

工业医学杂志, 2007, 20 (3): 187-188.

- [5] 李申德. 细胞培养中正常细胞恶性转化的鉴定指标 [J]. 细胞生物学杂志, 1985, 2: 95-96.
- [6] 黄幸纾, 陈若星. 环境化学物致突变致畸致癌试验方法 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985: 173-190.
- [7] 肖芸, 张忠义, 吴永会. 镍冶炼烟尘处理的 NH_3/T_3 细胞对刀豆素 A 的凝集反应 [J]. 工业卫生与职业病, 2001, 27 (1): 26-28.

- [8] Maschke S, Robert J, Coindre JM, et al. Malignant cells have increased levels of common glycoprotein ligands of the endogenous cellular soluble lectin CSL [J]. Eur J Cell Biol, 1993, 62: 163-172.
- [9] Sivridis E, Giannoulaki A, Koukourakis M, et al. Lectin binding patterns in normal hyperplastic and neoplastic endometrium: the prognostic value of concanavalin A [J]. Virchows Arch, 2000, 436: 52-58.

慢性氟中毒大鼠皮层神经元型一氧化氮合酶蛋白的改变及牛磺酸锌的保护作用

Changes of cortical neuron nitric oxide synthase protein in chronic fluorine poisoned rats and the protective effect of zinc taurocholate

王国明¹, 张秋雨¹, 李积胜², 陈俊荣¹, 朱建忠¹

WANG Guoming¹, ZHANG Qiu yu¹, LI Ji sheng², CHEN Jun rong¹, ZHU Jian zhong¹

(1. 沧州医学高等专科学校科研科, 河北 沧州 061004; 2. 武警医学院军事预防医学研究所, 天津 300162)

摘要: 取 Wistar 大鼠 30 只, 随机分为对照组、低氟组、高氟组、低氟补锌组、高氟补锌组, 每组 6 只, 分别饮用自来水 (对照组), 100 mg/L (低氟组和低氟补锌组)、200 mg/L (高氟组和高氟补锌组) 的 NaF 溶液。5 个月后, 低氟补锌组、高氟补锌组在饮用含氟水中按 0.34 g/L 的浓度加入牛磺酸锌 (TZC), 继续喂养。1 个月 后采用 ABC 免疫组化法观察大鼠大脑皮层神经元型一氧化氮合酶 (nNOS) 阳性神经元的变化。与对照组比较, 各染毒组的 nNOS 阳性神经元数目均明显减少 ($P < 0.01$), 且与染氟剂量呈量效关系 ($P < 0.01$); 与单纯染氟组相比, 补锌组 nNOS 阳性神经元数目明显增多 ($P < 0.01$)。提示慢性氟暴露可抑制大鼠皮层 nNOS 阳性神经元的表达, 牛磺酸锌对慢性染氟大鼠神经系统损害具有一定的保护作用。

关键词: 氟; 皮层; 神经元型一氧化氮合酶; 牛磺酸锌

中图分类号: O613.41 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2008)04-0253-02

目前, 比较认同的氟中毒的机制之一是脂质过氧化对神经系统的作用^[1]。已有研究表明, 锌具有抗脂质过氧化的作用^[2,3]。为了有效预防和治疗氟中毒, 观察了锌制剂对氟中毒的拮抗作用, 以为体内抗氟剂的选择和应用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 动物分组

选用 6 周龄的 Wistar 大鼠, 体重 (25±3) g 由天津市实验动物中心提供。共 30 只, 随机分为对照组、低氟组、高氟组、低氟补锌组、高氟补锌组, 每组 6 只, 分别饮用自来水 (对照组), 100 mg/L (低氟组和低氟补锌组)、200 mg/L

(高氟组和高氟补锌组) 的 NaF 溶液, 各组均普通大鼠饲料 (天津市军粮城动物饲料加工厂) 喂养。5 个月后, 低氟补锌组交替饮用 100 mg/L 的 NaF 溶液和 TZC 溶液, 高氟补锌组交替饮用 200 mg/L 的 NaF 溶液和 TZC 溶液, 其他组不变, 继续饲养 1 个月, 饲养期为 6 个月。

1.2 试剂

NaF (天津市化学试剂三厂产品, 分析纯) 用三蒸水配成 100 mg/ml 和 200 mg/ml 的 NaF 溶液。

1.3 实验方法

1.3.1 组织的制备 将染氟 6 个月后的 Wistar 大鼠经腹腔麻醉, 剪开胸腔, 暴露心脏, 由心尖部进针至左心室并剪开右心耳形成灌注通道, 同时快速灌注生理盐水 100~150 ml 随后灌入 4℃ 的 4% 多聚甲醛 500 ml, 于 30~40 min 完成, 至大鼠躯干、四肢僵直, 肝脏变硬。迅速断头取脑置于 4℃ 的 4% 多聚甲醛溶液中固定 6~9 h 后移入 20% 蔗糖溶液脱水, 12 h 后沿矢状面切开脑组织, 并于冰冻切片机内做连续冠状冰冻切片, 片厚约 50 μm。0.01 mol/L 的 PBS 接片后进行 ABC 免疫组化染色。

1.3.2 免疫组化染色 切片移入 37℃ Triton-H₂O₂ 反应 30 min, PBS 缓冲液漂洗后以 3% 正常羊血清封闭 30 min, 加入 nNOS 抗体 (1:1 000 Vector 公司), 4℃ 孵育 72 h, 漂洗后加二抗孵育 60 min, ABC 液 (1:100 Vector 公司) 孵育 60 min, 漂洗后以 0.05% DAB~0.01% H₂O₂ 显色, 镜下控制反应强度, 裱片、脱水、透明、封片。

1.3.3 结果观察及统计处理 各选取免疫组化染色对应断面、结构完整并且染色效果好的皮层脑片 12 张, 镜下肉眼观察并计数染色 nNOS 阳性神经元。结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计学方法采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 及两两比较 t 检验, SPSS11.0 统计软件处理数据。

2 结果

收稿日期: 2007-12-28 修回日期: 2008-02-20

作者简介: 王国明 (1981-) 男, 助理讲师, 研究方向: 药理学。

与对照组比较, 各染毒组的 nNOS阳性神经元数均明显减少 ($P < 0.01$), 且与染氟剂量呈量效关系 ($P < 0.01$); 与单纯染氟组相比, 补锌组 nNOS阳性神经元数目明显增多 ($P < 0.01$); 与低氟补锌组相比, 高氟补锌组的 nNOS阳性神经元数减少, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1

表 1 各组大鼠大脑皮层 nNOS阳性神经元数 ($\bar{x} \pm s$) 个

组别	n	神经元数
对照组	6	87.92 ± 5.55
低氟组	6	69.50 ± 4.68*
高氟组	6	64.17 ± 4.13*△
低氟补锌组	6	75.00 ± 4.16*△
高氟补锌组	6	74.58 ± 4.83*△

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与低氟组比较, △ $P < 0.01$

3 讨论

许多实验性研究证实, 摄入过量氟可致动物大脑直接损伤, 包括神经细胞和神经纤维的退行性变或细胞凋亡^[4], 显著影响动物的学习记忆。脑内一氧化氮 (NO) 能引起细胞内 cGMP升高, 起到神经递质样作用而介导神经兴奋性传导, 而且对小脑、海马等神经元突触和神经网络的构建产生重要影响。NO是在 NOS的作用下以 L-精氨酸 (L-Arg) 为底物, 在 NADPH、FMN、FAD及 BH4等因子辅助下催化合成, 性质活泼, 半衰期极短, 在体内仅维持数秒钟; 脑内 NO的表达与 NOS的水平密切相关, 对 NOS蛋白表达变化的研究是对 NO进行深入探讨的重要环节。NOS有 3 种类型, 分别为神经型一氧化氮合酶 (nNOS)、内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)。本实验采用免疫组化方法观察 nNOS蛋白的表达, 结果发现与对照组相比, 低氟组和高氟组 nNOS阳性神经元数目明显减少, 且随着染氟剂量的增加

nNOS阳性神经元数明显减少。提示慢性氟中毒可以抑制大鼠皮层 nNOS阳性神经元的表达, 推测氟可能是通过脂质过氧化作用破坏了 NMDA受体, 使 Ca^{2+} 内流减少, 而影响 NOS活性, 并同时破坏了 M受体功能, 影响乙酰胆碱神经元与 NOS阳性神经元的联合作用, 影响 NOS活性的表达。

锌可使肠道及体内结合态氟增加而游离态氟减少, 从而减少氟的吸收^[5]; 同时作为金属酶的组成成分, 锌还能与细胞膜上类脂质中的磷酸根和蛋白质中的巯基结合, 保护细胞膜的完整性, 从而阻止脂质过氧化及巯基氧化^[2]; 超氧化物歧化酶 (SOD) 是机体重要的抗氧化酶, 而锌对 SOD的结构也具有稳定作用, 从而减少由于氟中毒造成的脂质过氧化的损害。牛磺酸是哺乳动物神经系统一种重要的游离氨基酸, 对神经系统具有营养作用, 可以防止脂质过氧化状态而实现对神经的保护作用。基于上述原因, 故考虑用牛磺酸和锌的联合应用来达到防治氟对神经系统毒性损伤目的。本实验结果提示, 牛磺酸锌对氟致神经系统的毒性损伤有保护作用。

参考文献:

- [1] 官志中, 杨沛施. 氟中毒大鼠血清和红细胞中脂质过氧化物水平及抗氧化物含量变化 [J]. 中国地方病学杂志, 1990, 9(1): 4-6
- [2] 付可为, 刘晓雁, 汤端琦, 等. 氟对鸡胚软骨细胞毒性作用及拮抗作用的研究 [J]. 中国地方病防治杂志, 1994, 9(6): 324-325.
- [3] 姜惠敏, 韩国安. 锌和硒对镉诱导的大鼠体内脂质过氧化的拮抗作用研究 [J]. 山东医科大学学报, 1994, 32(2): 127-129
- [4] 孙增荣, 刘凤贞, 杨海贤, 等. 饮高氟水小鼠海马回组织超微结构观察 [J]. 中国地方病学杂志, 2000, 19(5): 333-334
- [5] 白雪涛, 包克光. 锌锰钼对大鼠小肠吸收的影响 [J]. 中国地方病学杂志, 1996, 15(4): 205-207

溴虫腈亚慢性毒性研究

Study on subchronic toxicity of chlorfenapyr in rats

李厚勇¹, 颜冬英², 徐明¹, 陶玉珍¹, 王蕊¹

LI Hou Yong¹, YAN Dong Ying², XU Ming¹, TAO Yu zhen¹, WANG Rui¹

(1. 山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 2. 潍坊医学院, 山东 潍坊 261053)

摘要: 按照 GB15670-1995《农药登记毒理学试验方法》, 以 25、50、125 mg/kg剂量的溴虫腈染毒大鼠, 以观察其亚慢性毒性。结果 125 mg/kg剂量组动物出现明显中毒症状, 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 及白细胞总数 (WBC) 升高, 肝脏脏器系数增大, 肝脏病理组织学检查可见明显的组织形态学改变。提示溴虫腈可引起大鼠肝脏损伤, 大鼠经口亚慢性最大无作用剂量为 25 mg/(kg·d)。

关键词: 溴虫腈; 亚慢性毒性; 肝脏毒性

中图分类号: R595.4 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2008)04-0254-03

溴虫腈, 化学名 4-溴基-2-(对氯苯基)-1-乙氧甲基-5-(三氟甲基)吡咯-3-腈, 是一种新型高效杂环类杀虫杀螨剂, 20世纪 80年代后期由美国氰胺公司开发。其杀虫机制是阻断线粒体的氧化磷酸化作用^[1]。由于该药具有活性强、药效好、持效期长、杀虫范围广等优点, 已在 30多个国家登记上市, 并大量推广使用^[2]。有关溴虫腈毒理学研究报道甚少。为探讨其潜在的危害, 保护环境和人类健康, 本实验室受某农药生产企业委托, 对其进行了亚慢性毒性研究。

1 材料与方法

1.1 材料

溴虫腈原药, 由国内某化工有限公司提供, 纯度 98%。

收稿日期: 2008-03-03

作者简介: 李厚勇 (1957-), 男, 研究员, 主要从事卫生毒理工作。