

文章编号: 1000-5013(2009)02-0179-04

# 纳米二氧化钛对小鼠肺、脑和肝脏组织的影响

刘青, 薛秀玲, 叶静, 张宏

(华侨大学 化工学院, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 研究不同剂量的纳米二氧化钛颗粒对小鼠肺、脑及肝脏组织的影响。给小鼠一次性腹腔注射不同剂量的纳米二氧化钛颗粒溶液, 14 d 后测定小鼠脑、肺组织中的超氧化物歧化酶(SOD) 和还原型谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、过氧化氢酶(CAT) 的活性及丙二醛(MDA) 的浓度, 并测定肝脏中谷草转氨酶(GOT) 及谷丙转氨酶(GPT) 的活性。结果表明, 给予纳米二氧化钛颗粒后, 小鼠肺及脑组织中的抗氧化酶——SOD、GPX 和CAT 的活性及MDA 浓度都呈现出一定的变化。肝脏中GOT、GPT 的活性显著增高。纳米二氧化钛颗粒对肝脏有一定损害作用, 并能造成脑、肺组织的氧化防御体系失衡, 使抗氧化酶活性及比例失调, 氧化损伤程度因组织器官的不同而不同。

**关键词:** 纳米二氧化钛; 脑组织; 肺组织; 肝脏; 氧化损伤

**中图分类号:** R 995; TB 383

**文献标识码:** A

纳米技术已广泛应用于机械化工、计算机、环境保护、化妆品和医药等诸多领域。纳米二氧化钛是国内产量最高、应用最广泛的纳米材料之一, 而各国在纳米材料及其技术领域进行的基础性研究, 大多集中在纳米材料性能及应用方面。尽管也有一些关于纳米二氧化钛对细胞和肺部的生物效应研究的报道<sup>[1-4]</sup>, 但是研究还不够深入<sup>[5]</sup>, 其潜在危害仍不清楚。纳米材料的生物安全性问题正逐渐受到人们的关注, 目前纳米二氧化钛对抗氧化防御系统的影响的报道较少<sup>[6]</sup>。本文通过不同剂量的纳米二氧化钛对小鼠肺、脑及肝脏组织的影响, 探讨其在小鼠肺和脑组织的氧化损伤作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

纳米二氧化钛(粒径为 20~ 40 nm, 福建泉州斯达纳米科技公司); SOD, MDA, GOP, GPT 试剂盒(江苏南京建成生物工程研究所); 其他为国产市售分析纯试剂。昆明系小鼠 40 只, 体质量为 20~ 30 g, 雌雄各半, 由福建医学科学研究院提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳米二氧化钛颗粒溶液的配制** 用双蒸水将纳米二氧化钛配制成高、中、低剂量的纳米二氧化钛悬液, 质量比分别为 603. 50, 121. 90, 24. 38  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (按体积比 1% 的量加入分散剂偏磷酸钠)。在 100 Hz, 30℃下超声 30 min。分装后于 4℃下保存, 使用前超声处理 10 min。

**1.2.2 动物分组及染毒方案** 将 40 只昆明种小鼠按体质量与性别, 每组 10 只, 随机分为纳米二氧化钛颗粒低、中、高剂量组(分别简称高剂量组、中剂量组、低剂量组)和对照组。一次性腹腔注射给予纳米二氧化钛颗粒, 注射剂量: 高剂量组为 120. 7  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 中剂量组 24. 38  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 低剂量组 4. 876  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 空白组仅给双蒸水, 正常喂养 14 d 后记录小鼠体质量。眼球取血后, 脱臼法处死小鼠, 立即取出肺、肝脏及脑组织。用滤纸沾去脏器表面的血迹后称取重量, 计算脏器系数( $\eta$ )。脏器系数 = (小鼠脏器质量/小鼠体质量)  $\times 1\ 000$ 。

收稿日期: 2008-05-09

通信作者: 刘青(1970-), 女, 副教授, 博士, 主要从事心血管药理学研究。E-mail: liuq@hqu.edu.cn.

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2006J0113); 华侨大学科研基金资助项目(05BS301)

1.2.3 组织匀浆的制备及抗氧化酶的测定 将脏器称量后放入匀浆器内,量取预冷的生理盐水(质量比为 1: 9),制成匀浆. 用低速离心机将匀浆以  $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液分装在离心管中,标记,放置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用.

分别用试剂盒测定各组小鼠肺和脑组织匀浆中 SOD 的活力、MDA 浓度,以及肝匀浆中 GPT 和 GOP 的活力. CAT 的活性按照文[ 7]的方法测定. CAT 活性单位( $\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 定义:  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下, 1 mg 蛋白 100 s 内分解  $\text{H}_2\text{O}_2$ 一半时的酶蛋白量. GPX 的活性采用文[ 8]方法测定. GPX 活性单位( $\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 定义:  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下, 1 mg 蛋白 1 s 使谷胱甘肽下降的浓度.

1.3 统计学处理

统计学方法采用 SPSS 11.0 软件对实验结果进行分析,数据以  $\bar{x}\pm s$  表示.

2 实验结果

2.1 小鼠脑、肺和肝脏组织的脏器系数

表 1 为小鼠肺、脏和脑组织的脏器系数( $\eta$ ), 试验的小鼠数量为 9 只. 各组小鼠体质量( $m$ )无明显差异,染毒 14 d 内小鼠毛色、活动、饮食正常,未出现死亡现象. 从表 1 可知, 纳米二氧化钛颗粒的 3 个剂量组的小鼠脑、肝脏组织的脏器系数与空白组小鼠相比,无统计学差异. 肺脏器系数是评价早期肺纤维化程度的指标,实验数据显示,各实验组小鼠肺组织的脏器系数变化不大.

表 1 小鼠肺、脏和脑组织的脏器系数

Tab. 1 The lung tissue index and brain tissue index of mice

组别	$m/\text{g}$	$\eta(\text{脑})$	$\eta(\text{肺})$	$\eta(\text{肝})$
对照组	$34.71\pm5.44$	$12.31\pm2.11$	$6.68\pm1.18$	$54.96\pm4.96$
低剂量组	$35.39\pm3.61$	$11.48\pm2.72$	$6.68\pm0.93$	$56.78\pm3.22$
中剂量组	$32.25\pm2.86$	$13.39\pm1.40$	$6.46\pm0.94$	$52.76\pm4.81$
高剂量组	$33.08\pm4.21$	$13.39\pm1.77$	$6.45\pm1.06$	$56.19\pm3.87$

2.2 小鼠肺脏和脑组织中的抗氧化酶活性

小鼠肺脏和脑组织中的抗氧化酶活性实验结果,如表 2 所示. 表 2 中,试验的小鼠数量为 9 只,而  $u(\text{SOD})$ ,  $u(\text{CAT})$ ,  $u(\text{GPX})$  分别为 SOD, CAT 和 GPX 的活性,  $c(\text{MDA})$  为 MDA 的浓度.

表 2 小鼠肺脏和脑组织中的抗氧化酶活性

Tab. 2 The antioxidases activities in the lungs and brains of mice

组织	组别	$u(\text{SOD})/\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$	$u(\text{CAT})/\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$	$u(\text{GPX})/\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$	$c(\text{MDA})/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
脑	对照组	$761.91\pm244.05$ $75.70\pm14.64$	$191.54\pm61.68$ $11.49\pm3.70$	$37.84\pm15.84$ $2.27\pm0.95$	$267.52\pm91.67$
	低剂量组	$445.76\pm82.68$ $26.74\pm4.96^{④}$	$211.54\pm73.68$ $12.69\pm4.42$	$14.84\pm6.67$ $0.89\pm0.40^1$	$254.27\pm85.52$
	中剂量组	$429.59\pm117.52$ $25.77\pm7.05^{④}$	$222.54\pm76.52$ $13.35\pm4.59$	$33.01\pm9.50$ $1.98\pm0.57$	$171.15\pm50.93$
	高剂量组	$764.99\pm132.53$ $45.89\pm7.95^{④}$	$209.71\pm82.18$ $12.58\pm4.93$	$28.34\pm10.34$ $1.70\pm0.62$	$221.50\pm75.94$
肺	对照组	$477.87\pm110.36$ $10.67\pm6.62$	$37.51\pm7.23$ $2.25\pm0.434$	$12.84\pm3.67$ $0.77\pm0.22$	$54.27\pm16.49$
	低剂量组	$362.91\pm217.21$ $21.77\pm13.03$	$43.68\pm3.17$ $2.62\pm0.19$	$11.84\pm4.50$ $0.71\pm0.27$	$60.40\pm10.31$
	中剂量组	$380.41\pm185.37$ $22.82\pm11.12^1$	$49.34\pm21.17$ $2.96\pm1.27$	$22.84\pm7.50$ $1.37\pm0.45^1$	$62.96\pm15.53$
	高剂量组	$465.09\pm193.37$ $27.90\pm11.60^1$	$67.85\pm18.84$ $4.07\pm1.13^{④}$	$26.51\pm6.50$ $1.59\pm0.39^1$	$69.16\pm30.39$

<sup>1</sup> 与对照组比,  $P<0.05$ ; ④与对照组比,  $P<0.01$

2.2.1 小鼠肺脏组织的抗氧化酶活力 给予纳米二氧化钛颗粒 14 d 后,小鼠肺组织中 SOD 的活性与

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

对照组相比呈上升趋势, 其中中剂量组、高剂量组中 SOD 活性明显激活(表 2). 小鼠肺组织中另外两个抗氧化酶 CAT, GPX 的活性也呈现出上升趋势, 其活性随纳米二氧化钛剂量的增大而增大.

2.2.2 小鼠脑组织的抗氧化酶活力 纳米二氧化钛颗粒的 3 个剂量组的小鼠脑组织中 SOD 的活性表现为抑制, 显著低于对照组( $P < 0.01$ ), 小鼠脑组织中的 GPX 的活性也呈下降趋势, 其中二氧化钛低剂量组的活性抑制较显著( $P < 0.05$ ), 而脑组织中 CAT 活性的变化不明显(表 2).

2.2.3 小鼠脑及肺脏组织的 MDA 浓度 MDA 是氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的中间产物, 其浓度的变化间接地反映组织损伤的程度. 给予纳米二氧化钛后, 小鼠脑组织中 MDA 浓度呈下降趋势, 而肺组织中 MDA 浓度呈缓慢上升趋势, 但与空白组相比无统计学差异(表 2).

2.3 小鼠肝脏中 GTP 和 GOP 的活性

表 3 为小鼠肝脏中 GTP 活性  $u(\text{GTP})$  和 GOP 的活性  $u(\text{GOP})$ . 表 3 中, 小鼠数量为 10 只. 从表 3 可知, 给予纳米二氧化钛颗粒后, 小鼠肝脏组织中 GPT 和 GOP 的活性被诱导, 都呈上升趋势, 低剂量组、高剂量组中 GPT 和 GOP 的活性与对照组相比有高度显著差异( $P < 0.01$ ).

表 3 小鼠肝脏中 GTP 和 GOP 的活性  
Tab.3 The activities of GTP and GOD in mice lungs

组别	$u(\text{GOP}) / \mu\text{kat} \cdot \text{g}^{-1}$	$u(\text{GTP}) / \mu\text{kat} \cdot \text{g}^{-1}$
对照组	$3\,568.65 \pm 876.34$ $94.10 \pm 52.57$	$409.422 \pm 60.85$ $24.56 \pm 3.65$
低剂量组	$3\,378.84 \pm 936.35$ $202.69 \pm 56.17^{④}$	$700.97 \pm 236.05$ $42.05 \pm 14.16^1$
中剂量组	$2\,079 \pm 1\,015.70$ $124.75 \pm 60.93$	$428.42 \pm 155.03$ $25.70 \pm 9.30$
高剂量组	$3\,563.88 \pm 572.11$ $213.79 \pm 34.42^{④}$	$630.63 \pm 74.51$ $37.83 \pm 4.47^{④}$

<sup>1</sup> 与对照组比,  $P < 0.05$ ; ④与对照组比,  $P < 0.01$ .

3 讨论

纳米二氧化钛是医学复合生物活性材料的重要组成成分, 广泛应用于人工骨、人工齿、介入导管和药物控释体系载体的制造, 其生物安全性已引起人们的重视<sup>[9]</sup>. 实验结果表明, 纳米二氧化钛对小鼠脑、肺组织的抗氧化酶及肝脏中转氨酶有明显影响.

抗氧化防御系统是生物体内重要的氧自由基清除系统, 包括酶性清除剂(如 SOD, CAT, GPX 等)、小分子抗氧化剂(如 GSH、维生素 C、维生素 E 等). 在正常生理条件下, 体内自由基的产生和清除保持动态平衡. 但当机体受到外物作用时, 体内的氧化应激系统可能被激活, 随生物体内氧自由基的增加, 抗氧化酶和部分抗氧化剂的合成可能相应增加. 当氧自由基的产生速度超出了机体抗氧化防御系统的清除能力, 就会对机体造成氧化胁迫, 从而引发一系列毒性效应.

实验给予不同剂量的纳米二氧化钛后, 小鼠脑、肺组织的抗氧化酶——SOD, GPX, CAT 活性呈现出一定的变化. 纳米二氧化钛颗粒进入小鼠肺组织 14 d 后, 肺组织处于应激状态. 由于大量氧自由基的产生, SOD 的活性被显著激活, 且其活性随纳米二氧化钛剂量的增加而增强. CAT 和 GPX 是体内重要的分解  $\text{H}_2\text{O}_2$  酶, 随体内的  $\text{H}_2\text{O}_2$  增多其活性在增强. 小鼠脑组织中抗氧化酶的变化趋势与肺组织不同, 总体上呈抑制状态. 随着大量氧自由基的产生, SOD 的活性被显著抑制, GPX 的活性也下降, 其清除  $\text{H}_2\text{O}_2$  的能力减弱. CAT 活性随时间的变化趋势与 SOD 活性随时间变化的趋势不同, 实验中未显示出明显的变化.

实验结果表明, 纳米二氧化钛进入机体后, 对肺组织、脑的氧化还原系统均产生影响, 但是在不同的组织其影响有差异. 二氧化钛进入肺组织后, 产生大量的自由基激活了氧化应激系统, 应激反应引起抗氧化酶活性随之增高, 代偿性清除体内大量产生的自由基. 在脑组织, 已不能完全清除产生的自由基, 处于失代偿状态. 脑内的抗氧化防御系统平衡失调, 抗氧化酶的活性下降. 由此推断, 由于二氧化钛粒径很小而可进入血脑屏障, 对脑组织造成损伤可能早于肺组织.

MDA 是脂质过氧化的中间产物, 测定 MDA 的量常可反映机体内脂质氧化的程度, 间接地反映出细胞的损伤程度. 纳米二氧化钛进入机体后, 在脑、肺组织抗氧化酶发生变化的同时, 各纳米二氧化钛剂量组 MDA 浓度与对照组相比变化不大, 无统计学差异. MDA 的变化与抗氧化酶比, 则相对滞后. 氧化的平衡失调快于细胞的损伤, 氧化的平衡失调与细胞的损伤并不同步. 肝脏是机体主要的代谢器官, 转氨酶是反应肝脏功能的重要指标, 小鼠肝脏中两种转氨酶 GOP, GTP 的活性变化较一致, 较对照

组有明显升高,提示纳米二氧化钛对肝脏可能有一定毒性.

实验结果表明,不同剂量的二氧化钛颗粒对抗氧化酶的作用不同;二氧化钛颗粒对不同的组织的氧化防御体系的影响也存在差别.有关纳米二氧化钛在不同组织中的吸收分布是否存在差异,以及对组织的影响是否具有明显量效关系,还需进一步研究.

参考文献:

[ 1 ] RENWICK LC, DONALDSON K, CLOUTER A. Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles [ J ]. Toxicol Appl Pharmacol, 2001, 72( 2 ): 119-127.

[ 2 ] OBERDRSTER G, FINKELSTEIN J N, JOHNSTON C, et al. Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice [ J ]. Res Rep Health Eff Inst, 2000( 96 ): 85-86.

[ 3 ] AFAQ F, ABIDI P, MATIN R, et al. Cytotoxicity, pro-oxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultrafine titanium dioxide [ J ]. J Appl Toxicol, 1998, 18( 5 ): 307-312.

[ 4 ] RAHMAN Q, LOHANI M, DOPP E, et al. Evidence that ultrafine titanium dioxide induces micronuclei and apoptosis in Syrian hamster embryo fibroblasts [ J ]. Environ Health Perspect, 2002, 110( 8 ): 797-800.

[ 5 ] 金一和, 孙 鹏, 张颖花. 纳米材料对人体的潜在性影响问题[ J ]. 自然杂志, 2001, 23( 5 ): 306-307.

[ 6 ] 张立德. 纳米材料 [ M ]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 17-20.

[ 7 ] 徐镜波, 袁晓凡, 郎佩珍. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度测定[ J ]. 环境化学, 1997, 16( 1 ): 73-76.

[ 8 ] 荣征星, 刘慧中, 鲍景奇, 等. 小鼠全血中谷胱甘肽过氧化物酶活力的微量测定法[ J ]. 生物化学与生物物理进展, 1994, 21( 4 ): 362-366.

[ 9 ] 冯 晶, 肖 冰, 陈敬超. 纳米材料对生物体及环境的影响[ J ]. 材料科学与工程学报, 2006, 24( 3 ): 462-465.

The Effects of Nanometer-Sized Titanium Dioxide  
on the Brains, Lungs and Livers of Mice

LIU Qing, XUE Xiu-ling, YE Jing, ZHANG Hong

( College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** Studies were carried out on the effects of the different concentration of nanometer-sized titanium dioxide on the brains, lungs and livers of mice. The nanometer-sized titanium dioxide of different concentration was injected into the abdominal cavity of mice. The activities of superoxide dismutase ( SOD ), glutathione peroxidase ( GPX ), catalase ( CAT ) and the contents of maleic dialdehyde ( MDA ) in the brains and lungs of mice were determined after 14 days. At the same time glutamic-oxaloacetic transaminase ( GOP ) and glutamic-pyruvic transaminase ( GPT ) were examined in the livers of mice. The activities of SOD, GPX, CAT and the contents of MDA in the brains and lungs of mice all displayed certain changes. The activities of GOP and GTP increased obviously. The livers of mice were impaired after the nanometer-sized titanium dioxide was administered and the system of antioxidant defenses became imbalance. The activities and the proportions of antioxidases were disregulated and caused certain oxidation damages to the brains and lungs of mice. But such damages vary from organs.

**Keywords:** nanometer-sized titanium dioxide; brain; lung; liver; oxidative damage

( 责任编辑: 黄仲一 英文审校: 陈国华)