

纳米二氧化钛与葡萄糖亚慢性经口联合暴露对幼年大鼠凝血功能的影响

陈章健^a, 韩硕^a, 郑湃^a, 周淑佩^b, 贾光^a

北京大学医学部 a. 公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系 b. 实验动物科学部, 北京 100191

摘要:

[背景] 动物实验结果表明纳米二氧化钛(TiO₂)经口暴露可以影响机体血液系统的凝血功能。TiO₂作为食品添加剂,常用于高糖食物,且由于儿童喜食甜食而成为其高暴露人群。

[目的] 探讨纳米TiO₂与葡萄糖联合暴露对幼年大鼠凝血功能的影响。

[方法] 3周龄清洁级SD大鼠80只,适应性喂养一周后,随机分为8组(每组10只,雌雄各半)。采用4×2析因设计方法,大鼠每天灌胃给予0、2、10、50 mg·kg⁻¹(以体重计)纳米TiO₂,分别加或不加1.8 g·kg⁻¹(以体重计)葡萄糖。实验期间,大鼠体重每周监测一次。染毒90 d后进行凝血指标检测,包括活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)和纤维蛋白原(FIB)。利用响应面模型和一般线性模型进行交互作用分析。

[结果] 纳米TiO₂与葡萄糖经口暴露对大鼠体重未产生影响。纳米TiO₂单独暴露时,仅雌性大鼠在10 mg·kg⁻¹剂量下APTT [(33.90±2.05) s] 高于对照组 [(25.88±3.59) s] ($P<0.05$)。纳米TiO₂与葡萄糖联合暴露时,雌性大鼠在50 mg·kg⁻¹剂量下,与对照组相比APTT [(44.10±18.12) s vs (25.88±3.59) s] 和PT [(26.40±4.21) s vs (21.38±1.04) s] 增加;雄性大鼠在2 mg·kg⁻¹和10 mg·kg⁻¹剂量下,与对照组相比,PT [(22.64±1.53) s 和 (21.68±2.19) s vs (24.96±1.05) s] 降低,并在50 mg·kg⁻¹剂量下,与对照组相比,FIB [(1.47±0.07) g·L⁻¹ vs (1.76±0.08) g·L⁻¹] 降低 ($P<0.05$)。交互作用分析发现,在雄性大鼠中,纳米TiO₂和葡萄糖在影响APTT和FIB时存在拮抗作用 ($P<0.05$)。

[结论] 亚慢性纳米TiO₂和葡萄糖联合经口暴露可以对幼年SD大鼠凝血功能产生影响,两者存在拮抗作用。纳米TiO₂和葡萄糖经口联合暴露比纳米TiO₂单独暴露效应更加明显。实际暴露情况下,纳米TiO₂与糖的联合暴露效应需引起关注。

关键词: 纳米二氧化钛; 葡萄糖; 幼年SD大鼠; 凝血功能; 拮抗作用

Effect of subchronic combined oral exposure to titanium dioxide nanoparticles and glucose on blood coagulation in young rats CHEN Zhang-jian^a, HAN Shuo^a, ZHENG Pai^a, ZHOU Shu-pei^b, JIA Guang^a (a.Department of Occupational and Environmental Health Sciences, School of Public Health b.Department of Experimental Animal Science, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)

Abstract:

[Background] Animal experiments have shown that oral exposure to titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles can affect hematologic system. TiO₂ nanoparticles are often found in high sugar food as food additives, and children are highly exposed to them because they have a sweet tooth.

[Objective] This study aims to explore the effect of combined oral exposure to TiO₂ nanoparticles and glucose on blood coagulation in young rats.

[Methods] Eighty three-week-old clean SD rats were randomly divided into eight groups (10 rats in each group, half male and half female) after one week of adaptive feeding. By a 4×2 factorial design, the rats were exposed to TiO₂ nanoparticles through intragastric administration at 0, 2, 10, and 50 mg·kg⁻¹ (body weight) with or without 1.8 g·kg⁻¹ (body weight) glucose daily for 90 days. During the experiment, the body weight of the rats was monitored once a week. After 90 days of exposure, blood coagulation indices such as activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), and fibrinogen (FIB) were detected. Response surface model and general linear model were used for interaction analysis.

[Results] Exposure to TiO₂ nanoparticles and glucose did not change body weight of the rats. Only

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2020.19862

基金项目

国家重点研发计划项目 (2017YFC1600204);
国家自然科学基金项目 (81703257)

作者简介

陈章健 (1988—), 男, 讲师;
E-mail: zhangjianchen@pku.edu.cn

通信作者

贾光, E-mail: jiaguangjia@bjmu.edu.cn

伦理审批

已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-12-11

录用日期 2020-02-26

文章编号

2095-9982(2020)05-0503-06
中图分类号 R114
文献标志码 A

引用

陈章健, 韩硕, 郑湃, 等. 纳米二氧化钛与葡萄糖亚慢性经口联合暴露对幼年大鼠凝血功能的影响[J]. 环境与职业医学, 2020, 37(5): 503-507, 519.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19862

Funding

This study was funded.

Correspondence to

JIA Guang, E-mail: jiaguangjia@bjmu.edu.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2019-12-11

Accepted 2020-02-26

To cite

CHEN Zhang-jian, HAN Shuo, ZHENG Pai, et al. Effect of subchronic combined oral exposure to titanium dioxide nanoparticles and glucose on blood coagulation in young rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2020, 37(5): 503-507, 519.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19862

APTT in the female rats exposed to $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ TiO_2 nanoparticles $[(33.90 \pm 2.05) \text{ s}]$ was higher than that in the control group $[(25.88 \pm 3.59) \text{ s}]$ ($P < 0.05$). The APTT $[(44.10 \pm 18.12) \text{ s}]$ vs $[(25.88 \pm 3.59) \text{ s}]$ and PT $[(26.40 \pm 4.21) \text{ s}]$ vs $[(21.38 \pm 1.04) \text{ s}]$ were increased in the female rats exposed to $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ TiO_2 nanoparticles and glucose compared with the control group, and PT $[(22.64 \pm 1.53) \text{ s}]$ vs $[(21.68 \pm 2.19) \text{ s}]$ vs $[(24.96 \pm 1.05) \text{ s}]$ was decreased in the male rats exposed to $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ TiO_2 nanoparticles and glucose and FIB $[(1.47 \pm 0.07) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}]$ vs $[(1.76 \pm 0.08) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}]$ was decreased in the male rats exposed to $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ TiO_2 nanoparticles and glucose compared with the control group ($P < 0.05$). The interaction analysis results showed that TiO_2 nanoparticles and glucose had a significant antagonistic effect on APTT and FIB in male rats ($P < 0.05$).

[Conclusion] Subchronic combined oral exposure to TiO_2 nanoparticles and glucose have an obvious antagonistic effect on blood coagulation in young SD rats. The combined effect of oral exposure to TiO_2 nanoparticles and glucose is more obvious than that of TiO_2 nanoparticles alone. In the case of real consumer exposure, the combined exposure effect of TiO_2 nanoparticles and sugar needs concern.

Keywords: titanium dioxide nanoparticles; glucose; young SD rat; blood coagulation; antagonistic effect

随着纳米材料广泛应用于食品领域,其安全性受到一定质疑^[1]。二氧化钛(titanium dioxide, TiO_2)是一种常见的食品添加剂,可用作食品着色剂,具有增白效果^[2]。我国标准 GB 25577—2010《食品安全国家标准食品添加剂二氧化钛》^[3]和 GB 2760—2007《食品添加剂使用卫生标准》^[4]规定 TiO_2 最大使用量为 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,甚至在某些方面可按生产需要适量使用。随着生产工艺的发展,纳米 TiO_2 在食品中的含量不断增加。研究显示,食品级 TiO_2 中纳米颗粒比例已达到 36% 左右^[5-6]。同时,调查显示,纳米 TiO_2 在口香糖、饮料和糖果等高糖食物中含量最高^[6]。由于儿童喜食甜食而成为纳米 TiO_2 潜在高暴露人群^[6-7]。因此,纳米 TiO_2 与高剂量糖共同作用于儿童,可能会对儿童健康产生影响。

纳米 TiO_2 的经口毒性已有较多研究,但其与食品中营养物质的联合作用却罕见报道。Duan 等^[8]研究发现,纳米 TiO_2 (粒径: 5 nm ; 62.5 、 125 、 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,以体重计)连续经口摄入 30 d 可导致 ICR 雌性小鼠出现贫血和凝血功能改变。SD 大鼠连续 30 d 经口暴露于纳米 TiO_2 [粒径: $(75 \pm 15) \text{ nm}$; 10 、 50 、 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,以体重计]可导致血液系统氧化还原平衡状态被破坏,从而诱使其各种功能受到影响^[9]。肝脏可能是纳米 TiO_2 经口暴露的靶器官^[10],而血液中的凝血因子大部分合成于肝脏。因此,纳米 TiO_2 经口摄入可能通过引起肝脏损伤而造成凝血功能紊乱。本研究拟探讨纳米 TiO_2 与葡萄糖(glucose, GLU)亚慢性(90 d)经口联合暴露对幼年大鼠(4 周龄,对应约 2 岁儿童)凝血功能的影响,并对两者可能存在的交互作用进行分析,期望为纳米 TiO_2 经口毒性机制研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 纳米材料表征

纳米 TiO_2 购买于上海晶纯实业有限公司(阿拉丁

试剂),采用电感耦合等离子体质谱仪(IRIS Advantag, 美国)进行纯度检测;采用 X 射线衍射仪(X'Pert PRO, PANalytical 荷兰)进行晶型分析;采用扫描电镜(NanoSEM430, FEI Company, 美国)检测颗粒形态和原始粒径。本实验所用纳米 TiO_2 理化性质的详细表征见前期研究^[11]。纳米 TiO_2 纯度为 99.9%,晶体结构为锐钛矿,近球形颗粒,平均粒径为 $(24 \pm 5) \text{ nm}$ 。纳米 TiO_2 ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 在水溶液中的水合粒径为 40.8 nm ,而在 GLU ($0.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 溶液中的水合粒径为 74.5 nm ,表明 GLU 可增加纳米 TiO_2 在溶液中的团聚程度。同时,纳米 TiO_2 ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 在水溶液中的 Zeta 电位为 11.09 mV ,而在葡萄糖($0.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)溶液中的 Zeta 电位为 4.62 mV ,表明纳米 TiO_2 在 GLU 溶液中的稳定性下降,团聚程度增加。

1.2 实验动物

3 周龄清洁级 SD 大鼠,雌雄各 40 只(雌性体重 $64 \sim 98 \text{ g}$,雄性体重 $85 \sim 109 \text{ g}$),购买并饲养于北京大学医学部实验动物科学部[许可证号:SCXK(京)2011-0012,SYXK(京)2011-0039]。

基于美国 10 岁以下儿童纳米 TiO_2 的经口摄入估计量($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,以体重计,后同)选择纳米 TiO_2 的染毒剂量^[6],并使用 100 作为安全系数,计算得 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,作为大鼠灌胃染毒的最高剂量。基于美国儿童和青少年附加糖摄入量($1512 \text{ kJ} \cdot \text{d}^{-1}$)选择葡萄糖的染毒剂量^[12]。葡萄糖的能量系数为 $16.8 \text{ kJ} \cdot \text{d}^{-1}$,青少年平均体重以 50 kg 计算,因此 $1512 \text{ kJ} \cdot \text{d}^{-1}$ 相当于每天摄入 $1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 葡萄糖。

适应性饲养 1 周后,随机分为 8 组,采用 2×4 析因设计,对照组(蒸馏水)、 T_1 组($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TiO}_2$)、 T_2 组($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TiO}_2$)、 T_3 组($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TiO}_2$)、 G_0 组($1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ GLU}$)、 G_1 组($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TiO}_2 + 1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ GLU}$)、 G_2 组($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TiO}_2 + 1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ GLU}$)、 G_3 组($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TiO}_2 + 1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ GLU}$)。

GLU), 每组 10 只, 雌雄各半。

1.3 大鼠灌胃染毒

将纳米 TiO_2 或者纳米 TiO_2 加 GLU 悬浮于蒸馏水中, 使用前超声波分散 10 min, 并涡旋混匀。实验期间, 每只大鼠灌胃体积固定为 1 mL。2 mg·kg⁻¹、10 mg·kg⁻¹、50 mg·kg⁻¹ 剂量纳米 TiO_2 的初始染毒液浓度分别为 0.4、2、10 mg·mL⁻¹, 葡萄糖的初始染毒液浓度为 1 g·mL⁻¹ (随着大鼠体重的增加, 染毒液浓度适当增加以保证灌胃体积固定为 1 mL)。按照每只大鼠体重乘以染毒剂量 (纳米 TiO_2 : 2、10、50 mg·kg⁻¹; GLU: 1.8 g·kg⁻¹) 并除以染毒液浓度, 计算得到每只大鼠需要的染毒液体积 (纳米 TiO_2 加 GLU 组将两种染毒液混合), 不足 1 mL 时以蒸馏水补足。每天上午灌胃染毒 1 次, 持续 90 d, 每日更换新鲜配制的纳米 TiO_2 染毒液。每天观察记录动物的一般情况, 每周称重。处死前, 禁食 12 h, 不禁水。动物实验遵循了北京大学医学部伦理委员会和国家有关实验动物管理和使用的规定 (伦理批准号: LA2017073)。

1.4 凝血功能检测

染毒 90 d 后处死动物, 腹主动脉取血 2 mL, 枸橼酸钠抗凝。然后以 2500×g 离心 5 min 分离血浆, 采用 ACL-9000 全自动凝血分析仪及相关配套试剂 (Beckman, 美国) 分析活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间 (prothrombin time, PT) 和纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB) 含量; 同步测定标准血浆 (美国 ACL 生产, 批号 E0756709) 和质控物 (正常质控物和低水平异常质控物, 美国 ACL 生产, 批号分别为 N045423 和 N0649197), 以尽量保证分析数据准确可靠。

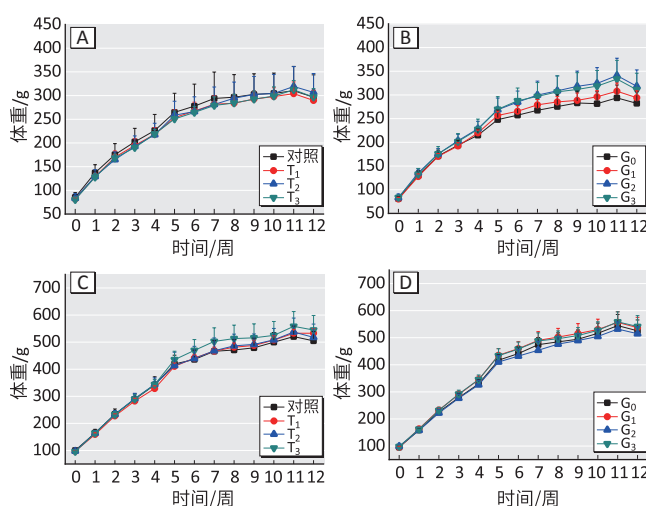
1.5 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件分析。各剂量组生物学指标结果先经单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验, 服从正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。测定指标的多组间比较采用方差齐性检验和单因素方差分析。方差齐时, 组间两两比较采用 LSD 检验; 方差不齐时, 组间两两比较采用 Dunnett's T3 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。交互作用分析采用 SPSS UNIANOVA 模块和 Design expert 软件 (version 6.0.5) 中响应面模型进行分析。基本原理为一般线性回归模型: $Y=\alpha X_1+\beta X_2+\gamma X_1 \times X_2+\varepsilon$ 。Y 为效应指标 (如凝血功能 APTT), X_1 为 GLU 剂量, X_2 为纳米 TiO_2 的剂量, $X_1 \times X_2$ 为两者交互项, α 、 β 和 γ 分别为三者的系数, ε 为截距或残差。

2 结果

2.1 大鼠一般情况和体重

如图 1 所示, 纳米 TiO_2 和 GLU 经口联合暴露 90 d 内, 大鼠体重随时间不断增加, 说明大鼠处于生长发育阶段。但相同染毒时间不同染毒组 SD 大鼠体重差异无统计学意义, 表明在实验剂量下, 纳米 TiO_2 和 GLU 经口暴露对大鼠体重无不良影响。同时, 未观察到染毒期间 SD 大鼠一般情况出现异常, 大鼠无死亡。

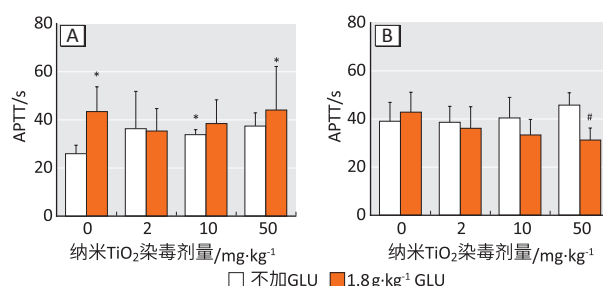


[注] A、B: 雌性; C、D: 雄性。

图 1 纳米 TiO_2 和 GLU 经口联合暴露 90 d 对 SD 大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

2.2 APTT

如图 2 所示, 与对照组相比, 雌性大鼠 T_2 、 G_0 和 G_3 组 APTT 增加 ($P<0.05$)。与 G_0 组相比, 雄性大鼠 G_3 组 APTT 下降 ($P<0.05$)。雄性大鼠中, 无 GLU 暴露时, 纳米 TiO_2 对大鼠 APTT 无影响, 但有 GLU 暴露时, 纳米 TiO_2 使大鼠 APTT 降低。这提示 GLU 可以影响纳米 TiO_2 对雄性大鼠 APTT 的作用, 两者联合暴露对雄性大鼠 APTT 的影响可能存在交互作用。

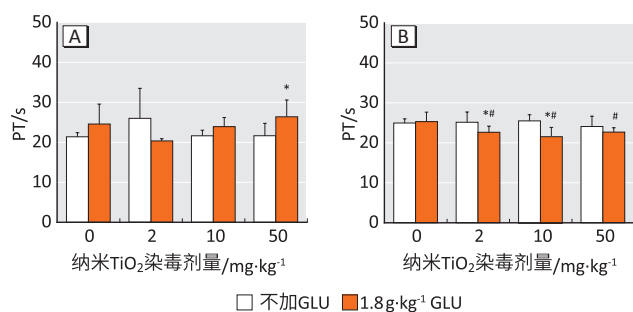


[注] A: 雌性; B: 雄性。*: 与对照组相比, $P<0.05$; #: 与单纯葡萄糖 (1.8 g·kg⁻¹ GLU) 组相比, $P<0.05$ 。

图 2 纳米 TiO_2 和 GLU 经口联合暴露 90 d 对 SD 大鼠 APTT 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

2.3 PT

如图3所示,与对照组相比,雌性大鼠 G_3 组PT增加,雄性大鼠 G_1 和 G_2 组PT下降;与 G_0 组相比,雄性大鼠 G_1 、 G_2 和 G_3 组PT下降($P<0.05$)。

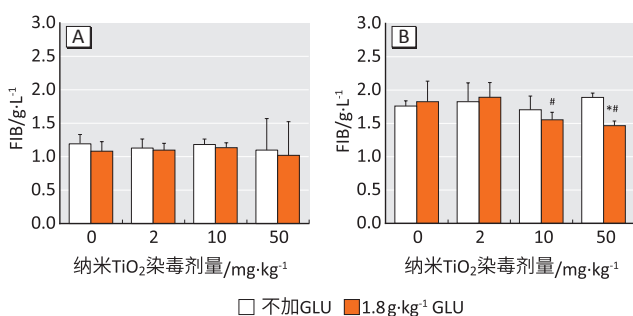


[注] A: 雌性; B: 雄性。*: 与对照组相比, $P<0.05$; #: 与单纯葡萄糖 ($1.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ GLU) 组相比, $P<0.05$ 。

图3 纳米 TiO_2 和GLU经口联合暴露90d对SD大鼠PT的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

2.4 FIB

如图4所示,与对照组相比,只有雄性大鼠 G_3 组FIB含量下降;与 G_0 组相比,只有雄性大鼠 G_2 和 G_3 组FIB含量下降($P<0.05$)。雄性大鼠中,无GLU暴露时,纳米 TiO_2 对大鼠FIB无影响,但有GLU暴露时,纳米 TiO_2 使大鼠FIB降低。这提示GLU可以影响纳米 TiO_2 对雄性大鼠FIB的作用,两者联合暴露对雄性大鼠FIB的影响可能存在交互作用。



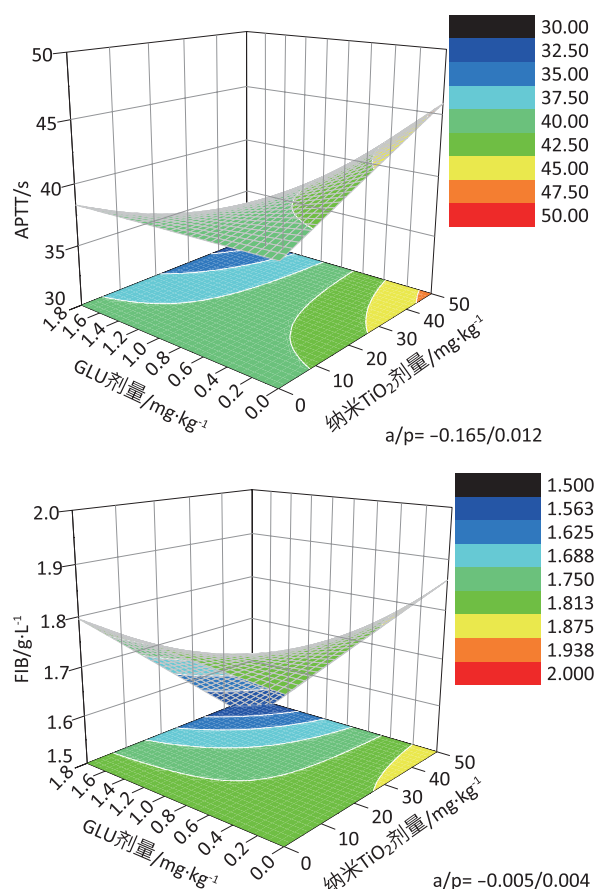
[注] A: 雌性; B: 雄性。*: 与对照组相比, $P<0.05$; #: 与单纯葡萄糖 ($1.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组相比, $P<0.05$ 。

图4 纳米 TiO_2 和GLU经口暴露联合暴露90d对SD大鼠外周血FIB含量的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

2.5 纳米 TiO_2 和GLU的联合作用

经过联合作用分析,纳米 TiO_2 和GLU联合暴露对SD大鼠凝血功能的影响存在交互作用。如图5三维模拟结果显示,在雄性大鼠中,单纯GLU暴露时,随着剂量的增加,APTT和FIB变化都较小。单纯纳米 TiO_2 染毒时,随着剂量的增加,APTT和FIB逐渐增加。但

纳米 TiO_2 和GLU联合暴露时,随着两者剂量的增加,APTT和FIB反而出现下降。这说明纳米 TiO_2 和GLU联合暴露对SD大鼠凝血功能的影响存在拮抗作用($P<0.05$)。



[注] a/p中a为纳米 TiO_2 和GLU的交互项系数, p为交互项统计学检验参数。横坐标分别为纳米 TiO_2 和GLU剂量,纵坐标为凝血指标数值。图像分别展示了凝血指标随纳米 TiO_2 和GLU剂量变化而变化的二维平面图和三维立体图,不同颜色代表纵坐标的变化大小。

图5 纳米 TiO_2 和GLU经口暴露90d对雄性SD大鼠凝血指标的联合作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

3 讨论

本研究关注纳米 TiO_2 和GLU对大鼠凝血功能的影响。凝血是血浆中的可溶性FIB转化为不可溶的纤维蛋白的过程,是生理性止血的重要环节。临床上常通过APTT、PT和FIB反映机体凝血功能。APTT主要反映内源性凝血系统状况,内源性凝血完全依赖于血管内的凝血因子,而凝血因子大部分由肝脏合成。PT主要反映外源性凝血系统状况,启动因子为来自组织的组织因子,进一步激活凝血因子VII、因子X、因子XIII和FIB,促使可溶FIB生成不溶的多聚纤维蛋白多聚体,从而形成血凝块止血。FIB主要由肝细胞合成,是具有凝血功能的蛋白质和血浆中含量最高的凝血因子。临

床上FIB降低常见于重症肝炎和肝硬化等疾病。APTT和PT增高常因为血浆凝血因子水平减低,这可能也与肝脏功能密切相关。

本研究发现纳米TiO₂和GLU联合经口暴露90 d可导致SD大鼠APTT、PT增高和FIB降低。总的来说,纳米TiO₂单独暴露时对凝血指标的影响较小,但与GLU联合暴露时在一定剂量下可以对凝血指标产生明显影响。这些指标的变化提示纳米TiO₂与GLU联合暴露可造成机体凝血功能减弱。肝脏可能是纳米TiO₂经口暴露后的靶器官,研究显示纳米TiO₂经口摄入可导致肝脏损伤,纳米TiO₂在肝脏的蓄积和其较强的氧化应激诱导能力被认为是肝脏损伤的主要原因^[10]。同时,前期研究显示,与纳米TiO₂单独暴露相比,纳米TiO₂和GLU联合暴露可以诱导更严重的肝脏损伤^[13]。这与本研究的结果趋势相同,即纳米TiO₂与GLU联合暴露相比纳米TiO₂单独暴露可诱导更严重的凝血功能减弱。因此,本研究中出现的凝血功能减弱可能与肝脏损伤有关,但因果关系仍有待进一步详细研究。

同时,本研究发现纳米TiO₂和GLU对大鼠凝血功能的影响存在性别差异。在雌性大鼠中,纳米TiO₂+GLU会导致凝血时间延长。但在雄性大鼠中,纳米TiO₂+GLU却导致大鼠PT的降低。纳米TiO₂经口毒性的性别差异已有文献报道。Wang等^[14]发现纳米TiO₂诱导ICR小鼠急性经口毒性存在性别差异,表现为雌性小鼠更容易出现肝脏系数以及血生化等指标的改变。本课题组前期的研究也显示纳米TiO₂经口摄入在诱导肝脏毒性方面存在性别差异,雌性更加敏感^[15]。这与本研究中的结果相互佐证,即在雌性大鼠中纳米TiO₂+GLU更易导致凝血障碍,进一步显示凝血功能减弱可能与肝脏损伤密切相关。出现性别差异的原因可能与性激素的作用有关,但目前还缺乏足够的研究证据。这提示往后纳米TiO₂的毒理学动物试验需考虑性别差别。如果使用一种性别的动物进行实验,需要注意结论推广时的局限性。

本研究还发现纳米TiO₂和GLU在影响凝血功能方面存在拮抗作用。在不额外摄入较高剂量GLU(1.8 g·kg⁻¹)的大鼠中和额外摄入较高剂量GLU的大鼠中,纳米TiO₂的效应不同。这提示纳米TiO₂和GLU相互作用的存在。通过交互作用分析发现,在雄性大鼠中,纳米TiO₂和GLU在影响APTT和FIB时存在拮抗作用。拮抗作用的出现可能与GLU可以增加纳米TiO₂在

溶液体系中的团聚程度有关。纳米TiO₂和GLU同时摄入时,GLU分子可能会吸附在纳米TiO₂表面,从而改变纳米颗粒之间的相互作用,增加其团聚潜力。纳米TiO₂团聚程度越严重,水合粒径越大,相应生物学效应也会减弱。这在前期研究中已有所体现^[13],但是否为主要原因,仍有待深入研究。纳米TiO₂和GLU经口暴露后经过大量胃液、肠液等消化液稀释,物理化学表征也可能发生较大变化。同时,纳米TiO₂和高浓度GLU联合暴露还可能改变胃肠道的消化和吸收功能,进而造成两者在后续生物学效应上的交互作用。因此,纳米TiO₂和GLU在胃肠道复杂环境中的相互作用值得深入研究。

综上所述,纳米TiO₂与GLU亚慢性经口联合暴露可以导致大鼠凝血功能障碍,而且两者存在拮抗作用。但具体的作用机制有待于进一步研究。实际暴露情况下,纳米TiO₂与糖的联合暴露效应需引起关注。同时,复杂暴露体系中,纳米材料与其他物质的相互作用也值得深入研究。

参考文献

- [1] SINGH T, SHUKLA S, KUMAR P, et al. Application of nanotechnology in food science : perception and overview [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8 : 1501.
- [2] LIM JH, BAE D, FONG A. Titanium dioxide in food products : quantitative analysis using ICP-MS and Raman spectroscopy [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66 (51) : 13533-13540.
- [3] 食品安全国家标准食品添加剂二氧化钛:GB25577-2010 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2010.
- [4] 食品添加剂使用卫生标准:GB2760-2007 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2007.
- [5] YANG Y, DOUDRICK K, BI X, et al. Characterization of food-grade titanium dioxide : the presence of nanosized particles [J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 48 (11) : 6391-6400.
- [6] WEIR A, WESTERHOFF P, FABRICIUS L, et al. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, 46 (4) : 2242-2250.
- [7] ROMPELBERG C, HERINGA MB, VAN DONKERSGOED G, et al. Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from food products, food supplements and toothpaste by the Dutch population [J]. *Nanotoxicology*, 2016, 10 (10) : 1404-1414.

(下转第519页)

- [11] ENSAFI AA, NAZARI Z, FRITSCH I. Highly sensitive differential pulse voltammetric determination of Cd, Zn and Pb ions in water samples using stable carbon-based mercury thin-film electrode [J]. *Electroanalysis*, 2010, 22 (21) : 2551-2557.
- [12] 杨俊青. 碳纳米管和汞膜修饰电极的制备及其应用 [D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [13] 黄润. 石墨烯/纳米金复合物修饰玻碳电极及在电化学分析中的应用 [D]. 长沙: 湖南大学, 2013.
- [14] 朱浩嘉, 潘道东, 顾愿愿, 等. 同位镀汞阳极溶出伏安法测定牛奶中镉、铅、铜 [J]. *食品科学*, 2014, 35 (8) : 121-124.
- [15] 王穗萍, 韩正, 杨彤, 等. 基于石墨烯的镉离子电化学传感器 [J]. *湘潭大学自然科学学报*, 2015, 37 (1) : 47-51.
- [16] 许春萱, 吴志伟, 曹凤枝, 等. 羧基化石墨烯修饰玻碳电极测定水样中的痕量铅和镉 [J]. *冶金分析*, 2010, 30 (8) : 30-34.
- [17] 王穗萍, 李亚飞, 赵耀宗, 等. 基于电沉积碳纳米管的铅离子电化学传感器 [J]. *湘潭大学自然科学学报*, 2016, 38 (1) : 73-77.
- [18] 唐逢杰, 张凤, 金庆辉, 等. 石墨烯修饰铂电极传感器测定水中微量重金属镉和铅 [J]. *分析化学*, 2013, 41 (2) : 278-282.
- [19] 中华人民共和国环境保护总局. GB 3838—2002 地表水环境质量标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- (英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)

(上接第 507 页)

- [8] DUAN Y, LIU J, MA L, et al. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice [J]. *Biomaterials*, 2010, 31 (5) : 894-899.
- [9] WANG Y, CHEN Z, BA T, et al. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles [J]. *Small*, 2013, 9 (9/10) : 1742-1752.
- [10] WINKLER HC, NOTTER T, MEYER U, et al. Critical review of the safety assessment of titanium dioxide additives in food [J]. *J Nanobiotechnol*, 2018, 16 (1) : 51.
- [11] CHEN Z, ZHOU D, WANG Y, et al. Combined effect of titanium dioxide nanoparticles and glucose on the cardiovascular system in young rats after oral administration [J]. *J Appl Toxicol*, 2019, 39 (4) : 590-602.
- [12] Ervin RB, Kit BK, Carroll MD, et al. Consumption of added sugar among U.S. children and adolescents, 2005-2008 [J]. *NCHS Data Brief*, 2012 (87) : 1-8.
- [13] CHEN Z, WANG Y, ZHUO L, et al. Interaction of titanium dioxide nanoparticles with glucose on young rats after oral administration [J]. *Nanomedicine*, 2015, 11 (7) : 1633-1642.
- [14] WANG J, ZHOU G, CHEN C, et al. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration [J]. *Toxicol Lett*, 2007, 168 (2) : 176-185.
- [15] CHEN Z, ZHOU D, ZHOU S, et al. Gender difference in hepatic toxicity of titanium dioxide nanoparticles after subchronic oral exposure in Sprague-Dawley rats [J]. *J Appl Toxicol*, 2019, 39 (5) : 807-819.
- (英文编辑: 汪源; 责任编辑: 汪源)