

· 论 著 ·

低浓度家装污染对孕鼠子代神经系统形态及功能的影响*

张 红¹, 赵聪敏^{2△}, 张雨平², 王文艺²

(1. 解放军第三二四医院儿科, 重庆 400020; 2. 第三军医大学新桥医院儿科, 重庆 400037)

摘要:目的 探讨低浓度家装污染对孕鼠子代神经系统的形态和神经行为的影响。方法 将孕鼠随机分为对照组和染毒组, 分别在孕早期(d1~d10)给予相应的处理。在生后不同时间观察新生大鼠大脑的发育以及海马神经元的形态变化, 并检测新生大鼠的早期反射和神经行为活动。结果 各组新生大鼠脑组织无畸形, 但染毒组海马 CA1 区变性坏死的神经元数量明显多于对照组($P<0.01$)。出生 1 个月后染毒组海马 CA1 区神经元的数量明显少于对照组($P<0.05$)。行为学检测发现, 染毒组早期反射出现的时间均明显长于对照组, 且空间探索能力降低。结论 化学染毒可导致新生大鼠海马神经元的变性、坏死, 并对仔鼠的学习记忆功能具有损害作用。

关键词:化学染毒; 孕鼠; 神经形态; 神经功能

中图分类号: R122.2; R338.26

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2009)22-2782-02

Effects of early pregnancy exposure to low-density hazardous indoor pollutants due to interior decoration on morphology and function of nervous system in postnatal rats

ZHANG Hong¹, ZHAO Cong-min^{2△}, ZHANG Yu-ping², et al.

(1. Department of Pediatrics, No. 324 Hospital of PLA, Chongqing 400021, China;

2. Department of Pediatrics, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To observe the effects of low-density hazardous indoor on neuronal morphology and function of pregnant rat offspring. **Methods** Pregnant rats were divided into two groups randomly; the controlled group and chemical compounds exposed group. All animals were treated respectively at D1-D10 during pregnancy. The development of brain and changes of hippocampus neuronal morphology were observed at different time after born. The primary reflex activity of new-born rats and neural behavior were also examined. **Results** There were no abnormalities in the brain of new-born rats in two groups. In chemical compounds polluted groups, the number of degeneration and necrosis neurons in CA1 region of hippocampus were much more than those in controlled group ($P<0.01$). One month after born, the number of existed neurons in CA1 region of hippocampus were less than those in controlled groups ($P<0.05$). The times of early period reflex appearance in chemical compounds exposed group was significantly longer than those in controlled group, furthermore, the ability of special exploring was also decreased in chemical compounds exposed group. **Conclusion** Chemical compounds exposure can induce degeneration and necrosis of hippocampus neurons and do harm to the learning and memory function of postnatal rats.

Key words: chemical compounds exposure; pregnant rat; neuronal morphology; neuronal function

胚胎期脑发育过程中, 许多不良环境的刺激均容易导致脑结构和功能的发育不良^[1]。近年来虽然家装污染物对胎儿的影响受到了广泛的关注, 但是低浓度的家装污染对孕早期胎儿有何影响则研究报道较少。因此, 本实验模拟低浓度家装污染作用于怀孕大鼠早期胚胎发育, 探讨其对新生大鼠神经系统发育的影响, 希望为优生优育提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 动物分组与处理 将健康的 SD 雌性大鼠, 体质量 210~220g; 雄性大鼠 225~275g (第三军医大学大坪医院实验动物中心繁育提供) 按 2:1 比例于每晚 18:00 合笼过夜, 次日清晨检查雌鼠, 以发现阴栓为妊娠依据, 并定为怀孕第 1 天(d1)。然后将 10 只孕鼠随机分成 2 组: 对照组 5 只, 将孕鼠放入染毒柜中 2h, 不放任何污染物。低浓度家装污染组 (简称染毒组) 5 只, 染毒柜中含苯 6 μ L、甲苯 0.01mL、二甲苯 0.01mL、甲醛 0.2 mL。各组每天处理 2h, 共 10d(d1~d10)。其中染毒组各化学

成分的比例是根据家装主要污染物的种类来配置。各化学成分的最终浓度为: 甲醛 20mg/m³; 苯 22mg/m³; 甲苯 40mg/m³; 二甲苯 40mg/m³。实验期间自由饮水进食。每天处理结束后, 孕鼠放回正常生活环境。孕鼠 d22~d23 相继产仔, 各组产仔总数为: 对照组 47 只, 染毒组 57 只。

1.2 大体观察指标 待各组动物正常生产后, 各组随机取 5 只新生大鼠的大脑, 在体视显微镜下观察神经管、体节和头部形态发育的情况。

1.3 病理学检测及分析 各组分别随机取 5 只新生大鼠和生后 1 个月的大鼠 (在清洁级环境中饲养) 进行常规麻醉、固定和灌注后取大脑组织, 制作石蜡切片, 根据大鼠立体定位图谱选择海马区域组织进行连续切片, HE 染色, 观察海马组织 CA1 区域所有神经元的形态和数量的变化。神经元计数是在放大 200 倍的光镜下, 随机选取 5 个视野, 计数胞体清晰, 胞核完整的正常神经元。胞浆皱缩, 胞核深染, 甚至胞核溶解的细胞被

* 基金项目: 国家计生委科技攻关项目 (2007B070)。△ 通讯作者, 电话: (023)68755602; E-mail: zhao_54@163.com。

认为是变性坏死的神经元。

1.4 行为学检测 出生后检测各组新生大鼠的负趋向性、表面翻正反射和空间翻正反射出现的时间。

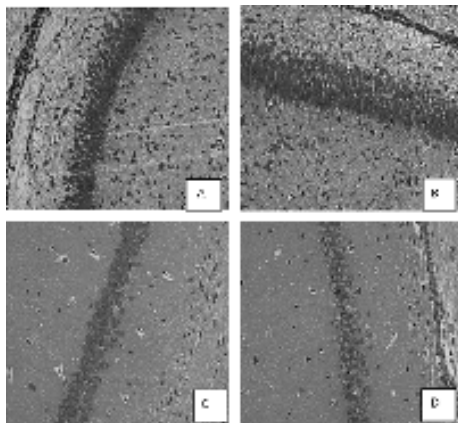
1.5 生后 28d 采用 Morris 水迷宫进行大鼠学习记忆能力检测。

1.6 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计分析软件进行数据处理。统计描述采用 $\bar{x} \pm s$, 各组间的比较采用单因素方差分析进行检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大体观察 各组新生大鼠的大脑组织形态正常, 两半球结构清晰, 沟回明显, 在体视显微镜下未发现神经管未闭和体节段发育异常的动物。

2.2 病理染色结果 各组病理染色均可见核固缩的变性和坏死的神经元。其中刚出生时, 染毒组海马 CA1 区变性坏死的神经元数量明显多于对照组 ($P < 0.01$), 见图 1 和表 1。在出生 1 个月后, 虽然变性坏死的神经元数量有差异, 但差异无统计学意义。各组海马 CA1 区神经元的数量(个/高倍视野)统计结果发现, 刚出生时各组神经元的数量差异无统计学意义, 但在出生 1 个月后染毒组海马 CA1 区神经元的数量明显少于对照组 ($P < 0.05$), 见表 2。



A: 对照组(出生时); B: 染毒组(出生时); C: 对照组(出生 1 个月); D: 染毒组(出生 1 个月)。

图 1 各组新生大鼠海马组织 HE 染色(×200 倍)

表 1 海马 CA1 区变性坏死神经元数量($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	出生时	生后 1 个月
对照组	4.50 ± 1.29	2.75 ± 0.50
染毒组	22.50 ± 3.09*	5.25 ± 0.50

*: 与对照组比较, $P < 0.01$ 。

表 2 海马 CA1 区神经元的数量($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	出生时	生后 1 个月
对照组	72.75 ± 4.57	37.00 ± 1.63
染毒组	68.00 ± 2.94	23.25 ± 1.71*

*: 与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 各种反射活动出现的时间 染毒组各种早期反射出现的时间均明显长于对照组, 且差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 各种反射活动出现时间($\bar{x} \pm s, n=5; d$)

组别	负趋向性	表面翻正反射	空间翻正反射
对照组	7.67 ± 0.58	5.33 ± 0.57	10.67 ± 0.58
染毒组	11.50 ± 1.05*	8.17 ± 0.75*	17.50 ± 1.05*

* 与对照组比较, $P < 0.01$ 。

2.4 Morris 水迷宫检测 空间探索实验中, 染毒组穿越平台次数为(6.63 ± 0.74)次, 对照组为(7.83 ± 1.17)次, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

家装主要污染物甲醛和苯及其衍生物对人类危害具有相当的广泛性, 可作用于所有年龄组的人群。其对妊娠期妇女的影响除对母体本身产生危害外, 还可能对体内的胎儿造成一定的危害。近年来的报道中, 宫内甲醛和苯类物质暴露对出生后小儿多个系统的生理功能均会产生影响^[2-3]。本文将孕早期的大鼠暴露于低浓度污染物环境中, 观察其对仔鼠大脑组织发育与神经行为功能的影响。结果表明, 孕鼠在妊娠早期暴露于低浓度污染物的环境中不会导致新生仔鼠大脑形态发育明显的畸形, 但会导致新生仔鼠海马神经元的明显变性坏死, 而且在成年后海马特定区域神经元的数量减少。说明低浓度的污染物很可能还促进了发育过程中新生鼠海马神经元细胞的凋亡, 从而使幼年海马特定区域神经元的数量减少。

同时孕期受到污染物影响的孕鼠与对照组相比, 其子代早期反射, 如表面翻正反射、空间翻正反射、负趋向性出现的时间均明显延迟。说明低浓度家装污染对中枢神经系统具有抑制作用^[4-5]。

本次研究结果显示, Morris 水迷宫的空间探索实验中, 染毒组穿越平台次数明显少于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。表明在家装污染物的作用下, 仔鼠在目标象限的游泳时间逐渐缩短, 更多地表现为对目标的无效搜索, 说明在上述条件下对大鼠的学习记忆能力有损害作用, 影响了仔鼠脑的高级神经活动^[6-9]。这也与前述学习记忆密切相关的海马神经元形态和数量的改变结果具有很好的一致性。

本实验表明, 孕早期家装污染, 尤其是苯类和甲醛物质可导致新生大鼠海马神经元的变性、坏死, 并对发育鼠的学习记忆功能具有损害作用, 是一个很值得关注的问题。

参考文献:

[1] 杨巧媛, 雷毅雄, 黄福有. 新装修居室空气质量及居民健康状况调查[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(8): 985.
 [2] 徐国锋, 侯书芬, 李凤苏. 装修所致室内空气污染状况调查[J]. 环境与职业医学, 2008, 25(1): 76.
 [3] 李梓民, 何爱桃, 吴成秋, 等. 苯致小鼠胚胎肢芽发育毒作用[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(4): 458.
 [4] 杨在明, 裘著革, 杨丹凤, 等. 气态甲醛吸入染毒对小鼠水迷宫学习成绩及海马神经递质的影响[J]. 环境与健康杂志, 2006, 23(5): 402.
 [5] 王小玲, 原福胜, 张志红, 等. 甲醛吸入对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(5): 400.
 [6] Malek FA, Mvritz KU, Faghdnei J. A study on the effect of inhalative formaldehyde exposure on(下转第 2786 页)

见,与临床上早产儿 PVL 的发病年龄及发病机制相对应,作为研究未成熟脑损伤的动物模型已得到充分肯定。作者参照 Back 及石晶等^[3-4]的经验建立 PVL 模型,设计 EE、SE 及 IE 进行早期干预及对比观察,但考虑到 2 周内幼鼠尚未睁眼,活动少,睡眠多,所以,本实验建模后第 3 天只进行声音、气味、明暗灯光、冷暖及软硬物体等刺激,2 周后力求全面输入视觉、听觉、触觉、嗅觉、本体觉和温度觉等多感官刺激,并给予活动和相互交往的机会。结果显示,早期用 EE 干预的大鼠学习记忆功能方面较 IE 组及 SE 组有显著提高。而学习记忆能力又反映了脑白质的功能,说明早期丰富环境干预可促进未成熟大鼠脑白质损害脑功能的恢复,与对成年脑损伤^[8]和脑退行性疾病^[9]动物模型的结果相似。

NMDA 受体是离子型谷氨酸受体亚型,它被认为是突触可塑性及神经元长时程增强效应(long-term potentiation, LTP)的主要调控者,目前多数研究认为 NMDA 受体依赖的突触可塑性与海马形成的学习记忆等重要脑功能的完成密切相关。NMDA 受体至少存在 7 个亚单位,其中 NR1 亚单位是 NMDA 受体通道的必需组分,在 LTP 的形成过程中起重要作用,它的表达量代表了 NMDA 受体的表达水平。因此 NR1 的表达成了中枢神经系统的重要功能(学习和记忆的基础)^[10]。本实验结果显示,EE 组 NR1 表达明显高于 SE 组及 IE 组。其原因可能为:早期 EE 刺激可改善未成熟脑海马内的突触传递,增强突触的可塑性,诱导 LTP 增强,而 NR1 亚单位在 LTP 形成过程中起重要作用,因此 NR1 蛋白表达增多,最终使其学习记忆能力得到改善。

综上所述,早期干预可增强未成熟大鼠脑损伤的学习记忆能力,使未成熟大鼠脑损伤的脑功能恢复,NMDA 受体 NR1 表达增多可能是其学习记忆能力增强机制之一,这为临床早期应用 EE 干预早产儿脑损伤,减少神经伤残后遗症提供了理论依据。但国外研究显示,EE 虽可使成年大鼠脑损伤后运动能力及迷宫试验成绩显著提高,但 60d 后海马 CA1 神经元数量显著减少,推测原因可能为过长或过强给予了 EE 干预所致^[11]。因此对于未成熟脑,早期 EE 干预的强度、时段多长才能达到最佳效果,还需继续深入研究。

参考文献:

- [1] Taverna FA, Georgiou J, McDonald RJ, et al. Defective place cell activity in nociceptin receptor knockout mice with elevated NMDA receptor-dependent long-term potentiation[J]. *J Physiol*, 2005, 565(Pt 2): 579.
- [2] Will B, Galani R, Kelche C, et al. Recovery from brain injury in animals: Relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990-2002) [J]. *Prog Neurobiol*, 2004, 72(3): 167.
- [3] Back SA, Han BH, Luo NL, et al. Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2): 455.
- [4] 石晶,姚裕家,李晋辉,等. 未成熟大鼠实验性脑室周围白质软化动物模型的建立及评价[J]. *实用儿科临床杂志*, 2006, 21(19): 1330.
- [5] Rema V, Armstrong JM, Jenkinson N, et al. Short exposure to an enriched environment accelerates plasticity in the barrel cortex of adult rats[J]. *Neuroscience*, 2006, 140(2): 659.
- [6] Lemaire V, Lamarque S, Le MM, et al. postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis [J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 59(9): 786.
- [7] Yang J, Hou C, Ma N, et al. Enriched environment treatment restores impaired hippocampal synaptic plasticity and cognitive deficits induced by prenatal chronic stress [J]. *Neurobiol Learning Mem*, 2007, 87(5): 257.
- [8] Will B, Galani R, Kelche C, et al. Recovery from brain injury in animals: Relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990-2002) [J]. *Prog Neurobiol*, 2004, 72(5): 167.
- [9] Da'mico ASL, Paglia N. Enriched environment, nitric oxide production and synaptic plasticity prevent the aging-dependent impairment of spatial cognition [J]. *Mol Aspects Med*, 2004, 25(1-2): 91.
- [10] Lukoyanov NV, Paula BM. A single high dose of dizocilpine produces long-lasting impairment of the water maze performance in adult rats [J]. *Neurosci Lett*, 2000, 285(2): 139.
- [11] Farrell R, Evans S, Corbett D. Environmental enrichment enhances recovery of function but exacerbates ischemic cell death [J]. *Neuroscience*, 2001, 107(4): 585.

(收稿日期:2009-06-05)

(上接第 2783 页)

water labyrinth test performance in rat [J]. *Anatomischer Anzeiger*, 2003, 185: 277.

[7] 曹智丽,李友,贺彬琪,等. 甲醛对植入后小鼠胚胎发育毒性的时间-效应关系 [J]. *中国新药杂志*, 2007, 16(8): 607.

[8] 任振华,李光武. 甲苯神经毒性对小鼠神经行为功能的影响 [J]. *环境与职业医学*, 2006, 23(3): 264.

[9] Filley CM, Halliday W, Kleinschmidt-DeMasters BK. The effects of toluene on the central nervous system [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63(1): 1.

(收稿日期:2009-06-05)