

- [2] FAWAL G E HONG H, SONG X, et al. Fabrication of antimicrobial films based on hydroxyethylcellulose and ZnO for food packaging application [J]. Food Packaging and Shelf life, 2020, 23: 100462.
- [3] BEHZADIAN R, SHAHRAJABIAN H. Experimental Study of the Effect of Nano-silica on the Mechanical Properties of Concrete/PET Composites [J]. KSCE Journal of Civil Engineering, 2019, 23(8):3660-3668.
- [4] BUMBUDSANPHAROKE N, CHOI J, PARK H J, et al. Zinc migration and its effect on the functionality of a low density polyethylene-ZnO nanocomposite film [J]. Food Packaging and Shelf life, 2019, 20:100301.
- [5] MANSOUR S A, ELSAD R A, IZZULARAB M A. Dielectric properties enhancement of PVC nanodielectrics based on synthesized ZnO nanoparticles [J]. Journal of Polymer Research, 2016, 23(5): 1-8.
- [6] CHEN H B, HU C Y. Influence of PP types on migration of zinc from nano-ZnO/PP composite films [J]. Packaging Technology and Science, 2018, 31(11): 747-753.
- [7] MORENO-OLIVAS F, TAKO E, MAHLER G J, et al. ZnO nanoparticles affect intestinal function in an in vitro model [J]. Food & function, 2018, 9(3):1475-1491.
- [8] ECHEGOYEN Y, NERIN C. Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 62: 16-22.
- [9] GRAY P J, HORNICK J E, SHARMA A, et al. Influence of different acids on the transport of CdSe quantum dots from polymer nanocomposites to food simulants [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(16): 9468-9477.
- [10] ŠIMON P, CHAUDHRY Q, BAKOS D. Migration of Engineered Nanoparticles from Polymer Packaging to Food-A Physicochemical View. J. Food Nutr. Res. 2008, 47(3): 105-113.
- [11] HUANG Y, CHEN S, BING X, et al. Nanosilver Migrated into Food-Simulating Solutions from Commercially Available Food Fresh Containers [J]. Packag Technol Sci, 2011, 24:291-297.

研究报告

四种多环芳烃低剂量联合暴露对大鼠毒性作用的初步研究

卢宇翔^{1,2}, 杨淼^{1,2}, 曹鑫¹, 毛伟峰²

(1. 华中科技大学同济医学院公共卫生学院, 湖北 武汉 430000;

2. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022)

摘要:目的 初步研究4种多环芳烃(苯并[a]芘、苯并[a]蒽、蒽和苯并[b]荧蒽)低剂量联合暴露的毒性作用。方法 购入50只8周龄SD雄性大鼠,随机分为5组,每组10只,分别按0、10、50、250、1000 μg/kg·BW 剂量连续灌胃染毒,基于人体4种多环芳烃的实际暴露量,灌胃剂量的比例设定为苯并[a]芘:苯并[a]蒽:蒽:苯并[b]荧蒽=0.99:2.92:2.68:1.68。大鼠于染毒30 d后处死,取血清、脏器生物样本,计算脏器系数,进行大鼠肝脏病理切片观察病理学改变,并检测肝功能相关指标、氧化应激相关指标及脂代谢相关指标。结果 相较于对照组,染毒组大鼠肝脏结构有明显异常,肝窦扩大,肝细胞出现气球样变;1 000 μg/kg·BW 组肝脏脏器比显著升高。染毒30 d后1 000 μg/kg·BW 组大鼠血清谷草转氨酶均显著上升($P<0.05$);染毒组大鼠血清谷胱甘肽过氧化物酶在30 d时显著升高($P<0.05$);染毒30 d后,1 000 μg/kg·BW 组大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇显著下降并且肝脏胆固醇显著上升($P<0.05$),250 μg/kg·BW 组大鼠血清甘油三酯显著上升($P<0.05$),50 μg/kg·BW 及以上染毒剂量的染毒组肝脏中TG显著上升($P<0.05$)。结论 PAH4低剂量联合暴露对SD雄性大鼠产生了一定程度的肝损伤、氧化应激及脂代谢紊乱等不良影响。

关键词:多环芳烃;联合暴露;低剂量;毒性作用

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2021)06-0743-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2021.06.018

Preliminary study on toxicity of low-dose exposure of four polycyclic aromatic hydrocarbons combined in rats

LU Yuxuan^{1,2}, YANG Miao^{1,2}, CAO Xin¹, MAO Weifeng²

收稿日期:2021-09-13

基金项目:国家重点研发计划课题(2018YFC1603104);国家自然科学基金(81803241)

作者简介:卢宇翔 女 硕士生 研究方向为食品安全风险评估 E-mail:461095484@qq.com

通信作者:毛伟峰 女 副研究员 研究方向为食品安全风险评估 E-mail:maoweifeng@cfsa.net.cn

(1. School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430000; 2. National Food Safety Risk Assessment Center, Beijing 100022, China)

Abstract: Objective To preliminarily study the toxicity of combined exposure of low-dose of four polycyclic aromatic hydrocarbons. **Methods** 8-week-old male SD rats were randomly divided into 5 groups with 10 rats each, and 0, 10, 50, 250 and 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$ dose were continuously administered by gavage. Based on the actual exposure of four polycyclic aromatic hydrocarbons in human body, the proportion of gavage dose was set as benzo [a] pyrene : benzo [a] anthracene : chrysene : benzo [b] fluoranthene = 0.99 : 2.92 : 2.68 : 1.68. The rats were sacrificed 30 days after exposure. Biological samples such as serum and organs were taken, organ coefficients were calculated, pathological sections of rat liver were made, pathological changes were observed, and liver function related indexes, oxidative stress related indexes and lipid metabolism related indexes were detected. **Results** Compared with the control group, the liver structure of the rats in the exposure group was significantly abnormal, the hepatic sinuses were enlarged, and the hepatocytes showed balloon-like change. The liver organ ratio was significantly increased in 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$ group. After 30 d of exposure, serum aspartate aminotransferase (AST) increased significantly in 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$ group ($P < 0.05$). Serum glutathione peroxidase (GSH-Px) in the exposure groups increased significantly at 30 d ($P < 0.05$). After 30 d of exposure, in 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$ group, serum high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) decreased significantly and liver cholesterol (TC) increased significantly ($P < 0.05$). Serum triglyceride (TG) of rats in 250 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$ increased significantly ($P < 0.05$), and TG in liver of rats exposed to 50 $\mu\text{g}/\text{kg} \cdot \text{BW}$ or more increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** Low dose combined exposure to pah4 has adverse effects of liver injury, oxidative stress and lipid metabolism disorder in SD male rats.

Key words: Polycyclic aromatic hydrocarbons; combined exposure; low dose; toxicity

多环芳烃 (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是一类具有两个或两个以上稠和芳香烃环的碳氢化合物, 迄今为止已发现 200 余种 PAHs。环境中的 PAHs 多以混合物的形式存在, 除职业人群外, 一般人群可通过多种途径接触到多环芳烃^[1], 如经口、经呼吸道^[2]及经皮肤接触^[3-4]等, 其中经口暴露是最主要的暴露方式, 一项对西班牙多地居民 PAHs 暴露风险评估报告显示, 居民日常生活中的 PAHs 暴露有 90% 以上是通过膳食途径^[5]。

PAHs 除具有被国际公认的致癌性以外, 还具有肝毒性、神经毒性、致畸性、生殖毒性和遗传毒性等, 可对多系统、多器官造成损害, 但是目前对于多种 PAHs 的联合暴露毒性作用研究尚不完善, 大多数研究仅针对单一的多环芳烃暴露 (以苯并 [a] 芘为主), 但是人群的 PAHs 多环芳烃暴露是以混合物的形式, 化合物之间往往会产生不同联合毒性效应 (如协同作用或拮抗作用等), 比如使用苯并 [a] 芘单一多环芳烃染毒仅仅诱发消化道肿瘤, 但使用煤焦油染毒 (PAHs 混合物) 则会额外诱发肝脏及肺脏肿瘤, 这表明单一 PAHs 多环芳烃暴露的毒性表现和研究结果并不能反映多种 PAHs 多环芳烃联合时的毒性效应。但此前的研究主要探究的是单一 PAHs 多环芳烃的毒性作用, 且多使用较高的染毒剂量, 而 PAHs 在膳食中的暴露量较低, 如我国居民膳食油脂中苯并 [a] 芘 (Benzo [a] pyrene, B[a]P) 暴露量仅为 1.22 ~ 2.34 $\text{ng}/\text{kg} \cdot \text{d}$ ^[6], 过往研究的实

验条件与实际暴露情况并不相符, 传统使用单一 PAHs (苯并 [a] 芘) 作为指示物评估人群暴露 PAHs 产生的风险的科学性受到挑战。目前国内外对于 PAHs 低剂量联合暴露毒性作用的研究较少, 急需基于科学研究数据, 开展多种 PAHs 的低剂量联合暴露毒性研究。

欧洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 于 2008 年尝试用 4 种 PAHs, 即苯并 [a] 芘、苯并 [a] 蒽、䈷、苯并 [b] 荧蒽 (简称为 PAH4) 作为指标估计总体毒性^[7], 并于 2011 年将食品中 PAH4 的含量之和加入了食品 PAHs 污染评价标准, 但我国食品中 PAH4 的毒理学研究数据尚不完善, 相应法规的更新也需要与国际标准接轨。为了更准确地评估食品中 PAHs 污染的风险, 本研究依据我国食品中 PAH4 污染表征和人群 PAH₄ 的实际暴露量设计动物实验试验剂量, 探索 4 种 PAHs 在相对较低的剂量下产生的联合暴露毒性效应, 为后续我国食品中 PAHs 风险评估和限量标准制修订提供关键的科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

仪器主要包括电子天平 (中国英衡公司)、分析天平 (德国 Sartorius 公司)、1 mL 无菌注射器 (广西北仑河医科有限公司)、高压灭菌锅 (日本 TOMY 公司)、超低温冰箱 (中国美的公司)、多功能酶标仪

(美国 Bio-Tek 公司)、恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器公司)、超纯水仪(美国 Millipore 公司)、涡旋振荡仪(中国塞洛捷克公司)、超声波破碎仪(美国 SCIENIZ 公司)、研磨匀浆仪(武汉塞维尔生物科技有限公司)。

购入 50 只雄性 SD 大鼠,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号 SCXK(京)2012-0001,均饲养于华中科技大学同济医学院动物实验室;PAH4 标准品均购自美国 Sigma 公司,根据国家食品安全风险评估中心的内部报告中对熏烧烤类食物内 PAH4 检出的实际含量和人群的实际暴露量,PAH4 比例为苯并[a]芘:苯并[a]蒽:苯并[b]荧蒽=0.99:2.92:2.68:1.68,按此比例使用超声波破碎仪将四种 PAHs 标准品溶解在玉米油中配制成 PAH4 灌胃溶液。谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)检测试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物、分组及处理

50 只雄性 SD 大鼠,适应性喂养 1 周后达到 8 周龄,体质量 220~250 g^[8-9]。环境温度为(22±3)℃,空气相对湿度为 55±5%,采用 12 h 明暗交替照明系统。大鼠自由饮水、进食,饲料为 Co60 照射的无菌普通维持饲料。所有实验内容经华中科技大学同济医学院实验动物伦理委员会批准实施。所有动物实验相关操作均符合《中国实验动物管理条例》。

大鼠随机分为溶剂对照组及 PAH4 10、50、250、1 000 μg/kg·BW 组共 5 组,每组 10 只,每日经口灌胃,连续灌胃 30 d。染毒结束后,用乙醚麻醉后处死大鼠,取血并剖取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏和睾丸备用。

1.2.2 脏器系数测定

染毒结束后称取大鼠体质量,分别精密称取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏和睾丸质量,计算脏器系数,脏器系数=脏器质量/体质量×100%。

1.2.3 大鼠肝组织病理切片观察

切取肝组织块(长宽高约为 5 mm 的立方体)

放入标记好的装有 4%多聚甲醛的 2 mL EP 管中固定 24 h 之后进行脱水、浸蜡、包埋、切片,HE 染色后脱水封片,于光学显微镜下观察肝组织的病理变化。

1.2.4 血清生化指标及脂代谢相关指标检测

大鼠血液静置 30 min 后于离心机中 3 000 r/min 离心 15 min,取血清分装备用,使用试剂盒检测血清生化指标(ALT、AST、MDA、SOD、CAT、GSH-Px)及血清中的血脂相关指标(TC、TG、HDL-C、LDL-C);准确称取 50 mg 肝脏组织,放入 1.5 mL 离心管中,加入 450 μL 异丙醇,使用研磨匀浆机匀浆后于 4℃静置 48 h,随后 3 500 r/min 离心 10 min 后取上清液,使用试剂盒检测肝脏中的 TC 和 TG 含量。

1.3 统计学方法

所有数据使用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。使用 SPSS 25.0 软件进行 ANOVA 方差分析来比较各组间的差异, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PAH4 对大鼠脏器系数的影响

染毒 30 d 后大鼠体质量如表 1 所示,与对照组相比,大鼠的体质量差异无统计学意义($P>0.05$),表明 PAH4 对大鼠的生长未产生明显影响。大鼠各脏器系数如表 2 所示,相比于对照组,1 000 μg/kg·BW 组大鼠肝脏的脏器系数相较于对照组明显升高($P<0.05$),其他脏器的脏器系数与对照组相比均无显著性差异。

表 1 PAH4 染毒 30 d 后对大鼠体质量的影响
($\bar{x}\pm s$, $n=10$, g)

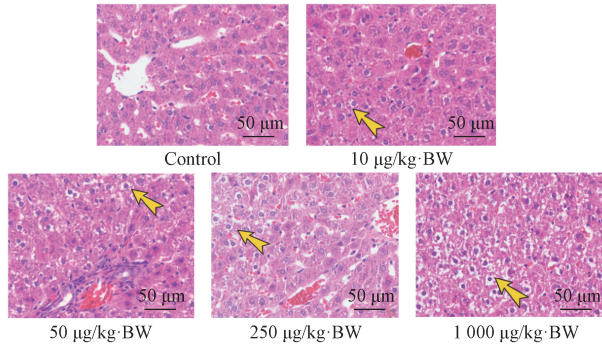
分组/(μg/kg·BW)	染毒时间	
	0 d	30 d
0	237.40±12.17	417.10±39.93
10	238.10±6.54	424.40±36.26
50	239.40±6.35	427.40±37.78
250	239.40±7.28	443.30±34.23
1 000	237.60±6.57	432.50±31.31

2.2 大鼠肝脏组织组织病理学结果

如图 1 所示,对照组大鼠的肝脏细胞普遍呈均质红染,肝小叶的结构基本保持完整,肝脏细胞及细胞核的形态没有明显异常;肝细胞的排布基本规则,肝索的结构清晰;肝窦没有显著的扩张及淤血现象,汇管区几乎没有炎性细胞的浸润,细胞胞质没有明显的气球样变。经过 30 d 的 PAH4 连续染毒之后,染毒组大鼠的肝小叶中心静脉周围的肝细胞有不同程度的气球样变及脂肪变性,肝索排列不规整,肝小叶形态异常且间隙增大,并有肝窦扩张

表2 PAH4染毒30 d对大鼠脏器系数的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$, %)Table 2 Effect of PAH4 exposure for 30 days on organ coefficient in rats($\bar{x}\pm s$, $n=10$, %)

分组/($\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$)	脏器					
	心	肝	脾	肺	肾	睾丸
0	0.30±0.03	3.26±0.26	0.19±0.03	0.44±0.08	0.72±0.04	0.76±0.08
10	0.31±0.03	3.29±0.44	0.18±0.02	0.40±0.07	0.73±0.06	0.67±0.17
50	0.31±0.02	3.39±0.31	0.18±0.02	0.42±0.04	0.71±0.03	0.73±0.13
250	0.29±0.02	3.49±0.17	0.18±0.06	0.44±0.05	0.70±0.05	0.67±0.09
1 000	0.31±0.03	3.57±0.32*	0.21±0.04	0.44±0.08	0.71±0.04	0.72±0.10

注: *表示相较于对照组 $P<0.05$ 

注:图中黄色箭头指向气球样变

图1 PAH4染毒30 d后大鼠肝脏切片H&E染色结果($\times 400$)Figure 1 The liver sections of rats exposed to PAH4 for 30 d were stained with H&E ($\times 400$)表3 PAH4染毒30 d后对大鼠血清生化指标的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)Table 3 Effects of PAH4 exposure for 30 d on serum biochemical indexes in rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

指标	分组/($\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$)				
	0	10	50	250	1 000
ALT/(U/L)	16.89±2.44	17.99±4.77	17.61±2.19	18.47±3.35	17.90±2.05
AST/(U/L)	75.08±11.61	79.97±8.49	76.53±6.16	71.38±7.88	86.22±9.17*
MDA/($\mu\text{mol}/\text{L}$)	4.05±0.49	3.88±0.27	3.93±0.27	4.19±0.33	4.78±1.18
GSH-Px/(U/mL)	389.54±4.37	391.38±6.29	435.08±20.84***	436.31±15.69***	432.00±19.50***
CAT/(U/mL)	0.74±0.19	0.90±0.70	0.85±0.29	0.72±0.40	0.60±0.51
SOD/(U/mL)	67.95±4.18	71.89±4.98	68.62±4.28	68.73±4.89	67.66±2.38

注: *表示相较于对照组 $P<0.05$; **表示相较于对照组 $P<0.01$; ***表示相较于对照组 $P<0.001$

2.3.2 PAH4对大鼠脂代谢相关指标的影响

如表4所示,相较于对照组,连续染毒30 d后,染毒组大鼠血清HDL-C含量有所下降,呈现剂量反应关系,且1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组大鼠血清的HDL-C降低具有显著性差异($P<0.05$);血清中TG含量随染毒剂量增加呈上升趋势,250 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组的血清TG显著上升($P<0.05$);肝脏样本中,TC和TG含量随染毒剂量增加,TG含量从50 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组开始明显升高($P<0.01$),TC含量在1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组肝脏中显著升高($P<0.01$),其他指标变化没有统计学差异。

3 讨论

最新研究表明,基于全国熏烧烤肉类PAHs污染整体水平暴露评估,我国熏烧烤类食品消费人群

及汇管区的部分细胞形态异常。

2.3 PAH4对大鼠生化指标及脂代谢相关指标的影响

2.3.1 肝功能及氧化应激相关指标变化

肝功能相关指标的变化如表3所示,PAH4染毒30 d后,与对照组相比,1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组大鼠血清AST活性显著升高($P<0.05$),而血清ALT虽然有升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

氧化应激相关指标如表4所示,染毒30 d后,50、250、1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 剂量组大鼠的GSH-Px活性开始显著增高($P<0.001$),染毒组大鼠的MDA含量虽然有所升高,但差异无显著性($P>0.05$),CAT和SOD含量均无显著性改变。

膳食PAH4的平均暴露量为24.66 $\text{ng}/\text{kg}\cdot\text{BW}^{[6]}$ 。EFSA提出以暴露边界值(Margin of exposure, MOE)方法,即计算有害效应观察终点与人群PAHs暴露量的比值来评估健康风险,通常认为当各人群在平均暴露水平时的MOE值 $>10\ 000$ 时健康风险较低,因此MOE为10 000时基于PAH4平均暴露量计算出可能的有害效应观察终点剂量为246.6 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$,将250 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 作为中高剂量,并结合过往研究中的染毒剂量确定各组按照0、10、50、250、1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 剂量进行连续灌胃染毒,其中PAH4比例根据国家食品安全风险评估中心内部报告中根据各省市级疾病预防控制中心的样本数据整理获得的熏烧烤肉类中4种PAHs的含量定为苯并[a]芘:苯并[a]蒽:蒽:苯并[b]荧蒽=0.99:2.92:2.68:1.68,以观察在此低剂量的PAH4

表4 PAH4染毒30 d后对大鼠脂代谢相关的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)Table 4 Effect of PAH4 exposure for 30 d on Lipid metabolism related indexes in rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

指标	分组/($\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$)				
	0	10	50	250	1 000
肝脏 TC/($\mu\text{mol}/\text{g}$)	14.01 \pm 1.04	13.65 \pm 0.58	13.60 \pm 0.69	14.61 \pm 0.69	15.18 \pm 1.07**
肝脏 TG/($\mu\text{mol}/\text{g}$)	21.80 \pm 3.07	24.60 \pm 3.67	28.20 \pm 3.83**	28.47 \pm 2.44**	31.52 \pm 5.85***
血清 TC/(mmol/L)	3.54 \pm 0.26	3.61 \pm 0.32	3.52 \pm 0.25	3.76 \pm 0.26	3.59 \pm 0.14
血清 TG/(mmol/L)	2.62 \pm 0.43	2.70 \pm 0.52	3.00 \pm 0.60	3.18 \pm 0.43*	3.09 \pm 0.62
血清 HDL-C/(mmol/L)	1.89 \pm 0.43	1.75 \pm 0.11	1.73 \pm 0.05	1.80 \pm 0.09	1.66 \pm 0.14*
血清 LDL-C/(mmol/L)	0.83 \pm 0.12	0.98 \pm 0.20	0.87 \pm 0.13	0.90 \pm 0.17	0.88 \pm 0.14

注: *表示相较于对照组 $P<0.05$; **表示相较于对照组 $P<0.01$; ***表示相较于对照组 $P<0.001$

联合暴露下对大鼠造成的毒性作用。

目前对于多环芳烃的研究大多为高剂量的急性毒性试验,比如 350 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 的萘和荧蒽暴露或 100 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 的 3-甲基胆蒽和 BaP 会产生肝损伤^[10], 20 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 的 BaP 可致大鼠氧化应激^[11]; 也有一些低剂量多环芳烃染毒的研究结果,但主要集中在 BaP 这一单一物质上,如 100 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 的 BaP 可引起代谢通路的改变^[12]。事实上, BaP 在膳食多环芳烃中的占比并不是最高的,并且人群的实际暴露剂量远远低于上述实验的染毒剂量,然而目前关于低剂量的多种多环芳烃联合暴露的毒性作用研究尚不完善,低剂量的暴露引起机体内的变化及机制也未阐明,因此本研究拟通过为期 30 d 的多种多环芳烃低剂量联合暴露亚慢性毒性试验来对此进行初步探究。

苯并[a]芘是第一个被证实具有致癌性的多环芳烃,也是现今研究结果最多、最深入的多环芳烃。现有研究证据表明,苯并[a]芘对肝脏的损伤作用是普遍存在的,并且表现出明显的剂量-效应关系,急性毒性试验中发现苯并[a]芘染毒可导致细胞凋亡、炎症因子升高、肝脏结构异常、功能受损。此外,还有研究发现苯并[a]芘可以干扰机体的氧化-抗氧化系统,通过产生活性氧干扰线粒体功能,攻击脂质、蛋白质等生物大分子,造成抗氧化物酶活性降低,最终导致机体过氧化损伤^[13-14],其机制可能是 PAHs 进入体内后可使芳香烃受体(Aromatic hydrocarbon receptor, AhR)通路活化,从而上调 CYP450 代谢酶的表达,随后加速自身的代谢活化,产生大量活性氧和亲电子产物,诱导氧化应激^[15]。氧化应激一方面可导致血管内皮细胞损伤并促进炎症因子和黏附因子释放,促使单核细胞发展为泡沫细胞,从而诱发动脉粥样硬化;另一方面,氧化应激可干扰脂质代谢,引起血脂异常,加速动脉硬化的形成^[16]。此外,有动物实验证实,长期接触 PAHs 可显著增加小鼠肝脏中的脂滴数量和血清甘油三酯水平,干扰脂代谢^[17]。

本研究中,相较于溶剂对照组,大鼠在经过

PAH4 连续染毒 30 d 后,1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组的大鼠出现了肝脏脏器系数显著升高,并且肝脏病理切片 HE 染色观察发现染毒组大鼠出现了不同程度的肝索形态异常、肝小叶界限消失、肝窦扩张及肝细胞气球样变等病理变化,与此同时,虽然肝功能指标 ALT 没有显著变化,但染毒组的 ALT 仍有上升趋势,并且 AST 在 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组有所升高。AST 广泛存在于细胞线粒体中,这表明 PAH4 可能通过损伤肝细胞使线粒体中的 AST 进入到血液系统中,从而导致血清中 AST 活性升高^[18],表明低剂量的 PAH4 连续染毒造成了一定程度的肝损伤。

PAH4 染毒 30 d 后,可以发现染毒组的 GSH-Px 相较于对照组显著升高,这可能是由于染毒导致了大鼠体内的 GSH-Px 代偿性升高,以抵御 PAH4 的毒性作用,但尚需要更多后续的实验验证。其他氧化应激指标 SOD、CAT 和 MDA 均没有显著差异,这可能是由于这三个指标的变化对低剂量的 PAHs 暴露不够敏感。

此外,PAH4 染毒 30 d 后,染毒组大鼠血清 HDL-C 含量有所下降,呈现剂量反应关系,且 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组大鼠血清的 HDL-C 降低具有显著性差异($P<0.05$);血清中 TG 含量随染毒剂量增加呈上升趋势,250 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组的血清 TG 显著上升($P<0.05$);肝脏样本中,TC 和 TG 含量随染毒剂量增加,TG 含量从 50 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组开始明显升高($P<0.01$),TC 含量在 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{BW}$ 组肝脏中显著升高($P<0.01$),其他指标变化没有统计学差异。HDL-C 可以将胆固醇转移进肝脏中进行代谢,从而促进血液中胆固醇的清除,具有抗动脉粥样硬化的功能,此前有研究表明 HDL-C 降低会增加心血管疾病风险^[19],还与糖尿病^[20]、败血症和恶性肿瘤等疾病的发病率有关^[21-22]。HDL-C 降低以及 TC、TG 的升高表明了低剂量的联合暴露中,PAH4 导致了 TC 和 TG 的代谢紊乱,从而使其蓄积,这与 LI 等^[23]的研究结果一致。

综上所述,PAH4 低剂量联合暴露对 SD 雄性大鼠产生了一定程度的肝损伤、氧化应激及脂代谢紊

乱等不良影响,但本研究对 PAH4 低剂量联合暴露毒性作用的研究尚不完善,且未探究其作用机制,将在今后的研究中继续深入探讨。

参考文献

- [1] LIU S D, LIU Q, OSTBYE T, et al. Levels and risk factors for urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in children living in Chongqing, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 598: 553-561.
- [2] SCHULLER H. Impact of neuro-psychological factors on smoking-associated lung cancer [J]. *Cancers*, 2014, 6 (1): 580-594.
- [3] LI Z, ROMANOFF L, BARTELL S, et al. Excretion profiles and half-lives of ten urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites after dietary exposure [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2012, 25 (7): 1452-1461.
- [4] LARSEN R K, BAKER J E. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: A comparison of three methods [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37 (9): 1873-1881.
- [5] MARTORELL I, PERELLÓ G, MARTÍ-CID R, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend [J]. *Environment International*, 2010, 36 (5): 424-432.
- [6] 曹梦思, 王君, 张立实, 等. 中国居民膳食油脂多环芳烃暴露的定量风险评估 [J]. *中华预防医学杂志*, 2016, 50 (2): 163-167.
- [7] European Food Safety Authority (E F S A). Findings of the EFSA data collection on polycyclic aromatic hydrocarbons in food [J]. *EFSA Journal*, 2007, 5 (9): 33.
- [8] GROVA N, FAÏS F, HARDY E M, et al. New insights into urine-based assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon-exposure from a rat model: Identification of relevant metabolites and influence of elimination kinetics [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 228: 484-495.
- [9] WANG X X, ZHANG J, HUANG Q Y, et al. Serum metabolomics analysis reveals impaired lipid metabolism in rats after oral exposure to benzo (a) Pyrene [J]. *Molecular BioSystems*, 2015, 11 (3): 753-759.
- [10] 陈波, 胡云平, 金泰廉. 多环芳烃的肝脏毒性及其遗传易感性. *环境与职业医学*, 2005 (2): 154-155, 183.
- [11] 李锋, 刘振伟, 李庆芝, 等. 生姜提取物对苯并芘染毒大鼠抗氧化酶及 II 相解毒酶活性的影响 [J]. *食品工业科技*, 2016, 37 (12): 350-353, 370.
- [12] WANG X X, ZHANG J, HUANG Q Y, et al. Serum metabolomics analysis reveals impaired lipid metabolism in rats after oral exposure to benzo (a) pyrene [J]. *Molecular bioSystems*, 2015, 11 (3): 753-759.
- [13] DENG X B, ZHANG F, RUI W, et al. PM2. 5-induced oxidative stress triggers autophagy in human lung epithelial A549 cells [J]. *Toxicology in Vitro*, 2013, 27 (6): 1762-1770.
- [14] 刘俊义. 苯并(α)芘诱导肝损伤过程中细胞自噬及焦亡的作用研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2017.
- [15] YU H T, XIA Q S, YAN J, et al. Photoirradiation of polycyclic aromatic hydrocarbons with UVA light-A pathway leading to the generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and DNA damage [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2006, 3 (4): 348-354.
- [16] HOLME J A, BRINCHMANN B C, REFSNES M, et al. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons as mediators of cardiovascular effects from combustion particles [J]. *Environmental Health*, 2019, 18 (1): 1-18.
- [17] JIN Y X, MIAO W, LIN X J, et al. Sub-chronically exposing mice to a polycyclic aromatic hydrocarbon increases lipid accumulation in their livers [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2014, 38 (2): 353-363.
- [18] MARRA E, PASSARELLA S, CASAMASSIMA E, et al. Kinetic studies of the uptake of aspartate aminotransferase and malate dehydrogenase into mitochondria in vitro [J]. *Biochemical Journal*, 1985, 228 (2): 493-503.
- [19] GENEST J J, MCNAMARA J R, SALEM D N, et al. Prevalence of risk factors in men with premature coronary artery disease [J]. *The American Journal of Cardiology*, 1991, 67 (15): 1185-1189.
- [20] TASKINEN M R, BORÉN J. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 239 (2): 483-495.
- [21] SHOR R, WAINSTEIN J, OZ D, et al. Low HDL levels and the risk of death, Sepsis and malignancy [J]. *Clinical Research in Cardiology*, 2008, 97 (4): 227-233.
- [22] GORSELEN E O F, DIEKMAN T, HESSELS J, et al. Artfactual measurement of low serum HDL-cholesterol due to paraproteinemia [J]. *Clinical Research in Cardiology*, 2010, 99 (9): 599-602.
- [23] LI F, XIANG B B, JIN Y, et al. Hepatotoxic effects of inhalation exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on lipid metabolism of C57BL/6 mice [J]. *Environment International*, 2020, 134: 105000.