α-硫辛酸对甲基汞致大鼠脑氧化损伤的影响

杨天瑶，徐兆发，刘巍，魏衍刚，邓宇，徐斌

（中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室，辽宁 沈阳 110001）

摘要：目的 探讨 α-硫辛酸（α-LA）对甲基汞所致大鼠脑氧化损伤的影响。**方法** 实验用 Wistar 大鼠 40 只，雌雄各半，每组 10 只，按体重随机分为 4 组。分别为对照组，低、高甲基汞染毒组和 α-LA 预处理组。对照组和低、高甲基汞染毒组先以 0.9% 氯化钠溶液皮下注射，α-LA 预处理组皮下注射 35 μmol/kg α-LA；2 h 后，对照组腹腔注射 0.9% 氯化钠溶液，低、高甲基汞染毒组和 α-LA 预处理组腹腔注射甲基汞 4、12、12 μmol/kg，染毒容量为 5 ml/kg；干预隔日 1 次，每周 3 次，染毒每日 1 次，每周 5 次，连续干预与染毒 4 周。最后一次染毒 24 h 后，在每组大鼠中随机抽取 6 只，用水合氯醛腹腔注射麻醉，心脏放血，解剖取脑，在冰浴下迅速分离大脑皮质，制备 10% 的组织匀浆，测定大脑皮质 Hg 含量、MDA 含量，蛋白巯基、羰基含量及 SOD、GSH-Px 活力；每组中其余 4 只大鼠，用水合氯醛麻醉，左心室灌流固定后，解剖取脑，在冰浴下迅速分离大脑皮质，应用多聚甲醛固定，免疫组化法测定 8-OHdG 含量，HE 染色进行病理学观察。**结果** 随着染甲基汞剂量的升高，大鼠脑汞、MDA、蛋白羰基含量及 8-OHdG 含量阳性面积比、积分光密度值均升高，蛋白巯基含量及 SOD 及 GSH-Px 活力明显降低，HE 染色病理损伤加重；与单纯染高剂量甲基汞组比较，α-LA 干预组大鼠脑汞含量差异不显著，MDA、蛋白羰基含量及 8-OHdG 含量阳性面积比、积分光密度值均降低，蛋白巯基含量、SOD 及 GSH-Px 活力均升高，HE 染色病理损伤有所恢复；差异有统计学意义（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。**结论** α-LA 预处理对甲基汞所致大鼠脑氧化损伤有一定的拮抗作用。

关键词： 甲基汞；α-LA；氧化损伤

中图分类号： R992 **文献标识码：** A **文章编号：** 1002－221X(2013)03－0167－06

Effect of alpha-lipoic acid on oxidative damage of brain caused by methylmercury in rats

YANG Tian-yao，XV Zhao-fa，LIU Wei，WEI Yan-gang，DENG Yu，XV Bin

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

Abstract: Objective To observe the protective effect of alpha-lipoic acid（α-LA）on the oxidative damage of brain caused by methylmercury in rats. **Methods** 40 wistar rats were randomly divided into 4 groups by weight，10 rats in each group，the first was control group，the second and third were low-and high-dose methylmercury groups，the fourth was α-LA pretreated group of α-LA. The rats in first，second and third groups were subcutaneous injected with 0.9% NaCl，the rats in fourth group were injected 35 μmol/kg α-LA；2 hours later，rats of first group were peritoneally injected with 0.9% NaCl，rats of second group were peritoneally injected with 4 μmol/kg CH_3HgCl，rats of third and fourth groups were peritoneally injected with 12 μmol/kg CH_3HgCl. The α-LA pretreatment was given in 2 days interval，3 times a week，while methyl mercury was given everyday，5 times a week，all lasted for 4 weeks. 24 hours after last injection of methylmercury，6 rats in each groups were killed，taking the brains and separating the cerebral cortex on ice bath，then prepare 10% homegenate，determine the contents of Hg，MDA，protein sulfydryl，protein carbonyl in it，and the activities of SOD and GSH-Px in the homogenate. Another 4 rats remained in each group were made left ventricular perfusion with paraformaldehyde，and rapidly separated the cerebral cortex on ice bath for the determination of 8-OHdG content（by immunohistochemistry method）and the pathological examination. **Results** The results showed that compared with control group，the contents of mercury，MDA，protein carbonyl were all obviously increased（$P<0.01$），the levels of protein sulfydryl，SOD and GSH-Px were all significantly reduced（$P<0.01$），the 8-OHdG positive area ratio and integral light density in brain were also clearly increased too，with the exposed dose of mercury（$P<0.01$）. While the indices mentioned above in α-LA pretreated group were all improved compared with 12 μmol/kg mercury group（$P<0.01$ or $P<0.05$）. **Conclusion** Methylmercury can induced oxidative damage in brain of rats，while α-LA has a certain protective effect on this kind of damage.

Key words: methylmercury；alpha-lipoic acid（α-LA）；oxidative damage

收稿日期： 2012－12－07

基金项目： 国家自然科学基金资助项目（编号：81172631）

作者简介： 杨天瑶（1990—），女，硕士在读，从事重金属毒理学研究。

通讯作者： 徐兆发，教授，博士生导师，E-mail：zfxu@mail.cmu.edu.cn。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

甲基汞（methylmercury，MeHg）是一种存在于环境中的有害微量元素，引起的环境污染已成为全球性问题，并受到世界各国研究者的极大关注。已有研究表明，MeHg 能够诱发产生自由基，从而引起脂质过氧化，最终导致机体的损伤[1]。氧化损伤是外来化合物对机体细胞产生毒性的主要机制之一[2]。活性氧簇（reactive oxygen species，ROS）通常被认为是氧化应激的正常产物之一，但过量的 ROS 可以加剧氧化损伤，使胞内分子如蛋白质、DNA 等发生病理损伤[3,4]。α-硫辛酸（alpha-lipoic acid，α-LA）是一种抗氧化剂，能够透过血脑屏障，清除活性氧，保护神经系统免受氧化损伤[5~7]。本研究通过观察 α-LA 对 MeHg 染毒大鼠大脑皮质内 Hg、MDA、蛋白巯基、蛋白羰基、8-羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）含量及 SOD、GSH-Px 活力和组织形态学改变的影响，探讨 MeHg 致大鼠脑氧化损伤的机制及 α-LA 的保护作用，为 MeHg 中毒的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及染毒

选择健康成年清洁级 Wistar 大鼠 40 只，体重（170 ± 10）g，雌雄各半，由中国医科大学实验动物中心提供。动物生产许可证号：SCXK（辽）2008—0005，使用许可证编号：SYXK（辽）2008—0005，实验动物室温度 17 ~ 23℃，相对湿度为 45% ~ 55%，正式实验前适应性饲养 7 d，饲料由实验动物中心提供。

将 Wistar 大鼠按体重随机分成 4 组，每组 10 只。第 1 组为对照组，第 2 组为低剂量染甲基汞组，第 3 组为高剂量染甲基汞组，第 4 组为 α-LA 干预组。第 1、2、3 组皮下注射 0.9% 氯化钠溶液，第 4 组皮下注射 35 μmol/kg α-LA。2 h 后，第 1 组腹腔注射 0.9% 氯化钠溶液，第 2 组腹腔注射 4 μmol/kg 氯化甲基汞溶液，第 3、4 组腹腔注射 12 μmol/kg 氯化甲基汞溶液，注射容量均为 5 ml/kg。干预隔日 1 次，每周 3 次，染毒每日 1 次，每周 5 次，连续干预与染毒 4 周。

1.2 样品采集及处理

最后一次染毒 24 h 后，在每组大鼠中随机抽取 6 只，用水合氯醛腹腔注射麻醉，心脏放血，解剖取脑，在冰浴下迅速分离大脑皮质。用于测定 Hg 含量的大脑皮质，加入 2.0 ml 的浓硝酸过夜；用于测定 MDA 含量，蛋白巯基、羰基含量，SOD、GSH-Px 活力的大脑皮质，加入预冷的 0.9% 生理盐水，制备 10% 组织匀浆，进行指标测定。每组其余 4 只大鼠，左心室用多聚甲醛灌流固定后，免疫组化法测定大脑皮质内 8-OHdG 含量，用自动曝光显微照相系统照相，用 MetamorphPDP10PBX51 彩色病理图文分析系统对免疫组化的切片进行图像分析。HE 染色，用 Olympus光学显微镜进行观察。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 大脑皮质 Hg 含量测量 大脑皮质 Hg 含量用 F732 测汞仪的冷原子吸收法测定。

1.3.2 MDA 含量的测定 MDA 含量测定用硫代巴比妥酸（TBA）比色法[8]。

1.3.3 蛋白巯基、羰基含量及 SOD、GSH-Px 活力的测定 用南京建成生物工程研究所有限公司提供的试剂盒测定。

1.3.4 8-OHdG 含量的测定 （1）石蜡切片的制备，大脑组织块在 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液中固定 24 h 后取出，用自来水冲洗 3 h，梯度乙醇（70%，80%，90%，95%，100% Ⅰ，100% Ⅱ）脱水；二甲苯Ⅰ、Ⅱ透明。低熔点石蜡浸蜡包埋，用 Leitz1512 型切片机切片，切片厚度为 5 μm，用于免疫组化染色使用。置于 45℃水浴的平皿水中展片、贴片，60℃温箱 2 h 烤片。将处理好的玻片置于 4℃冰箱备用。（2）免疫组化反应：切片用 PBS 漂洗 5 min，3 次，体积分数为 3% 的 H_2O_2 室温孵育 10 min；去离子水漂洗 5 min，3 次；微波法作抗原修复；体积分数为 10% 的非免疫山羊血清封闭；室温 20 min，甩去血清；滴加 100 μl 的 1∶100 稀释的 8-OHdG 单克隆抗体，37℃，30 min；磷酸盐缓冲液（PBS）漂洗 5 min，3 次；滴加生物素化的山羊抗兔 IgG，37℃，30 min；PBS 漂洗 5 min，3 次；滴加 SABC，37℃，30 min；PBS 漂洗 5 min，3 次；DAB 显色，充分水洗；HE 轻度复染，盐酸乙醇分化数秒后脱水；透明中性树胶封片。用自动曝光显微照相系统照相，用 MetamorphP-DP10PBX51 彩色病理图文分析系统对免疫组化的切片进行图像分析。每组取 2 只，共 8 只大鼠，对脑皮质进行 8-OHdG 免疫反应阳性分析。每只动物取 1 张切片，每张切片取 5 个视野用来测定8-OHdG反应阳性细胞的阳性面积比 Aa（%）和积分吸光度 IA。

1.3.5 大脑皮质一般病理学改变 （1）石蜡切片制备：方法同 8-OHdG 含量测定。（2）苏木素-伊红（HE）染色：将切片置于Ⅰ、Ⅱ二甲苯中各 10 min 脱蜡，梯度乙醇（100% Ⅰ，100% Ⅱ，95%，90%，80%，70%）各 10 min 脱苯至水化；HE 染色 5 min；自来水冲洗切片背面；将切片置于盐酸乙醇中分化 30 s；自来水冲洗切片背面至切片变蓝为止，

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

伊红染色 10 min；梯度乙醇脱水；二甲苯透明，中性树胶封片。用 Olympus 光学显微镜进行观察。

1.4 统计学方法

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 11.5 软件单因素方差分析进行组间差异的显著性检验，两组间比较用 Q 检验（Students-Newman-Keuls，SNK）。

2 结果

2.1 大脑皮质汞含量

各组大鼠大脑皮质中的汞含量变化见表 1。

表 1 各组大鼠脑汞含量（$n=6$，$\bar{x} \pm s$） μg/g

组别	汞含量
对照组	0.82 ± 0.39
低剂量染毒组	4.87 ± 0.82**
高剂量染毒组	17.72 ± 1.36**
α-LA 干预组	16.34 ± 1.62**

注：与对照组比较，** $P<0.01$。

表 1 可见，随着染汞剂量的升高，大脑皮质内总汞含量升高且呈剂量-效应关系。单纯染高剂量甲基汞组与对照组比较，脑汞含量显著升高（$P<0.01$）；α-LA 干预组与单纯染高剂量甲基汞组比较，脑汞含量差异不明显，但是显著高于对照组（$P<0.01$）。

2.2 MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活力

各组大鼠大脑皮质中 MDA 的含量、SOD 和 GSH-Px 的活力见表 2。

表 2 各组大鼠 MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 活力（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

组别	MDA（nmol/mg pro）	SOD（U/mg pro）	GSH-Px（U/mg pro）
对照组	2.32 ± 0.36	86.10 ± 10.34	19.10 ± 4.69
低剂量染毒组	2.93 ± 0.43*	69.16 ± 10.40**	15.54 ± 2.62
高剂量染毒组	3.78 ± 0.53**	39.03 ± 8.77**	10.92 ± 3.23**
α-LA 干预组	2.90 ± 0.49*▲▲	57.67 ± 10.97**▲▲	17.25 ± 3.46▲▲

注：与对照组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与高剂量染毒组比较，▲▲ $P<0.01$。

从表 2 可以看出，随着染汞剂量的升高，MDA 含量显著升高（$P<0.01$），SOD、GSH-Px 活力显著降低（$P<0.01$）；在施加 α-LA 干预后，MDA 含量显著降低（$P<0.01$），SOD 及 GSH-Px 活力显著升高（$P<0.01$）。

2.3 蛋白巯基、羰基含量

各组大鼠大脑皮质中的蛋白巯基、羰基含量的变化见表 3。

从表 3 可以看出，单纯染低剂量甲基汞组与对照组比较，蛋白巯基含量明显降低（$P<0.05$），蛋白羰基含量变化不明显；单纯染高剂量甲基汞组与对照组比较，蛋白巯基含量明显降低（$P<0.01$），蛋白羰基含量明显升高（$P<0.01$）；α-LA 干预组与对照组比较，蛋白巯基含量明显降低（$P<0.05$），蛋白羰基含量明显升高（$P<0.01$）；与染高剂量甲基汞组比较，α-LA 干预组蛋白巯基含量明显升高（$P<0.01$），蛋白羰基含量明显降低（$P<0.01$）。

表 3 各组大鼠蛋白巯基和羰基含量（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

组别	蛋白巯基（μmol/g pro）	蛋白羰基（nmol/mg pro）
对照组	49.72 ± 4.57	2.58 ± 0.53
低剂量染毒组	40.56 ± 5.92*	3.29 ± 0.89
高剂量染毒组	30.22 ± 6.57**	6.22 ± 0.67**
α-LA 干预组	41.03 ± 5.74*▲▲	4.85 ± 1.04**▲▲

注：与对照组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$；与高剂量染毒组比较，▲▲ $P<0.01$。

2.4 8-OHdG 含量

各组大鼠大脑皮质中 8-OHdG 含量见图 1（见封三）。8-OHdG 阳性面积比和积分光密度值见表 4。

表 4 各组大鼠 8-OHdG 阳性面积比和积分光密度值（$n=4$，$\bar{x} \pm s$）

组别	阳性面积比（Aa）（%）	积分光密度（IOD）（$\times 10^3$）
对照组	0.12 ± 0.05	7.45 ± 2.88
低剂量染毒组	1.32 ± 0.54**	16.27 ± 5.15**
高剂量染毒组	3.55 ± 1.10**	33.86 ± 6.69**
α-LA 干预组	1.72 ± 0.73**▲▲	21.53 ± 5.60**▲▲

注：与对照组比较，** $P<0.01$；与高剂量染毒组比较，▲▲ $P<0.01$。

图 1 可见，随着甲基汞剂量的升高，8-OHdG 免疫反应阳性细胞数显著增多。从表 4 可以看出，随着染甲基汞剂量的升高，8-OHdG 免疫反应阳性面积比和积分光密度值明显升高（$P<0.01$）；施加 α-LA 干预后，阳性面积比和积分光密度值明显降低（$P<0.01$）。

2.5 形态学观察

由图 2（见封三）可见，在对照组中，大鼠大脑皮质组织形态规则，细胞排列均匀，形状规则且深染；在低剂量染汞组中细胞排列基本规则，个别细胞出现空泡，细胞质边缘凝集；在高剂量染汞组中，细胞排列杂乱无章，出现空泡，细胞核模糊，细胞质边缘凝集；施加 α-LA 干预后，细胞排列趋向规则，空泡细胞数减少，正常细胞数量明显增加，病理损伤有一定程度的恢复。

3 讨论

甲基汞是一种具有神经毒性的环境污染物，主要侵犯中枢神经系统，可造成语言和记忆能力障碍等，多年来受到广大学者的关注[9~11]。甲基汞进入人体后，能够引起不可逆性的脑损伤，在大脑的感觉区和

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

运动区蓄积量较高，尤其在大脑后叶蓄积量最高[12]。本实验中，随着染汞剂量的升高，大脑皮质内总汞含量升高且呈剂量-效应关系，表明脑是甲基汞作用的主要靶器官之一，甲基汞在脑中大量蓄积，发挥神经毒性作用。

目前的研究表明，MeHg 致中枢神经系统损伤主要包括神经细胞钙稳态失衡、神经递质代谢紊乱及神经细胞氧化损伤等多种途径[13]，氧化损伤是 MeHg 神经毒性的重要方面之一。Sarafian[14] 等报道甲基汞可使小脑中活性氧形成率显著升高，而活性氧是细胞过氧化损伤的起始因子，脂质过氧化一旦启动，即可通过自由基链式反应导致其终产物脂质过氧化水平升高。SOD 和 GSH-Px 是机体内清除自由基的特异酶类，甲基汞在脑中蓄积可产生自由基，当自由基堆积到一定程度时，SOD 和 GSH-Px 的活性降低，从而使机体清除自由基的能力下降，导致机体的脂质过氧化而致损伤。本实验中，随着染甲基汞剂量的升高，脂质过氧化产物 MDA 的生成量显著增加，SOD 和 GSH-Px 的活力显著降低，其结果与上述文献一致，说明甲基汞在脑组织中积累能够产生自由基而造成脂质过氧化损伤。

MeHg 能产生广泛的毒性效应是因为它具有很强的亲巯基性，能与体内富含巯基的膜蛋白结合，影响蛋白功能，从而导致多系统毒性效应[15]。当 MeHg 进入机体后，主要与巯基结合，以半胱氨酸-甲基汞复合物的形式，在中性氨基酸的转运下透过血脑屏障在脑中蓄积[1]，破坏含巯基物质的构成，使含硫基酶的活性降低，加剧了体内巯基的耗竭，进而对机体产生一系列伤害。在正常生理状态下，适量自由基(ROS) 是神经系统和细胞稳态的信号调节因子，但当机体遭受各种有害刺激时，体内过多的自由基可导致氧化系统和抗氧化系统失衡，从而引起 DNA、蛋白质和脂质的过氧化损伤[16]。ROS 攻击 DNA 碱基可引起多种类型的碱基修饰，其中以脱氧鸟嘌呤第 8 位碳原子的碱基氧化性修饰最为常见，形成 8-OHdG。8-OHdG 性质稳定，易于检测，被认为是细胞内 DNA 氧化损伤的生物标志物[17]。8-OHdG 具有突变倾向，通常认为它是 ROS 引起突变和癌症的一个可能原因[18]。在本实验中，随着染汞剂量的升高，巯基含量降低，羰基和 8-OHdG 含量升高，并有明显的组织病理学改变，说明 MeHg 可通过诱导体内 ROS 生成从而加剧蛋白质和 DNA 的过氧化损伤，并使体内巯基进一步耗竭，降低其保护作用。

α-LA 是一种在酵母、菠菜及肉类中发现的生物因子，是天然的抗氧化剂[19]。α-LA 具有双硫五元环结构，具有显著的亲电性和与自由基反应的能力，它可以清除体内常见的羟基自由基（HO）、过氧化氢（H_2O_2）、单线态氧（$^1O_2$）和次氯酸（HClO）等易于产生自由基的物质[20,21]。并且，α-LA 除了具有自身抗氧化作用外，还能与其代谢产物 DHLA 联合清除生物体内多种活性氧，并可激活生物体内其他抗氧化物质的代谢循环，共同发挥生物抗氧化作用[22]。本实验在使用 α-LA 后，MDA 含量、蛋白羰基含量及 8-OHdG 含量阳性面积比、积分光密度值均降低，蛋白巯基含量、SOD 活力、GSH-Px 活力升高；而且组织形态学检查可见病理损伤有所恢复，说明 α-LA 对甲基汞致大鼠脑氧化损伤具有拮抗作用，但其具体的作用机制还有待进一步深入研究。

参考文献：

[1] 胡卫萱，王文华，贾金华. 甲基汞在脑组织中的积累和脂质过氧化作用 [J]. 环境与职业医学，2003，20（5）：331-333.

[2] 郑双来. 无极汞（氧化汞）肾脏毒性机制研究进展 [J]. 国外医学卫生学分册，2005，32（3）：175-179.

[3] Cadet J，Bellon S，Douki T，*et al*. Radiation—induced DNA damage：formation，measurement，and biochemical features [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol，2004，23（1）：33-43.

[4] Limke T L，Atchison W D. Acute exposure to methylmercury opens the mitochondrial permeability transition pore in rat cerebellar granule cells [J]. Toxicol Appl Pharmacol，2002，178（1）：52-61.

[5] Morini M，Roccatagliata L，Dell´ Eva R，*et al*. Alpha—lipoic acid is effective in prevention and treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Neuroimmunol，2004，148（1-2）：146-153.

[6] Jesudason E P，Masilamoni J G，Jesudoss K S，*et al*. The protective role of DL-alpha-lipoic acid in the oxidative vulnerability triggered by Abeta-amyloid vaccination in mice [J]. Mol Cell Biochem，2005，270（1-2）：29-37.

[7] 秦旭军，海春旭. 抗氧化理论新进展——抗氧化剂网络和网络抗氧化剂. 自由基生命科学进展. 第 9 集 [M]. 北京：原子能出版社，2002：121-122.

[8] 万伯健. 卫生毒理学 [M]. 沈阳：辽宁科学技术出版社，1991：216-217.

[9] Mergler D，Anderson H A，Chan L H，*et al*. Methylmercury exposure and health effects in human a worldwide concern [J]. A Journal of the Human Environment，2007，31（1）：3-11.

[10] Geier D A，Geier M R. An assessment of the impact of thimerosal on childhood neurodevelopmental disorders [J]. Pediatr Rehabil，2003，6（2）：97-102.

[11] Bose O´Reilly S，McCarty K M，Steckling N，*et al*. Mercury exposure and children´s health [J]. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care，2010，40（8）：186-215.

[12] 江泉观，纪云晶，常元勋. 环境化学毒物防治手册 [M]. 北京：化学工业出版社，2004：69-72.

（下转第 173 页）

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

程中多种细胞因子或致纤维化因子不断产生释放，作用于成纤维细胞，促其大量增殖、聚集和胶原合成，产生大量的细胞外基质，主要是Ⅰ型和Ⅲ型胶原，形成肺纤维化[5~10]。

SiO_2 致肺纤维化作用不仅与游离 SiO_2 的含量高低有关，也与 SiO_2 的晶体结构有关。通过研磨使 SiO_2 尘粒碎裂成更小的颗粒并产生许多新鲜破碎面，这些新鲜破碎面有许多活性自由基，在体内更容易发生生物化学反应[9,11]。

呼吸道自身防御机制能够清除吸入空气中固体颗粒，直径小于 10 μm 的颗粒才可进入下呼吸道。一般直径大于 5 μm 的尘粒被吸入后，通常被呼吸道黏膜阻挡或通过粘液纤毛排送系统咳出，不进入肺内；而小于 5 μm 的粉尘能够进入肺泡并由于气流逐步减慢及重力作用，在终末呼吸性细支气管和肺泡壁上沉积，更小的颗粒通过弥散作用在肺内沉积。SiO_2 作为一种生产性粉尘，其致病性取决于粉尘粒径大小，粒径小于 5 μm 时为呼吸性粉尘，多可到达呼吸道深部和肺泡，易被巨噬细胞吞噬引起生物学作用，导致尘肺病的发生，其中以 1 ~ 2 μm 的颗粒致病力最强[11]。购置的 SiO_2 粉尘在存放状态下，粒径不能完全满足小于 5 μm，经充分研磨后，可使 SiO_2 的粒径小于 5 μm。

本实验结果表明 SiO_2 粉尘经过充分研磨，可以使 98.5% 粉尘粒径小于 5 μm，提高分散度。用研磨后的 SiO_2 粉尘配制悬液，经非暴露气管一次性染尘 8 周后可以复制成稳定的大鼠矽肺模型，极大地提高了大鼠矽肺模型的成功率。

参考文献:

[1] 金泰廙. 职业卫生与职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社，2003: 249.

[2] GBZ/T192.3—2007，工作场所空气中粉尘测定 [S].

[3] 王莹，邓国祥. 实验动物矽肺不同时段 CT 与病理学表现对比 [J]. 山西医科大学学报，2008，39 (9): 787-790.

[4] 金玉兰，张文丽，姚三巧，等. 染矽尘大鼠血清白介素-1 和白介素-8 含量及肺泡巨噬细胞凋亡情况 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2011，29 (8): 562-566.

[5] 蒲新明，温浩，窦红，等. 矽肺动物模型的病理观察 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2011，29 (10): 761-765.

[6] 高衍新，王瑞. 矽尘致肺纤维化机制及细胞因子在矽肺纤维化中的作用 [J]. 中国工业医学杂志，2008，21 (1): 31-35.

[7] 王丹，毕长龙. 矽肺发病机制研究进展 [J]. 中国疗养医学，2006，15 (3): 161-162.

[8] 李宏伟，高秀霞，杜海科，等. 染矽尘大鼠肺组织Ⅰ、Ⅲ型胶原表达的变化 [J]. 武警医学院学报，2005，14 (6): 457-460.

[9] 史延明，Bice Fubini，翁少凡，等. 游离二氧化硅粉尘致病性研究进展 [J]. 中华劳动卫生与职业病杂志，2008，26 (7): 439-442.

[10] Arcangeli G，Cupelli V，Giuliano G. Effects of silica on human lung fibroblast in culture [J]. Sci Total Environ，2001，270: 135-139.

[11] 鲍含诚，范雪云. 尘肺病 [M]. 北京: 煤炭工业出版社，2010: 41-42.

(上接第 170 页)

[13] Ceccatellis S，Dare E，Moors M. Methylmercury—induced neurotoxicity and apoptosis [J]. Chem Biol Interact，2010，188 (2): 301-308.

[14] Sarafian T，Verty M A. Oxidative mechanisms underlying methylmerucury neurotoxicity [J]. Int J Dev Neurosci，1991，9 (2): 147-153.

[15] 郑徽. 汞的毒性效应及作用机制研究进展 [J]. 卫生研究，2006，35 (5): 663-666.

[16] Ziech D，Franco R，Georgakilas A G，*et al*. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development [J]. Chem Biol Interact，2010，188: 334-339.

[17] Tasaki M，Umemura T，Suzuki Y，*et al*. Oxidative DNA damage and reporter gene mutation in the livers of gpt delta rats given non-genotoxic hepatocarcinogens with cytochrome P450-inducible potency [J]. Cancer Sci，2012，101: 2525-2530.

[18] 潘洪志，李蓉. DNA 氧化损伤标志物 8-羟基脱氧鸟苷及其检测 [J]. 中国卫生检验杂志，2003，13 (4): 404-405.

[19] Trujillo M，Radi R. Peroxynitrite reaction with the reduced and the oxidized forms of lipoic acid: New insight into the reaction of peroxynitrite with thiols [J]. Arch Biochem Biophys，2002，397 (1): 91-98.

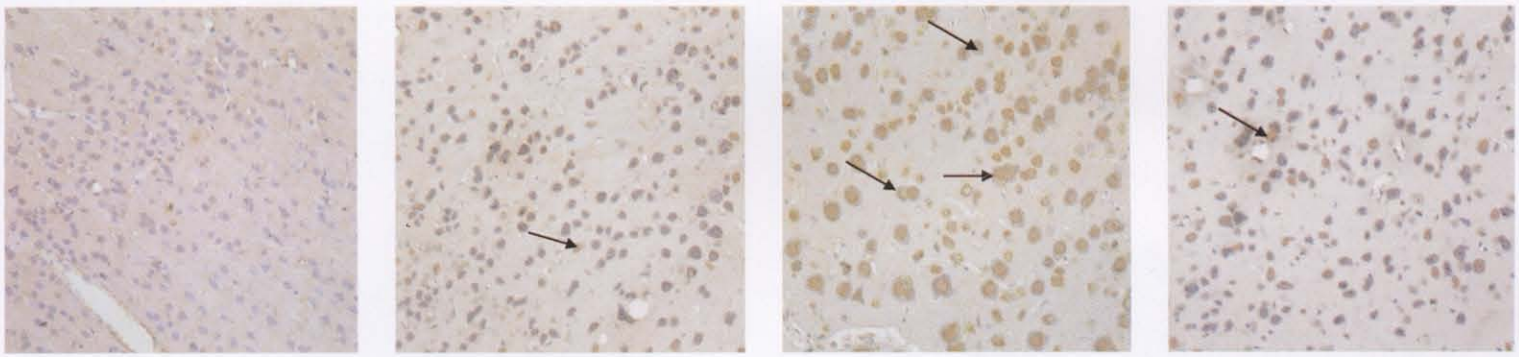
[20] Navari Izzo F，Quartacci M F，Sgherric C. Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species [J]. Plant Physiol Biochem，2002，40: 463-470.

[21] 田芳，仲伟鉴，应贤平. α-硫辛酸对 H_2O_2 诱导的细胞活性氧水平及 DNA 氧化损伤的影响 [J]. 环境与职业医学，2007，24 (2): 180-189.

[22] Packer L，Witt E H，Tritschler H J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant [J]. Free Radic Biol Med，1995，19 (2): 227-250.

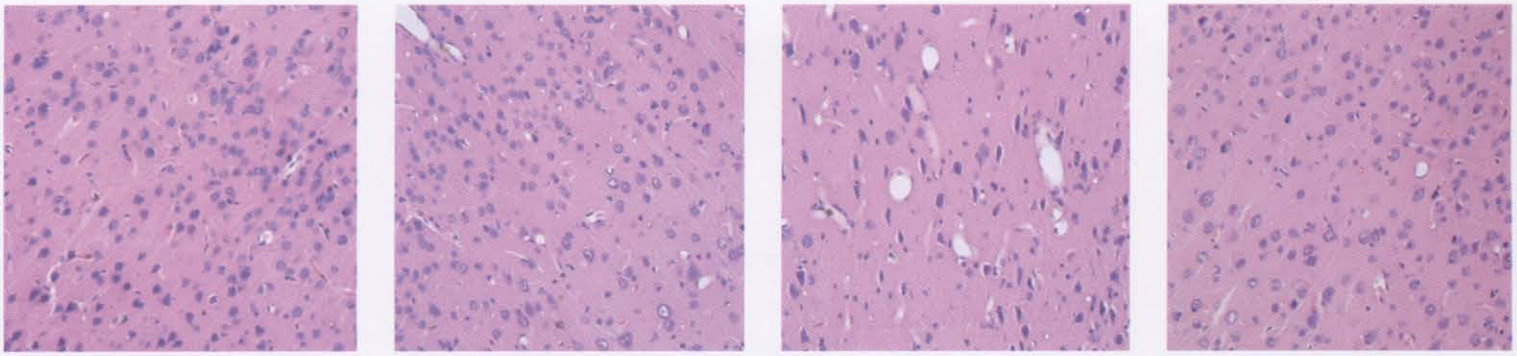
?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

α-硫辛酸对甲基汞致大鼠脑氧化损伤的影响(正文见167～170页)



对照组　低剂量甲基汞组　高剂量甲基汞组　α-LA干预组

图1　各组大鼠脑皮质中8-OHdG免疫组化图像分析（×400）



对照组　低剂量甲基汞组　高剂量甲基汞组　α-LA干预组

图2　各组大鼠脑皮质病理形态学改变（HE，×400）

矽尘颗粒大小对复制大鼠矽肺模型的影响（正文见171～173页）

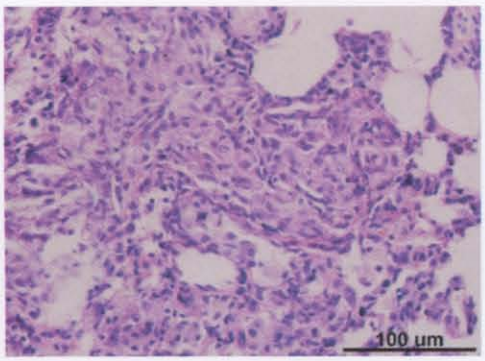


图1　8周研磨组肺组织（HE，×400）

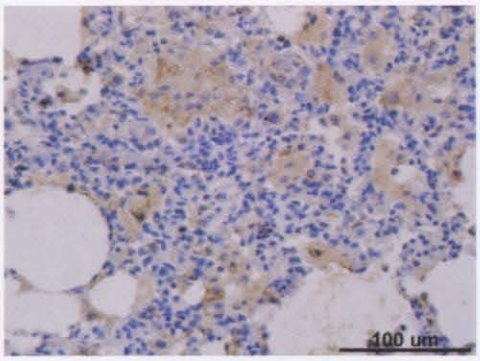


图2　8周研磨组肺组织Ⅰ型胶原（IHC，×400）

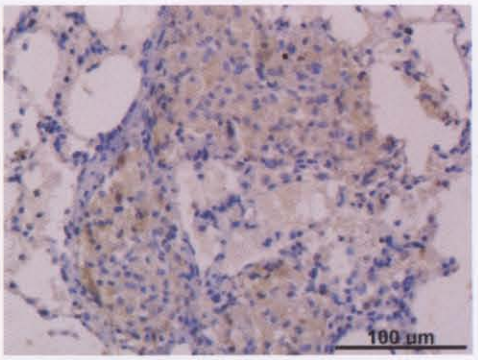


图3　8周研磨组肺组织Ⅲ型胶原（IHC，×400）

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net