

脉络丛对镉的屏阻作用及其机理探讨

马明月, 徐兆发, 李北利, 李 晶, 郑 霄

(中国医科大学公共卫生学院环境卫生教研室, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 研究急性染镉后镉在中枢神经系统中的分布和 GSH、巯基含量的变化。方法 分别给兔静脉注射不同剂量 CdCl₂ 溶液, 于 4 小时和 24 小时后处死动物, 采集脑脊液、血液、侧脑室脉络丛、大脑皮质, 测定其中镉含量及巯基和 GSH 的含量。结果 注镉后脉络丛中的镉含量明显高于脑脊液、脑皮质和血液; 低剂量染镉组 4 小时 GSH 的变化不明显, 24 小时降低, 高剂量染镉组随时间延长 GSH 明显降低; 总巯基 24 小时低剂量染镉组显著增高, 高剂量组明显降低。结论 侧脑室脉络丛对镉有屏阻作用, 有助于保持脑脊液稳态, 使脑免受来自血液的镉的损伤。

关键词: 镉; 脉络丛; 中枢神经系统; 还原型谷胱甘肽; 巯基

中图分类号: O614. 242 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)-0077-03

Effects of choroid plexus on sequestering cadmium and its mechanism

MA Ming-yue, XU Zhao-fa, LI Bei-li, LI Jing, ZHENG Xiao

(Department of Environmental Health, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract; Objective To study the distribution of cadmium and changes in contents of glutathione (GSH) and sulphydryl group in central nervous system of the rabbits exposed to cadmium. **Methods** Rabbits were given intravenously with cadmium chloride solutions of various concentrations. Cerebrospinal fluid (CSF), blood, choroid plexus and cerebral cortex were collected from the killed animals four hours and 24 hours after their exposure respectively, and their contents of cadmium, sulphydryl group and GSH were determined. **Results** Cadmium content in choroid plexus was higher than that in CSF, cerebral cortex and blood. In the low-level exposed group, GSH content did not change significantly four hours after exposure, but reduced 24 hours after exposure. In the high-level exposed group, GSH decreased significantly with length of exposure. Total sulphydryl group content increased significantly 24 hours after exposure in the low-level exposed group and decreased significantly in the high-level exposed group. **Conclusions** Choroid plexus in the lateral ventricle can sequester cadmium, maintain homeostasis of CSF and protect brain from injury caused by cadmium.

Key words: Cadmium; Choroid plexus; Central nervous system; Glutathione; Sulphydryl group

镉是对人体有毒的重金属, 进入机体后可作用于全身各器官和系统, 但其中枢神经系统毒性并不明显, 提示脑对重金属的神经毒性也有一定的抵御作用, 但其具体机制还不完全清楚。脉络丛位于侧脑室及三、四脑室, 由富于血管的软膜与室管膜上皮组成, 可分泌产生脑脊液, 并对脑脊液的 pH 值、各种离子浓度等有主动调节作用, 形成“血-脑脊液屏障”。国外有人报道侧脑室脉络丛可浓缩某些重金属, 并且可作为一些有毒重金属的贮存场所^[1,2]; 也有资料表明脉络丛是某些重金属的靶器官^[3]。本研究的目的是观察侧脑室脉络丛是否对镉有屏阻作用并对其机理进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 试剂

(1) 氯化镉 (CdCl₂ · 2.5H₂O): 优级纯, 上海试剂二厂出品。(2) DTNB [5, 5'-二硫双-(2-硝基苯甲酸)]: Fluka Chemie AGCH-9471 Buchs, Switzerland 出品。(3) 还原型谷胱甘肽 (GSH): 上海政翔医用科技实业服务部化学试剂研究所出品。

1.2 动物分组与染毒

实验用白兔 20 只, 体质量 (1.5 ± 0.5) kg, 年龄 60 天, 雌雄各半, 均来自中国医科大学动物中心。动物室温度 23 ~ 30 °C, 相对湿度 45% ~ 65%, 饲料由动物中心提供, 实验前观察 3 天, 随机分为 2 个实验组和 1 个对照组; 实验组每组 8 只, 对照组 4 只。各组染镉剂量如下: 高剂量组经耳缘静脉注射氯化镉 2mg/kg; 低剂量组经耳缘静脉注射氯化镉 1mg/kg; 对照组经耳缘静脉注射等容积的生理盐水。各组动物静脉注射容量均为 2ml/kg。

收稿日期: 2000-10-20; 修回日期: 2000-11-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39770642)

作者简介: 马明月 (1970-), 女, 沈阳人, 硕士, 讲师, 研究方向: 化学物生殖内分泌毒理及重金属毒理。

1.3 样品收集

分别于染毒4小时和24小时后,经动物腹腔注射戊巴比妥钠60mg/kg麻醉。先从枕骨大孔处抽取脑脊液0.5ml,然后解剖动物,经腹主动脉采血5.0ml,然后放血处死动物,剖开颅骨,仔细剥离取出侧脑室脉络丛和大脑皮质样品。

1.4 指标测定

1.4.1 镉的测定 样品用浓硝酸、30%过氧化氢湿式消化后,用石墨原子吸收分光光度计测定各样品消化液中的镉浓度。

1.4.2 组织匀浆制备 准确称取组织0.5克,加入4.5ml预冷的0.02mol/L的EDTA-Na₂,准确称量脉络丛组织,加入EDTA-Na₂至2ml;用组织粉碎机

10 000转/分制备匀浆,10秒/次,间歇20秒,连续5次,在冰水中进行,研磨成10%的匀浆。

1.4.3 GSH及巯基测定 血液、组织GSH测定用DTNB法^[4,5],巯基测定用Ellman's法^[6]。

1.4.4 组织中蛋白含量测定 组织匀浆加等量的3mol/L NaOH溶液消化过夜,然后用lowry法^[7]测定,以牛血清蛋白为标准。

1.5 统计分析 用SPSS 8.0 FOR WINDOWS软件单因素方差分析方法(ANOVA)进行显著性检验,组间比较用Q检验(Student-Keals法)。

2 结果

2.1 染镉后4、24小时各组织的镉含量

表1 染镉后各组织内镉的浓度($\bar{x} \pm s$)

组别	对照组	低剂量4h组	低剂量24h组	高剂量4h组	高剂量24h组
血液 (ng/ml)	45.30±5.48	64.05±8.74	60.60±1.61	99.90±14.33*	90.00±14.36*
脑皮质 (ng/g)	8.25±0.97	18.88±1.72	22.75±4.05	22.50±3.92	38.25±10.19*
脑脊液 (ng/ml)	0.72±0.18	0.64±0.13	0.43±0.06	0.52±0.06	0.73±0.16
脉络丛 ($\mu\text{g/g}$)	1.05±0.25	2.80±0.28*	2.99±0.33*	4.70±1.09* Δ	4.44±0.29* Δ

*与对照组相比 $P < 0.05$; Δ 与低剂量相同时间组相比 $P < 0.05$ 。

表1结果表明,静脉注射镉后4、24小时,兔侧脑室脉络丛中的镉含量明显高于其他组织且随剂量增加而升高,与对照组及低剂量相同时间组比较差异均有显著性,其中低剂量4、24小时组脉络丛的镉含量分别为对照组的2.8、2.9倍;高剂量4、24小时组分别为对照组的4.7、4.4倍;且高剂量组与低剂量相同时间组比较差异亦有显著性;均明显高于血液、脑皮质和脑脊液,其中脑脊液中镉含量最低。而脑皮质和脑脊液中的镉含量变化不显著。血液中镉含量有

升高趋势,对照组与低剂量组比较差异无显著性,与高剂量组比较差异显著。

2.2 染镉后4、24小时各组织的GSH、巯基的变化

2.2.1 染镉后4、24小时各组织的GSH的变化

表2结果表明,静脉注射低剂量氯化镉后4小时,兔脉络丛中的GSH的含量变化不明显,而24小时脉络丛GSH显著降低($P < 0.05$);高剂量组与低剂量相同时间组比较差异亦有显著性($P < 0.05$);在这两个时段,脑皮质中GSH的含量变化不明显。

表2 兔各组织中GSH浓度($\mu\text{mol/g}$ 蛋白)($\bar{x} \pm s$)

组别	对照组	低剂量组		高剂量组	
		4小时	24小时	4小时	24小时
脉络丛	0.61±0.12	0.70±0.16	0.21±0.08*	0.13±0.04* Δ	0.04±0.01* Δ
脑皮质	31.22±7.94	21.95±8.74	19.98±1.98	32.43±1.65	16.86±3.17

*与对照组相比 $P < 0.05$; Δ 与低剂量相同时间组相比 $P < 0.05$ 。

2.2.2 染镉后4、24小时各组织总巯基(TSH)

的变化 表3结果表明,静脉注射氯化镉后4小时,

表3 兔各组织中TSH浓度($\mu\text{mol/g}$ 蛋白)($\bar{x} \pm s$)

组别	对照组	低剂量		高剂量	
		4小时	24小时	4小时	24小时
血液	594.57±82.02	435.49±9.86	908.56±48.80* Δ	490.89±92.39	241.14±44.5* Δ #
脉络丛	60.23±7.39	52.37±4.22	83.45±6.61* Δ	61.79±7.49	35.38±2.89* Δ #
脑皮质	674.30±44.26	628.48±28.16	1115.01±167.20* Δ	467.94±52.91	678.85±64.42#

*与对照组相比 $P < 0.05$; Δ 与低剂量相同时间组相比 $P < 0.05$; #表示与4小时相比 $P < 0.05$ 。

二个剂量组兔血液、脑、脉络丛的 TSH 的含量变化的不大。24 小时低剂量组血液、脑皮质、脉络丛中 TSH 与对照组相比显著增高 ($P < 0.05$); 高剂量组 (24 小时) 血液和脉络丛中 TSH 的浓度与对照组和低剂量相同时间组相比均显著降低 ($P < 0.05$), 脑皮

质中 TSH 浓度高剂量组 24 小时高于 4 小时 ($P < 0.05$)。

2. 2. 3 染镉后 4、24 小时各组织的非蛋白巯基 (NP-SH) 的变化 从表 4 可以看出血液中 NP-SH 含量二个剂量组 4 小时变化不大; 24 小时低剂量组

表 4 兔各组织中 NP-SH 浓度 ($\mu\text{mol/g}$ 蛋白) ($\bar{x} \pm s$)

组别	对照组	低剂量组		高剂量组	
		4 小时	24 小时	4 小时	24 小时
血液	130.89 ± 12.64	72.24 ± 8.63	192.37 ± 37.42 *	101.29 ± 7.39	65.95 ± 1.05 * [△]
脑皮质	60.98 ± 9.94	97.47 ± 12.94 *	110.52 ± 10.46 *	89.02 ± 7.30 *	62.90 ± 5.32 [△]

* 与对照组相比 $P < 0.05$; [△] 与低剂量相同时间组相比 $P < 0.05$ 。

显著增高, 高剂量组显著降低, 与对照组比较差异均有显著性 ($P < 0.05$), 且 24 小时高剂量组与低剂量组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。脑皮质中 NP-SH 含量对照组与低剂量组两个时段比较差异均显著 ($P < 0.05$), 与高剂量 4 小时组比较差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

侧脑室脉络丛通过主动转运从血液中吸取营养成分, 产生和调节脑脊液的成分和数量, 其上皮细胞排列十分紧密, 可阻止小的水溶性的物质从脉络丛向脑脊液扩散, 构成了血-脑脊液屏障, 它除能阻止某些物质进入脑脊液和脑外^[8], 还能主动地调节脑脊液的成分, 从脑中排除有害的代谢产物和外来化合物, 如碘化物、前列腺素^[9]、水杨酸盐和先锋霉素^[10]等。对脑来说, 脉络丛的功能类似机体的“肾脏”。

实验结果表明脉络丛能富集镉, 对镉从血液进入脑脊液有屏障作用。就镉而言, 尽管血镉保持很高水平, 但在脑脊液中镉的含量极低, 与对照组比较相差无几, 而在脉络丛中的镉含量却远远高于血液, 与对砷的屏障作用结果相似^[11]。

与简单的屏障不同, 脉络丛可保存重金属, 因此一定存在特殊的配位体。组织中的巯基是重金属非特异性结合配位体^[12], 但由本实验显示, 脉络丛中总巯基的含量远低于脑, 当低剂量镉进入机体 24 小时后, 脉络丛中总巯基的含量有所升高, 而高剂量镉进入机体 24 小时后, 脉络丛中总巯基的含量则见降低, 揭示低剂量镉可能诱导巯基合成增加而高剂量镉能使巯基耗竭。还原型谷胱甘肽 (GSH) 是细胞内镉毒性的初级防御物质^[13], 脉络丛的 GSH 含量也明显低于

脑。以前关于脉络丛的 GSH 含量报道很少^[14], 本实验显示低剂量镉进入机体 4 小时后, 脉络丛的 GSH 含量变化不大, 而 24 小时后及高剂量镉均可使脉络丛的 GSH 含量降低, 脑中 GSH 含量则不受影响, 提示脉络丛的 GSH 也是其屏障重金属镉的机制之一, 这与 Anderson 等报道^[13]相符。此外, 金属硫蛋白 (MT) 也是一种能于 Zn、Cu、Cd 等重金属结合的蛋白, 在保持重金属稳态方面起重要作用, 但有报道表明在脉络丛和脑中均未检测到 Cd-MT^[14]。本研究结果为阐明中枢神经系统对外来化学物质的防护作用提供了新的资料; 然而脉络丛防护重金属的细致机制仍需要进一步探讨。

参考文献:

- [1] Friedheim E, Corvi C, Graziano J, et al. Choroid plexus as protective sink for heavy metals [J]. *Lancet* I, 1983, 981-982.
- [2] Manton W I, Kirkpatrick JB, Cook JD. Does the choroid plexus really protect the brain from lead [J]. *Lancet* II, 1984, 351.
- [3] Valois AA, Webster WS. The choroid plexus as a target site for cadmium toxicity following chronic exposure in the adult mouse; an ultrastructural study [J]. *Toxicology*, 1989, 55: 193-205.
- [4] 杜传书, 庄佳骝. 改良红细胞还原型谷胱甘肽二硫双硝基苯甲酸定量测定法 [J]. *中华医学检验杂志*, 1984, 7 (3): 172-174.
- [5] 张平, 孟宪均. 分光光度法测定大鼠不同组织还原型谷胱甘肽含量 [J]. *中华实用外科杂志*, 1989, 6 (3): 141-142.
- [6] Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of Total Protein-Bound and Nonprotein Sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent [J]. *Anal Biochem*, 1968, 25: 192-205.
- [7] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. *J Biol Chem*, 1951, 193: 265-275.
- [8] Spector R. Micronutrient homeostasis in mammalian brain and cerebrospinal fluid [J]. *J Neurochem*, 1989, 53: 1667-1674.
- [9] DiBenedetto FE, Bito LZ. Transport of (下转第 128 页)

标准及处理原则^[1], 将 19 例患者确定为慢性轻度溶剂汽油中毒。全车间检出率为 31.67%, 其中新工人检出率为 0.2 年以上工龄检出率为 65.52%, 两组差别有非常显著意义 ($P < 0.01$); 而后一组内未见工龄、年龄对发病的影响。

3 中毒病例分析

3.1 自觉症状 19 例患者出现神经系统症状已有 3~7 个月, 平均 5.2 个月; 以远端肢体感觉异常和下肢无力为主, 但首发症状不一, 有的表现为远端肢体手套、袜套样麻木, 有的表现为下肢无力。其中双侧肢体麻木者 11 例, 单侧肢体麻木 8 例, 有 5 例同时伴感觉过敏, 接触冷水有针刺样疼痛。有 17 例病人诉久站后小腿腿发紧疼痛, 严重者下蹲后起立和上楼梯需双手扶持; 有的病人诉走路如踩在棉花上; 也有的诉两条腿像灌了铅似的跨步困难, 走路时常因上半身前倾脚步跟不上而跌倒。

3.2 神经系统阳性体征 肢体末端痛触觉减退 12 例, 明显减退 1 例; 肌力轻度减退 5 例, 大小鱼际肌轻度萎缩 1 例; 桡反射减退 14 例; 膝反射减退 9 例; 跟腱反射减退 14 例, 消失 2 例; 步态改变不明显。

3.3 神经-肌电图 测定患者双手背侧第一骨间肌、左右胫前肌、腓内肌等 106 块肌肉, 安静时出现纤颤波 52 块 (49.06%), 尖波 71 块 (66.98%), 小力收缩时限增宽 98 块 (92.45%)、多相电位 47 块 (44.34%), 大力收缩时出现单纯相 2 块 (1.89%)、混合相 56 块 (52.83%), 单纯-混合相 48 块 (45.28%)。传导速度表现为运动神经和感觉神经均有传导速度减慢, 潜伏期延长, 诱发电位波幅减低, 且下肢受损程度大于上肢; 正中神经 F 反应潜伏期延长 10 例 (52.63%), 胫神经 H 反射潜伏期延长 9 例 (47.37%)。见表 1。

表 1 19 例患者神经传导速度测定结果

受检神经	性质	传导速度 (m/s)		潜伏期 (ms)		诱发电位波幅 (mV)	
		范围	\bar{x}	范围	\bar{x}	范围	\bar{x}
右正中神经	运动神经	35.2~52.1	44.60	4.2~8.3	5.86	0.8~14	7.12
	感觉神经	34.8~50.8	43.61	2.6~3.9	3.05	3.5~21.5	10.47
右尺神经	运动神经	35.0~50.5	43.83	3.0~5.9	4.34	2.9~13.8	8.41
	感觉神经	35.2~50.9	43.64	2.0~3.4	2.47	4.7~13.3	8.2
腓总神经	运动神经	21.0~44.6	35.64	3.7~10.1	6.48	1.6~9.5	4.48
	感觉神经	0~44.9	32.84	2.1~3.5	2.81	0~28.5	16.0

3.4 治疗和转归 上述患者均脱离有毒岗位, 经应用神经营养药物、维生素制剂等治疗 4 个月, 肌无力症状有一定好转, 但手脚麻木症状无明显改善, 肌电图复查也无明显改变。

4 讨论

一些学者通过接触工人体检和动物实验, 均发现溶剂汽油可致周围神经损害^[2,3]。虽然汽油中毒机制目前尚未明了, 但汽油引起人类周围神经病已是不争事实, 并有许多学者认为与汽油内所含正己烷成分有关^[4]。本文车间内溶剂汽油含正己烷 5.93% 与文献报道 5.8% 接近^[2], 但周围神经病发病率高达 65.52%, 发病工龄也较短, 可能与该厂车间密不通风, 工人在高浓度汽油环境中作业时间过长有关。

本调查发现溶剂汽油引起的周围神经病, 起病隐匿, 一旦出现肢体无力症状, 即使脱离接触, 症状仍可延续, 因此重在预防。近年来, 钕铁硼强磁材料加工业在我国发展很快,

为防止类似中毒发生, 在使用汽油的车间应安装防爆式通风排毒装置; 接触汽油工人应做好上岗前体检和定期体检, 对疑有周围神经损害者应及时进行神经-肌电图检查, 避免误诊和漏诊。

(本工作得到宁波市李惠利医院神经内科张克翰主任医师、宁波市第一医院神经内科蒋友忠副主任医师、肌电图室顾晓蓉医师支持, 谨表谢忱。)

参考文献:

[1] GB8785-88. 职业性溶剂汽油中毒诊断标准及处理原则 [S].
 [2] 路博玉, 张衡. 慢性溶剂汽油中毒诊断指标的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1989, 7: 35-37.
 [3] 赵子辰. 修订车间空气中溶剂汽油容许浓度的研究 [J]. 工业卫生与职业病杂志, 1987, 13: 129-132.
 [4] 何凤生. 中华职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 450-451.

(上接第 79 页) prostaglandins and other eicosanoids by the choroid plexus: its characterization and physiological significance [J]. J Neurochem, 1986, 46: 1725-1731.

[10] Nohjoh T, Suzuki H, Sawada Y, et al. Transport of cefodizime, a novel third generation, of cephalosporin antibiotics, in isolated rat choroid plexus [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1989, 250: 324-328.
 [11] 徐兆发, 乔秀艳, Aposhian HV. 脉络丛对神屏障作用的探讨. 中国医科大学学报, 1996, 25 (2): 122-124.
 [12] Jacobson KB, Turner JE. The interaction of cadmium and certain other

metal ions with proteins and nucleic acids [J]. Toxicology, 1980, 16: 1-37.
 [13] Signal RK, Anderson ME, Meister A, et al. Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity [J]. FASEB J, 1987, 1: 220-223.
 [14] Zheng W, Perry DF, Nelson DL, et al. Choroid plexus protects cerebrospinal fluid against toxic metals [J]. FASEB J, 1991, 5 (8): 2188-2193.
 [15] Anderson ME, Underwood M, Bridges RJ, et al. Glutathione metabolism of the blood-cerebrospinal fluid barrier [J]. FASEB J, 1989, 3 (13): 2527-2531.