

603~604

珍珠提取物对铅暴露低龄大鼠及胎鼠组织铅负荷的影响*

中国预防医学科学院环境卫生监测所(北京 100021) 白雪涛 张洪桥 郑星来

摘要 给低龄大鼠及孕鼠经饮水铅染毒(50mgPb⁺⁺/L), 观察珍珠提取物的抗铅效果。结果表明, 珍珠提取物能有效地阻止高水平铅暴露时低龄大鼠及胎鼠组织铅负荷升高。

关键词 铅 珍珠提取物 胎鼠

The Effect of Pearl Abstract on Tissue Burden of Lead in Young Rats and Rat Fetus Exposed to Lead Bai Xuetao, et al. Institute of Environmental Health Monitoring, Chinese Academy of Preventive Medicine, (Beijing 100021)

In order to study the effect of pearl abstract on tissue burden of lead in young rat and rat fetus exposed to lead, lead(50mg Pb⁺⁺/L) and pearl abstract (6g/L) were administered to young rats and pregnant dames by drinking water. The results demonstrated that pearl abstract could efficiently prevent the young rats and rat fetus exposed to high level lead from getting increased tissue burden of lead. The mechanism is still unknown.

Key words lead pearl abstract rat fetus

有关环境铅污染所导致的婴幼儿长期铅暴露以及胎儿宫内铅暴露的问题日益受到广泛关注。国内外大量有关研究证实, 宫内铅暴露、婴幼儿长期铅暴露都可对儿童精神发育产生不可逆的损害, 从而对其认知能力和神经行为造成远期影响。由于工业化进程的飞速发展, 加之铅在环境中半减期很长, 短期内尚难以彻底控制环境铅污染, 儿童铅外暴露呈持续高水平, 其受铅危害的风险依然很高。因此, 如何通过施加干预因素减少儿童铅内暴露水平以及阻断铅经胎盘转运从而降低胎儿宫内铅暴露水平成为亟待解决的问题。本文通过动物实验研究了在铅高水平暴露条件下珍珠提取物对低龄大鼠及胎鼠组织铅负荷的影响, 旨在为预防儿童铅中毒提出新的干预因素奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 动物及处理因素 本实验分为两部分: 第一部分 (1) 动物: Wistar 大鼠(中国医学科学院实验动物中心提供, 二级), 70~80g, 雌性。(2) 处理因素: 先将受试动物分为两组, 第一组(8只)每日饮去离子水, 第二组(24只)每日饮含铅水(50mg Pb⁺⁺/L, 用醋酸铅配制)。5周后, 再将第二组随机分为3组(B、C、D), 每组8只, 此时共为4组。A组: 空白对照组, 始终饮去离子水; B组: 改饮去离子水, 观察组织铅负荷自然下降程度; C组: 含铅水与去离子水隔日交替饮用; D组: 珍珠提取物溶液(6g/L, 新鲜配制)与去离子水隔日交替饮用。实验6周后, 心脏直视采血, 取材待测。第二部分 (1) 动物: Wistar 大鼠(中国医学科学院实验动物中心提供, 二级), 120~140g, 雌性30, 雄性10只。(2) 处理因素: 将雌鼠随机分为3组, A组: 饮去离子水, B组: 饮含铅水(50mg Pb⁺⁺/L), C组: 与B组饮相同含铅水6周后, 在此含铅水中加入珍珠提取物(6g/L)。雄性鼠饮去

离子水。实验进行7周后进行交配。以出现阴栓日为妊娠第0天, 于妊娠第20天时, 处死孕鼠, 取材待测。两部分实验中, 动物均自由饮水, 统一饲以低铅饲料, 不锈钢笼单笼饲养。

1.2 检测指标 (1) 血铅及脏器铅: 清洁条件下取孕鼠尾血、肝、大脑、胎鼠脑、肝、胎盘。每个孕鼠随机取1例胎鼠, 进行整鼠检测。所有组织称湿重后进行消解, 用石墨炉原子吸收分光光度计测铅含量。(2) 质量控制: 避免外污染, 平行样品测定, 以标准物质作质控样品(血铅质控液为中国预防医学科学院制, 甘蓝标准物质 GBW08504, 猪肝标准物质 GBW08551)。用 t-检验进行统计学分析。

2 结果与分析

第一部分实验中各组大鼠均发育良好, 实验组大鼠无拒饮现象。饮水量及体重变化各组间未见显著性差异。表1结果显示, D组大鼠血、肝、脑组织铅含量明显低于C组, 与B组接近, 但仍高于A组。

表1 各组大鼠血铅及组织铅含量(x±s)

分组	n	血(μg/L)	肝(μg/kg)	大脑(μg/kg)
A	8	37.38±10.43	47.52±24.09	32.64±27.96
B	8	99.50±33.61	115.80±31.05	122.44±32.73
C	8	196.00±61.81	231.24±83.62	197.91±41.39
D	8	132.88±26.62*	114.93±29.91**	132.85±26.03**

***与C组比, 分别为 P<0.05, P<0.01

第二部分实验中各组动物均无拒饮现象, 各组间饮水量及产仔数未见显著差异。从表2结果可以看出, C组孕鼠血、胎鼠脑、胎鼠肝、整胎鼠、胎盘等组织铅含量均明显低于B组, 但除胎鼠脑外, 其它组织铅含量仍高于A组。

表2 各组孕鼠血铅及胎鼠组织铅含量(x±s)

组 织	A组(n=6)	B组(n=7)	C组(n=8)
孕鼠血(μg/L)	24.07±5.05	180.38±47.19	81.52±15.88**
胎鼠脑(μg/kg)	11.08±3.18	23.99±8.86	6.63±2.49**
胎鼠肝(μg/kg)	4.54±1.08	337.01±102.12	81.34±24.53**
整胎鼠(μg/kg)	16.47±5.95	156.28±13.18	44.96±11.17**
胎 盘(μg/kg)	4.37±1.24	68.21±13.24	23.68±9.02**

**与B组比 P<0.01

3 讨论

环境铅污染所致的儿童及孕妇铅暴露(可导致胎儿宫内铅暴露)往往是长期、低剂量暴露, 因此, 铅体内负荷水平从总体来看并非象职业性暴露者那么高。目前临床上常用的驱铅疗法的确可以有效地驱除体内的铅, 但不足之处是限制了其在防治环境污染所致儿童铅中毒方面的应用。文献报道, 驱铅治疗所用的金属络合剂因无选择性, 可导致体内其它微量元素丢失及产生肾毒性^[1-3]。治疗过程中常伴随孕鼠血铅水平升高, 不可避免地引起胎儿宫内铅暴露量的增加, 还能促进铅的跨胎盘转运^[4], 甚至引起胎儿畸形^[5]。由此可见, 探索既有明显抗铅作用, 又无毒副作用的“保健型”抗铅剂对于预防儿童铅中毒具

* 国家自然科学基金资助课题

荧光标记兔抗淋球菌 IgG 的研制

沈阳市卫生防疫站(110031) 黄智 王法祥 刘虎生
沈阳市传染病院 赵静 刘丽坤
沈阳市第二传染病院 刘雪梅 张晓宇 吴桐涛

淋病是对人类健康危害较大的性传播疾病之一,对淋病的检验应力求快速、准确,我们应用淋球菌标准菌株免疫家兔,再经异硫氰酸荧光黄(FITC)标记兔抗淋球菌 IgG,制成的兔抗淋球菌 IgG 荧光抗体获得了良好的效果,现报告如下。

材料和方法 (1)抗原:标准菌株淋球菌 I 型编号 29400,淋球菌 II + III 型编号 29403。两标准菌株分别经 10% 血清肉汤培养基于 37℃, 5% CO₂ 条件下增菌培养后移种巧克力大斜面培养基 37℃, 5% CO₂ 条件下继续培养,待斜面长满菌后,收集菌苔于容器内,离心去上清,分别配成 20 亿/ml 细菌悬液后加入 0.3% 的甲醛溶液,60℃ 水浴 1 小时灭活,然后加入 0.01% 硫柳汞防腐。临用前将两种细菌悬液等量混合,即为各含 10 亿/ml 的免疫用抗原。(2)免疫:选择 2kg 左右的健康家兔进行免疫,见表 1。第 4 次免疫 8~10 天试血,琼脂扩散试验达 1:64 以上采血。(3)抗体提纯:血清加等量生理盐水,然后加入 50% 的饱和硫酸铵,氨水调 pH 值至中性,4℃ 30min,离心取沉淀加蒸馏水溶解,再加 33% 饱和硫酸铵,调 pH 至中性,4℃ 30min 离心去上清,重复 3 次,最后取沉淀加等量生理盐水溶解,用生理盐水和 PBS 液透析,电风扇吹干,浓缩至每毫升含蛋白质 40mg 左右。(4)荧光素标记:在生理盐水、碳酸盐缓冲液和丙酮混合的冷却液中,电磁搅拌下加入抗体。按 FITC

有重要的实际意义。

本文通过饮水途径给大鼠染毒一给药。结果表明,珍珠提取物几乎可以完全阻止低龄大鼠血、肝及大脑组织铅负荷增加,但是在高铅负荷基础上继续铅暴露时,未见其有降低原有铅负荷的作用。此外,本文所设“自然下降组”(第一部分 B 组)结果显示,一旦机体铅负荷升高,短期内难以自然恢复至正常,进一步说明了预防的重要性。

文献报道,妊娠期间,孕妇骨组织中蓄积的铅会大量释放入血^[6],还可因日常铅暴露导致血铅升高,铅跨胎盘转运至胚胎。本文结果显示,孕鼠高水平铅暴露导致胎鼠组织铅负荷大幅度升高,尤以肝脏最为明显。给孕鼠饮以珍珠提取物,在使其血铅含量明显减少的同时,可有效阻止胎鼠组铅负荷升高,肝脏与脑组织更为明显。此结果究竟是母鼠铅吸收减少,铅跨胎盘转运被阻断,抑或兼而有之所致,尚需进一步研究。

近年来,关于钙、锌、铁等元素及某些含巯基氨基酸与铅的作用引起研究者极大关注,文献报道,这些因素各自均具有一定的抗铅作用^[7-9]。本文中珍珠提取物富含上述诸因素,各组分比例系天然形成,具生物合理性。其明显的抗铅作用无疑与各组分的综合作用有关。有关珍珠提取物的合理使用剂量问题仍需深入探讨。

参 考 文 献

1. Catilena LR and Klaassen CD. The effects of chelating agents on the

和球蛋白的比例 1:20~40 将 FITC 溶于丙酮,加生理盐水混合后的电磁搅拌下,2h 内逐滴加入抗体内,继续搅拌 4 小时,pH 应为 9.0 左右,然后通过葡聚糖凝胶 G25 过柱,用 0.01M pH7.4 PBS 液洗脱除去游离荧光素,最后加入 1:10000 硫柳汞防腐、分装,4℃ 保存。

表 1 家兔免疫方法

免疫部位	免疫频次	免疫时间(天)	注射剂量(ml/只)
耳静脉	第 1 次	0	0.5
耳静脉	第 2 次	5	1.0
耳静脉	第 3 次	10	2.0
耳静脉	第 4 次	15	4.0

结果 (1)F/P 值测定:几批荧光抗体的克分子比 1.2~2.0 之间。(2)荧光抗体效价测定:将荧光抗体连续二倍稀释,以混合的淋球菌悬液制成抗原片进行免疫荧光染色,其最佳荧光工作稀释度在 1:8~1:16 之间。(3)特异性试验:选择不同的细菌涂片分别用该荧光抗体进行免疫荧光染色,镜检,结果除淋球菌外均未发现特异性荧光。(4)稳定性检测:将 4℃ 保存一年以上及 37℃、室温保存一周的荧光抗体分别进行效价测定,结果均一致。

讨论 传统的淋球菌检验方法由于试验周期长、受环境因素影响大,给检验工作者和患者都造成诸多不便。我们研制的 FITC 标记的兔抗淋球菌荧光抗体经免疫电泳证明是 IgG 抗体,由于它的特异性和稳定性较好,具有使用简便、报告结果快速、准确易掌握的优点,使之成为性病实验室检验淋球菌感染较好的办法。

(1999-12-30 收稿 蔡天德编校)

excretion of endogenous metals. Toxicology and Pharmacology 1982; 63:344

- Tandon SK, Jain VK. Effect of metal chelators on excretion and tissue level of essential trace elements. Environmental Research 1984; 35: 237
- Tandon SK, Flora SJS and Singh S. Chelation in metal intoxication XIV: comparative effects of thiol and amino chelators on lead poisoned rats with normal or damaged kidneys. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1985; 79:204
- McClain RM and Siekierka JJ. The placental transfer of lead-chelate complexes in the rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1975; 31:79
- Klein M, and Kaminsky P. Lead poisoning in pregnancy. Presse Med. 1994; 23(12): 576
- Smith DR, Osterloh JD and Flegal AR. Use of endogenous, stable lead isotopes to determine release of lead from the skeleton. Environmental Health Perspective 104:60
- Fullmer CS. Intestinal calcium and lead absorption: effects of dietary lead and calcium. Environmental Research 1991; 54: 159
- Flora SJS. Influence of simultaneous supplementation of Zinc and Copper during chelation of lead in rats. Human & Experimental Toxicology 1991; 10: 331
- 郭振西,等.口服铁锌前后铁、锌及血铅浓度.实用临床儿科杂志 1994; 9(3): 161

(1999-10-25 收稿 任旭红编辑 蔡天德校对)