

多种重金属污染物对大鼠毒性蓄积的实验研究

王亚飞¹, 宋新¹, 华启航¹, Samuel Selorm Fiati Kenston¹, 苏红¹, 王立²,
谷元亮¹, 史宏博², 李洲¹, 赵进顺^{1*}

(1. 宁波大学 医学院, 浙江 宁波 315211; 2. 宁波市疾病预防控制中心, 浙江 宁波 315010)

摘要: 为研究宁波地区水产品中常见的 8 种重金属污染物(铬、锰、镍、铜、锌、镉、汞、铅)对人体的危害, 探讨了其混合物在体内亚慢性毒性效应及在不同器官中的蓄积情况. 根据 8 种重金属污染物的实际比例进行联合染毒, 实验选用 SD 雄性大鼠, 分为对照组, 以及低、中、高剂量重金属染毒组; 将各种重金属污染物按实际配比掺入到大鼠饲料中, 实验周期为 3 个月. 实验结果表明, Morris 水迷宫实验各组大鼠逃避潜伏期及第一象限游泳时间无统计学差异; 电感耦合等离子质谱(ICP-MS)检测结果显示, 汞和镉 2 种重金属在各组织中均有不同程度的蓄积, 并存在剂量-反应关系, 其他 6 种重金属则未见明显蓄积; 组织形态学结果显示, 除心和脑组织外, 在肝、脾、肺、肾、睾丸中均伴有轻度的炎性细胞浸润, 表明长期摄入低剂量多种重金属污染物后, 对机体产生明显损伤.

关键词: 多种重金属; 联合毒性; 蓄积

中图分类号: R319

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2018) 03-0076-07

重金属是自然环境中重要组成部分, 是指原子密度大于 $5 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 金属元素的总称, 包括铁、锌、铜、汞、铅、铬、镉、镍、锰、钴等 40 余种^[1]. 重金属及其化合物在环境中广泛分布, 因其化学性质稳定, 极难消除, 且进入机体后易蓄积等特点被认为是危害人体健康的主要环境因素之一. 目前人们对单一重金属毒性已有较多了解. 例如微量的镉进入人体即可引发肺、肾、骨、肝、免疫系统和生殖器官的损害. 另外, 镉可以置换骨中钙, 使骨骼软化, 并能干扰人体内的酶系统, 导致高血压症^[2]. 汞可通过血脑屏障, 在脑组织积累达到一定量时, 能对脑组织造成损害, 导致神经认知功能障碍^[3], 进入水体的无机汞离子还可转变为毒性更大的有机汞, 由食物链进入人体, 引起全身中毒^[4-5]. 铅是环境中普遍存在的有毒重金属, 可引起贫血、溶血等血液系统病变^[6-8], 长期暴露于铅及其化合物, 可诱发发育早期海马神经功能障碍, 导致儿童

学习记忆能力下降^[9]. 氧化应激损伤是铅中毒的可能病理之一, 神经细胞暴露于铅后, 可引起谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和乙酰胆碱酯酶(TChE)活性降低, 丙二醛(MDA)含量升高^[10]. 铅与巯基有高度亲和力, 能与半胱氨酸形成硫醇类化合物, 与其他氨基酸侧链也能形成一些不稳定的络合物. 铅与谷胱甘肽还原酶(GR)结合可降低细胞抗氧化损伤的能力, 从而引起一系列病理变化^[11]. 另外, 铬、镉、镍、汞等重金属均有致癌作用, 已被动物和人体流行病学研究证实^[12-14].

实际环境中, 重金属不是单一存在, 而是多种重金属污染物同时存在, 它们的联合作用可能会产生与单一重金属不同的毒性效应. 当前, 在重金属毒性研究中, 多集中于单一或 2 种重金属之间的联合毒性, 3 种以上重金属的联合毒性研究尚少, 可能是因为多种重金属间存在着错综复杂的相互作用, 联合染毒可能影响彼此的吸收、转运、分布、

收稿日期: 2017-05-12.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(81273111); 浙江省公益技术研究社会发展项目(2015C33148); 浙江省实验动物科技计划项目(2015C37117); 宁波市环境有害因素致病机制及防制创新团队项目(2016C51001); 浙江省病理生理重点实验室项目(201703).

第一作者: 王亚飞(1990-), 女, 河南商丘人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 职业与环境流行病学. E-mail: wangyafei926@163.com

*通信作者: 赵进顺(1960-), 男, 山东海阳人, 教授, 主要研究方向: 预防医学、职业与环境流行病学. E-mail: zhaojinshun@nbu.edu.cn

排泄和生物转化等过程, 给研究带来很大的困难。因此, 多种重金属污染物同时接触后的联合毒性效应以及防治措施, 是一个亟待研究解决的问题。水是重金属最重要的污染途径之一, 水以及水中生物(包括鱼虾贝类)体内的重金属污染与富积, 通过水生藻类、植物、水生生物食物链逐级浓集放大, 最终进入人体^[15]。宁波地处东南沿海, 渔业资源丰富, 当地居民有喜食水产品的习惯^[16-17]。本研究按照宁波地区水产品中常见的 8 种重金属的实际污染比例, 模拟人体长期低剂量摄入的实际情况, 进行 3 个月的亚慢性动物实验, 探讨多种重金属污染物在动物组织器官中的蓄积及组织损伤情况。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

SD 雄性大鼠 40 只, 体重 150~180 g, 购于浙江省实验动物中心。多元素标准溶液(含 Al、As、B、Ba、Be、Bi、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Ga、Li、Mg、Mn、Ni、Pb、Sb、Sn、Sr、Ti、Tl、V、Zn), 汞单元素标准溶液由国家标准物质网提供。K₂Cr₂O₇、MnCl₂·4H₂O、NiCl₂·6H₂O、CuSO₄·5H₂O、ZnSO₄·7H₂O、CdCl₂·2.5H₂O、(CH₃COO)₂Pb·3H₂O 购于国药集团化学试剂有限公司。CH₃ClHg 为德国 Ehrenstorfer GmbH 公司生产。

1.2 仪器设备

电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)为美国 PerkinElmer 公司产品, 全自动微波消解仪和智能样品处理器为莱伯泰科股份有限公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组及处理

将 SD 大鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 重金属混合物按低、中、高剂量制备成 3 种特殊饲料, 对照组给予正常饲料, 所有实验动物给予正常饮水, 具体实施方案见表 1 和表 2, 实验周期为 3 个月。

1.3.2 Morris 水迷宫实验

水迷宫水池直径 180 cm, 高 60 cm, 用墨汁将池水染黑, 水温控制在(22±2)℃左右, 实验共 4 d, 将水池人为分为 4 个象限, 平台位于第一象限。前 3 d 为定位航行实验, 平台位于水下 1 cm 左右, 每天每只大鼠训练 2 次, 1、3 象限分别训练 1 次, 记录大鼠逃避潜伏期, 每次训练时间为 60 s, 60 s 内若

表 1 宁波市水产品中常见 8 种重金属混合物配比

重金属元素	重金属化合物	重金属物质的量比
Cr	K ₂ Cr ₂ O ₇	159.501
Mn	MnCl ₂ ·4H ₂ O	632.600
Ni	NiCl ₂ ·6H ₂ O	102.701
Cu	CuSO ₄ ·5H ₂ O	987.402
Zn	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	3 285.399
Cd	CdCl ₂ ·2.5H ₂ O	23.699
Hg	CH ₃ ClHg	1.000
Pb	(CH ₃ COO) ₂ Pb·3H ₂ O	6.400

注: 以汞为单位 1。

表 2 动物实验分组 mg·g⁻¹

组别	饲料中重金属元素量
对照组	0
低剂量组	1.528
中剂量组	3.055
高剂量组	6.110

大鼠找到平台, 让其在平台上停留 10 s, 找到平台所需时间即为逃避潜伏期, 在 60 s 内未找到平台则逃避潜伏期记为 60 s。第 4 天为空间探索实验, 撤除平台, 从原平台象限对侧池壁中点将大鼠放入水中, 记录 60 s 内大鼠游泳时间和游泳轨迹, 计算大鼠第一象限游泳时间。

1.3.3 血液与组织病理学检查

Morris 水迷宫实验结束后, 2%戊巴比妥钠(m/V)麻醉大鼠, 肾动脉取血, 进行血常规和血生化检测。同时取心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸的组织器官标本, 生理盐水冲洗 2~3 遍, 充分洗净脏器表面的血液成分, 称重并计算脏器系数, 然后将一部分冻存于 -80℃冰箱, 一部分用 10%福尔马林溶液固定 48 h 后制备病理切片, 观察组织形态学改变。

1.3.4 组织器官中重金属蓄积情况测定

采用 ICP-MS 检测组织中重金属浓度。将冻存于 -80℃组织均浆混匀, 准确称取 0.2 g 左右的组织后加入 5 mL 浓硝酸, 样品预消解过夜, 同时设 3 个浓硝酸空白对照。次日进行微波消解, 消解结束后, 170℃赶酸 40 min, 冷却至常温后定容至 10 mL, 上机检测。制备标准曲线: 汞标准曲线单独配置, 用 5%硝酸含 200 μg·L⁻¹金稀释液配置, 汞标准曲线质量浓度为 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 μg·L⁻¹; 其余金属标准曲线用多元素标准液配置, 稀释溶剂为 1%硝酸,

混合金属标准曲线质量浓度梯度为 1, 5, 10, 50, 100, 200, 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. 采用与元素本底相近原则进行加标, 每次设 6 个平行, 计算方法的准确性、重复性及精密度, 11 次硝酸空白测元素的检出限.

1.3.5 统计分析方法

采用 SPSS 16.0 统计软件, 单因素方差分析, 水迷宫数据用重复测量资料的单因素方差分析. 当方差齐时, 两两之间比较采用 LSD 检验方法; 当方差不齐时, 组间比较采用 Dunnett's T3 检验方法. 实验结果以均值 $\pm$ 标准差表示, $P<0.05$ 具有统计学差异.

2 实验结果

2.1 多种重金属染毒对大鼠神经认知功能的影响

Morris 水迷宫定位航行实验(图 1 和图 2)分析表明, 随着训练天数和次数的增加, 各组大鼠逃避潜伏期波动较大, 第一象限游泳时间亦无明显增加, 可能与训练天数少有关, 大鼠尚未形成固定的空间记忆能力. 无论是逃避潜伏期还是第一象限游泳时间, 染毒组与对照组相比, 尚没有统计学意义, 可以认为慢性低剂量染毒对 SD 大鼠的神经系统学习记忆能力没有造成明显损伤. 空间探索实验(图 3)各染毒组大鼠寻找平台在第一象限游泳时

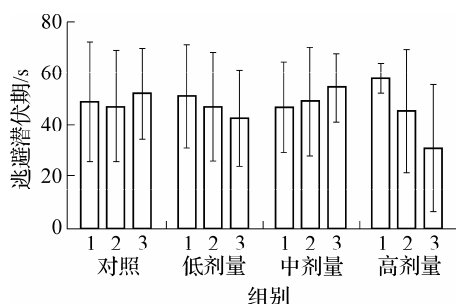


图 1 多种重金属染毒对大鼠定位航行实验逃避潜伏期的影响

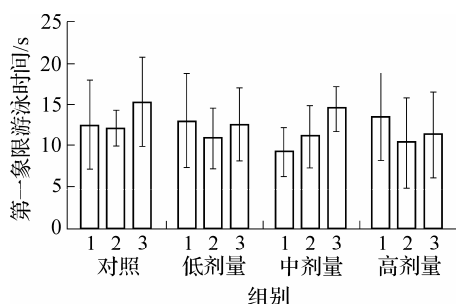


图 2 多种重金属染毒对大鼠定位航行实验第一象限游泳时间的影响

间与对照组相比, 均未见统计学差异.

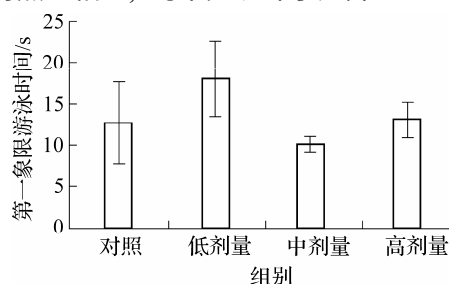


图 3 多种重金属染毒对大鼠空间探索实验第一象限游泳时间的影响

2.2 多种重金属染毒对大鼠脏器系数的影响

如图 4 所示, 各染毒组大鼠器官脏器系数与对照组相比, 均未见统计学差异.

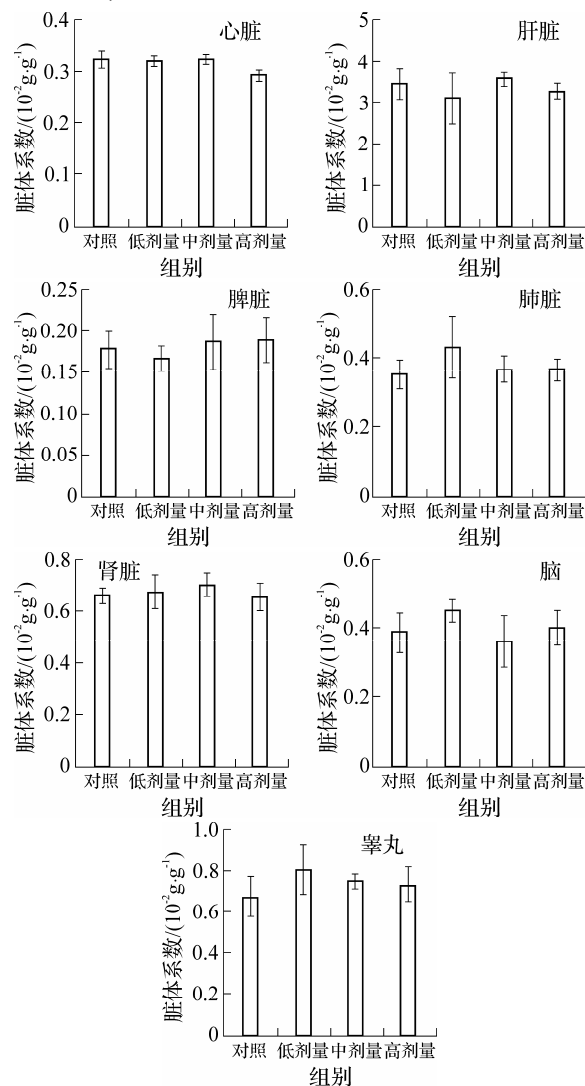


图 4 多种重金属染毒对大鼠脏器系数的影响

2.3 多种重金属染毒对大鼠血液生化指标的影响

各组的白细胞、红细胞以及血小板参数结果见

表 3. 白细胞计数方差分析未见差异统计学差异. 白细胞分类显示, NE、LY、EO、BASO 与对照组相比也均未见统计学差异. MO 量略高于对照组, 但无统计学差异. 红细胞参数 RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、RDH-CV 无统计学差异. 血小板参数 PLT 各组均高于对照组, 低剂量组、高剂

表 3 多种重金属染毒对大鼠血液系统参数的影响

血细胞参数		对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
白细胞参数	WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	5.26 $\pm$ 1.13	5.40 $\pm$ 0.72	4.72 $\pm$ 1.76	4.19 $\pm$ 0.66
	NE/%	17.30 $\pm$ 4.42	21.27 $\pm$ 2.07	16.06 $\pm$ 2.69	18.21 $\pm$ 5.09
	LY/%	76.92 $\pm$ 4.83	71.47 $\pm$ 3.89	79.34 $\pm$ 3.08	76.17 $\pm$ 6.09
	MO/%	3.88 $\pm$ 1.49	6.70 $\pm$ 2.19*	3.46 $\pm$ 1.04	4.71 $\pm$ 1.26
	EO/%	1.84 $\pm$ 2.16	0.47 $\pm$ 0.15	1.08 $\pm$ 1.13	0.87 $\pm$ 0.17
	BASO/%	0.06 $\pm$ 0.05	0.10 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.05
红细胞参数	RBC/($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	8.39 $\pm$ 0.39	8.54 $\pm$ 0.29	8.12 $\pm$ 0.47	7.91 $\pm$ 0.47
	HGB/($g \cdot L^{-1}$)	148.80 $\pm$ 7.79	148.33 $\pm$ 9.07	144.10 $\pm$ 8.58	139.33 $\pm$ 7.07
	HCT	0.45 $\pm$ 0.03	0.46 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.03	0.43 $\pm$ 0.02
	MCV/fl	54.14 $\pm$ 1.02	53.67 $\pm$ 1.55	55.00 $\pm$ 0.91	54.54 $\pm$ 1.16
	MCH/pg	17.80 $\pm$ 0.33	17.37 $\pm$ 0.59	17.79 $\pm$ 0.30	17.63 $\pm$ 0.38
	MCHC/($g \cdot L^{-1}$)	328.20 $\pm$ 6.02	324.00 $\pm$ 10.82	323.30 $\pm$ 3.80	323.11 $\pm$ 4.59
	RDH-CV/%	14.60 $\pm$ 0.22	14.83 $\pm$ 0.45	14.55 $\pm$ 0.45	14.74 $\pm$ 0.53
血小板参数	PLT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	538.20 $\pm$ 229.50	685.00 $\pm$ 97.55*	571.70 $\pm$ 151.88	659.67 $\pm$ 60.44*
	PDW-CV/%	15.06 $\pm$ 0.17	14.83 $\pm$ 0.21	15.00 $\pm$ 0.09	14.87 $\pm$ 0.10
	MPV/fl	7.80 $\pm$ 0.44	7.10 $\pm$ 0.53	7.53 $\pm$ 0.40	7.37 $\pm$ 0.32
	PCT	0.47 $\pm$ 0.21	0.54 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.12	0.54 $\pm$ 0.04

注: WBC 为白细胞; NE 为中性粒细胞; LY 为淋巴细胞; MO 为单核细胞; EO 为嗜酸粒细胞; BASO 为嗜碱粒细胞; RBC 为红细胞; HGB 为血红蛋白; HCT 为红细胞压积; MCV 为平均红细胞体积; MCH 为平均红细胞蛋白量; MCHC 为平均血红蛋白质量浓度; RDH-CV 为红细胞分布宽度; PLT 为血小板计数; PDW-CV 为血小板分布宽度; MPV 为平均血小板体积; PCT 为血小板压积; * $P < 0.05$: 重金属染毒组与对照组相比.

表 4 多种重金属染毒对大鼠血清生化指标的影响

血生化指标		对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
肝功能指标	TP/($g \cdot L^{-1}$)	61.28 $\pm$ 6.47	60.23 $\pm$ 1.00	58.08 $\pm$ 3.90	56.15 $\pm$ 3.67
	ALB/($g \cdot L^{-1}$)	26.45 $\pm$ 2.16	24.73 $\pm$ 2.02	25.92 $\pm$ 1.73	25.72 $\pm$ 1.42
	GLOB/($g \cdot L^{-1}$)	32.83 $\pm$ 4.42	35.50 $\pm$ 1.04	32.16 $\pm$ 2.18	30.44 $\pm$ 2.63*
	A/G	0.76 $\pm$ 0.05	0.70 $\pm$ 0.08	0.81 $\pm$ 0.01	0.85 $\pm$ 0.06
	ALT/($U \cdot L^{-1}$)	49.25 $\pm$ 10.78	32.33 $\pm$ 10.97	50.80 $\pm$ 14.92	42.50 $\pm$ 7.12
	AST/($U \cdot L^{-1}$)	127.75 $\pm$ 34.20	101.00 $\pm$ 10.15	134.60 $\pm$ 24.89	113.67 $\pm$ 27.61
	AST/ALT	2.57 $\pm$ 0.16	3.47 $\pm$ 1.52	2.72 $\pm$ 0.41	2.66 $\pm$ 0.35
	ALP/($U \cdot L^{-1}$)	248.00 $\pm$ 45.26	204.33 $\pm$ 128.41	262.80 $\pm$ 51.33	190.50 $\pm$ 31.42
	TBA/($\mu mol \cdot L^{-1}$)	4.50 $\pm$ 0.42	4.90 $\pm$ 1.37	6.46 $\pm$ 2.68	6.17 $\pm$ 2.01
肾功能指标	UREA/($mmol \cdot L^{-1}$)	5.42 $\pm$ 1.38	5.12 $\pm$ 1.03	6.46 $\pm$ 1.20	5.51 $\pm$ 0.35
	CREA/($mmol \cdot L^{-1}$)	13.17 $\pm$ 11.88	25.73 $\pm$ 13.39	26.78 $\pm$ 5.69	21.53 $\pm$ 6.73
	UR/Cr	1.52 $\pm$ 2.20	0.29 $\pm$ 0.27	0.25 $\pm$ 0.05	0.28 $\pm$ 0.08
	URCA/($mmol \cdot L^{-1}$)	174.25 $\pm$ 18.21	128.33 $\pm$ 28.11*	164.00 $\pm$ 11.73	166.17 $\pm$ 12.54

注: TP 为总蛋白; ALB 为白蛋白; GLOB 为球蛋白; A/G 为白球比例; ALT 为谷丙转氨酶; AST 为谷草转氨酶; AST/ALT 为谷草/谷丙; ALP 为碱性磷酸酶; TBA 为总胆汁酸; UREA 为尿素氮; CREA 为肌酐; UR/Cr 为尿素/肌酐; URCA 为尿酸; * $P < 0.05$: 重金属染毒组与对照组相比.

量组与对照组相比均有统计学差异, PCT、MPV、PDW-CV 无统计学差异。

血生化指标见表 4。与对照组比较, 肝功能指标 TP、ALB、A/G、ALT、AST、AST/ALT、ALP、TBA 无统计学差异; 高剂量组动物的 GLOB 差异有显著性($P<0.05$); 肾功能指标 UREA、CREA、UR/Cr、URCA 未见统计学差异。

2.4 各种重金属在动物组织脏器中的蓄积情况

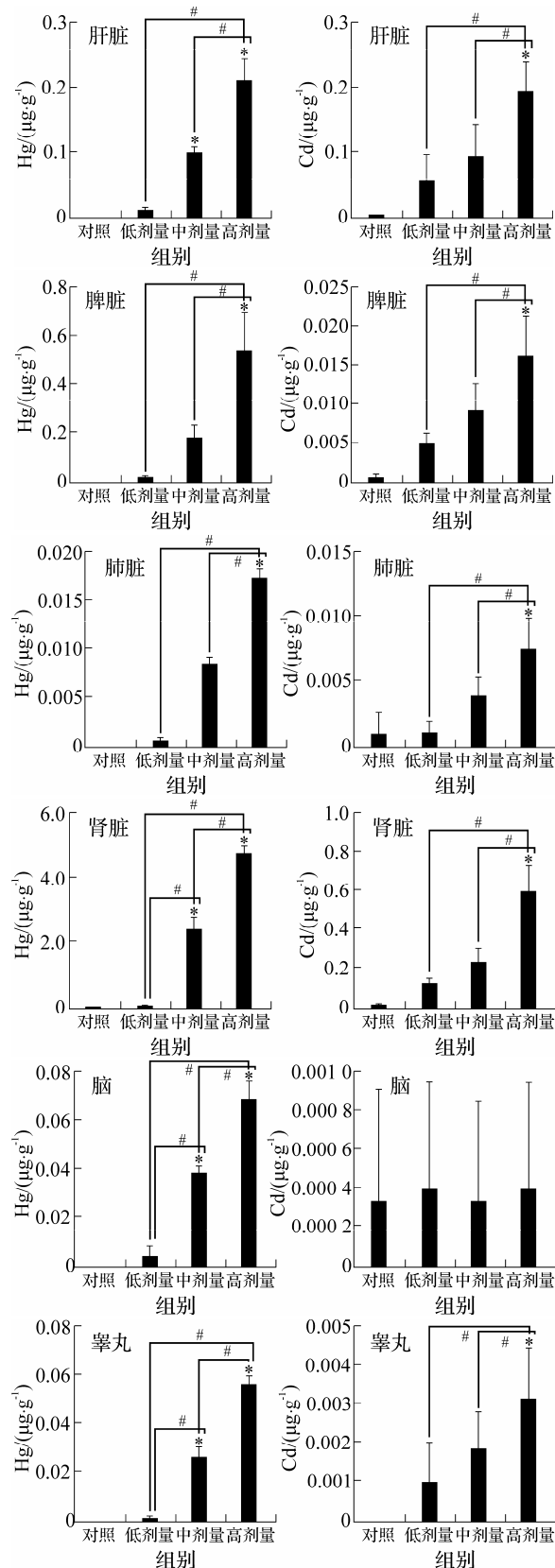
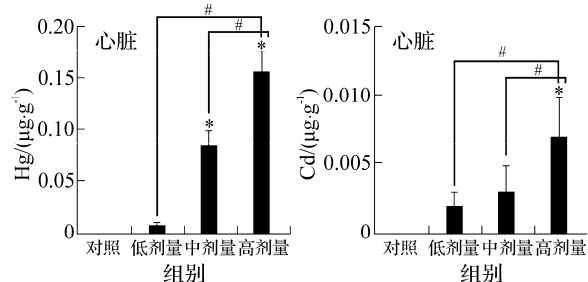
ICP-MS 方法加标回收率及精密度结果见表 5, 各种重金属在动物不同器官组织中的蓄积情况如图 5 所示。汞和镉可蓄积于人体的各个组织部位, 与对照组相比, 各染毒组组织器官中汞和镉含量有统计学差异, 且随着染毒剂量的升高, 在组织中的蓄积量均逐渐增加, 存在明显的剂量反应关系。其余 6 种重金属(铬、锰、镍、铜、锌、铅)在器官中的含量未见明显蓄积。

2.5 多种重金属染毒对动物器官组织病理学影响

对各脏器进行病理切片, 结果显示各染毒组心脏、脑的形态学正常, 未见明显病理变化。中剂量组和高剂量组的肝脏组织出现淤血, 并伴有炎性细胞浸润, 肝细胞核固缩, 浓染。高剂量组动物的脾脏和肺脏中有明显炎性细胞浸润, 且高剂量组肺脏组织中见肺泡腔缩小现象。各染毒组肾

表 5 ICP-MS 方法的加标回收率及精密度结果

元素	本底值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	加标量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	加标回 收率/%	RSD/%	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Cr	4.224	5	89.658	12.944	0.341
Mn	42.018	50	106.614	0.564	0.612
Ni	0.650	1	86.197	3.434	0.185
Cu	70.595	50	89.526	1.253	0.582
Zn	54.218	40	88.733	2.448	1.610
Cd	0.106	1	80.135	5.331	0.001
Hg	0.026	1	106.421	6.092	0.009
Pb	0.985	2	123.656	16.835	0.028



* $P<0.05$: 重金属染毒组与对照组相比, # $P<0.05$: 染毒组之间相比

图 5 重金属汞和镉在大鼠组织脏器中的蓄积情况

脏组织中均伴有少量炎性细胞浸润;在睾丸组织中,只有中剂量组和高剂量组有轻微炎性细胞浸润。

3 讨论

重金属的潜在危害一直是环境有害因素的研究重点。有证据表明,多数重金属进入人体后极易在体内蓄积,且不易排出,进而对机体造成持久危害^[18]。目前国内外对多种重金属联合毒性的研究多集中在3种或3种以下,对8种重金属联合毒性的研究甚少。本研究采用多种重金属同时暴露的动物体内实验,符合人体在环境中的实际接触情况。研究结果表明:在本实验设计剂量下,用8种重金属混合物染毒3个月,动物未见白细胞和红细胞等血液指标明显改变,血清学指标如肝肾功能指标也未见明显异常,提示多种重金属联合染毒尚未对血液及肝肾功能造成明显损伤,这可能与多种重金属进入人体后与生物体大分子相互作用,形态及价态发生复杂的变化,其吸收、转运及分布不同与单一重金属进入机体的情况,各种重金属之间相互影响,多种重金属联合染毒机制复杂,而染毒时间相对较短,机体仍处于生理性代偿阶段。

Morris 水迷宫实验是研究动物空间学习记忆能力的理想实验模型^[19-20]。在水迷宫定位航行实验中(图2),随着训练天数和次数的增强,对照组和中剂量组大鼠第一象限游泳时间第3天比第1天有所增加,低剂量组第1天与第3天相比,时间几乎没有变化,但高剂量组第3天的时间反而比第1天明显减少,但尚未见统计学意义;与对照组相比,各染毒组第3天第一象限游泳时间都少于对照组,也未见统计学意义。这些趋势提示多种重金属联合染毒可能会对损害大鼠学习记忆功能,但在3个月染毒时间内表现并不明显。

值得注意的是,各组织器官中汞和镉均有明显蓄积,且成剂量-反应关系。肾脏是重金属主要排泄器官,也是重金属蓄积的重要部位^[21-22],其汞和镉的含量也高于其他器官组织。尽管动物的肝肾功能未见明显改变,但组织形态学检测结果提示,在高剂量染毒组中,多种重金属染毒已经对肝、脾、肺、肾、睾丸等器官组织产生了一定的影响,例如炎性细胞浸润现象,而低剂量和中剂量染

毒组炎性反应较轻,存在一定的剂量反应关系,可能是由于这种损伤尚处于代偿阶段,不足以引起血生化和肝肾功能的改变。

综上所述,在本次染毒剂量下,多种重金属同时暴露,汞和镉极易在动物多种组织器官中蓄积,并可通过血脑屏障蓄积于大脑,其他6种重金属(铬,锰,镍,铜,锌,铅)未见明显体内蓄积。另外,虽然本次染毒剂量尚未对大鼠的记忆功能造成明显影响,肝肾功能也在生理代偿范围内,但已经出现的部分病理学改变,如炎性细胞浸润,也不可忽视,需要在进一步的研究中探讨重金属联合暴露毒性的具体机制。

参考文献:

- [1] 李存江. 重视重金属中毒对神经系统的损害[J]. 中华内科杂志, 2011, 50(11):908-909.
- [2] Wang J H, Zhu L S, Meng Y, et al. The combined stress effects of atrazine and cadmium on the earthworm *Eisenia fetida*[J]. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 2012, 31(9):2035-2040.
- [3] Milioni A L, Nagy B V, Moura A L, et al. Neurotoxic impact of mercury on the central nervous system evaluated by neuropsychological tests and on the autonomic nervous system evaluated by dynamic pupillometry[J]. *Neurotoxicology*, 2017, 59:263-269.
- [4] Okpala C O, Sardo G, Vitale S, et al. Hazardous properties and toxicological update of mercury: From fish food to human health safety perspective[EB/OL]. [2017-01-12]. <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/10408398.2017.1291491?needAccess=true>.
- [5] Gochfeld M. Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2003, 56(1):174-179.
- [6] 于璐. 儿童铅暴露现状及防治措施进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016(11):126-128.
- [7] Corsetti G, Romano C, Stacchiotti A, et al. Endoplasmic reticulum stress and apoptosis triggered by sub-chronic lead exposure in mice spleen: A histopathological study [J]. *Biological Trace Element Research*, 2016, 178(1):1-12.
- [8] Hossain S, Bhowmick S, Islam S, et al. Oral administration of ganoderma lucidum to lead-exposed rats protects erythrocytes against hemolysis: Implicates to anti-anemia [EB/OL]. [2016-11-12]. <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC4537730&blobtype=pdf>.
- [9] 李娟, 李嘉敏, 艾宝民, 等. 铅暴露对大鼠海马组织中

- STX 基因转录水平的影响[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, (9):1400-1402.
- [10] 卞建春, 路浩, 梅莉, 等. 铅镉联合染毒对大鼠大脑皮质神经细胞的氧化损伤及 NAC 的保护效应[J]. 中国兽医学, 2008(9):805-809.
- [11] 尹述婷. EGCG 对铅致大鼠海马神经元突触可塑性和氧化损伤的修复作用及机制[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2009.
- [12] 吴家兵. 6 种重金属化合物对人 Bel-7402 肝癌细胞毒性及 EGFP 基因 DNA 甲基化的影响[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2016.
- [13] 杨军国. EGCG 与锌离子相互作用机制及其在 LNCaP 细胞中的生物学行为[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [14] 任军慧. Ni²⁺和 Cr⁶⁺联合作用对成年大鼠睾丸结构与功能的影响[D]. 广州: 暨南大学, 2006.
- [15] Milivojevic J, Krstic D, Smit B, et al. Assessment of heavy metal contamination and calculation of its pollution index for Ugljesnica River, Serbia[J]. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, 2016, 97(5):737-742.
- [16] 林夏露, 谷元亮, 周琪, 等. 基于鱼类膳食的重金属混合物联合毒性研究[J]. 宁波大学学报(理工版), 2016, 29(1):22-27.
- [17] 岳霞. 宁波市八种常见重金属污染物联合毒性研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2014.
- [18] 安立会, 王静波, 付青, 等. 环境镉污染对生殖系统影响的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(1):89-92.
- [19] 朱丹彤, 肖波, 杨晓苏, 等. 化学点燃癫痫大鼠在水迷宫中学习记忆能力与海马中 bFGF 表达的关系[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2004(2):72-75.
- [20] 袁琼嘉, 李垂坤, 李雪, 等. 长期中等负荷运动对大鼠空间学习记忆及海马神经黏附分子的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(12):1075-1080.
- [21] 张天歌. 氯化甲基汞在大鼠体内分布及氨基酸对脑汞含量影响的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2006.
- [22] 路艳丽, 贺蓉, 彭博, 等. 拔毒生肌散中汞成分在大鼠体内的蓄积情况研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6):700-705.

Experimental study on the accumulated toxicity of multi-heavy metal pollutants in rats

WANG Ya-fei¹, SONG Xin¹, HUA Qi-hang¹, Samuel Selorm Fiati KENSTON¹, SU Hong¹,

WANG Li², GU Yuan-liang¹, SHI Hong-bo², LI Zhou¹, ZHAO Jin-shun^{1*}

(1. Medical School, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Ningbo Municipal Center for Disease Control and Prevention, Ningbo 315010, China)

Abstract: To determine the toxic effects of eight common contamination heavy metals (Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, Pb) in the aquatic products of Ningbo area on human beings, the combined toxicity and tissue accumulation of multi-heavy metal have been examined. Healthy male SD rats were divided into four groups: control group, low, middle and high dose of multi-heavy metal treatment groups. Heavy metal compounds were added into rat fodder, and the treatment lasted three months. Using the Morris water maze test, the results indicated the escape latency and swimming time in first quadrant was not significantly different between multi-heavy metal and control groups. ICP-MS results showed that both mercury and cadmium produced obvious accumulation in the organs in a dose-dependent manner; whereas the other six heavy metals failed to produce significant tissue accumulation. Except heart and brain, the biopsies showed that inflammatory changes could be observed in liver, spleen, lung, kidney, and testicle of the multi-heavy metal treated rats. These results demonstrate that chronic exposure to a low dose of multi-heavy metal pollutants might be toxic on human body.

Key words: multi-heavy metals; combined toxicity; accumulation

(责任编辑 章踐立)