

有机磷农药的神经发育毒性研究进展

韩俊艳¹, 檀德宏², 王军¹, 纪明山³

(1. 沈阳大学生物与环境工程学院, 辽宁 沈阳 110043 2 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院药理学, 辽宁 沈阳 110016 3 沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 本文综述了有机磷农药神经发育毒性的研究进展, 包括有机磷农药神经发育毒性的证据、毒代动力学因素以及毒理学机制等。

关键词: 有机磷; 农药; 神经发育毒性; 研究进展

中图分类号: R595.4 R979.8 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2010)03-0199-04

Research Progress on neural development toxicity induced by organophosphorus pesticides

HAN Jun-yan¹, TAN De-hong², WANG Jun¹, JI Ming-shan³

(1. College of Biological and Environmental Engineering Shenyang University Shenyang 110043 China 2. Pharmacology Dept. College of Life Science and Biopharmaceutics Shenyang Pharmaceutical University Shenyang 110016 China 3. Plant Protection College Shenyang Agricultural University Shenyang 110161 China)

Abstract: In this paper the neural development toxicity induced by organophosphorus pesticides especially its toxicity evidences, toxicokinetics factors and toxicological mechanism were well reviewed.

Key words: organophosphate pesticide; neural development toxicity; research progress

有机磷农药 (organophosphorus pesticides) 作为高效、广谱杀虫剂, 对农业生产及卫生防疫起着重要的作用。然而大量的有机磷农药进入环境, 不但对生态环境造成危害, 对人类健康也造成了不利的影 响。目前发现癌症、老年痴呆、帕金森氏病、糖尿病等疾病都与包括有机磷农药在内的环境污染 物有关。有机磷农药还具有神经发育毒性^[1], 发育期儿童具有与成人不同的生理特征, 易受有机磷农药伤害, 所受伤害往往是终 生性的, 后果远比成人严重, 因而发育期毒性更应引起关注。本文就有机磷农药的神经发育毒性作一综述, 为该方面的研究提供参 考。

1 有机磷农药神经发育毒性证据

1.1 流行病学研究

有关有机磷农药神经发育毒性流行病学研究较少, 缺乏大规模的人群调查资料, 但现有资料表明环境中低剂量的有机磷农药会对神经发育产生影响。

人类在儿童期受有机磷农药暴露会导致轻度神经功能障碍。在墨西哥进行的一项调查发现, 有机磷农药高暴露组儿童短期记忆下降、手眼协调性不佳、作画能力减弱^[2]; 在美国的一项研究中发现, 受有机磷农药暴露的儿童简单反射时间延长^[3]。其他的研究也发现有机磷农药暴露的儿童会出现认知功能障碍^[4]。

人类在胚胎期受到有机磷农药暴露会导致神经发育障碍。在厄瓜多尔进行的研究发现, 一些在胚胎期受到有机磷农药暴露的小学生, 出现视野缺失症状^[5]。有机磷农药对胚胎的神经毒性与母亲的遗传因素有关, 对氧磷酶 (PON1) 是人体

的一种可以水解有机磷农药的酯酶, 该酶低表达的妇女孕期暴露于毒死蜱, 她们的子代会出现严重的神经发育障碍^[6]。

有机磷农药的神经发育毒性已得到有关管理机构的关注。毒死蜱曾经是 美国使用量很大的一种有机磷农药, 因发现其具有神经发育毒性, 美国环保局 (EPA) 在 2000 年建议减少使用。

1.2 动物实验研究

大量的动物试验证明有机磷农药具有神经发育毒性, 而且这种神经发育毒性具有一个敏感时间窗。

实验动物在胚胎期或幼年期染毒有机磷农药, 会出现中枢神经功能障碍及病理变化。胚胎期染毒有机磷农药的大鼠会出现神经发育延迟; 妊娠大鼠染毒对硫磷, 子代出生后听觉惊跳反射和翻正反射的形成受损, 开眼时间延迟。大鼠在幼年受毒死蜱染毒, 成年后会表现出自发选择能力、活动能力与学习能力减弱^[7], 还会出现类似抑郁的情感障碍, 表现为在架高十字迷宫试验中停留时间延长, 对喜食的食物欲望降低等^[8,9]。发育期动物受有机磷农药染毒会出现神经系统病理学改变。Tara 等^[10]给出生 11 d 的 SD 大鼠经皮下染毒毒死蜱 4 d, 在出生 20 d 处死动物, 病理检查发现毒死蜱引起幼鼠隔核、纹状体和躯体感觉皮层 3 个脑区胶质细胞减少等轻微的形态学改变。Hilp 等^[11]发现对氧磷可以使大鼠海马 CA1 区锥体神经元基部的树突状棘突密度下降。其他研究也发现有机磷农药可导致发育期动物脑组织的病理变化。

有研究发现有机磷农药所致神经发育毒性具有一个敏感时间窗, 在大鼠出生后前 2 周最为敏感; 有机磷农药所致神经发育毒性还具有性别选择性, 一般雄性动物易受影响^[12,13]。

2 有机磷农药神经发育毒性的毒代动力学因素

发育期生理特点与有机磷农药的理化性质决定了发育期

收稿日期: 2009-07-16 修回日期: 2009-09-24

作者简介: 韩俊艳 (1968-), 女, 高级工程师 研究方向: 生物

农药, E-mail: hnjunyan@yahoo.cn

儿童对有机磷农药的易感性。

由于发育期儿童血脑屏障不成熟, 而有机磷农药具有高度的亲脂性, 所以有机磷农药易透过母体屏障或血脑屏障, 进入脂类含量很高的脑组织。早期研究认为妊娠期接触有机磷农药不会影响到胎儿, 母体的生理屏障可使其免于有机磷农药毒性作用。但 Lassite等^[14]则认为母体屏障并不能使胎儿免受毒死蜱的影响, 动物实验发现孕鼠妊娠末期经口染毒毒死蜱后, 胎仔脑组织中中毒死蜱的代谢产物三氯吡醇 (TCP) 浓度比母鼠脑组织中高 2~4倍, 这可能是由于胚胎血脑屏障功能不完善所造成的。

发育期动物肝脏代谢酶不足, 解毒能力相对低下, 使得有机磷农药的毒性作用增强; 发育期动物脂肪含量低, 影响有机磷农药的分布, 也使得有机磷农药毒性增强^[15]。

3 有机磷农药神经发育毒性的毒理学机制

有机磷农药神经发育毒性的毒理学机制目前尚无定论, 综合文献我们发现以下几个方面机制与有机磷农药的神经发育毒性有关。

3.1 乙酰胆碱酯酶活力变化

乙酰胆碱酯酶 (AChE) 广泛分布于哺乳动物神经系统中, 主要作用是水解乙酰胆碱 (ACh), 防止 ACh堆积引起神经功能紊乱。许多证据表明, AChE在脑发育的关键时期还可作为神经营养因子, 起着信息联系与终止细胞复制并促进胆碱能靶部位细胞分化和结构构建的功能, 有机磷农药抑制 AChE活力会对神经发育产生影响^[16]。

AChE活力增强也会影响神经发育, 采用转基因技术制备的高 AChE表达小鼠在成年时会表现明显的认知障碍^[17]。在有机磷农药对 AChE抑制过程中, AChE的合成因受到负反馈调节而增加, 在有机磷农药染毒结束一段时间后, AChE活力有增高的现象, 神经发育障碍可能与这种 AChE活力增高有关^[18]。

然而 AChE活力变化是在有机磷农药浓度较高的情况下发生的, 在自然环境中, 人类暴露的有机磷农药浓度一般是很低的, 低浓度有机磷农药对乙酰胆碱酯酶的活力影响并不明显, 因而用 AChE活力的变化来解释有机磷农药的神经发育毒性作用机制并不充分。

3.2 乙酰胆碱系统功能变化

乙酰胆碱系统功能与神经细胞的凋亡、分裂增殖、突触可塑性、能量代谢都有关系, 乙酰胆碱系统功能亢进与不足都会影响神经细胞的正常功能, 从而对神经发育产生影响^[19-21]。有机磷农药对乙酰胆碱系统功能的影响与其神经发育毒性有关。

有机磷农药染毒早期使乙酰胆碱系统功能亢进。有机磷农药在较大剂量下抑制 AChE, 使其失去水解 ACh的能力, 造成胆碱能神经末梢释放的 ACh大量蓄积, 致乙酰胆碱系统功能亢进。但是在低剂量有机磷农药作用下, AChE抑制作用并不明显, 有机磷农药可能通过直接作用于胆碱能受体发挥对乙酰胆碱系统功能的作用^[22]。

在有机磷农药长时间染毒或在停止染毒一段时间后, 乙

酰胆碱系统功能可能由亢进状态转为不足状态。有研究发现, 发育期大鼠反复接触低剂量的对氧磷, 会导致胆碱乙酰化酶 (ChAT) 活力明显下降, ChAT是 ACh的合成酶, ChAT活力下降表明 ACh合成下降; 有机磷农药长期染毒会导致胆碱能受体的下调^[23]; 在有机磷农药染毒结束后 AChE活力会逐渐恢复, 从而增加了 ACh水解。ACh合成下降、受体下调及 AChE活力恢复的综合作用结果可能会导致乙酰胆碱系统功能不足。有机磷农药影响乙酰胆碱系统功能, 会对发育期神经系统产生损伤作用。

3.3 非胆碱能神经系统功能变化

有机磷农药对神经系统的影响是非常广泛的, 除胆碱能系统外, 5-HT系统、DA系统等也受到影 响, 从而出现相关症状^[24]。

有机磷农药可影响 5-HT系统。发育期受有机磷农药染毒的大鼠在成年时会表现出抑郁症状, 抑郁与 5-HT功能下降有关, 提示 5-HT系统受到影响。Spkⁱⁿ等^[25]在大鼠出生后 1~4 d皮下连续染毒 1 mg/kg的毒死蜱, 在大鼠 5个月龄时, 采用放射配体结合法测定 5-HT₁、5-HT₂受体密度及 5-HT转运体含量, 结果发现以上 3个指标都有所增加。在另一项对不同发育阶段大鼠进行的试验中, 研究者发现 5-HT更新率增加^[26]。这些生化指标的变化似乎与 5-HT系统功能降低相矛盾, 可能是由于在 5-HT神经元与其他神经细胞早期损伤后, 细胞间的联络发生了变化, 导致 5-HT功能下降; 在动物成年后, 存留的神经元出现了代偿性的功能增强, 然而 5-HT功能下降状态并不能完全改善, 因而动物会出现抑郁症状^[27]。

有机磷农药可影响 DA神经系统。Aldridge等^[28]给不同发育阶段大鼠染毒毒死蜱, 在大鼠成年后, 采用 HPLC法测定了不同脑区的 DA递质及其代谢物的含量并计算 DA更新率。结果表明, 在出生后 1~4 d染毒大鼠的脑皮层 DA含量及 DA更新率均下降, 而纹状体中 DA含量及 DA更新率均升高, 中脑 DA更新率增高。Karen等^[29]也发现有机磷农药对 DA系统产生影响, 而且在大鼠出生后前两周最为敏感。多巴胺系统与运动及情绪有关, 提示有机磷农药暴露可能会影响到儿童的自主运动与情绪。

3.4 神经系统 DNA与蛋白质的变化

神经系统在发育过程中, 需要不断地合成新的 DNA和蛋白质。Whiney等^[30]发现, 给 1日龄新生鼠皮下染毒 2 mg/kg的毒死蜱, 4 h内就出现全脑区 DNA与蛋白质合成的明显抑制现象, 无脑区选择性差别。给 8日龄幼鼠皮下染毒, 也出现 DNA合成抑制现象, 但有脑区选择性差异, 蛋白合成没有出现抑制现象。这可能是由于 8日龄鼠与 1日龄鼠比较, 各脑区已有分化差异造成的。Qiao等^[31]发现毒死蜱及其代谢物对体外培养神经瘤细胞 PC12和胶质细胞 C6的 DNA合成有抑制作用。这些研究提示有机磷农药的神经发育毒性与其抑制 DNA和蛋白质合成有关。

3.5 重要信号通路变化

神经系统发育受许多信号通路的调节, 有机磷农药对这些信号通路的影响与其神经发育毒性有关。

腺苷酸环化酶 (AC) 是合成 cAMP 的关键酶, 也是 Ca^{2+} 信号通路、长时程增强信号通路等多个信号通路中的重要信号因子。一些研究发现, 发育期大鼠受毒死蜱染毒, 在成年阶段大部分脑区 AC 活力有显著改变, 提示毒死蜱可导致多种信号途径的改变^[32,33]。Schuh 等^[34] 发现毒死蜱及其代谢物氧化毒死蜱影响了 Ca^{2+} / cAMP 反应成分结合蛋白 (CREB) 通路, 该信号通路是与认知功能有关的重要信号通路。有丝分裂原活力激酶 (MAPK) 信号途径与细胞的凋亡、分裂增殖、突触可塑性有关系, Caughlan 等^[35] 发现毒死蜱及毒死蜱氧化物影响了该信号通路。

4 结语

综上所述, 有机磷农药易对发育期人或动物神经系统产生影响, 作用机制复杂, 涉及胆碱酯酶活力变化、非胆碱能神经系统变化、DNA 与蛋白质合成抑制及对重要信号通路的影响等多方面因素, 要搞清有机磷农药的神经发育毒性作用机制还有很多的工作要做。

由于未成年人及胎儿易受有机磷农药影响, 应特别注意对未成年人及孕期妇女的保护, 尽量减少农药暴露, 做到防患于未然。

参考文献:

- Grandjean P, Landrigan P J. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals [J]. *Lancet* 2006 368 (9553): 2167-2178
- Guillette E A, Meza M M, Aquilar M G, et al. An anthropological approach to the evaluation of preschool children exposed to pesticides in Mexico [J]. *Environ Health Perspect* 1998 106 (6): 347-353.
- Grandjean P, Harari R, Barr D B, et al. Pesticide exposure and stunting as independent predictors of neurobehavioral deficits in Ecuadorian school children [J]. *Pediatrics* 2006 117 (3): 546-556
- Lizardi P S, O'Rourke M K, Morris R J. The effects of organophosphate pesticide exposure on hispanic children's cognitive and behavioral functioning [J]. *J Pediatr Psychol* 2008 33 (1): 91-101
- Rohlin D S, Arcu T A, Quandt S A, et al. Neurobehavioral performance in preschool children from agricultural and non-agricultural communities in Oregon and North Carolina [J]. *Neurotoxicology* 2005 26 (4): 589-598
- Young J G, Eskenazi B, Gledstone E A, et al. Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates [J]. *Neurotoxicology* 2005 26 (2): 199-209
- Levin E D, Addy N, Nakajima A, et al. Persistent behavioral consequences of neonatal cholinergic exposure in rats [J]. *Dev Brain Res* 2001 130 (1): 83-89
- Aldridge J E, Levin E D, Seidler F J, et al. Developmental exposure of rats to cholinergic leads to behavioral alterations in adulthood involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression [J]. *Environ Health Perspect* 2005 113 (5): 527-531
- Icenogle L M, Chappelle C N, Paul B W, et al. Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to cholinergic during neurotation [J]. *Neurotoxicol Teratol* 2004 26 (1): 95-101
- Tara S R, Seidler F J, Slobkin T A, et al. Morphologic effects of subtoxic neonatal cholinergic exposure in developing rat brain re-

- gionally selective alterations in neurons and glia [J]. *Dev Brain Res* 2004 148 (2): 197-206
- He J R S. Pine density and dendritic branching pattern of hippocampal pyramidal neurons in neonatal rats chronically exposed to the organophosphate paraoxon [J]. *Neurotoxicology* 2004 25 (3): 481-494
- Qiao D, Seidler F J, Padilla S, et al. Developmental neurotoxicity of cholinergic: what is the vulnerable period [J]. *Environ Health Perspect* 2002 110 (11): 1097-1103
- Rice D, S Baroné. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models [J]. *Environ Health Perspect* 2000 108 (S3): 511-533.
- Lassier T L, Padilla S, Mortensen S R, et al. Gestational exposure to cholinergic: apparent protection of the fetus [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998 152 (1): 56-65.
- Atterberry T T, Burnett W T, Chambers J E. Age-related differences in paraoxon and cholinergic toxicity in male rats: target and nontarget esterase sensitivity and cytochrome P450-mediated metabolism [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997 147 (2): 411-418
- McFarland B J, Seidler F J, Slobkin T A. Inhibition of DNA synthesis in neonatal rat brain regions caused by acute nicotine administration [J]. *Dev Brain Res* 1991 58 (2): 223-229
- Mehner E, Erb C, Gazit R, et al. Alternative splicing and neurite cytomRNA translocation under long-term neuronal hypersensitivity [J]. *Science* 2002 299 (5554): 508-512
- Rohde N, Tapia L. Chronic neuropsychological sequelae of cholinesterase inhibitors in the absence of structural brain damage: two cases of acute poisoning [J]. *Environ Health Perspect* 2005 113 (6): 762-766
- Morley B J, Happe H K. Cholinergic receptors: dual roles in transduction and plasticity [J]. *Hearing Res* 2000 147 (1-2): 100-112
- Cooper-Kuhn C M, Winkler J, Kuhn H G. Decreased neurogenesis after cholinergic forebrain lesion in the adult rat [J]. *J Neurosci Res* 2004 77 (2): 155-165
- Kaneko N, Okano H, Sawamoto K. Role of the cholinergic system in regulating survival of newborn neurons in the adult mouse dentate gyrus and olfactory bulb [J]. *Genes Cells* 2006 11 (10): 1145-1159.
- Slobkin T A, Cousins M M, Tate C A, et al. Persistent cholinergic presynaptic deficits after neonatal cholinergic exposure [J]. *Brain Res* 2001 902 (2): 229-243
- Qiao D, Seidler F J, Tate C A, et al. Fetal cholinergic exposure: adverse effects on brain cell development and cholinergic biomarkers emerge postnatally and continue into adolescence and adulthood [J]. *Environ Health Perspect* 2003 111 (4): 536-544.
- Slobkin T A, Tate C A, Cousins M M, et al. Functional alterations in CNS catecholamine systems in adolescence and adulthood after neonatal cholinergic exposure [J]. *Dev Brain Res* 2002 133 (2): 163-173
- Slobkin T A, Seidler F J. The alterations in CNS serotonergic mechanisms caused by neonatal cholinergic exposure are permanent [J]. *Dev Brain Res* 2005 158 (1-2): 115-119

[26] Aldridge J E, Levin E D, Seidler F J et al. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression [J]. *Environ Health Perspect* 2005 113 (5): 527-531

[27] Raines K W, Seidler F J, Slobkin T A. Alterations in serotonin transporter expression in brain regions of rats exposed neonatally to chlorpyrifos [J]. *Dev Brain Res* 2001 130 (1): 67-72

[28] Aldridge J E, Meyer A, Seidler F J et al. Alterations in central nervous system serotonergic and dopaminergic synaptic activity in adulthood after prenatal or neonatal chlorpyrifos exposure [J]. *Environ Health Perspect* 2005 113 (8): 1027-1031.

[29] Karen D J, Li W, Ha P R et al. Striatal dopaminergic pathways as a target for the insecticides permethrin and chlorpyrifos [J]. *Neurotoxicology* 2001 22 (6): 811-817

[30] Whitney K D, Seidler F J, Slobkin T A. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos: cellular mechanisms [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995 134 (1): 53-62

[31] Qiao D, Seidler F J, Slobkin T A. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos modeled in vitro: comparative effects of metabolites and other cholinesterase inhibitors on DNA synthesis in PC12 and C6 cells [J]. *Environ Health Perspect* 2001 109 (9): 909-913

[32] Raheja G, Gill K D. Altered cholinergic metabolism and muscarinic receptor linked second messenger pathways after chronic exposure to di chlorvos in rat brain [J]. *Toxicol Ind Health* 2007 23 (1): 25-37.

[33] Meyer A, Seidler F J, Aldridge J E et al. Critical periods for chlorpyrifos induced developmental neurotoxicity: alterations in adenylyl cyclase signaling in adult rat brain regions after gestational or neonatal exposure [J]. *Environ Health Perspect* 2004 112 (2): 295-301

[34] Schuh R A, Lein P J, Beckles R A et al. Noncholinesterase mechanisms of chlorpyrifos neurotoxicity: altered phosphorylation of Ca^{2+} /cAMP response element binding protein in cultured neurons [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 182 (2): 176-185

[35] Caughlan A, Newhouse K, Namkung U et al. Chlorpyrifos induces apoptosis in rat cortical neurons that is regulated by a balance between p38 and ERK/JNK MAP kinases [J]. *Toxic Sci* 2004 78 125-134

甲苯暴露标志物邻甲酚测定方法的比较与评价

陈红霞, 梅勇*

(武汉科技大学医学院, 湖北 武汉 430065)

摘要: 尿中邻甲酚 (*o*-cresol) 与甲苯暴露存在良好相关关系, 是中低浓度甲苯接触的特异和敏感生物标志物。本文综述了尿中 *o*-cresol 作为职业接触甲苯的生物监测指标研究现状, 介绍了国内外检测尿中 *o*-cresol 的各种方法。目前国内外研究检测职业接触甲苯的暴露标志物尿中 *o*-cresol 多用气相色谱法 (GC)、高效液相色谱法 (HPLC) 和气相色谱-质谱 (GC/MS) 等方法。

关键词: 甲苯; 尿中邻甲酚; 生物监测

中图分类号: R446.12 C625.11 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2010)03-0202-03

Comparison of methods for determination of urinary *o*-cresol as biomarker of toluene exposure

CHEN Hong-xia, MEI Yong*

(Department of Occupational Health Medical College, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China)

Abstract: As urinary *o*-cresol concentrations are well related with toluene exposure levels, it is considered a sensitive and specific biomarker of low and moderate toluene exposure. Urinary *o*-cresol concentration might be determined by various methods as gas chromatography with hydrogen flame ionization detector (GC/FID), gas chromatography combined with mass spectrometry (GC/MS) or high performance liquid chromatography (HPLC). The application and validity of related methods for determination of urinary *o*-cresol reported and their application and validity as the biomarker of occupational toluene exposure were all reviewed in this paper.

Key words: toluene; urinary *o*-cresol concentration; biological monitoring

尿中甲酚是由约 1% 吸收的甲苯代谢的环氧化甲苯中间物, 可进一步转化为邻甲酚、间甲酚和对甲酚 3 种同分异构体^[1]。邻甲酚 (*o*-cresol) 是甲苯的微量代谢物, 虽然尿中排

出量仅为吸入甲苯的 0.31%, 但与马尿酸、间甲酚及对甲酚相比, 邻甲酚的背景干扰最低^[2]。*o*-cresol 经尿液排出的半减期为 3 h^[3], 是甲苯接触敏感的生物标志物。在职业与环境低水平甲苯暴露时, 马尿酸与吸入甲苯浓度之间已不存在相关性, 而尿中邻甲酚与空气中甲苯具有相关关系, 且具有较低背景干扰值, 受吸烟、饮酒干扰小, 其生物监测的应用价值明显优于马尿酸。近年, 德国、美国相继制定了 *o*-cresol 的生物限值, 而不再推荐马尿酸。

收稿日期: 2010-01-05

作者简介: 陈红霞 (1976-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物监测。

*: 通讯作者, 副教授, 硕士生导师。