[J]. 中华流行病学杂志,2005,26(9):651-654.
- [2] 颜崇淮,沈晓明. 我国儿童铅中毒防治的现状与任务[J]. 中国实用儿科杂志,2006,21(3):161-163.
- [3] 刘秀英,胡怡秀,丘丰,等. 保健食品促进排铅模型小鼠饮水染铅剂量及检测指标的探讨[J]. 中国食品卫生杂志,2003,15(4):291-294.
- [4] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.12—2003 食品卫生检验方法—理化部分食品中铅的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003:89-91.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范实施手册:2003年版[M]. 北京:卫生部卫生法制与监督司,2003:680-681.
- [6] 刘秀英,胡怡秀,臧雪冰,等. 猕猴桃果汁对染铅小鼠驱铅效果观察[J]. 中国食品卫生杂志,2005,15(1):17-19.
- [7] 邓利娟,陈亚飞,江璐,等. 排铅冲剂驱铅的实验研究[J]. 食品与药品,2007,9(10):13-15.
- [8] 林宜贤. 绿豆提取物排铅效果的实验研究[J]. 广东微量元素科学,2005,12(5):66-68.
- [9] 蔡宇,陈冰,余绍蕾,等. 枸杞多糖对染铅小鼠脑功能的保护作用[J]. 中国公共卫生,2005,21(12):1488.
- [10] 温得中,刘阳,朱玉琢. 甘草对醋酸铅诱发小鼠精子畸形的抑制作用[J]. 吉林大学学报(医学版),2004,30(6):868-870.
- [11] 陈玉柱,张惠英,王基云,等. 正交试验法优选排铅产品的配比[J]. 食品与药品,2009,11(7):43-45.