

实验从 3 周龄幼鼠开始染毒,对毒物更为敏感,较低剂量染毒对幼鼠肝脏也会造成氧化损伤。

通过对大鼠肝组织超微结构观察,发现高剂量 TDI 染毒导致大鼠肝细胞核皱缩,线粒体肿胀,嵴结构模糊不清,方向紊乱;部分线粒体膜降解,有的成为大空泡,呈典型凋亡样改变。表明细胞核及线粒体损伤途径为 TDI 细胞毒作用的位点之一,细胞凋亡可能在 TDI 肝组织损伤机制中起一定作用。其具体作用途径有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Pham DL, Trinh TH, Ban GY, *et al.* Epithelial folliculin is involved in airway inflammation in workers exposed to toluene diisocyanate [J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49 (11): e395.
- [2] 刘保峰,张明,刘辉,等. 甲苯二异氰酸酯对作业工人健康影响的调查 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2014, 32 (8): 588-590.
- [3] Sabbioni G. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans [M]. Lyon: IARC Press, 1999: 865-879.
- [4] 季宇彬,纪红蕊,于蕾. TDI 的亚急性毒性实验 [J]. *哈尔滨商业大学学报 (自然科学版)*, 2005, 37 (8): 1083-1084.
- [5] 于蕾,张凡菲,郎朗,等. TDI 致小鼠肝细胞损伤的机制分析 [J]. *哈尔滨商业大学学报 (自然科学版)*, 2006, 22 (5): 7-10.
- [6] 刘辉,刘保峰,张明,等. 甲苯二异氰酸酯在大鼠体内的代谢 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2013, 31 (5): 426-431.

- [7] Chtourou Y, Kamoun Z, Zarrouk W, *et al.* Naringenin ameliorates renal and platelet purinergic signalling alterations in high-cholesterol fed rats through the suppression of ROS and NF- κ B signaling pathways [J]. *Food Funct*, 2016, 7 (1): 183-193.
- [8] Chtourou Y, Aouey B, Kebieche M, *et al.* Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat striatum via suppressing ROS-mediated NF- κ B and P53 signaling pathways [J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 239 (6): 76-86.
- [9] Zhao L, Tao X, Qi Y, *et al.* Protective effect of dioscin against doxorubicin-induced cardiotoxicity via adjusting microRNA-140-5p-mediated myocardial oxidative stress [J]. *Redox Biol*, 2018, 16 (2): 189-198.
- [10] Ooi BK, Goh BH, Yap WH. Oxidative stress in cardiovascular diseases: Involvement of Nrf2 antioxidant redox signaling in macrophage foam cells formation [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (11): pii: E2336.
- [11] Chalah A, Khosravi-Far R. The mitochondrial death pathway [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2008, 615 (5): 25-45.
- [12] 中华医学会肝病学会,中华医学会消化病学分会. 常用肝脏生物化学实验的临床意义及评价共识 [J]. *中华保健医学杂志*, 2010, 12 (3): 161-167.
- [13] 于蕾,张凡菲,郎朗,等. 甲苯二异氰酸酯对小鼠血液中氧化损伤及能量代谢标志物的影响 [J]. *环境与职业医学*, 2007, 24 (5): 487-489.

葛根素对丙烯酰胺染毒大鼠的神经行为及电生理指标的影响

Effect of puerarin on neurobehavioral and electrophysiological indicators in acrylamide exposed rats

关亚丽¹, 李鹏飞¹, 程月发¹, 史晨曦¹, 高福佳², 徐文博¹, 王奇¹, 彭晨¹

(1. 华北理工大学冀唐学院, 河北 唐山 063210; 2. 华北理工大学公共卫生学院, 河北 唐山 063210)

摘要:为观察葛根素对丙烯酰胺 (ACR) 染毒大鼠神经行为和电生理指标的影响,取 50 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组及葛根素低、中、高剂量干预组,观察大鼠的一般状态、步态变化、后撑力及胫神经传导速度。结果显示,各干预组大鼠的体重、皮毛光泽度、精神状态均好于模型组。与模型组相比,低剂量干预组各项检测指标变化不明显 ($P>0.05$),中、高剂量干预组的大鼠各项指标均有明显变化 ($P<0.05$)。提示葛根素能够减轻 ACR 引起的周围神经功能障碍。

关键词: 葛根素; 丙烯酰胺; 神经行为; 神经电生理

中图分类号: R994 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X (2018) 06-0446-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zgggxyx.2018.06.017

丙烯酰胺 (ACR) 是一种用途广泛的化工原料,具有多种毒性,包括神经毒性、致癌性、遗传毒性等,其中神经毒性早已被人调查和毒理学实验所证实^[1-3], ACR 引起周围神经系统损害表现为四肢乏力、刺痛、麻木、共济失调,甚

至肌肉萎缩等症状^[4]。葛根素 (puerarin, Pue) 是从豆科葛属植物野葛的干燥根中提取并分离出来的一种异黄酮类植物雌激素,具有保护神经、提高免疫力等多种药理作用。本实验旨在研究葛根素对 ACR 染毒大鼠神经毒性的干预作用,为探讨 ACR 神经损伤的机制、预防及治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

ACR (Sigma 产品),纯度 99.9%;注射用葛根素 (麦普宁,瑞阳制药有限公司)。Keypoint 快速神经-肌电诱发电位系统 (丹麦维迪公司)。

1.2 动物分组与神经学检查

雄性 SD 大鼠 50 只,体重 200~220 g。适应性饲养 7 d 后随机分为正常对照组、模型组及葛根素低、中、高剂量干预组,每组 10 只。模型组和葛根素干预组均给予 ACR 30 mg/kg 腹腔注射,给药容积 3 ml/kg。正常对照组腹腔注射等体积生理盐水。间隔 1 h 后,葛根素各剂量干预组分别给予葛根素 40、80 和 160 mg/kg 腹腔注射,给药容积 1 ml/kg,各组给药 3 次/周,连续给药 4 周。每周监测 1 次体重、神经行为学指标 (步态评分、后肢撑力指数) 及胫神经传导速度。

1.2.1 步态评分 将大鼠放于平坦的地面上,每只大鼠观察 3

收稿日期: 2018-03-03; 修回日期: 2018-09-20

基金项目: 河北省高等学校科学技术研究青年基金项目 (编号: QN201722)

作者简介: 关亚丽 (1982—),女,硕士研究生,从事卫生毒理学研究。

min。步态分为四个等级^[5]：1 分—正常表现，站立姿势及行走时步态灵活自如；2 分—轻度异常，行动迟缓，可出现轻度摇摆、打转等轻微共济失调症状，后肢间距稍有增宽，足外撇，行走时出现掂脚尖行走步态；3 分—明显异常，腹部着地，两腿叉开平铺行走或划行，共济失调，呈鸭步；4 分—严重异常，完全瘫痪，双后肢无力支持身体，腹部着地，出现足后翻现象。

1.2.2 后肢撑力实验 用手抓住大鼠背部，保持水平状态，大鼠双侧后脚掌上涂抹甲紫溶液，在距离正下方平面高约 30 cm 处松手，自由落下，测量着地时双侧后脚掌尖滑开的最远距离，认定为后肢撑力指数。各组大鼠均测定 3 次，每次间隔 30 min 左右，取平均值作为记录值。

1.2.3 胫神经运动神经传导速度（MNCV）检测 各组大鼠用 10% 水合氯醛腹腔内注射麻醉后，单针刺激电极分别插入内踝（S₁）和腓窝（S₂），以同心圆针电极插入足掌蚓状肌记录动作电位。电刺激为直流方波 10 mA，50 μs，刺激频率为 2 次/s。

表 1 各组大鼠体重变化（ $\bar{x}\pm s$ ） g

组别	当天	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	251.3±4.5	270.4±5.5	305.6±6.2	322.1±3.3	348.6±12.0
模型组	250.2±11.1	272.5±5.4	287.8±6.7*	294.5±14.3*	295.7±5.4*
低剂量干预组	254.1±8.6	276.8±7.5	290.6±5.5*	297.5±2.2*	301.4±11.3*
中剂量干预组	258.7±5.5	281.2±4.3	296.8±13.4	307.5±6.2*	311.9±3.5*▲
高剂量干预组	252.9±2.2	275.9±10.7	304.2±7.5▲	314.7±4.4▲	319.5±5.6*▲

注：*，与对照组比较， $P<0.05$ ；▲，与模型组比较， $P<0.05$

2.2 步态评分

对照组大鼠精神状态良好、步态轻盈；模型组和各干预组大鼠随着染毒时间的延续，步态均都有不同程度改变；模型组从染毒第 2 周开始部分大鼠活动时出现后肢间距增宽，随着染毒时间的延长，步态异常的大鼠数量增加，到第 4 周时部分大鼠腹部着地，两腿叉开平铺、呈鸭步。与对照组相

表 2 各实验组大鼠步态评分（ $\bar{x}\pm s$ ）

组别	当天	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0
模型组	1±0	1.29±0.35*	2.15±0.57*	2.81±0.33*	3.10±0.78*
低剂量干预组	1±0	1.25±0.21*	2.07±0.44*	2.67±0.13*	3.04±0.62*
中剂量干预组	1±0	1.08±0.51*	2.22±0.35*	2.31±0.13*▲	2.41±4.4*▲
高剂量干预组	1±0	1.17±0.65*	1.82±0.11*▲	2.23±0.35*▲	2.43±5.6*▲

注：*，与对照组比较， $P<0.05$ ；▲，与模型组比较， $P<0.05$

2.3 后撑力实验

模型组和各干预组大鼠随着染毒时间的延长，后肢展开间距均有增大趋势。从第 2 周开始，与对照组相比，模型组和低、中剂量干预组大鼠后肢间距明显增宽，差异有统计学

表 3 各实验组大鼠后肢撑力实验结果（ $\bar{x}\pm s$ ） cm

组别	当天	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	6.18±0.51	6.27±0.34	6.35±1.22	6.09±0.32	5.89±0.78
模型组	6.21±0.25	7.95±1.53*	9.34±0.93*	10.68±0.33*	12.04±1.05*
低剂量干预组	6.25±0.63	8.12±1.3*	9.11±0.27*	11.35±1.43*	11.73±0.61*
中剂量干预组	6.33±1.37	7.98±0.65*	8.45±1.23*	7.75±0.24*▲	7.23±1.54*▲
高剂量干预组	6.29±1.05	6.84±1.42▲	7.56±1.55*▲	7.34±0.38*▲	7.09±0.87*▲

注：*，与对照组比较， $P<0.05$ ；▲，与模型组比较， $P<0.05$

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料符合正态分布者以 $\bar{x}\pm s$ 描述，均数比较采用配对 t 检验，检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 动物一般表现及体重变化

对照组大鼠皮毛光泽度好，精神状态良好。随着染毒时间的延长，各染毒组大鼠逐渐出现不同程度的活动度减少，嗜睡，进食减少，皮毛杂乱、无光泽等症状。

正常对照组大鼠体重稳定增长。与对照组相比，模型组和低剂量干预组大鼠体重增长缓慢，且均从第 2 周开始，体重差异出现统计学意义（ $P<0.05$ ），中、高剂量干预组大鼠体重分别在第 3 周和第 4 周差异出现统计学意义（ $P<0.05$ ）。与模型组相比，低剂量干预组大鼠体重变化差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），高、中剂量干预组分别在第 2~4 周体重增长差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。见表 1。

比，各剂量干预组大鼠步态从第 2 周开始均出现不同程度的异常，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。与模型组相比，低剂量干预组大鼠步态未出现明显差异（ $P>0.05$ ），中、高剂量干预组大鼠分别从第 3 周和第 4 周大鼠步态均有好转，到实验结束时，虽仍有轻微共济失调、行动迟缓、后肢间距增宽，但均无严重瘫痪。见表 2。

意义（ $P<0.05$ ）；高剂量干预组大鼠后肢间距明显比模型组降低（ $P<0.05$ ）。到第 4 周，与模型组相比，中、高剂量干预组大鼠后肢间距分别降低 39.95% 和 41.11%。见表 3。

2.4 胫神经传导速度

与对照组相比,模型组和各干预组从第3周起,胫神经传导速度降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相

比,各干预组胫神经传导速度要高于模型组,但差异无统计学意义;高剂量干预组在第4周胫神经传导速度明显高于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 各实验组大鼠胫神经传导速度($\bar{x}\pm s$) m/s

组别	当天	1周	2周	3周	4周
对照组	42.23±5.52	43.53±4.12	45.65±3.75	43.91±7.14	44.11±2.36
模型组	45.16±4.23	39.23±3.84	30.57±6.14	25.02±7.85*	22.65±10.6*
低剂量干预组	43.31±5.70	40.56±7.22	30.92±4.35	27.17±5.03*	25.12±8.4*
中剂量干预组	43.56±8.9	41.01±6.55	32.41±3.07	31.64±10.85*	31.02±1.67*
高剂量干预组	44.16±4.23	40.98±4.28	35.53±2.65	32.02±5.89*	33.53±2.65*▲

注:*,与对照组比较, $P<0.05$;▲,与模型组比较, $P<0.05$

3 讨论

ACR单体由于水溶性大,可通过皮肤、黏膜大量吸收,多为慢性中毒,以周围神经损害表现为主。由于ACR短期内的不可替代性,仍被广泛应用于工业生产。作为ACR生产大国,很多生产企业缺少良好的防护措施,生产作业人员缺乏防护意识,时有中毒事件发生。

葛根素活性强,药效明确,安全低毒,并且葛根资源丰富,价格低廉。因此,葛根素的应用研究有着广阔的发展前景,是很有发展前途的药物。葛根素具有多种生物学作用,如神经保护、提高免疫力、增强心肌收缩力、抗氧化应激、抗炎、抗过敏、改善微循环等。近年来各学科已经深入细致地从多方面研究葛根素神经保护作用机制。葛根素能抑制细胞凋亡,阻断和转录因子通路,减轻炎症反应,对神经细胞起到保护作用^[6]。通过清除超氧离子自由基和抗氧化性损伤、抑制血小板聚集和周围神经组织的微循环,减轻超氧离子自由基对细胞的损伤及破坏,增强组织、细胞对再灌注后内环境紊乱的耐受力等作用机制,对周围神经起保护作用^[7,8]。

职业接触ACR多以皮肤吸收为主,临床症状除皮肤脱皮、多汗外,多以双手精细动作受限、行走、站立不稳等小脑性共济失调和意识障碍为主^[9],出现中毒症状后及早脱离作业环境和及时治疗是抢救成功的关键。ACR中毒病例临床多以营养神经和对症治疗为主。本实验结果显示,与对照组相比,干预组大鼠各项指标均有不同程度的变化($P<0.05$),中、高剂量干预组大鼠中毒症状在不同干预时间内均有所缓解($P<0.05$)。与模型组相比,低剂量干预组大鼠变化不明显($P>0.05$),各干预组大鼠在体重、被毛光泽度、精神状态方面都

好于模型组。提示葛根素对ACR引起周围神经功能障碍起到了一定的保护作用,有可能成为ACR中毒后临床治疗的潜在药物,而葛根素对周围神经的保护机制还有待进一步深入探讨。

参考文献:

[1] David SB, Stanley S, Richard MLP. Proteomic analysis of rat striatal synaptosomes during acrylamide intoxication at a low dose rate [J]. Toxicol Sci, 2007, 100 (1): 156-167.

[2] Lo Pachin RM. The changing view of acrylamide neurotoxicity [J]. Neurotoxicology, 2004, 25 (1): 617-630.

[3] Yu SF, Son FY, Yu JX, *et al.* Acrylamide alters cytoskeletal protein level in rat sciatic [J]. Nerves Neurochem Res, 2006 (31): 1197-1204.

[4] 张雁林, 赵金垣, 徐希娴, 等. 丙烯酰胺毒性研究进展 [J]. 中国工业医学杂志, 2014, 27 (5): 353-356.

[5] LoPachin RM, Ross JF, Reid ML, *et al.* Neurological evaluation of toxic axonopathies in rats: acrylamide and 2,5-hexanedione [J]. Neurotoxicology, 2002, 23 (1): 95-110.

[6] Mahdy HM, Mohamed MR, Emam MA, *et al.* The anti-apoptotic and antiinflammatory effects of puerarinattenuate 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity inrats [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2014, 92 (3): 252-258.

[7] 邝石峰, 武凤鸣, 罗利, 等. 葛根素对大鼠后肢缺血再灌注损伤骨骼肌和周围神经的保护作用 [J]. 解剖学研究, 2011, 33 (2): 142-146.

[8] 王德华, 张桂萍, 邵文. 葛根素对周围神经再灌注损伤保护的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25 (10): 2133-2135.

[9] 毛丽君, 赵金垣, 徐希娴. 急性丙烯酰胺中毒的临床特点 [J]. 工业卫生与职业病, 2017, 43 (1): 58-60.

(上接第433页)

[3] 刘薇薇, 陈育全, 潘静, 等. 亚急性1,2-二氯乙烷中毒患者临床过程的动态观察 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33 (3): 190-193.

[4] 黄家文, 巫带花, 李斌, 等. 职业性亚急性重度1,2-二氯乙烷中毒致死1例诊治体会 [J]. 国际医药卫生导报, 2008, 14 (7): 50-52.

[5] 曾子芳, 陈嘉斌, 夏丽华, 等. 职业性亚急性重度1,2-二氯乙烷中毒7例临床分析 [J]. 岭南急诊医学杂志, 2011, 16 (3): 228-229.

[6] 刘薇薇, 陈育全, 刘移民, 等. 亚急性1,2-二氯乙烷中毒临床特征与

脑部CT相关性分析 [J]. 中华内科杂志, 2014, 53 (1): 55-56.

[7] 赵金垣. 临床职业病学 [M]. 3版. 北京: 北京大学医学出版社, 2017: 39-49.

[8] 罗伟良, 王立志, 李博生. 1,2-二氯乙烷中毒性脑白质病7例报告 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2011, 37 (4): 197-200.

[9] 齐莹, 石磊, 高岚岳, 等. 1,2-二氯乙烷染毒对小鼠脑组织氨基酸类神经递质的影响 [J]. 中国工业医学杂志, 2010, 23 (6): 439-441.

[10] 齐莹, 石磊, 高岚岳, 等. 亚急性1,2-二氯乙烷染毒对小鼠行为及脑神经递质含量的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2011, 29 (6): 413-416.