

胞进入分裂期 (G₂/M期), 不同剂量甲醛可能具有不完全的活化作用。T细胞活化后有两种不同结果: 一是T细胞的完全活化, 导致T细胞的增殖并发挥功能效应; 另一种是不完全活化, T细胞进入无能状态或凋亡。本文发现当体外脾细胞用 ConA刺激培养时, 每个 ConA刺激组脾细胞凋亡率显著高于对照组, 说明不同剂量的甲醛促进了脾淋巴细胞的凋亡。由于脾淋巴细胞是不均一的细胞群体, 其接受活化信号刺激的应答也不相同, 本实验 CD₈⁺ 细胞百分数下降显著, 提示可能 CD₈⁺ T细胞在体外甲醛作用下凋亡数量增加。一般认为, 在体外绝大多数不成熟的 CD₄⁺/CD₈⁺ 细胞接受刺激信号后进入凋亡^[4], 是否甲醛促进了这两群细胞的凋亡, 或主要促进 CD₈⁺ 细胞凋亡, 这对T细胞研究将有重要意义。

牛磺酸锌对长期染氟大鼠皮层胆囊收缩素阳性神经元的保护作用

Protective effect of taurine zinc on cholecystokinin positive neurons
of cortex in long term fluoride exposed rat

周红军¹, 张戟风¹, 李积胜²

ZHOU Hong-jun¹, ZHANG Ji-feng¹, LI Ji-sheng²

(1. 沧州医专中医教研室, 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: 将 30 只 Wistar 大鼠随机分为对照组、低氟组、高氟组、低氟加锌组和高氟加锌组。5 组大鼠均在饲养前 5 个月单纯给氟, 5 个月后将氟同时加牛磺酸锌 0.34 g/L 喂养至第 6 个月后将灌注处死动物。测定各组大鼠大脑皮层 CCK 阳性神经元的变化。与对照组相比, 皮层 CCK 阳性神经元数低氟组 (100 mg/L NaF) 71.80 ± 6.01, 高氟组 (200 mg/L NaF) 71.20 ± 8.36 均明显降低 (P < 0.01); 低氟加锌组 78.20 ± 10.32 和高氟加锌组 77.35 ± 8.62 亦减少 (P < 0.01); 两两比较, 高氟加锌组较高氟组明显升高 (P < 0.01), 低氟加锌组较低氟组亦明显升高 (P < 0.01)。提示不同浓度染氟均能使皮层 CCK 蛋白表达减少, 且与染氟剂量成正相关; 补锌后能明显改善皮层 CCK 蛋白表达减少。

关键词: 氟化钠; 胆囊收缩素; 皮层

中图分类号: R994.6 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2011)01-0046-02

许多研究证实, 摄入过量氟可致机体多个系统损伤, 有文献报道长期摄入大剂量氟可造成动物大脑直接损伤, 包括神经细胞和神经纤维的退行性变或细胞凋亡^[1,2], 而脂质过氧化作用被普遍认为是氟中毒的重要机制之一^[3]。因此, 探讨抗氧化物质对氟中毒的影响日益受到重视。锌是机体必需的微量元素, 已有研究证实锌具有抗脂质过氧化作用^[4,5], 为了寻求拮抗氟中毒的新型锌制剂, 有效预防和治疗氟中毒, 特进行了本研究。

1 材料与方法

收稿日期: 2010-05-06 修回日期: 2010-06-28

作者简介: 周红军 (1979-), 男, 主治医师。

参考文献:

- [1] Ying Chen, Jiang Ye, Xiao Lei, Xie Hong et al. Lymphocyte subsets and sister chromatid exchanges in the students exposed to formaldehyde vapour [J]. Biomedical and Environmental Sciences 1999 12 (2): 88-94.
- [2] Sullivan H, Oh E et al. Gene expression profiling in lung tissues from rats exposed to formaldehyde [J]. Arch Toxicol 2007 81 (8): 589-597.
- [3] 龚非力. 医学免疫学 [M]. 北京: 科学出版社, 2000 95-96.
- [4] Christopher A S, Gwyn T W, J, Rosetta K, Kingston et al. Antibodies to CD3/T cell receptor complex induce death by apoptosis in immature T cells in thymic cultures [J]. Nature 1989 337 (6203): 181-184.

1.1 动物分组及饲养方法

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 5 组, 每组 6 只, 即对照组, 自由饮用自来水; 低氟组, 自由饮 100 mg/L 的氟化钠 (天津市化学试剂三厂) 溶液; 高氟组, 自由饮 200 mg/L 的氟化钠溶液; 低氟加锌组和高氟加锌组均在饲养前 5 个月单纯给氟, 5 个月后将氟同时加牛磺酸锌 0.34 g/L 喂养至第 6 个月后将灌注处死动物。

1.2 实验方法

1.2.1 取材和切片 每只大鼠经 0.4% 戊巴比妥钠腹腔麻醉后, 从左心室快速依次灌注生理盐水 100 ~ 150 ml, 4℃ 的 4% 多聚甲醛 500 ml 于 30 ~ 40 min 灌毕。迅速取脑置 4℃ 的同样固定液中固定 7 ~ 9 h 后移入 20% 蔗糖浸泡 12 h 以上。恒冷箱冰冻切片 (50 μm), 用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) 切片, 切片进行 ABC 免疫组化反应。

1.2.2 免疫组化染色 切片移入 Triton-H₂O₂ 中 37℃、30 min 后用 PBS 漂洗, 再用 3% 正常羊血清封闭 30 min, 然后加 CCK 抗体 (1:2000 Sigma 产品) 4℃ 孵育 72 h, 漂洗后加二抗孵育 60 min, 漂洗, 然后入卵白素生物素酶复合物 (ABC Vector 公司) 孵育 60 min, 用 0.05% 二氨基联苯胺 (DAB) 0.01% H₂O₂ (Sigma 产品) 显色, 镜下控制孵育强度, 裱片、脱水、透明、封片。

1.2.3 CCK 阳性神经元计数 每组选取相同断面皮层结果清晰的脑片 20 张, 分别计数各组皮层 CCK 阳性细胞数目。

1.3 数据处理

数据以均数 ± 标准差 (x ± s) 表示, 输入 SPSS 11.5 统计软件进行单因素方差分析及两两比较 t 检验 (P = 0.05 水

准)。

2 结果

在光镜下,与对照组相比,低氟组和高氟组皮层 CCK阳性神经元数均明显降低 ($P<0.01$),低氟加锌组和高氟加锌组亦减少 ($P<0.05$);两两比较,高氟加锌组较高氟组明显升高 ($P<0.01$),低氟加锌组较低氟组亦明显升高 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠海马各区 CCK阳性细胞数比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	阳性神经元数
对照组	6	81.75±6.85
低氟组	6	71.80±6.01**
低氟加锌组	6	78.20±10.32*
高氟组	6	71.20±8.36**
高氟加锌组	6	77.35±8.62*

注:与对照组比较,* $P<0.05$ ** $P<0.01$ 。

3 讨论

胆囊收缩素 (cholecystokinin CCK)是脑内含量最丰富的神经肽之一,皮层是中枢 CCK阳性神经元的高分布区。有实验发现,CCKa受体缺乏大鼠的学习记忆能力明显降低,焦虑反应则明显增强^[6],但注射 CCK拮抗剂可明显抑制动物的学习记忆功能^[7],可见,CCK是脑内参与学习记忆的关键物质之一。

氟是化学性质极活泼的元素,机体摄入过量氟后,氟可直接攻击氧,干扰氧化代谢导致氧自由基增多。锌是金属酶的组成成分,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^[8]。锌在肠道及体内使结合态氟增加而离子态氟降低,从而减少氟的吸收和减轻氟的毒性^[9]。另有报道^[10],氟中毒能导致大脑皮层神经细胞 DNA损伤,而锌对 DNA损伤的保护作用最重要的一点是,作为 DNA聚合酶和 RNA聚合酶的必需成分,锌能够稳定其结构,在一定范围内有利于修复损伤^[11]。

本实验结果显示,与对照组大鼠皮层 CCK阳性神经元数相比,低氟组和高氟组皮层 CCK阳性神经元数均明显降低 ($P<0.01$);低氟加锌组和高氟加锌组亦减少 ($P<0.01$);

而高氟加锌组较高氟组明显升高 ($P<0.01$),低氟加锌组较低氟组亦明显升高 ($P<0.01$)。本实验为进一步证实牛磺酸锌对氟中毒的拮抗作用提供了一定的依据。

参考文献:

[1] Dauge V, Sebret A, Beslot F, et al. Behavioral profile of CCK₂ receptor deficient mice [J]. Neuropsychopharmacology, 2001, 25 (5): 690-698.

[2] Hansen T V, Nielsen F C. Regulation of neuronal cholecystokinin gene transcription [J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 2001, 234: 61-67.

[3] 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.

[4] 姜恩敏, 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.

[5] 边建朝, 威树梅, 叶平, 等. 慢性氟中毒大鼠脑、抗氧化酶变化及硒的影响 [J]. 营养学报, 1997, 19 (1): 43-48.

[6] Li X L, Aou S, Horii T, et al. Spatial memory deficit and emotional abnormality in OLETF rats [J]. Physiol Behav, 2002, 75 (1-2): 15-23.

[7] Benfield M C, Connolly K. Activation of CB₁ cannabinoid receptors in rat hippocampal slices inhibits potassium evoked cholecystokinin release: a possible mechanism contributing to the spatial memory defects produced by cannabinoids [J]. Neurosci Lett, 2001, 301 (1): 69-72.

[8] 付可为, 刘晓雁, 汤端琦, 等. 氟对鸡胚软骨细胞毒性作用及锌拮抗作用的研究 [J]. 中国地方病防治杂志, 1994, 9 (6): 324-325.

[9] 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.

[10] 陈军, 陈学敏. 氟致大鼠脑细胞 DNA损伤及硒锌对氟的拮抗作用研究 [J]. 中国公共卫生, 2002, 18 (7): 774-775.

[11] Valee B L, Auld D S. Zinc coordination: function and structure of zinc enzymes and other proteins [J]. Biochemistry, 1990, 29: 5647-5659.

(上接第 39页)

[21] 陈新龙. 火力发电厂除灰空压机房噪声的治理 [J]. 四川电力技术, 2005, 28 (2): 33-35.

[22] 杨虹, 夏明安, 康仕学, 等. 治理大型球磨机噪声的几种措施 [J]. 中国建材装备, 2001, 21 (3): 26.

[23] 刘淑杰. 降低钢球磨机噪声的措施 [J]. 应用能源技术, 2009, 4: 14-15.

[24] 陈荐, 符慧林, 宁佐阳, 等. 火力发电厂钢球磨机筒体噪声控制 [J]. 中国电力, 2003, 36 (11): 82-84.

[25] 李树新, 李梅莉, 杨雪莹. 对火力发电厂职业病危害控制效果的研究 [A]. 第九次全国劳动卫生与职业病学术会论文论文集 [C]. 2006: 301-305.

[26] 李文森, 张晓灵, 陈东周, 等. 某新建电厂职业病危害预评价类比法研究 [J]. 现代预防医学, 2006, 33 (12): 2367-2369.

[27] 马良庆, 程广超. 燃煤火力发电厂的职业危害特点及防治对策 [J]. 职业与健康, 2006, 22 (24): 2173-2175.

[28] 赵昕. 500 kV GIS封闭式组合电器安装 [J]. 科技创新导报, 2007, 32: 81.