提高MV免疫覆盖率,加强对易感人群的查漏补种或开展MV强化免疫。

参考文献

〔1〕 卫生部办公厅. 全国麻疹监测方案(试行)[S]. 1998.
〔2〕 章金阳. 舟山市人群麻疹抗体水平检测[J]. 浙江预防医学, 2006, 18(3): 17.
〔3〕 吴红宇, 黎大林, 张志坚, 等. 深圳市盐田区法定传染病情分析[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(5): 593.

收稿日期: 2008-11-12 (蔡天德编辑 孔繁学校对)

文章编号: 1001-0580(2009)07-0878-02 中图分类号: R995 文献标志码: A 【实验研究】

砷对大鼠脑细胞能量代谢及超微结构损伤作用*

朱筑霞, 吴泽江, 刘鲜林, 吴应宽, 周孝婷

摘 要: 目的 观察砷对大鼠脑细胞能量代谢和超微结构影响, 探讨砷的中枢毒性作用和机制。方法 SD成年大鼠, 随机分为对照、低砷、中砷、高砷组和繁殖仔代组, 染砷组自由饮三氧化二砷(AS_2O_3)水。6和16周后, 测定成鼠和仔鼠脑细胞线粒体三磷酸腺苷(ATP)合成量并观察脑细胞超微结构变化。结果 成鼠砷暴露6和16周后, 脑细胞线粒体ATP合成量〔低砷6周(222.90±3.85) nmol/(mg·pr); 16周(166.12±4.40) nmol/mg·pr〕比对照组〔(238.57±1.31) nmol/(mg·pr)〕明显减少, 并与暴露剂量和暴露时间呈正相关; 高砷繁殖组孕产的仔鼠出生后继续高砷喂养16周, ATP合成量〔(28.66±2.32) nmol/(mg·pr)〕比成鼠16周高砷组〔(54.25±4.92) nmol/(mg·pr)〕降低更明显。电镜观察染砷6周组脑细胞粗面内质网扩张, 线粒体肿胀数目减少; 16周中、高砷组还出现核肿胀和细胞器减少; 16周仔代组核内结构疏松, 线粒体等细胞器数目明显减少, 胞质部分区域有空泡现象。结论 慢性砷暴露对大鼠脑细胞超微结构和能量代谢功能有明显损伤作用, 仔鼠损伤程度比成鼠更严重。

关键词: 砷; 脑细胞; 三磷酸腺苷; 超微结构

Effects of arsenic on brain cellular energy metabolism and ultrastructure in rats ZHU Zhu-xia, WU Ze-jiang, LIU Xian-lin et al. Department of Physiology, Guiyang Medical College (Guiyang 550004, China)

Abstract Objective To investigate the toxic effects of arsenic on brain cellular energy metabolism and ultrastructure in rats. **Methods** Healthy adult SD rats were randomly divided into five groups (control, low-, moderate- and high-dose arsenic and offspring-producing groups) and the rats in experimental groups were exposed to drinking water containing AS_2O_3. After 6 and 16 weeks, ATP contents of brain cellular mitochondria were determined in all groups and cellular ultrastructure changes were observed. **Results** After arsenic exposure, ATP contents (222.90±3.85 nmol/mg·pr for 6 weeks low arsenic exposure; 166.12±4.40 for 16 weeks low arsenic exposure) in brain cellular mitochondria decreased compared to that of the control group (238.57±1.31 nmol/mg·pr) and positively correlated with the exposure dose and time. The contents of ATP in the offspring group (28.66±2.32 nmol/mg·pr) was much lower than that of adult rats (54.25±4.92 nmol/mg·pr) after exposed to high concentration of arsenic for 16 weeks. The ultrastructures of brain cells showed enlarged rough endoplasmic reticulum and swellen mitochondria. In moderate and high arsenic groups, nuclear swelling and decreased number of organelles were found after exposed to arsenic for 16 weeks. In the offspring-producing group, the intranuclear structures became loose and the number of mitochondria organelles decreased obviously, with porous cytoplasm. **Conclusion** Arsenicalism causes evident damage of cellular energy metabolism and ultrastructure in rat brain. And the fetus rats are severely affected than the adults rats.

Key words: arsenic; brain cell; adenosine triphosphate; ultrastructure

近年来, 地方性砷中毒对机体毒性作用研究正日益深入。研究已确认, 砷能引起皮肤、肝、肾、免疫系统、外周神经系统等的损伤[1-3], 但砷对脑神经中枢的毒性作用和机制尚不十分清楚。虽有报道, 砷可引起一定程度的智力低下和记忆减退[4-5], 但砷的中枢毒性作用仍需进一步明确, 尤其对仔代的影响更应重视。因此, 本研究以慢性砷中毒成年大鼠及其仔鼠为研究对象, 以脑细胞能量代谢和超微结构为观察指标, 探讨慢性砷暴露对中枢神经系统的毒性作用和可能机制, 为砷中毒的研究和预防提供科学依据。

* 基金项目: 贵州省科技厅科技攻关项目(1123)
作者单位: 贵阳医学院基础医学院生理教研室, 贵州 贵阳 550004
作者简介: 朱筑霞(1957-), 女, 山东人, 副教授, 大学, 主要从事生理学教学和砷对机体毒性作用和分子机制研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物分组及染砷 100~120 g健康清洁级SD大鼠, 雄雌各半, 共100只〔贵阳医学院省实验动物中心, 批号: SCXK(黔)2002-0001〕。大鼠随机分为对照、低砷、中砷、高砷和繁殖仔代组, 每组20只; 染砷组自由饮用蒸馏水配制的As_2O_3水溶液; 低、中、高砷组As_2O_3浓度分别为3, 15, 75 mg/L[6]; 对照组饮蒸馏水。染砷剂量根据受试物半数致死量(LD_{50})确定[7]。分别染砷6和16周。繁殖仔代组10只正常配对产仔为对照, 10只高砷暴露配对产仔, 仔鼠继续高砷喂养16周。

1.1.2 主要试剂 三氧化二砷(As_2O_3), 分析纯(北京化工厂); 二磷酸腺苷(ADP)和己糖激酶(美国Sigma公司);

K_2HPO_4、乙二胺四乙酸二钠盐 (EDTA)、Tris-HCl、KH_2PO_4、蔗糖、葡萄糖、苹果酸和琥珀酸等 (上海生工公司, 进口分装)。

1.1.3 主要仪器　透射电镜 (日立 H-7600); 高速低温冷冻离心机 (美国 Sigma公司)、岛津 UV-17000E、紫外可见分光光度计 (日本岛津公司)、电动玻璃匀浆器 (吉林贝尔公司)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠处理　成年鼠染砷 6和 16周, 高砷孕产的仔鼠出生后持续高砷喂养 16周, 断头处死, 分离左大脑半球, 电子天平称重 0.75 g 于脑组织匀浆缓冲液中剪碎, 玻璃匀浆管中研磨和电动玻璃匀浆器匀浆 (1 200 r/min)。

1.2.2 脑细胞线粒体制备　差速离心法提取脑细胞线粒体[8]; 考马斯亮蓝法[9]定量线粒体蛋白。

1.2.3 脑细胞线粒体三磷酸腺苷 (ATP)合成量测定　制备磷标准曲线, 参照文献〔8〕方法。分光光度法在 660 nm 波长下测出各管液中吸光度 (*A*)值, 从磷标准曲线中查出相应磷酸 (Pi)的含量。对照管与空白管 Pi含量的差值即为 ATP产生量。结果用 ATP nmol/(mg pro) × min表示。

1.2.4 透射电镜制备　取 6、16周成年染砷鼠和高砷孕产的仔鼠高砷喂养 16周后, 断头取大脑皮层组织, 2.5% 戊二醛固定, 常规电镜技术制片, 透射电镜观察。

1.3 统计分析　采用 SPSS统计软件进行 *t*检验。

2 结　果

2.1 不同剂量染砷成鼠 6、16周后脑细胞线粒体 ATP合成量 (表 1)　表 1可见, 成年鼠染砷 6和 16周后, 脑细胞线粒体 ATP合成量与对照组比较明显降低, 并随染砷剂量和时间的增加降低更明显, 即有剂量-效应和时间-效应关系; 其中 6周低砷组与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 中、高砷组 6和 16周与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 仔鼠高砷暴露 16周脑细胞线粒体 ATP合成量 (表 1)　高砷孕产的仔鼠继续高砷暴露 16周后, 脑细胞线粒体 ATP合成量与仔代对照组比较明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与成年高砷 16周组比较降低更为明显, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 1　不同染砷时间和剂量大鼠脑细胞线粒体 ATP合成量测定 [nmol/(mg pr) × min, $\bar{x} \pm s$, $n = 10$]

组　别	6周	16周
成年对照组	238.57±1.31	241.33±3.77
低砷组	222.90±3.85[a]	166.12±4.40[c]
中砷组	184.43±2.36[b]	98.55±2.87[c]
高砷组	139.29±3.19[b]	54.25±4.92[c]
子代对照组		239.11±2.12
高砷组		28.66±2.32[de]

注: 与 6周对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$; 与 16周成年对照组比较, c $P < 0.01$; 与 16周成年高砷组比较, d $P < 0.05$; 与 16周子代对照组比较, e $P < 0.01$。

2.3 透射电镜观察大脑皮层神经细胞超微结构改变　对照组大脑皮层神经细胞胞膜界线清晰, 胞核大圆, 核染色质均匀, 胞质内质网、线粒体形态规则, 分布均匀。6周低砷组可见皮层神经细胞胞浆增多, 线粒体肿胀、粗面内质网扩张; 6周中、高砷组可见胞核染色质边集, 胞质内细胞器减少, 线粒体肿胀、数目减少; 16周低砷组可见异染色质明显减少, 线粒体肿胀, 粗面内质网扩张; 16周中、高砷组皮层神经细胞胞浆肿胀, 异染色质明显减少, 线粒体明显肿胀, 细胞器减少; 16周高砷子代组皮层神经细胞核肿胀, 异染色质明显减少, 核内结构疏松, 胞浆线粒体等细胞器明显减少, 部分区域细胞器丢失, 出现空泡征象。

3 讨　论

本研究发现, 成年鼠长期水砷暴露, 脑细胞线粒体 ATP合成量比对照组明显减少, 脑细胞超微结构也发生显著损伤改变。表明砷能通过成鼠血脑屏障进入脑组织, 造成脑细胞能量代谢功能和超微结构严重受损, 并且损伤具有剂量-效应和时间-效应关系。高砷环境孕产的仔鼠, 脑细胞能量代谢功能和超微结构受损情况比成年高砷鼠表现得更严重, 这提示砷能通过胎盘进入胎鼠血液中[10], 并且更易通过胎、幼鼠血脑屏障进入脑组织, 对脑细胞产生直接的毒性损伤作用, 胎幼鼠脑组织比成鼠对砷的毒性更为敏感。

脑组织是能量代谢较高的组织器官, 正常情况下脑细胞线粒体经三羧酸循环产生 ATP, 为脑神经细胞的生物电及代谢活动提供丰富的能源, 维持脑细胞的正常形态和生理功能[11], 当砷进入脑组织后, 可能与脑细胞线粒体上含巯基的酶结合[12], 致使这些酶活性受到抑制, 线粒体氧化磷酸化过程发生障碍, ATP产生量将会不足, 脑细胞能量代谢发生紊乱, 最终导致脑神经细胞线粒体和一些细胞器的形态以及脑细胞的多种功能受到严重损害。因此, 推测砷对脑细胞能量代谢功能的损伤可能是砷的中枢毒性作用重要途径之一。

参考文献

〔1〕 Santra A, Maiti A, Das S, et al. Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals[J]. J Toxicol Clin Toxicol, 2000, 38: 395-405.
〔2〕 朱筑霞, 费樱, 张爱华, 等. 燃煤型慢性砷中毒患者免疫功能改变的观察[J]. 中国地方病学杂志, 2004, 23(1): 13-15.
〔3〕 洪峰, 张爱华, 金泰廙, 等. 燃煤砷污染地区砷中毒患者的肾功能损害[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(6): 580-583.
〔4〕 李军, 王三祥, 王正辉, 等. 砷中毒病区儿童智力水平调查[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(7): 856-857.
〔5〕 孙贵范, 席淑华, , 孙文娟, 等. 砷对仔代大鼠神经行为和学习记忆功能影响[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(5): 559-560.
〔6〕 张晨, 马龙, 等. 染砷母鼠子代砷和脑砷含量[J]. 中华预防医学杂志, 1993, 27: 59-61.
〔7〕 顾学箕. 中国医学百科全书[M]/毒理学. 上海: 上海科学技术出版社, 1982: 85-92.
〔8〕 汪谦. 现代医学实验方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 338-344.
〔9〕 张龙翔. 生化实验方法和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 138.
〔10〕 Waalkes MP, Ward JM, Liu J, et al. Transplacental carcinogenicity of inorganic arsenic in the drinking water: induction of hepatic, ovarian, pulmonary, and adrenal tumors in mice[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2003, 186(1): 7-10.
〔11〕 Jerome YY, Robert MB, Robert CV. Cerebral energy metabolism during hypoxic-ischemia and early recovery in immature rats[J]. Am J Physiol, 1992, 262: 672-677.
〔12〕 李昕, 皮静波, 孙洋, 等. 长期染砷致家兔肝脏蛋白巯基水平及巯基代谢相关酶活力下降[J]. 中国地方病学杂志, 2004, 23(1): 10-12.

收稿日期: 2008-12-22　　(宋艳萍编辑　孔繁学校对)