

地方性氟病区胎儿大脑氨基酸类和单胺类递质含量测定

董 仲¹ 万昌武¹ 张小蕾² 刘家骧²

(¹贵阳医学院病理学教研室 ²贵州省老年医学研究所)

摘要 测定了慢性氟中毒病区引产胎儿大脑五种氨基酸及三种单胺类递质含量。发现兴奋性氨基酸门冬氨酸明显低于非病区胎儿,抑制性氨基酸牛磺酸含量明显高于非病区胎儿,主要抑制脊髓的甘氨酸含量明显减少。单胺类递质中去甲肾上腺素明显下降,额、枕部5-羟色胺升高,顶部(中央前、后回)5-羟色胺降低。

关键词 氟化物中毒 胎儿 脑氨基酸类 去甲肾上腺素 血清素

中图分类号 R599

随着对慢性氟中毒研究的日益深入,氟对中枢神经系统的作用越来越受到人们的重视。但迄今为止这方面的报道并不多,仅有一些流行病学调查及动物实验,有关氟对大脑直接损伤的证据甚少;我们曾对氟病区胎儿大脑进行体视学研究,发现神经细胞发育迟缓,分化较差。^[1]近年来,中枢神经系统内递质的作用已引起人们关注。为了了解氟中毒对发育中大脑的影响,我们收集了慢性氟中毒病区引产胎儿大脑,测定了五种氨基酸递质及三种单胺类递质的含量。

1 材料和方法

1.1 胎儿收集

1.1.1 病区胎儿 取自贵州省织金县,该地区煤含氟量平均143mg/kg,燃烧过程排放的氟量平均128.6mg/kg。当地居民主食玉米用煤烟烘烤后含氟量平均为13.9mg/kg,而饮水含氟量平均仅0.21mg/L,故为燃煤型地

方性氟中毒流行区。我们收集的10例胎儿,其母亲长期居住氟病区,食用高氟粮食,都患有不同程度的氟斑牙,其中Ⅱ度3例,Ⅰ度5例,Ⅲ度2例,但无临床症状及体征,亦无其他影响骨骼代谢之疾病。

1.1.2 对照组胎儿 取自贵州省贵阳市,该市粮食含氟量平均4.7mg/kg,饮水含氟量0.5mg/L,故为非氟中毒流行区。10例胎儿之母亲均为健康者。

1.1.3 标本处理 系采用人工水囊引产,产出后立即取大脑的额、顶、枕三部分,立即置-40℃低温保存。

1.1.4 胎龄 根据母亲停经史及胎儿顶臀长确定胎龄^[2],本实验收集的氟病区及对照地区胎儿胎龄均为5~7月。

1.2 测定方法

1.2.1 孕妇尿及血清氟含量测定

仪器及试剂:PXJ-IB型数字式离子计及CSP-F-1型氟离子选择电极。0.02M pH5.0柠檬酸三钠-硝酸钠缓冲液1μg/mlF⁻标准液。

* 卫生部青年科学基金资助课题

标本预处理及测定：孕妇清晨空腹抽取静脉血，分离血清；收集孕妇晨尿。用氟离子选择电极法测定血清及尿氟含量。

1.2.2 胎儿脑组织及骨组织氟含量测定

仪器及试剂：离子计及试剂同上，氟离子选择电极为201型，组织预处理及测定称取新鲜脑组织剪碎，烘干、炭化及灰化；取右侧股骨剔去肌肉及结缔组织，烘干、炭化及灰化。上述灰化后之脑组织、骨组织用氟离子选择电极法测定氟含量。

1.2.3 脑组织氨基酸类递质的测定

仪器及试剂 聚酰胺薄膜（浙江黄岩化学实验厂）7cm×7cm；紫外层析灯；双波长薄层扫描仪。门冬氨酸（Asp）、谷氨酸（Glu）、甘氨酸（Gly）、 γ -氨基丁酸（GABA）及牛磺酸（Tau）标准混合液，浓度为 $2 \times 10^{-4}M \sim 4 \times 10^{-4}M$ 。

组织预处理及测定 取顶部大脑组织按1:4（g/ml）用预冷三蒸水匀浆，离心，

去蛋白质沉淀，减压抽干，DN S化，聚酰胺薄膜层析，层析后之薄膜于双波长薄层扫描仪上进行扫描，并行进计算^[3]

1.2.4 不同部位脑组织单胺类递质的测定

仪器及试剂 高效液相色谱仪（美国Waters公司），包括570泵，460电化学检测器，U6K进样器及810色谱工作仪。去甲肾上腺素、肾上腺素、多巴胺、3,4-二羟基苯乙酸、5-羟色胺及5-羟吲哚乙酸均购自Sigma公司。

脑组织预处理及测定：精确称取一定量脑组织，加0.2N高氯酸（1:5）匀浆，在18 000r/min 4℃离心40min，取上清液100 μ l进样。工作电压0.70V，灵敏度0.2-nAFs，流量1.6ml/min。

2 结果

2.1 孕妇血清、尿含氟量和胎儿骨、脑组织含氟量见表1。

表1 孕妇和胎儿氟含量

Tab.1 Fluoride contents of the fetuses and their mothers

组别	例数	孕 妇		胎 儿	
		尿(μ g/ml)	血清(μ g/ml)	骨(μ g/g)	脑(μ g/g)
非病区	10	1.67 \pm 0.82	0.41 \pm 0.15	2.50 \pm 0.11	1.23 \pm 0.24
病 区	10	4.37 \pm 2.94	0.55 \pm 0.21	2.77 \pm 0.25	1.55 \pm 0.33
P 值		<0.05	>0.05	<0.05	≤0.05

表中数据为 $\bar{x} \pm SD$

从表中可看出氟病区孕妇血清及尿氟中含量均高于非病区孕妇，尿氟含量两组间差异有显著性（ $P < 0.05$ ）。氟病区胎儿骨和

脑组织中氟含量均高于非病区胎儿，且两种组织两组间差异均有显著性。

2.2 胎儿大脑氨基酸含量测定见表2、表3。

表2 胎儿大脑兴奋性氨基酸递质含量 (nmol/g) ($\bar{x} \pm SD$)

Tab.2 Exciting amino acid transmitters in the fetal brains

组别	例数	Asp	Glu
非病区	8	1762.89 ± 496.12	4408.29 ± 911.56
病区	10	1009.31 ± 225.25 ⁽¹⁾	4094.94 ± 895.35

⁽¹⁾P < 0.01表3 胎儿大脑抑制性氨基酸递质含量 (nmol/g) ($\bar{x} \pm SD$)

Tab.3 Inhibitory amino acid transmitters in the fetal brains

组别	例数	Tau	Gly	GABA
非病区	8	2506.10 ± 342.21	3422.55 ± 763.01	994.46 ± 99.16
病区	10	3653.09 ± 468.00 ⁽¹⁾	982.09 ± 210.70 ⁽¹⁾	779.51 ± 214.78 ⁽²⁾

⁽¹⁾P < 0.01 ⁽²⁾P < 0.05, 以下各表同

从表2可见, Asp含量在氟病区胎儿大脑明显低于非氟病区胎儿, 但Glu含量无明显差异。

明显高于非氟病区胎儿, 而Gly及GABA含量却低于非氟病区胎儿。

从表3可见, 氟病区胎儿大脑Tau含量

2.3 胎儿不同部位大脑组织单胺类递质含量见表4、表5。

表4 胎儿大脑去甲肾上腺素和肾上腺素含量 (mg/g) ($\bar{x} \pm SD$)

Tab.4 The contents of adrenalin and nor-adrenalin in the fetal brains

组别	例数	NE			E		
		额部	顶部	枕部	额部	顶部	枕部
非病区	10	37.83 ±16.25	92.91 ±41.12	41.58 ±10.92	13.81 ±1.01	17.44 ±2.82	13.06 ±1.53
病区	10	43.92 ±8.32	32.81 ⁽¹⁾ ±18.30	9.77 ⁽¹⁾ ±1.09	22.08 ⁽¹⁾ ±5.03	21.84 ⁽¹⁾ ±2.92	14.99 ±2.60

表5 胎儿大脑多巴胺及其代谢产物含量 (ng/g) ($\bar{x} \pm SD$)

Tab.5 The contents of dopamine and its metabolic product in the fetal brains

组别	例数	DA			DOPAC		
		额部	顶部	枕部	额部	顶部	枕部
非病区	10	3.53 ±1.70	5.28 ±2.79	4.25 ±1.66	6.35 ±1.98	8.01 ±4.36	0.94 ±0.36
病区	10	15.66 ⁽¹⁾ ±12.14	7.34 ±3.92	4.07 ±2.48	15.91 ⁽²⁾ ±8.20	10.34 ±8.66	4.07 ⁽²⁾ ±2.82

表6 胎儿大脑5-羟色胺及其代谢产物含量 (ng/g)

Tab.6 The contents of 5-HT and its metabolic product in the fetal brains

组别	例数	5-HT			5-HIAA		
		额部	顶部	枕部	额部	顶部	枕部
非病区	10	19.61 ±7.13	450.60 ±319.93	1.66 ±0.43	24.36 ±8.85	37.53 ±20.14	177.96 ±34.19
病区	10	130.37 ⁽¹⁾ ±52.30	123.34 ⁽¹⁾ ±31.91	10.50 ⁽¹⁾ ±2.17	56.21 ⁽¹⁾ ±21.13	31.28 ±18.95	23.36 ⁽¹⁾ ±16.51

3 讨论

本研究测定了氟病区10例引产胎儿母亲孕期尿氟含量,结果明显高于非病区同期孕妇,且此10例孕妇均患氟斑牙,表明这些孕妇均是慢性氟中毒患者,体内已有过量氟蓄积。

不少动物实验及流行病学调查已证明当孕妇摄入较大量氟时,氟可以通过胎盘进入胎儿体内,而且还可透过血脑屏障在脑组织中蓄积^[4],我们的测定结果也证实了这点,

因此,可以认为氟中毒母亲所生子女,从胎儿时期就开始接触较非病区胎儿更多的氟,且这些过量氟蓄积于脑中,对脑产生一定的影响。

我们测定的大脑中五种氨基酸的含量表明,兴奋性氨基酸Asp在氟病区胎儿大脑中含量较非病区胎儿明显下降;另一种兴奋性氨基酸Glu两组间无明显差异。从抑制性氨基酸测定结果看,Tau在氟病区胎儿大脑内是明显增加的,但是另两种抑制性递质Gly和GABA在氟病区胎儿大脑内均有下降,其中

Gly含量下降幅度很大。

有较多资料表明, 脑内去甲肾上腺素 (NE) 的存在使机体处于觉醒状态, 参与复杂的应答系统和睡眠、情绪等的调节^[5]。氟病区胎儿顶、枕部脑NE含量均较对照组有明显下降, 提示这种维持中枢神经系统处于适当兴奋状态的功能减弱。

脑顶部有感觉中枢, 管理全身痛、温、触、压以及位置觉和运动觉等体躯感觉。其中痛觉与5-羟色胺 (5-HT) 关系密切。许多实验表明5-HT系统受到抑制时, 导致痛觉过敏, 吗啡镇痛作用减弱。亦有资料表明NE参与镇痛, 但其作用可能是间接的。从我们实验结果看, 氟病区胎儿脑顶部5-HT明显下降, NE亦下降, 这与袁淑德等发现慢性氟中毒时下丘脑5-HT系统活动下降, 患者发生痛觉过敏等相符^[7], 可以从神经递质量的改变上去解释其发生机理。

与顶部相反, 氟病区胎儿额、枕部脑内5-HT含量明显高于对照组胎儿。5-HT在中枢神经系统主要表现为抑制作用, 因此它的增加能使额、枕部有关的功能减弱。额、枕部有视、听、说、书写中枢及内脏调节中枢, 更重要的是额前区与记忆等高级精神活动密切相关, 这些部位抑制作用的加强会带来不良后果。

我们测定大脑多巴胺(DA)含量的结果表明, 额部DA含量明显增加, 其代谢产物

3, 4-二羟基苯乙酸 (DOPAC) 亦明显增加, 而脑内DA主要分布于额叶和边缘区; 枕DA含量与对照组相比从数值上看并无差异, 但其代谢产物DOPAC明显增加, 故可推测合成仍是增加的, 可能导致神经精神异常。

(致谢 织金县妇幼保健站杨继英站长, 县人民医院儿科李筑大夫, 本院肖开棋、曾宪筠、温萍茵、卢步峰老师协助收集胎儿; 贵州省老年医学研究所唐筑灵协助测定脑组织递质含量, 在此一并致谢。)

参考文献

- 1 刘万兴, 等. 慢性氟中毒母鼠所生仔鼠的行为学和大脑组织形态学的实验研究. 中华病理学杂志, 1989, 18(4): 290
- 2 张爱宏, 等. 实用超声诊断学. 新编本. 陕西: 陕西科学技术出版社, 1986. 226~227
- 3 张小蕾. DNS反应—聚酰胺薄膜层析荧光扫描法测定大鼠各脑区递质氨基酸含量. 贵阳医学院学报, 1992, 17(1): 1
- 4 陈在射, 等. 氟在胎儿组织中的分布研究. 中国地方病学杂志, 1990, 9(6): 345
- 5 薛启冀. 神经系统的生理和病理化学. 第一版. 北京: 科学出版社, 1978. 143页 (1993—03—03收稿, 1993—09—20修回)

Detection of Amino-acid and Monoamine Neurotransmitters of the Brains of Human Fetuses from a Fluorosis Endemia

Dong Zhong, et al.

Department of Pathology, Guiyang Medical College

Five kinds of amino-acid neurotransmitters and monoamine neurotransmitters of the brains of therapeutically aborted fetuses from an endemic-fluorosis region were detected with thin layer chromatography and double beam thin layer scanner method. The material from a non-endemic region serves as the control. The results showed that the exciting amino acid, asparagin

(下转第246页)

lowered while the inhibitory one, taurine rose markedly. Glycine, a transmitter exerting an inhibitory effect on the spinal cord also decreased. As regards to the monoamines, the nor-epinephrine content decreased significantly while the 5-HT content was much higher than in the non-fluorotics fetuses. Besides, an increase of dopamine was noticed in the frontal lobe of the brains. The above findings should merit a large share of attention since they might result in some neuro-psychic abnormalities.

Key words: brain; fluoride poisoning; amino acids; norepinephrine; serotonin