

- 1814.
- [5] 谢辉,王雅静,帖超男,等. Chelex-100法及酚氯仿法提取阴道毛滴虫 DNA 的比较 [J]. 四川动物, 2004, 23(4): 338-340
- [6] Xiao JC, Xie LF, Fang SL, et al. Symbiosis of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* may link metronidazole resistance *in vitro* [J]. Parasitol Res 2006, 100(1): 123-130
- [7] Katiyar SK, Vivesana GS, Edlind TD. Comparison of ribosomal RNA sequences from an mitochondrial protozoan: implications for processing mRNA binding and paramyxin susceptibility [J]. Gene 1995, 152: 27-33

收稿日期: 2009-02-19

(郑新编辑 李贵福校对)

文章编号: 1001-0580(2009)11-1347-02 中图分类号: R 599 文献标志码: A

【实验研究】

孕鼠氟暴露对仔鼠学习记忆能力影响*

张璟, 祝文静, 章子贵

摘要: 目的 探讨孕鼠氟暴露通过胎盘屏障对仔鼠学习记忆能力影响及可能机制。方法 采用开场行为、水迷宫试验观察孕鼠饮用不同浓度氟化钠溶液对仔鼠自发性行为、学习记忆的影响, 检测仔鼠脑内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性及丙二醛 (MDA) 含量。结果 与对照组 (33.91±7.36) 比较, 低氟组仔鼠站立次数 (44.64±4.73) 明显增多 ($P < 0.01$); 与对照组比较, 低氟组和高氟组粪便颗粒明显减少 ($P < 0.01$), 中氟组、高氟组仔鼠 3 min 内移动格数明显减少 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 中氟组和高氟组仔鼠 1 min 内移动格数分别为 (44.82±9.74), (40.60±11.29), 明显低于低氟组的 (57.93±14.64) ($P < 0.01$); 与对照组比较, 中氟组和高氟组仔鼠学习能力有下降趋势; 高氟组仔鼠脑内 SOD 活性 (490.43±48.86) U/mL 明显低于对照组 (543.54±36.72) U/mL, 各染氟组仔鼠脑内 MDA 含量有升高的趋势。结论 孕鼠氟暴露可通过胎盘屏障对仔鼠学习记忆能力产生一定影响, 并可能与脑内 SOD 活性及 MDA 含量有关。

关键词: 氟中毒; 胎盘屏障; 开场行为; 学习记忆; 超氧化物歧化酶 (SOD); 丙二醛 (MDA)

Influence of fluorosis on learning memory of pup rats and activities of SOD and content of MDA in brain ZHANG Jing ZHU Wenjing ZHANG Ziguai College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University (Jinhua 321004, China)

Abstract Objective To observed whether the pregnant rats fluorosis could influence the capability of learning memory behavior of pup rats **Methods** Open-field and Morris tests were conducted after the pregnant rats drinking different concentration of NaF for a long time. The learning memory behavior, the varieties of the activity of superoxide dismutase (SOD), and the content of malonaldehyde (MDA) in pup rats' brain were investigated **Results** Compared with the control group, the number of standing for low-fluoride group rats increased markedly ($P < 0.01$). The fecal particles of the low and high-fluoride group significantly reduced. The ambulation in three minutes for rats of the middle and high-fluoride group decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the low-fluoride group, the ambulation in one minute of the middle and high fluoride groups decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with the control group, the learning ability of middle and high fluoride groups presented deterioration. The activity of SOD in pup rats' brain in high fluoride groups was lower than that of the control group ($P < 0.05$). There was an increase trend for the content of MDA in pup rats **Conclusion**

Fluorosis of pregnant rats had significant adverse effects on open-field behavior, the capacity of learning, the activity of SOD, and the content of MDA in pup rats

Key words fluorosis; placental barrier; open-field behavior; learning memory; SOD; MDA

近年来, 氟中毒对神经系统的影响备受关注。已有实验证实, 氟可透过血脑屏障蓄积于脑内^[1], 影响大鼠学习记忆能力^[2], 但对氟能否透过胎盘屏障, 影响子代学习记忆的研究较少。本研究通过给予孕鼠饮用氟化钠溶液, 应用开场行为和水迷宫试验观察仔鼠学习记忆行为, 并检测仔鼠脑组织内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性及丙二醛 (MDA) 含量, 旨在探讨高氟通过胎盘屏障对仔鼠学习记忆的影响及氟中毒致脑损伤的神经作用机制。现报告如下。

1 材料与方

* 基金项目: 国家自然科学基金 (30871295); 浙江省自然科学基金 (Y207751)

作者单位: 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华 321004
作者简介: 张璟 (1983-), 女, 山东青岛人, 硕士在读, 研究方向: 污染生态学。

通讯作者: 章子贵

1.1 材料

1.1.1 实验动物 12只 1月龄 ICR 小鼠 (金华市药检所实验动物饲养中心), 其中雌鼠 4只, 雄鼠 8只, 体重 18~22 g。

1.1.2 主要试剂与仪器 三羟甲基氨基甲烷 (进口分装, 上海生工公司); 邻苯三酚、硫代巴比妥酸、氟化钠、正丁醇等其他试剂 (分析纯, 金华试剂公司)。全波长酶标仪 (美国 Thermo 公司); 5417R 高速离心机 (德国 Eppendorf 公司); DK-8D 数显恒温水浴锅 (科源仪器设备厂)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与处理 12只小鼠随机分成 4组: 对照组、低氟组、中氟组、高氟组, 每组按雌雄鼠 1:2 的比例进行合笼, 合笼期自由饮食饮水。纯水及饲料均不含氟。自雌鼠怀孕 7 d 起采用自由饮水方式染毒至母鼠分娩, 对照组饮用纯水。低、中、高氟组分别饮用浓度为 2.5、5.0、10.0 mg/L 的氟化钠

溶液。

1.2.2 开场行为^[3]和 Morris水迷宫^[4]实验 开场行为主要观察各组仔鼠在全新环境中自发行为的表现差异^[3]; Morris水迷宫主要检测仔鼠空间分辨学习记忆能力^[4]。仔鼠断乳后,选择体重在 18~20 g的仔鼠 37只(对照组、低氟组、中氟组、高氟组仔鼠分别有 9 10 9 9只)。实验操作参照文献^[3-4]。

1.2.3 脑组织 SOD活性和 MDA含量的测定 行为检测结束后,杀仔鼠取其全脑,分别用邻苯三酚自氧化法^[5]和硫代巴比妥酸法^[6]测定脑匀浆液中 SOD活性和 MDA含量。

1.3 统计分析 采用 Gumbb法对实验数据中的可疑值进行取舍,采用 SPSS15.0软件进行统计处理,各组均数的两两比较采用 *t*检验。

2 结果

2.1 各组仔鼠开场行为测试(表 1) 表 1可见,与对照组比较,中氟组和高氟组 3min 内的移动格数均明显减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);低氟组和高氟组粪便粒数均明显减少($P < 0.01$);低氟组站立次数明显增多($P < 0.01$)。与低氟组比较,中氟组和高氟组 1min 内的移动格数明显减少($P < 0.01$);高、中、低氟组理毛次数低于对照组,但差异无统计学意义。结果表明,孕鼠氟中毒对仔鼠神经系统的兴奋性有一定程度的影响。

表 1 不同组别仔鼠开场行为比较($\bar{x} \pm s$)

组别	移动格数		粪便粒数	理毛次数	站立次数
	1min内	3min内			
对照组	49.36±14.73	143.00±38.26	2.63±1.50	4.82±2.05	33.91±7.36
低氟组	57.93±14.64	148.50±40.93	0.86±0.95 ^b	3.83±1.17	44.64±4.73 ^b
中氟组	44.82±9.74 ^c	107.88±26.65 ^b	1.71±1.49	3.92±2.39	30.08±9.48
高氟组	40.60±11.29 ^c	105.60±33.20 ^a	0.1±0.32 ^b	4.10±3.32	31.80±6.68

注:与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$;与低氟组比较, c $P < 0.01$ 。

2.2 各组 Morris水迷宫实验结果(表 2) 表 2显示,与对照组比较,低、中、高氟组 Morris水迷宫逃避潜伏期无明显差别,但中氟组和高氟组仔鼠的学习记忆能力有下降趋势;与低氟组比较,各组的学习记忆能力均有下降。

表 2 不同组别对仔鼠水迷宫逃避潜伏期的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期				
	第 1 d	第 2 d	第 3 d	第 4 d	平均(d)
对照组	50.59±12.42	52.48±12.44	46.86±17.14	41.95±15.12	47.97±12.90
低氟组	48.90±12.86	42.65±14.19	42.96±16.21	43.17±14.28	44.42±10.89
中氟组	59.03±2.69	52.53±12.12	48.99±15.07	47.65±17.86	52.08±10.24
高氟组	57.95±6.48	46.15±13.38	44.83±11.89	46.85±14.92	48.94±9.09

2.3 SOD活性及MDA含量检测结果 对照组、低氟组、中氟组、高氟组 SOD活性分别为(543.54±36.72), (540.97±56.29), (538.60±49.19), (490.43±48.86)U/ml;与对照组比较,高氟组仔鼠脑内 SOD活性明显降低($P < 0.05$);低氟组和中氟组仔鼠脑内 SOD活性虽低于对照组,但差异均无统计

学意义。对照组、低氟组、中氟组、高氟组的 MDA含量分别为(8.02±1.67), (8.19±1.01), (8.26±1.84), (8.13±1.11)mmol/L;与对照组比较,低氟组、中氟组、高氟组 MDA含量均升高,但差异均无统计学意义。

3 讨论

开场行为和水迷宫实验结果表明,孕鼠高氟摄入可对其仔鼠的中枢神经系统兴奋性和学习记忆能力造成一定程度的损伤。低氟组小鼠 Morris水迷宫逃避潜伏期低于对照组,可能因为氟是小鼠必需的微量元素,因此低剂量氟有助于其提高学习记忆能力。氟中毒引起脑损伤的机制可能与脂质过氧化作用有关^[7-8], SOD是抗脂质过氧化酶防御系统中一个重要的酶。因此推测,随其活性下降,脂质过氧化反应终产物 MDA含量可能会增多,但对 SOD活性和 MDA含量的相关性报道不尽相同^[9-10]。本研究结果表明,氟可通过胎盘屏障进入仔鼠体内,并蓄积在仔鼠脑内。高氟可明显降低仔鼠脑内 SOD活性($P < 0.05$);各组仔鼠脑内 MDA含量有升高趋势,与推测结果相吻合。高氟组仔鼠脑内 MDA含量较对照组有所升高,但较低氟组与中氟组有所下降,可能是一种机能代偿。胎儿因其独特的生理发育特点可能对氟的毒性更为敏感,因此,母体氟暴露透过胎盘屏障对子代学习记忆的影响值得进一步研究。氟中毒对机体神经系统的损伤机制十分复杂,其神经毒理作用机制还有待于深入研究^[11]。

参考文献

- [1] Markesbery WR, Kryscio RJ, Lovell MA, et al. Lipid peroxidation is an early event in the brain in amnesic mild cognitive impairment [J]. *Ann Neurol* 2005; 58(5): 730-735.
- [2] Wang JD, Ge YM, Ning HM, et al. Effect of high fluoride and low iodine on biochemical indexes of the brain and learning memory of offspring rats [J]. *Fluoride* 2004; 37(3): 201-208.
- [3] 高炳俊, 胡治国, 惠达, 等. 有氧运动对心理应激衰老大鼠行为和氧自由基的影响 [J]. *苏州大学学报: 医学版*, 2007; 17(2): 138-141.
- [4] 张朗, 宋峰, 侯一平, 等. 磷脂酰胆碱对血管性痴呆大鼠学习记忆的影响 [J]. *营养学报*, 2007; 2(1): 20-22.
- [5] 李永利, 张焱. 邻苯三酚自氧化法测定 SOD活性 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2000; 10(6): 673.
- [6] 章子贵, 申秀英, 许晓路, 等. 稀土元素铈对大鼠学习记忆和抗氧化能力的影响 [J]. *浙江师范大学学报: 自然科学版*, 2004; 27(2): 167-170.
- [7] Shiyaniashankara YM, Shiyaniashankara AR, Gopalakrishna BP, et al. Histological changes in the brain of young fluoride-intoxicated rats [J]. *Fluoride* 2002; 35(1): 12-21.
- [8] Shanthakumari D, Srinivasulu S, Subramanian S. Effect of fluoride intoxication on lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats [J]. *Toxicol* 2004; 204(23): 219-228.
- [9] 陈杨, 于燕妮, 吕学霞, 等. 氧化应激在燃煤污染型氟中毒大鼠中的作用 [J]. *中国实用医药*, 2008; 4(6): 8.
- [10] 杨维东, 张萍, 刘洁生, 等. 长期稀土钇暴露对大鼠学习记忆能力影响 [J]. *中国公共卫生*, 2008; 24(2): 183-184.
- [11] Zhang M, Wang A, Xia T, et al. Effects of fluoride on DNA damage, S-phase cell cycle arrest and the expression of NF- κ B in primary cultured rat hippocampal neurons [J]. *Toxicology Letters* 2008; 179(1): 1-5.

收稿日期: 2009-03-09

(王奕编辑 李贵福校对)