

孕哺期染氟对子代大鼠空间记忆及中枢单胺类神经递质的影响^{*}

张文均, 刘南暖

(湖北医药学院附属人民医院 神经内科, 湖北 十堰 442000)

[摘要] 目的: 探讨雌鼠孕哺期染氟对子代空间记忆能力及中枢单胺类神经递质的影响。方法: 健康 8 周龄 Wistar 雌性妊娠大鼠 24 只, 随机分为对照组、高氟染毒组和低氟染毒组, 对照组给予蒸馏水喂养, 高氟染毒组自妊娠开始至哺乳期(产仔鼠后 6 周)给予 20 mg/kg 氟化钠溶液, 低氟染毒组自妊娠开始至哺乳期(产仔鼠后 6 周)给予 5 mg/kg 氟化钠溶液; 记录仔鼠出生后 1、3 及 6 周时的体重; 造模结束时各组仔鼠进行 Morris 水迷宫定位航行实验记录逃避潜伏期评价空间记忆能力, 水迷宫实验结束后取鼠海马组织, 荧光分光光度法检测海马组织匀浆中单胺类神经递质肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT), 黄嘌呤氧化酶法检测仔鼠脑组织超氧化物歧化酶(SOD), 硫代巴比妥酸法检测仔鼠脑组织丙二醛(MDA)。结果: 高氟染毒组第 1、2、3、4 天时的逃避潜伏期均长于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 高氟染毒组仔鼠 6 周时体重明显低于对照组, 海马组织匀浆中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 明显低于对照组, 脑组织中 SOD 明显低于对照组和低氟染毒组, MDA 明显高于对照组和低氟染毒组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 低氟染毒组仔鼠脑组织中 SOD 明显低于对照组, MDA 明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 孕哺期高氟染毒降低了仔鼠海马中单胺类神经递质 NE、DA 和 5-HT 含量, 影响了仔鼠空间记忆能力。

[关键词] 染氟; 孕哺期; 单胺类神经递质; 空间记忆; 大鼠, Wister

[中图分类号] R715.3; R992 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)04-0418-04

DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.04.011

Effects of Fluoride Exposure during Pregnancy on Spatial Memory and Central Monoamine Neurotransmitters in Offspring Rats

ZHANG Wenjun, LIU Nannuan

(Department of Neurology, Affiliated People's Hospital of Hubei Medical College, Shiyan 442000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of fluoride exposure during pregnancy on spatial memory and central monoamine neurotransmitters in offspring rats. **Methods:** 24 healthy 8-week old Wistar female pregnant rats were randomly divided into the control group, the high fluorine dye group and the low fluorine dye group. The control group was fed with distilled water; the high fluoride group received 20 mg/kg sodium fluoride solution from pregnancy to lactation (6 weeks after birth); the low fluoride group received 5 mg/kg sodium fluoride solution from the beginning of pregnancy to the lactation period (6 weeks after birth); body weight of postnatal rats at 3 and 6 weeks after birth was recorded. Morris water maze navigation experiment recording the evaluation of spatial memory ability by escape latency was conducted in rats of each group after molding. After the water maze experiment, the hippocampal tissue was taken. Monoamine neurotransmitter norepinephrine in hippocampus homogenate (NE), do-

^{*}[基金项目] 十堰市科技局科技项目(14Y31)

网络出版时间: 2018-04-24 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180424.2120.022.html>

pamine (DA) and 5-HT were detected by fluorescence spectrophotometry; superoxide dismutase in brain tissue of newborn was detected by the method of xanthine oxidase; malondialdehyde in brain tissue of newborn was detected by thiobarbituric acid method. **Results:** The escape latency of the high fluoride exposure group was longer than that of the control group on the first, second, third and fourth day, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The body weight of rats exposed to high fluoride at 6 weeks was significantly lower than that of the control group; the NE, DA and 5-HT levels of monoamine neurotransmitters in the homogenate of hippocampus were significantly lower than those in the control group; SOD in brain tissue was significantly lower than that in control group and low fluoride exposure group; MDA was significantly higher than that of control group and low fluoride exposure group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The SOD in brain tissue of rats exposed to low fluoride was significantly lower than that of control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The concentration of monoamine neurotransmitter NE, DA and 5-HT in hippocampus of neonatal rats is decreased by high fluoride exposure during pregnancy, which affects the spatial memory ability of rats.

[**Key words**] fluoride; pregnancy and lactation; monoamine neurotransmitter; spatial memory; rats, Wistar

氟广泛存在于自然界、出现在人们的日常生活中,过量的氟对中枢神经系统的损害越来越被人们关注^[1]。动物研究表明,氟能够通过胎盘屏障,造成子代的学习记忆障碍^[2]。单胺类神经递质是中枢神经系统重要的神经递质,与学习能力、认知功能密切相关^[3-4],这类神经递质主要包括去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)。本研究通过给予孕期哺乳期大鼠不同剂量氟染毒,观察子代大鼠空间记忆能力的改变,同时探讨氟染毒对单胺类神经递质的影响。

1 材料与方法

1.1 分组及造模

选取健康 8 周龄 Wistar 雌性大鼠 24 只,另选取雄性 12 只,由江苏大学实验动物中心提供,合格证 SCXK(苏)-2016-0013,体质量(250 ± 30)g。大鼠按雌雄比例 2:1 合笼,次日清晨阴栓涂片镜检发现精子记为妊娠第 0 天(GD0)。将妊娠大鼠随机分为对照组、高氟染毒组和低氟染毒组,每组 8 只;对照组大鼠给予蒸馏水喂养,高氟染毒组自妊娠开始给予 20 mg/kg 氟化钠溶液喂养,低氟染毒组自妊娠开始给予 5 mg/kg 氟化钠溶液喂养;每只孕鼠生产 5~8 只仔鼠,哺乳期各组母鼠分别继续蒸馏水、或染氟喂养 6 周;仔鼠 6 周时神经系统发育完全,每组选取 24 只仔鼠进行实验。

1.2 试剂与仪器

氟化钠(优级纯,由北京化工厂生产),NE、DA 对照品和 5-HT 对照品均由美国 Sinma 公司生产,丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒均由南京建成生物工程公司提供,Morris 水迷宫记录仪由中国医科大学提供。

1.3 观察指标

(1)观察各组仔鼠生后 1 周、3 周及 6 周的体质质量变化;(2)各组仔鼠喂养到 6 周时进行 Morris 水迷宫定位航行实验连续训练 4 d,记录仔鼠在 120 s 内游到平台的时间(逃避潜伏期)评价仔鼠的空间记忆能力;(3)上述实验结束后,仔鼠麻醉、断头处死,分离仔鼠海马组织,电动研磨制成匀浆后,离心取上清液,采用荧光分光光度法检测海马组织中 NE、DA、5-HT;(4)脑组织中 SOD 采用黄嘌呤氧化酶法检测,脑组织中 MDA 采用硫代巴比妥酸法检测。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 逃避潜伏期

高氟染毒组第 1、2、3、4 天时的逃避潜伏期均

长于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。低氟染毒组第 1、2、3、4 天时的逃避潜伏期与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组仔鼠 Morris 水迷宫定位航行实验中逃避潜伏期($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 Navigation results of Morris Water Labyrinth Positioning in three groups

分组	n	逃避潜伏期(s)			
		第 1 d	第 2 d	第 3 d	第 4 d
对照组	24	101.1 ± 19.1	95.7 ± 24.9	94.8 ± 24.1	76.9 ± 25.1
高氟染毒组	24	111.5 ± 18.7 ⁽¹⁾	108.3 ± 21.8 ⁽¹⁾	107.3 ± 25.1 ⁽¹⁾	103.4 ± 20.9 ⁽¹⁾
低氟染毒组	24	104.8 ± 16.3	104.5 ± 25.7	97.9 ± 21.7	84.9 ± 23.5

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

2.2 仔鼠体质量

高氟染毒组 6 周时体质量明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。低氟染毒组 1、3 和 6 周时体质量与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 3 组仔鼠体质量变化($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Body weight change of 3 groups

分组	n	体质量(g)		
		1 周	3 周	6 周
对照组	24	13.49 ± 1.66	37.83 ± 8.57	123.14 ± 12.38
高氟染毒组	24	13.09 ± 2.08	33.14 ± 9.96	114.25 ± 12.62 ⁽¹⁾
低氟染毒组	24	13.42 ± 2.52	34.27 ± 9.89	117.37 ± 11.35

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

2.3 仔鼠海马组织匀浆中单胺类神经递质水平

高氟染毒组仔鼠海马组织匀浆中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。低氟染毒组仔鼠海马组织匀浆中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 3 组仔鼠海马组织匀浆单胺类神经递质水平($\bar{x} \pm s$)
Tab. 3 Levels of monoamine neurotransmitters in hippocampal homogenate of three groups

分组	n	海马组织匀浆(μg/g)		
		NE	DA	5-HT
对照组	24	0.575 ± 0.116	0.676 ± 0.152	1.231 ± 0.215
高氟染毒组	24	0.327 ± 0.096 ⁽¹⁾	0.115 ± 0.069 ⁽¹⁾	1.039 ± 0.208 ⁽¹⁾
低氟染毒组	24	0.532 ± 0.128	0.636 ± 0.174	1.172 ± 0.213

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

2.4 仔鼠脑组织中 SOD、MDA 表达

高氟染毒组仔鼠脑组织中 SOD 明显低于对照组和低氟染毒组,MDA 明显高于对照组和低氟染

毒组,差异有统计学意义($P < 0.05$);低氟染毒组仔鼠脑组织中 SOD 明显低于对照组,MDA 明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 3 组仔鼠脑组织中 SOD、MDA 水平($\bar{x} \pm s$)
Tab. 4 The level of SOD and MDA in brain tissue of 3 groups

分组	n	脑组织	
		SOD(μg/L)	MDA(nmol/L)
对照组	24	46.16 ± 4.63	179.83 ± 27.12
高氟染毒组	24	35.98 ± 4.27 ⁽¹⁾⁽²⁾	232.52 ± 30.95 ⁽¹⁾⁽²⁾
低氟染毒组	24	41.36 ± 3.59 ⁽¹⁾	205.43 ± 31.36 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与低剂量组比较, $P < 0.05$

3 讨论

胚胎期、哺乳期均是子代脑发育的关键时期,氟染毒后,氟通过胎盘、乳汁进入胎儿体内并蓄积,产生神经毒性,主要损伤神经递质与神经元之间的突触传递,表现为自主活动增加、学习记忆能力下降、认知能力下降等^[5-6]。行为学实验是神经领域重要的实验方法,本研究选用 Morris 水迷宫定位航行是检测子代空间学习记忆能力。本研究结果显示,高氟染毒组定位航行潜伏期明显延长,6 周时体重明显减少,表明高氟染毒对仔鼠的空间学习记忆能力造成损害,影响仔鼠的生长发育,该结果与李明艳等^[7]的研究结果一致。

有研究表明,单胺类神经递质是学习记忆的能力的重要调控子,其中,NE 是海马中 β 肾上腺素发出传导信号,能够修复空间记忆、长时间保存记忆;DA 是最重要的神经递质,受体包括 D1 受体和 D2 受体,具有调节海马的突触可塑性,突触的长时程增强,学习记忆能力增强,还具有参与完成精细动作、保持正常姿势等作用;5-HT 是脑内重要的神

经递质,与谷氨酸-谷氨酰胺循环、乙酰胆碱、肾上腺素等多种神经递质间相互作用,影响学习、记忆、认知、情感等功能^[8]。单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 含量减少将导致神经信息传导异常^[9]。本研究结果显示,高氟染毒组脑组织中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 含量均明显低于对照组,而低氟染毒组脑组织中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 含量与对照组差异不大。表明高氟染毒导致脑组织中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 含量降低,提示高氟染毒进一步影响了空间学习记忆能力。SOD 是阻止自由基的防御系统,MDA 是自由基损伤的标准,均反映发生氧化损伤的程度。本研究结果显示,高氟染毒组和低氟染毒组的 SOD 均明显低于对照组,MDA 均明显高于对照组。表明高氟染毒和低氟染毒均影响了脑组织的正常代谢,产生过多的自由基损害仔鼠的神经功能,该结果与罗教华等^[10]研究结果一致。

综上所述,孕哺期高氟染毒降低了仔鼠海马组织中单胺类神经递质 NE、DA、5-HT 含量,脂质过氧化损伤明显,影响了仔鼠空间学习能力及生长发育。

4 参考文献

[1] 刘晓晖,刘冰,金一和. 孕哺期全氟辛烷磺酸染毒对大鼠海马细胞钙稳态的影响[J]. 生态毒理学报, 2011,6(1):67-73.

- [2] 谢春,杨小雪,吴宇,等. 氟铝联合暴露对仔鼠空间学习记忆及氨基酸类神经递质的影响[J]. 环境与卫生学杂志, 2015,5(4):321-327.
- [3] 高艳玲,徐园园,刘连,等. 氟致大鼠学习记忆能力下降及硒的拮抗作用观察[J]. 微量元素与健康研究杂志, 2009,26(2):1-3.
- [4] 朱玉龙,郑玉建,吕小敏,等. 氟对大鼠学习记忆及脑内单胺类神经递质浓度的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2015,35(3):330-333.
- [5] 李明艳,佟俊旺,曾洋,等. 妊娠期和哺乳期氟、砷暴露对仔鼠生长发育和神经行为的影响[J]. 环境与职业医学, 2014,31(1):44-47.
- [6] 张璟,祝文静,章子贵. 孕鼠氟暴露对仔鼠学习记忆能力影响[J]. 中国公共卫生, 2009,25(5):1347-1348.
- [7] 李明艳,曹福源,曾洋,等. 生命早期氟和砷暴露对大鼠空间学习记忆能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2013,30(10):853-856.
- [8] 桂传枝,冉龙艳,官志忠. 燃煤型氟中毒仔鼠大脑皮质超微结构改变[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(11):1367-1369.
- [9] 刘婉婉,许璐,董宪喆,等. 开心散类方对慢性应激大鼠行为学及中枢单胺类神经递质的影响[J]. 中国中药杂志, 2015,40(11):2180-2185.
- [10] 罗教华,邱志群,张勇燕,等. 饮水砷暴露对大鼠血液和脑组织砷蓄积及学习与记忆能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2008,25(10):851-853.

(2018-01-10 收稿,2018-03-30 修回)

中文编辑: 刘平; 英文编辑: 乐萍