

II型拟除虫菊酯对雄性小鼠脑内单胺类递质含量的影响

柴晓静, 王振全*, 赵翊, 邓晓辉

(兰州大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 为了解II型拟除虫菊酯类农药对雄性小鼠内脏器官的影响及对小鼠黑质纹状体多巴胺(DA)系统的毒性作用和可能的机制, 将50只雄性昆明种小鼠随机分为5组(每组10只), 分别为溴氰菊酯(DM)1.8mg/kg组、3.6mg/kg组; 氯氰菊酯(CP)4mg/kg组、8mg/kg组及色拉油对照组; 连续1个月经口灌胃染毒后, 测定脏器系数并采用高效液相色谱(HPLC)荧光检测法分别检测雄性小鼠全脑中多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)的含量。结果显示, 染毒各组小鼠肝、脾脏器系数均高于对照组, 脑的脏器系数有所降低。脑内DA、NE、5-HT的含量都有不同程度的下降, DA在DM高剂量组与对照组之间的差异有统计学意义($P < 0.01$); NE在DM高、低剂量组及CP高剂量组与对照组的比较中差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 5-HT在各级两组之间的含量差异并无统计学意义。提示DM和CP可以影响实验雄性小鼠的内脏器官, 也可以降低脑内单胺类递质的含量。

关键词: 雄性小鼠; 脑; II型拟除虫菊酯; 单胺类递质

中图分类号: R595.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2007)02-0110-03

Effect of II-pyrethrins on monoamine neurotransmitter level in male mouse brain

CHAI Xiao-jing, WANG Zhen-quan*, ZHAO Yi, DENG Xiao-hui

(Department of Occupational and Environmental Health Science, Public Health College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: To investigate the effect of II-pyrethrins on internal organs and the toxic effect on nigra and striatum of male mouse brain and its mechanism, 50 Kunming male mice were randomly divided into 5 groups respectively: (1) deltamethrin (DM), 1.8 mg/kg group, (2) deltamethrin 3.6 mg/kg group, (3) cypermethrin (CP) 4 mg/kg group, (4) cypermethrin 8 mg/kg group, (5) normal group with salad oil; DM and CP were solved in corn oil. They were administered by oral for a month. Then determine the organ coefficient and the contents of dopamine (DA), norepinephrine (NE), 5-hydroxytryptamine (5-HT) and homovanillic acid (HVA) in brain with high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the coefficients of liver and spleen were risen compared with that of controls, while that of brain was lowered; the contents of DA, NE, 5-HT in striatum were decreased in all the four administered groups. The DA level in DM high dose group was lower than that of controls ($P < 0.01$), NE in all the DM groups and 8 mg/kg CP group were lowered compared with the controls ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, respectively). However, there was no significant difference in 5-HT level among these groups. It is suggested that only DM and CP have the effect of disturbing the internal organs and decreasing the level of monoamine neurotransmitter in male mouse brain.

Key words: Mouse; Brain; II-pyrethrins; Monoamine neurotransmitter

拟除虫菊酯类农药根据化学结构的不同可以将其分为两种类型: I型, 不含 α -氰基, 以氯菊酯为代表; II型, 含 α -氰基, 以氯氰菊酯和溴氰菊酯为代表。由于II型的广谱性和高效性, 广泛用于农林害虫和生活环境中害虫的防治, 虽然其具有高效、低毒、低残留特点, 但是人们发现它能作用于哺乳动物的神经系统, 并且表现为兴奋性神经毒作用^[1]。大量的研究已发现它能作用于神经系统的多个位点, 但是具体的作用机制到目前为止还没有被彻底阐明^[2]。本实验选用II型拟除虫菊酯类农药溴氰菊酯(DM)和氯氰菊酯(CP)为代表, 研究该类农药对雄性小鼠黑质纹状体系统中多巴胺(DA)、去

甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)及高香草酸(HVA)等单胺类神经递质及其代谢产物水平的影响, 并探讨其可能的神经毒作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 体重为(20.7±0.9)g的8周龄雄性昆明种小鼠50只, 由兰州大学实验动物中心提供。

1.1.2 试剂 溴氰菊酯(纯度98%), 氯氰菊酯(纯度93%), 均为法国罗素·优克福公司生产。多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺及高香草酸标准品均为美国Sigma公司生产, 甲醇为国产色谱醇, 高氯酸为国产分析纯试剂, 实验用水为三蒸处理的去离子水。

1.1.3 仪器 Agilent 1100系列高效液相色谱仪, Agilent C₁₈色谱(4.6mm×150mm, 5 μ m) 20R BAX, RF210AXL荧光检测器和自动进样器, 四元泵 G1311A, 在线真空脱气, Agilent

收稿日期: 2006-10-13; 修回日期: 2006-12-28

基金项目: 甘肃省自然科学基金

作者简介: 柴晓静(1979-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 工业毒理学。

*. 通讯作者, 副教授, E-mail: wangzhenq@lzu.edu.cn

chemstation 化学工作站、上海产 AB204-N 电子分析天平、TGL-16G-A 型高速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.2 动物分组及处理

将 50 只雄性昆明种小鼠随机分为 5 组 (每组 10 只), 分别为 DM1 8mg/kg 组、3 6mg/kg 组、CP 4mg/kg 组、8mg/kg 组及正常对照组。小鼠于室温为 (20±5)℃、24 h 自由光照条件下饲养, 自由饮水进食, 每日固定 9: 00 灌胃染毒, 连续染 6 d 停 1 d。染毒 30 d 以后小鼠禁食, 但自由饮水 24 h 颈椎脱臼处死。在冰盘上迅速取出雄性小鼠的全脑 (包括大脑及间脑), 用预冷的生理盐水冲洗除去血液, 称重后将脑组织块用锡箔包好, 置于液氮中保存。

1.3 脏器系数的计算

实验结束时测定雄性小鼠体重, 断头处死, 分离所需脏器, 除去器官周围的脂肪、结缔组织, 用生理盐水冲洗净脏器表面血污后滤纸吸干, 称重并计算脏器系数。

1.4 脑组织中单胺类递质及其代谢产物的含量测定

1.4.1 标准品的制备 准确称取标准品 DA1. 3mg、NE2 5mg、5-HT1. 0mg、HVA1. 2mg, 分别溶于 0. 1mol/L 的 HCl 中, 并定容于 100ml 容量瓶, 制成标准品的储备液 (DA1. 3mg/ml、NE2 5mg/ml、5-HT1. 0mg/ml、HVA1. 2mg/ml), 分装后-70℃保存, 临用时按需要用 0. 1mol/L HCl 稀释成各浓度的标准液。

1.4.2 样品的前处理 小烧杯中按脑湿重 1:10 加入 0. 4mol/L 冰冷的高氯酸后用眼科剪尽量剪碎, 倒入玻璃匀浆器中, 将匀浆器的下端插入冰水中充分研磨, 使组织匀浆化 (6~8min); 然后转入 EP 管中, 置冷冻离心机 (0℃) 14 000r/min 离心 15min; 取其上清液再次置于冷冻离心机离心 15min。然后将上清液移入 EP 管中并置于-30℃的冰箱中保存备用。

1.4.3 色谱条件 Agilent C₁₈ 色谱柱 20R BAX、G13651 紫外检测器、柱温 35℃、荧光检测器的激发波长为 254nm、发射波长 338nm。流动相 (V:V) 0. 02mol/L 柠檬酸三钠-0. 05mol/L 磷酸氢二钠:甲醇=95:5 流速 1. 0ml/min。取样品 20μl 进样, 检测各样品的 AD、NE、5-HT 和 HVA 的含量。用外标法定量, 以峰面积表示其含量。

1.5 统计学处理

所有数据用 SPSS for Window 10. 0 软件包进行方差分析。各组测定结果均以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

2 结果

2.1 行为变化

在整个观察期间, 所有实验组的雄性小鼠均出现不同程度撕咬和攻击等兴奋和刺激症状, 且 DM 组较 CP 组程度严重, 高剂量组较低剂量组严重。

2.2 脏器系数的变化 (表 1)

经方差分析, DM 两个剂量组和 CP 低剂量组小鼠脾脏的脏器系数与对照组比较明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0. 01$, $P < 0. 01$, $P < 0. 05$); CP 高剂量组小鼠肝脏的脏器系数与对照组比较也明显增加; 脑的脏器系数与对照组比较却明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0. 05$)。各染毒组小鼠的肾脏、睾丸、附睾的脏器系数与对照组间比较均无统计学意义。

表 1 各组小鼠脏器系数的变化 ($n=10$ $\bar{x} \pm s$)

组别	肝	脾	脑
对照组	4. 66±0. 47	0. 25±0. 06	1. 41±0. 06
DM1 8mg/kg 组	4. 80±0. 56	0. 43±0. 06**	1. 40±0. 11
DM3 6mg/kg 组	5. 30±0. 48	0. 43±0. 08**	1. 40±0. 11
CP4 0mg/kg 组	5. 47±0. 41	0. 36±0. 04*	1. 36±0. 06
CP8 0mg/kg 组	5. 50±0. 31*	0. 30±0. 04	1. 20±0. 14*

与对照组比较, * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 01$, 表 2 同。

2.3 II 型拟除虫菊酯对雄性小鼠脑单胺类递质含量的影响

由表 2 可见, 4 个染毒组雄性小鼠脑内 NE 含量与对照组相比均有不同程度的下降, 而 DM 两个剂量组和 CP 高剂量组的下降具有统计学意义; DA 含量与对照组相比也均有不同程度的下降, 但只有 DM 高剂量组的下降具有统计学意义 ($P < 0. 01$); 各染毒组脑内 5-HT 的含量与对照组比较无明显变化。此外, CP 低剂量与高剂量组之间 NE 含量的变化以及 DM 高剂量与低剂量组之间 DA 的变化均具有统计学意义 ($P < 0. 05$, $P < 0. 01$), 存在着剂量-效应关系。

表 2 II 型拟除虫菊酯对雄性小鼠脑单胺类递质含量的影响 ($n=10$ $\bar{x} \pm s$)

组别	NE	DA	5-HT
对照组	0. 54±0. 03	8. 07±0. 76	0. 45±0. 04
DM1 8mg/kg 组	0. 45±0. 05*	7. 66±0. 73	0. 42±0. 04
DM3 6mg/kg 组	0. 43±0. 03**	4. 86±0. 47**	0. 40±0. 04
CP4 0mg/kg 组	0. 53±0. 04	7. 66±0. 61	0. 43±0. 04
CP8 0mg/kg 组	0. 43±0. 04**	7. 61±0. 90	0. 43±0. 06

3 讨论

脏器系数的变化常可较好地反映化学毒物对该脏器的毒性综合情况, 也是寻找毒物靶器官的重要线索。农业安全性评价中, 脏器质量和脏器系数是亚慢性毒性实验中检测受试物毒作用的重要指标。在本实验的染毒剂量和染毒时间下, 可以发现溴氰菊酯和氯氰菊酯对肝、脾脏和脑具有毒性作用。

单胺类递质包括儿茶酚胺和吲哚胺两类。儿茶酚胺类主要有肾上腺素 (E)、去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA) 及其产物; 吲哚胺类主要指 5-羟色胺 (5-HT, 又称血清素)。中枢神经系统中, 多巴胺能神经元主要分布于中脑和间脑, 并广泛投影到端脑、间脑、脑干和脊髓; 5-HT 能神经元主要分布于丘脑、内侧核、下丘脑、脑干和新纹状体区、脑桥上半部和延髓的中缝核群, 投影至前脑、脊髓和脑干各核团, 当中缝核群破坏时, 5-HT 含量下降^[3]。脑组织单胺类神经递质的改变是反映颅内神经代谢的较敏感指标, 脑组织中单胺类递质含量的变化与它们的合成、释放、再摄取或降解之间有密切联系。

目前, 已有关于拟除虫菊酯引起急性中毒大鼠脑组织中单胺类递质含量改变的报道^[4,5], 如刘恭平^[6]等的研究发现, 大鼠分别给予溴氰菊酯和氯氰菊酯 10d 后, 脑内 DA 的量均有不同程度的下降, 而脑内 DOPAC、HVA、(DOPAC+HVA)/DA 均出现不同程度的升高, 说明 DA 的代谢和降解加快。

本实验观察到两种 II 型拟除虫菊酯对单胺类递质含量的影响有一些差异, 但大致相似, 表明 II 型拟除虫菊酯可影响

脑组织单胺类神经递质的含量。这种作用可能与多种机制有关：(1) 拟除虫菊酯对 Na⁺ 的直接作用^[7,8]。当纹状体内拟除虫菊酯的浓度达到一定水平时，可增加 Na⁺ 流动，从而导致 DA 释放增加。Kirby 等^[9] 的研究也证实了这一点。(2) 拟除虫菊酯影响单胺氧化酶 (MAO) 活性。脑内单胺类神经递质由 MAO 作用生成无活性的代谢产物，体外实验观察到拟除虫菊酯能抑制脑组织 MAO 活性。本实验观察到 II 型拟除虫菊酯均使雄性小鼠脑内 NE 含量减少，大脑皮层 5-HT、MAO 活性受抑制可能是原因之一。(3) 此外，II 型拟除虫菊酯对单胺类神经递质的影响与线粒体能量产生减弱、多巴胺能神经元变性与死亡、酪氨酸羟化酶作用受抑、突触前释放的调控改变等有关。

研究表明，脑组织中单胺类递质水平的变化可能是 II 型拟除虫菊酯引起雄性小鼠中枢神经系统功能改变而产生毒作用表现的物质基础之一。II 型拟除虫菊酯与多巴胺神经元结合的途径以及导致多巴胺神经元损伤的机制还需深入探讨。

参考文献:

[1] Ali S F. Neurotoxic agents; pesticides. In: Abou-Donia MB, ed. Neurotoxicology [M]. CRC Press, 1992. 460-462.
 [2] Henk P M, Vijverberg Joep, Van den Bercken. Neurotoxicologic effects

and the mode of action of pyrethroid insecticides [J]. Toxicology, 1990, 21: 105-126.
 [3] 许绍芳. 神经生物学 [M]. 第 2 版. 上海: 上海医科大学出版社, 1999: 167-200.
 [4] 王淑洁, 郑勤龙, 耿太保, 等. 溴氰菊酯对大鼠不同脑区 5-羟色胺含量的影响 [J]. 卫生研究, 1988, 17: 7-10.
 [5] Hudson P M, Tilson H A, Chen P H, et al. Neurobehavioral effects of pemetrin are associated with alterations in regional levels of biogenic amine metabolites and amino acid transmitter [J]. Neurotoxicology, 1986, 7: 143-148.
 [6] 刘恭平, 石年, 梁骏华, 等. 拟除虫菊酯对大鼠黑质纹状体系统多巴胺及其代谢产物的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2004, 22 (5): 368-370.
 [7] Casida J E, Gammon D W, Glickman A H, et al. Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides [J]. Ann Rev Pharmacol Toxicol, 1983, 23: 413-438.
 [8] Doherty J D, Moril N, Hiramoto T, et al. Pyrethroids and the striatal dopaminergic system in vivo [J]. Comp Biochem Physiol, 1988, 91c: 371-375.
 [9] Kirby M L, Castagnoli K, Bloonquist J R. In vivo effects of deltamethrin on dopamine neurochemistry and the role of augmented neurotransmitter release [J]. Pest Biochem Physiol, 1999, 65: 160-168.

辽宁省综合医院传染病防治现状调查

罗毅¹, 席荔梅², 王迎春³

(1. 沈阳市沈河区卫生监督所, 辽宁 沈阳 110011;
 2. 辽宁省卫生监督所, 辽宁 沈阳 110015; 3. 沈阳市疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110031)

为科学规范传染病防治工作, 探索长效管理机制, 我们对全省 112 所综合医疗机构进行了监督检查, 现报告如下。

1 对象与方法

在全省 14 个市范围内每市随机抽取 1 所三级医院 (14 所)、2 所二级医院 (28 所)、4 所乡镇医院 (56 所) 和 1 所个体诊所 (14 所), 共 112 所综合医疗机构。通过现场检查, 填写医疗机构检查表, 进行资料汇总分析。调查内容依据《中华人民共和国传染病防治法》、《医院感染管理规范》、《消毒管理办法》等法律法规, 包括传染病疫情管理、消毒隔离、宣传培训等相关项目。

2 结果

二级以上医院均设有预防保健科负责传染病防治工作, 56 所乡镇医院中有 40 所设专人负责、16 所设兼职人员负责传染病防治工作, 14 所个体诊所均无人负责传染病防治工作。二级以上医院及乡镇医院均建立了疫情报告制度, 个体诊所未设立疫情报告制度。设立传染病登记簿的有 90 所 (80.4%), 传染病疫情报告卡填写项目齐全的有 65 所, 其中包括 12 所三级医院、20 所二级医院, 33 所乡镇医院。

被调查医院均设立了日常消毒隔离制度。70 所医院建立了传染病消毒隔离制度, 开展消毒效果监测的有 42 所, 均为二级以上医院。57 所医院能做到每年一次培训院内相关人员, 其中三级医院 14 所、二级医院 15 所、乡镇医院 28 所。现场抽查相关知识回答正确率为 85%。

3 讨论

3.1 本次调查结果提示我省在传染病疫情报告系统中还存在薄弱环节, 集中反映在个体诊所及个别乡镇医院的管理上, 如何提高基层医院的传染病防治工作, 建立健全传染病报告制度, 建立快速、灵敏的信息反映系统是今后工作的重点。要不断加大传染病监督执法力度, 定期对医疗机构传染病防治情况进行监督检查, 尤其要加大对个体诊所及乡镇医院的监督检查力度。

3.2 112 所医院中只有 62.5% 建立了传染病消毒隔离制度, 开展消毒效果监测的仅有 42 所, 均为二级以上医院。说明我省医疗机构消毒管理工作发展不平衡, 问题主要存在于乡镇医院及个体诊所。各级医疗机构应提高对消毒管理工作的认识及医务人员的责任意识, 根据相关法律法规建立各种规章制度, 制定可行的消毒隔离措施, 同时要加强对医院消毒管理的监控力度, 保证消毒效果的可靠性。

3.3 全省二级以上医院及乡镇医院的专兼职人员均接受过卫生防疫机构的传染病知识培训, 但个体诊所医务人员从未接受过相关知识培训。医疗机构中仅有 50.9% 的医院对院内医务人员进行过传染病相关知识的培训。可见加强医务人员特别是个体诊所相关人员传染病防治知识的培训是必不可少的。建议各地卫生行政部门对各级医疗机构相关人员普及传染病防治及消毒隔离常识, 建立长效的培训计划及考核制度, 科学、有效地开展培训工作, 从根本上杜绝传染病漏报、迟报现象和医源性感染的发生。