

研究报告

香烟烟雾暴露对雄性大鼠血浆尼古丁、可替宁的影响

何丽娟¹, 仲春雪², 张静¹, 张晨^{1*}, 黄云飞¹, 邹莹¹

(1. 新疆医科大学公共卫生学院, 乌鲁木齐 830054; 2. 新疆医科大学附属第五医院, 乌鲁木齐 830054)

【摘要】 目的 通过对吸烟大鼠血浆尼古丁、可替宁含量的测定,探讨香烟在体内的内暴露水平。**方法** 清洁级 SD 雄性大鼠 160 只,随机分为 2、4、6、8、12 周的低、中、高染毒剂量组及对照组,每组 10 只。采用呼吸道静式染毒,每日染毒一次,染毒周期为 2、4、6、8、12 周。观察大鼠的一般毒性效应,运用气相色谱-质谱联用法检测吸烟大鼠血浆中尼古丁、可替宁的含量。**结果** 香烟烟雾暴露组大鼠在第 3 周后逐渐开始出现间歇咳嗽,腹式呼吸加剧,鼻噪音等症状,暴露时间越长,症状越明显;染毒剂量越高,染毒周期越长,大鼠体重减少越明显,与空白对照组相比,差异有显著性($P < 0.01$);大鼠血浆尼古丁的保留时间为 7.5 ~ 8.5 min,随暴露时间的延长,暴露剂量的增加,大鼠血浆中尼古丁含量较空白对照组 (155 ± 56.65) ng/mL 有所增加;大鼠血浆可替宁的保留时间为 11.5 ~ 12.5 min;随暴露时间的延长,暴露剂量的增加,大鼠血浆中可替宁含量较空白对照组 (340 ± 41.97) ng/mL 有所增加,且呈现剂量-反应关系,不同暴露周期期间可替宁含量的差异有显著性($P < 0.05$),且暴露时间与暴露剂量存在交互效应($P < 0.05$)。**结论** 香烟烟雾暴露可造成大鼠机体不同程度的损伤,大鼠血浆可替宁浓度能够有效反映香烟烟雾内暴露情况,且呈现较好的剂量-反应关系。

【关键词】 香烟烟雾暴露;动物模型;尼古丁;可替宁

【中图分类号】 Q95-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2017) 06-0594-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.06.002

Effect of cigarette smoking-induced plasma nicotine and cotinine on male rats

HE Li-juan¹, ZHONG Chun-xue², ZHANG Jing¹, ZHANG Chen^{1*}, HUANG Yun-fei¹, ZOU Ying¹

(1. College of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China;

2. The Fifth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054)

【Abstract】 Objective To explore the *in vivo* exposure levels of cigarette smoking (CS) by measuring the biomarkers nicotine and cotinine. **Methods** One hundred and sixty male SD rats were divided into 15 cigarette exposure groups (10, 20 and 30 nonfilter cigarettes/day, for 2, 4, 6, 8 and 12 weeks) and a control group (without CS exposure). The rats were sacrificed at different time-points. The concentration of plasma nicotine and cotinine were measured by GC-MS/MS. **Results** The CS-exposed rats displayed decreased locomotor activity, ataxic gait, irregular respiration, nasal noise, and salivation after smoking exposure for 3 weeks. Rats in the CS exposure groups had lower body weight, and the reduction of body weight was time and dose related ($P < 0.01$). The retention time of nicotine was 7.5 to 8.5 min. The concentration of plasma nicotine in the CS exposure groups was higher than control group (155 ± 56.65) ng/mL. The retention time of cotinine was 11.5 to 12.5 min, the concentrations of plasma cotinine in CS exposure groups were higher than control group (340 ± 41.97) ng/mL, the increase of plasma cotinine in CS groups was time-related ($P < 0.05$), and the exposure concentration and duration had synergistic effect on the level of plasma cotinine ($P < 0.05$). **Conclusions** CS exposure

【基金项目】 国家自然科学基金 (No. 81260433); 新疆研究生科研创新项目 (No. XJGR12015067); 乌鲁木齐市优秀青年科技人才项目 (No. 2016SKJRC-2)。

【作者简介】 何丽娟, 讲师, 学历: 博士研究方向: 生殖发育毒理学。E-mail: helijuan0630@126.com

【通讯作者】 张晨, 教授, 博士生导师。E-mail: zhangchendr@163.com

causes structural damages in male rats. The plasma concentration of cotinine can effectively reflect the in vivo exposure levels of cigarette smoking, and well presents a dose-response relationship.

【Key words】 Cigarette smoking exposure; Animal model; Rats; Nicotine; Cotinine

Corresponding author: ZHANG Chen. E-mail: zhangchendr@163.com

烟草使用是导致世界范围内过早死亡和疾病的可预防因素之一^[1, 2]。尼古丁是烟草的主要成分,可引起中枢神经系统自主神经节产生兴奋,它是烟草成瘾的主要原因^[3]。尼古丁的代谢途径复杂,其中 70% 在肝脏中通过细胞色素 P450 酶系代谢为可替宁,尼古丁在血浆中的半衰期较短(1~2 h),而可替宁的半衰期较长(16~19 h)^[4],且可替宁在唾液、血液、尿液中都容易测得,因此可将它作为主动或被动香烟暴露的生物标志物。本研究通过建立不同暴露时间及暴露剂量的吸烟大鼠模型,运用气相色谱-质谱联用法检测吸烟大鼠血浆中尼古丁、可替宁浓度的变化情况,同时观察香烟烟雾暴露对大鼠的毒性效应影响,为香烟烟雾对雄性大鼠暴露生物学标志影响的研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物分组及处理

清洁级 SD 雄性大鼠 160 只,体重 180~220 g。由新疆维吾尔自治区实验动物研究中心提供【SCXK(新)2013-0001】。实验在新疆医科大学第一附属医院医学研究中心实验动物科学研究部进行(通过美国 AAALAC 认证, IACUC-20131105011)。

1.1.2 试剂与仪器

(1) 色谱条件

运用 CP-3800 型气相色谱仪(美国瓦里安公司),石英毛细管气相色谱柱:SPB-5 (30 mm × 0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦公司);载气:高纯氮气,恒流模式 1.0 mL/min,进样量:2.0 μL,分流比 30:1,柱温程序:初始温度 120℃,保持 2 min,以 25℃/min 升至 150℃,以 8℃/min 升至 280℃,保持 10 min,再以 5℃/min 升至 300℃,保持 5 min,进样口温度 300℃。

(2) 质谱条件

离子源温度:280℃,四极杆温度:150℃,质谱-质谱接口温度:300℃;碰撞室:氮气 2.25 mL/min,氮气 1.5 mL/min,离子化方式:EI;电子能量:70 eV;全扫描(m/z 50~500)用于测定样品净化效果,

多反应监测(MRM)模式用于定性和定量测定,尼古丁 m/z 162,可替宁 m/z 176。

1.2 方法

1.2.1 分组

适应性喂养一周后,随机分为 2、4、6、8、12 周的低、中、高染毒剂量组(即 10、20、30 支香烟组)及对照组,每组 10 只。受试物选用新疆某卷烟厂生产的过滤嘴香烟(每支焦油量 11 mg、CO 含量 12 mg、烟碱量 1.0 mg)。采用呼吸道静式染毒,香烟烟雾由真空泵抽入,每日 1 次,每次持续 2 h,在处理组大鼠接受香烟烟雾处理的同时,对照组大鼠每日被放置于与处理组染毒箱完全相同的容器内,但并未点燃香烟进行处理。每日染毒一次。染毒周期为 2、4、6、8、12 周。在不同时间点处死各组大鼠,腹主动脉采血,分离血浆后于 -80℃ 冻存备用。

1.2.2 样品前处理

将 500 μL 血浆与 100 μL 内标液(尼古丁-d4、可替宁-d3)加入试管中,每份样本用 100 μL 2.5 mol/L 的 NaOH 进行碱化,2800 r/min 离心 30 s。加入 2.5 mL 二氯甲烷-乙烷混合液(1:1 v/v)进行萃取,2800 r/min 离心 2 min。将有机层转移至含 10 μL 冰醋酸的新管后 3500 r/min 离心 3 min。再将有机相在 35℃ 氮流下烘干,重新加入 100 μL 己烷,混匀,取处理好的样品 2 μL,进行 GC-MS/MS 检测。

1.3 统计方法

利用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计量资料采用独立样本 T 检验,实验结果采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行组间比较,析因设计资料运用析因设计的方差分析,验证暴露时间与暴露剂量间是否存在交互效应,采用 F 检验, $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状况

香烟烟雾暴露组大鼠在第 3 周后逐渐开始出现间歇咳嗽,暴露时间越长,出现张口喘息、流涎、腹

式呼吸加剧,鼻噪音等症状越明显,并逐渐出现拱背蜷缩,活动减少,共济步态失调,皮肤松弛,毛色暗淡发黄;第 6 周后,大部分大鼠在染毒时表现为烦躁,具体体现为撞击箱子、乱跑、相互撕咬。对照组实验前后活动正常,无明显气促,皮肤毛发有光泽、无脱落。

表 1 香烟烟雾暴露对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

Tab.1 Impact of CS exposure on the body weight of rats

组别 Groups	初始体重 Initial body weight	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks	12 周 12 weeks
空白对照组 Control group	238.44 ± 16.20	292.67 ± 17.95	358.89 ± 23.70	406.89 ± 32.09	429.00 ± 33.51	503.22 ± 25.47
A 组 (Group A)	244.80 ± 17.57	293.60 ± 24.26	350.90 ± 23.97	380.00 ± 22.67	422.01 ± 47.64	455.30 ± 42.95 *
B 组 (Group B)	242.20 ± 21.23	270.60 ± 28.26	287.67 ± 29.01 *	315.00 ± 37.19 *	374.56 ± 29.71 *	407.78 ± 41.10 *
C 组 (Group C)	243.69 ± 31.66	253.69 ± 15.49 *	244.20 ± 31.27 *	271.33 ± 49.42 *	306.67 ± 44.80 *	348.25 ± 20.44 *
F 值 (F value)	0.13	8.72	38.69	23.62	21.30	31.38
P 值 (F value)	0.94	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注: * 与空白对照组相比 $P < 0.05$; A 组: 10 支/天, B 组: 20 支/天, C 组: 30 支/天。
Note. * Compared with the control group, $P < 0.05$. Group A: 10-nonfilter cigarettes/day. Group B: 20-nonfilter cigarettes/day. Group C: 30-nonfilter cigarettes/day.

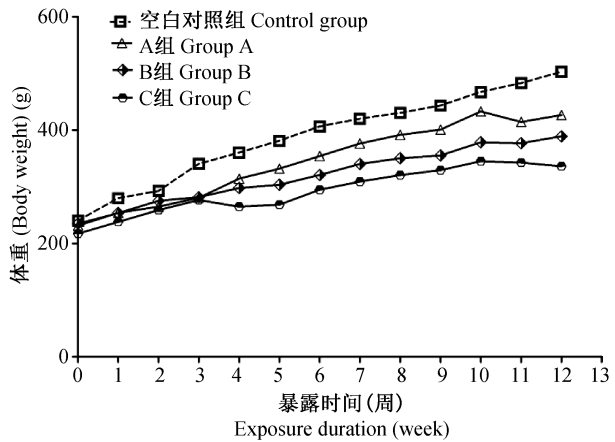


图 1 不同方式香烟烟雾暴露后大鼠体重变化
Fig.1 Body weight of the rats after CS exposure

2.3 香烟烟雾暴露对大鼠血浆中尼古丁含量影响

由图 2 可知,大鼠血浆尼古丁的保留时间为 7.5 ~ 8.5 min。在质谱条件为 m/z 162 下运用 GC-MS/MS 检测血浆尼古丁含量可得,随暴露时间的延长,暴露剂量的增加,大鼠血浆中尼古丁含量较空白对照组 (155 ± 56.65) ng/mL 有所增加。但其析因设计方差分析结果显示,不同暴露时间及暴露剂量间尼古丁含量的变化无显著性,且暴露时间与暴露剂量间无交互效应 ($P > 0.05$),见表 2 ~ 3、图 3。

2.2 香烟烟雾暴露对大鼠体重的影响

由表 1、图 1 可知,染毒组大鼠的初始体重无明显差异,香烟烟雾暴露后,大鼠体重增长有所减少甚至出现负增长,且染毒剂量越高,染毒周期越长,体重减少越明显。与空白对照组相比,高剂量染毒组体重减少有显著性。

2.4 香烟烟雾暴露对大鼠血浆中可替宁含量影响

由图 4 可知,大鼠血浆可替宁的保留时间为 11.5 ~ 12.5 min。在质谱条件为 m/z 176 下运用 GC-MS/MS 检测血浆可替宁含量可得,随暴露时间的延长,暴露剂量的增加,大鼠血浆中可替宁含量较空白对照组 (340 ± 41.97) ng/mL 有所增加,且呈剂量-反应关系。不同暴露周期间可替宁含量的差异有显著性 ($P < 0.05$),且暴露时间与暴露剂量存在交互效应 ($P < 0.05$)。两两比较后可知,4 周中剂量组以后各染毒组血浆可替宁含量均较空白对照组显著升高 ($P < 0.05$),见表 4 ~ 5、图 5。

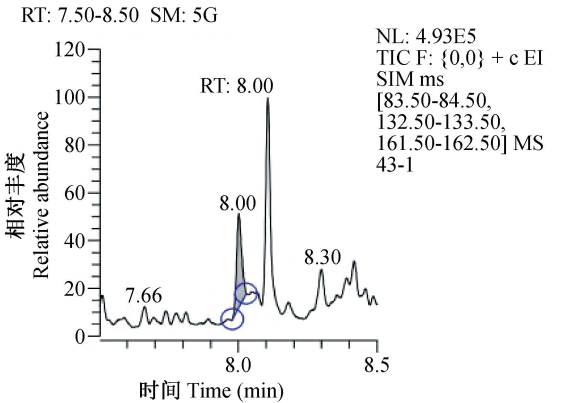


图 2 尼古丁降解后期 GC 谱图
Fig.2 GC spectrum of the final phase of the degradation of nicotine

表 2 染毒剂量与时间对大鼠血浆尼古丁含量变化的影响($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

Tab. 2 Impact of smoking exposure duration and concentration on the rat plasma nicotine

组别 Groups	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks	12 周 12 weeks
A 组 Group A	176.0 ± 88.9	256.0 ± 11.6	563.0 ± 41.1	620.0 ± 85.1	2093.4 ± 225.2
B 组 Group B	444.0 ± 68.1	554.0 ± 96.2	704.0 ± 37.6	1144.0 ± 77.9	2540.5 ± 372.5
C 组 Group C	312.0 ± 12.8	596.0 ± 10.6	1110.0 ± 492.2	1420.0 ± 542.2	3803.3 ± 176.0

表 3 不同染毒方式大鼠血浆尼古丁含量的析因设计方差分析

Tab. 3 Factorial ANOVA analysis of the rat plasma nicotine among different exposure regimens

变异来源 Source of variation	SS 值 SS value	df 值 df value	MS 值 MS value	F 值 F value	P 值 P value
暴露时间 Exposure duration	5.79 × 10 ⁷	4	1.45 × 10 ⁷	2.51	0.05
暴露剂量 Exposure concentration	2.74 × 10 ⁶	2	1.37 × 10 ⁶	0.24	0.79
时间 × 剂量交互 Time × dose of interaction	1.04 × 10 ⁷	8	1.30 × 10 ⁶	0.23	0.98
误差 Error	3.40 × 10 ⁸	59	5.76 × 10 ⁶		
总变异 Total variation	4.98 × 10 ⁸	74			

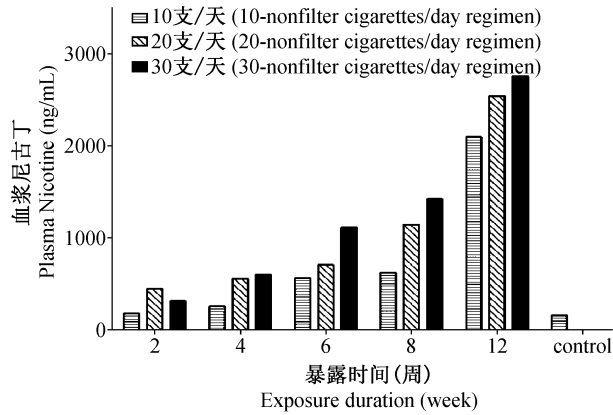


图 3 香烟烟雾暴露后血浆尼古丁的含量变化(ng/mL)
Fig. 3 Concentration of plasma nicotine after CS exposure

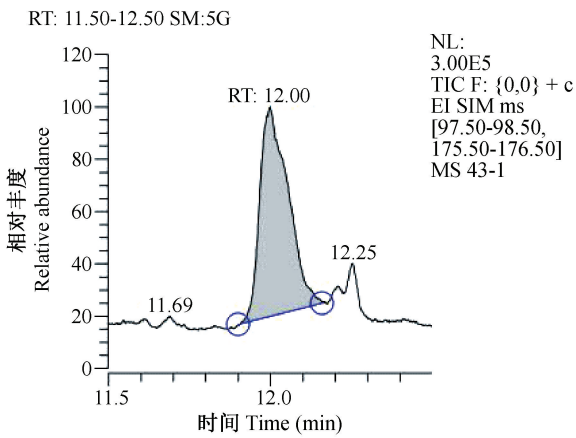


图 4 可替宁降解后期 GC 谱图
Fig. 4 GC spectrum of the final phase of the degradation of cotinine

表 4 染毒剂量与时间对大鼠血浆可替宁含量变化中的影响($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

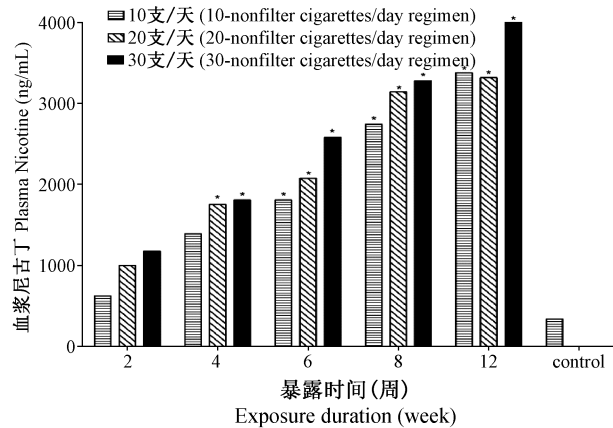
Tab. 4 Impact of smoking exposure duration and concentration on the rat plasma cotinine concentration

组别 Groups	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks	12 周 12 weeks
A 组 Group A	624.0 ± 71.8	1391.0 ± 42.5	1809.0 ± 89.8	2742.0 ± 93.3	3379.0 ± 40.9
B 组 Group B	1000.0 ± 92.9	1751.6 ± 32.6	2077.0 ± 187.8	3141.4 ± 259.7	3661.0 ± 34.6
C 组 Group C	1176.6 ± 74.9	1808.3 ± 50.4	2581.0 ± 52.5	3278.6 ± 81.9	3668.0 ± 66.5

表 5 不同染毒方式大鼠血浆可替宁含量的析因设计方差分析

Tab. 5 Factorial ANOVA analysis of the rat plasma cotinine among different smoking exposure regimens

变异来源	SS 值	df 值	MS 值	F 值	P 值
Source of variation	S value	df value	MS value	F value	Pvalue
暴露时间	6. 04 × 10 ⁹	4	1. 51 × 10 ⁹	2. 96	0. 03
Exposure duration					
暴露剂量	1. 74 × 10 ⁹	2	8. 71 × 10 ⁸	1. 71	0. 19
Exposure concentration					
时间 × 剂量交互	1. 29 × 10 ¹⁰	8	1. 61 × 10 ⁹	3. 16	0. 01
Time × dose of interaction					
误差	3. 07 × 10 ¹⁰	60	5. 11 × 10 ⁸		
Error					
总变异	6. 10 × 10 ¹⁰	75			
Total variation					



注：* 与空白对照组相比 $P < 0.05$ 。
图 5 香烟烟雾暴露后血浆可替宁的含量变化 (ng/mL)
Note. * Compared with the control group $P < 0.05$.

Fig. 5 Concentration of the rat plasma cotinine after CS exposure

3 讨论

近年来世界卫生组织 (WHO) 已将烟草使用作为全球最严重的公共卫生问题列入重点控制领域, 将烟草控制的工作提上日程。目前全球有 11 亿吸烟者, 每年死于烟草相关疾病的人数约达到 500 万人, 其中 384 万为男性。而中国作为世界人口大国和最大的烟草生产及消费国, 其吸烟现状令人担忧^[5]。越来越多的研究表明, 吸烟是很多疾病发生的主要因素之一。究其原因是烟草中含有多种化学成分复杂的外源化学物, 而其中大部分化合物经证实均有致畸、致癌和致突变作用^[6-8]。香烟燃烧的烟雾中主要有毒复合物包括一氧化碳、尼古丁和焦油, 这些物质通过呼吸进入人体可造成多系统的损害^[9, 10]。还有镉、氰、铅、锂等有毒物质, 除了其特有毒性外, 还可影响其他营养素如蛋白质缺乏而增

加对铅中毒的易感性, 造成体力和智力的损伤^[11]。烟草相关疾病包括肺部及其他器官的恶性肿瘤、心血管疾病和其他循环系统疾病, 以及呼吸道疾病, 如肺气肿、慢性阻塞性肺病等^[12]。近年来充分证据表明吸烟者的吸烟量越大、吸烟年限越长、开始吸烟的年龄越小, 癌症的发病风险越高^[7]。

尼古丁 (nicotine) 是烟草的主要成分, 可引起中枢神经系统自主神经节产生兴奋, 它是烟草成瘾的主要原因。吸烟者的尼古丁暴露是长期及间歇性的。香烟烟雾中包含大量可吸入颗粒物, 其微粒主要沉淀在肺泡内, 从而使尼古丁穿透肺泡膜进入机体。研究表明^[13], 每抽一根香烟 (5 min 左右), 动脉血中尼古丁含量即可在 3 ~ 5 min (T_{max}) 达到峰值 (C_{max}) 20 ~ 60 ng/mL, 之后在 20 min 内快速分布至机体各组织。尼古丁作用于大脑胆碱能受体, 主要释放并促进许多神经递质的产生, 包括多巴胺、去甲肾上腺素、血清素、乙酰胆碱、血管加压素及内啡肽等^[4]。尼古丁代谢途径复杂, 其中 70% 尼古丁在肝脏中通过细胞色素 P450 酶系代谢为可替宁 (cotinine), 尼古丁在血浆中的半衰期较短 (1 ~ 2 h), 可替宁的半衰期较长 (6 ~ 22 h), 且可替宁在唾液、血液、尿液中都容易测得, 因此可将它作为主动或被动香烟暴露的生物标志物^[14-16]。近年来, 研究者运用多种方法, 如液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS)^[15]、气相色谱-质谱联用法 (GC-MS/MS)^[17]、气相色谱氮磷检测法^[18]、高效液相色谱法 (HPLC)^[19] 及双重抗体 RIA 免疫法等^[20] 检测吸烟者血浆、血清、尿液、母乳及唾液中尼古丁及其代谢物可替宁的含量变化。

本研究运用 GC-MS/MS 分析血浆尼古丁、可替宁含量的变化, 随暴露时间的延长, 暴露剂量的增加, 大鼠血浆尼古丁含量随之增加, 但此变化并无统

计学意义。出现此原因的可能是每暴露一支香烟,动脉血中尼古丁含量即可在 3 ~ 5 min ($T_{\max}$) 达到峰值 ($C_{\max}$) 20 ~ 60 ng/mL,之后在 20 min 内快速分布至机体各组织,且尼古丁在血浆中的半衰期较短,仅为 1 ~ 2 h,因此本研究在检测血浆尼古丁浓度时,可能其已在体内代谢分解。随后在质谱条件为 m/z 176 下继续分析血浆可替宁的含量变化,结果显示暴露时间的延长,暴露剂量的增加,大鼠血浆中可替宁含量较空白对照组的增加呈现剂量-反应关系。且不同暴露周期间可替宁含量的差异存在统计学差异,暴露时间与暴露剂量存在交互效应。提示血浆可替宁浓度能够有效反映大鼠香烟烟雾内暴露情况,且不同染毒时间组大鼠血浆中可替宁浓度呈现剂量-反应关系。此结果与 Abobo 等^[20] 研究结果一致,即对大鼠进行香烟烟雾暴露后,其血浆尼古丁、可替宁浓度可作为暴露生物学标志反应大鼠香烟烟雾暴露情况。

综上所述,本研究中随着暴露时间的推移,大鼠对外界刺激的反应越来越迟钝,并出现流涎、活动减少、共济步态失调等表现,提示烟雾中的尼古丁等有害物质对大鼠的神经系统起到了一定的麻痹作用;染毒组大鼠体重增长有所减少甚至出现负增长,提示香烟烟雾中的尼古丁可以抑制消化道运动和消化腺分泌,从而使动物产生厌食感,进而造成体重的减少;不同染毒时间组大鼠血浆中可替宁浓度呈现剂量反应关系,且暴露时间与暴露剂量存在交互效应,提示大鼠血浆可替宁浓度能够有效反映大鼠香烟烟雾内暴露情况。

参 考 文 献

- [1] Gururaj G, Girish N. Tobacco use amongst children in Karnataka [J]. Indian J Pediatr, 2007, 74(12): 1095 – 1098.
- [2] 唐铭坚,谭礼萍,刘争红,等. 吸烟对健康的危害及控烟策略 [J]. 中国医药导报, 2012, 09(22): 155 – 156.
- [3] 葛新,郑频频,傅华. 被动吸烟尼古丁及其代谢产物的暴露评价 [J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(07): 1840 – 1842.
- [4] Miller EI, Norris HR, Rollins DE, et al. A novel validated procedure for the determination of nicotine, eight nicotine metabolites and two minor tobacco alkaloids in human plasma or urine by solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2010, 878(9 – 10): 725 – 737.
- [5] Ezzati M, Lopez AD. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000 [J]. Lancet, 2003, 362(9387): 847 – 852.
- [6] 贺小琼,王琦,周建于. 不同品牌卷烟烟焦油的致突变作用研究 [J]. 昆明医学院学报, 2004, 25(04): 43 – 46.
- [7] 李基文. 吸烟对健康危害的研究进展 [J]. 职业卫生与应急救援, 2005, 23(01): 29 – 32.
- [8] 尹崇高,李若葆,李洪利,等. 被动吸烟下调大鼠卵巢雌、孕激素及其受体的表达 [J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(4): 331 – 334.
- [9] 徐庆阳,彭弋峰. 吸烟对男性生殖系统的影响 [J]. 2005, 14(5): 218 – 220.
- [10] 许晖. 慢性支气管炎与年龄、吸烟的关系 [J]. 中国医药导报, 2008, 5(31): 157 – 158.
- [11] Ignatowicz E, Wozniak A, Kulza M, et al. Exposure to alcohol and tobacco smoke causes oxidative stress in rats [J]. Pharmacol Rep, 2013, 65(4): 906 – 913.
- [12] Gvinianidze K, Tsereteli D. Tobacco smoking attributable mortality and years of potential life lost in Georgia [J]. Georgian Med News, 2012, (206): 52 – 57.
- [13] Shao XM, Xu B, Liang J, et al. Nicotine delivery to rats via lung alveolar region-targeted aerosol technology produces blood pharmacokinetics resembling human smoking [J]. Nicotine Tob Res, 2013, 15(7): 1248 – 1258.
- [14] Zil-a-Rubab, Ata-Ur-Rahman M. Estimation of serum nicotine by gas chromatography in smokers, passive smokers and never smokers [J]. J Pak Med Assoc, 2012, 62(8): 790 – 793.
- [15] Kvalvik LG, Nilsen RM, Skjaerven R, et al. Self-reported smoking status and plasma cotinine concentrations among pregnant women in the Norwegian Mother and Child Cohort Study [J]. Pediatr Res, 2012, 72(1): 101 – 107.
- [16] Massadeh AM, Gharaibeh AA, Omari KW. A single-step extraction method for the determination of nicotine and cotinine in Jordanian smokers' blood and urine samples by RP-HPLC and GC-MS [J]. J Chromatogr Sci, 2009, 47(2): 170 – 177.
- [17] Church TR, Anderson KE, Le C, et al. Temporal stability of urinary and plasma biomarkers of tobacco smoke exposure among cigarette smokers [J]. Biomarkers, 2010, 15(4): 345 – 352.
- [18] Benowitz NL, Dains KM, Hall SM, et al. Smoking behavior and exposure to tobacco toxicants during 6 months of smoking progressively reduced nicotine content cigarettes [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2012, 21(5): 761 – 769.
- [19] Williams JM, Gandhi KK, Lu SE, et al. Higher nicotine levels in schizophrenia compared with controls after smoking a single cigarette [J]. Nicotine Tob Res, 2010, 12(8): 855 – 859.
- [20] Abobo CV, Ma J, Liang D. Effect of menthol on nicotine pharmacokinetics in rats after cigarette smoke inhalation [J]. Nicotine Tob Res, 2012, 14(7): 801 – 808.

[收稿日期] 2017-05-04