

慢性氟中毒对人胎脑发育的影响

贵阳医学院病理学教研室* 独立 万昌武 曹序茂 刘家驹

摘要 对15例氟病区5~8个月胎龄人工引产的胎儿进行体视学检查,发现病区胎儿大脑、海马及小脑皮质神经细胞和未分化神经母细胞的数密度及神经细胞核质比增高;神经细胞平均体积降低。神经细胞线粒体的数密度、体积密度及表面积密度降低。表明过量的氟化物对脑组织的发育分化有一定的影响。

关键词 氟化物类 脑 中毒 影像处理, 计算机辅助

资料表明,慢性氟中毒的妊娠母体体内过多的氟可通过胎盘屏障转移给胎儿,引起其骨及许多非骨性组织的损伤^[1~3],包括脑组织的损伤。但关于氟化物对脑组织影响方面的研究甚少,且互相矛盾^[2,3]。为进一步研究胚胎期氟中毒脑组织病变的程度及性质,我们收集了氟病区人工引产胎儿,使用图像分析仪体视学方法,对其脑组织进行光镜及电镜下的形态定量分析。

材料与方法

一、胎儿标本的来源及分组

胎儿经水囊引产后,立即用含2%多聚甲醛、2%戊二醛的固定液经主动脉灌注固定。根据母亲停经史及胎儿顶臀长确定胎龄,根据其来源分为两组:

1. 病区组:共15例胎儿,胎龄5~8月,取自贵州省氟病重流行区。15例胎儿母亲均长年居住在该区,食用当地高氟粮食,患不同程度的氟斑牙,尿氟为 6.51 ± 3.92 ppm,但无临床氟骨症的症状和体征,未发现其它疾病。

2. 非病区组:共16例胎儿,胎龄5~8月,取自贵阳市,该市为非氟病流行区。16例胎儿母亲均为健康者,无氟斑牙,尿氟为 1.40 ± 1.06 ppm。

二、检测指标及方法

1. 取胎儿脑组织,用氟离子选择电极法测定氟含量。

2. 光镜检查:取大脑中央前回、海马及小脑组织,常规石蜡切片,HE及Nissil染色。在图像分析仪上根据体视学原理计算各结构参数^[4](VE单位= $100 \times 100 \times 100 \mu\text{m}^3$)。(1)皮质分层及发育情况。(2)皮质神经细胞体积密度、数密度、平均体积及核质比;未分化神经母细胞的数密度。

3. 电镜检查:取中央前回脑组织固定于2.5%戊二醛液中,电镜常规处理,在加速电压为60kV电镜下观察并在19000倍下拍照,放大一倍得总放大倍数为38000倍的照片,在图像分析仪上测量线粒体的面积和周边长,计算其体积密度、数密度及外膜表面积密度。电镜放大倍数用光栅复型校正,照片总放大倍数用测量法校准。

结果

病区胎儿脑氟含量为 $0.28 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$,高于非病区 $0.19 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$ ($P < 0.05$)。

光镜下,病区及非病区5~6个月龄胎儿大脑皮质分层尚不完全,可见分子层、外颗粒层及其下一密集细胞层;7~8个月龄胎儿能较清楚地分为六层结构。各胎龄胎儿海马及小脑均可分出三层结构,其中7~8个月龄非病区胎儿小脑浦氏细胞呈两行至单行整齐排列,病区组则呈多层不整齐排列。各胎龄小脑外颗粒层厚度,病区较非病区厚。大脑内锥体细胞、海马锥体细胞及小脑浦氏细胞的核质比,病区较非病区高。

电镜下,病区胎儿大脑皮质神经细胞细胞器较非病区组稀少,线粒体较小,嵴不明显,粗面内质网及游离核糖体少见。神经细胞线粒体的数密度、体积密度及表面积密度,病区较非病区低。

体视学检查见表1~3。

讨论

病区胎儿母亲长期生活在氟病区,食用高氟粮食,尿氟含量高,氟斑牙患病率100%,

* 邮政编码 550001

表 1 病区与非病区胎儿大脑中央前回皮质神经细胞的数密度($\bar{x} \pm s$)

组别	胎龄 (月)	例数	数密度(个/100 μm^3)			
			外颗粒细胞	外锥体细胞	未分化神经母细胞	内锥体细胞
非病区	5	5	3286 \pm 1125	2344 \pm 237	226 \pm 81	
	6	4	2432 \pm 701	1490 \pm 730	137 \pm 80	
	7	3	2126 \pm 283	924 \pm 57	113 \pm 8	936 \pm 31
	8	4	1584 \pm 218	770 \pm 86	76 \pm 34	748 \pm 107
氟病区	5	4	3389 \pm 265	2673 \pm 433	348 \pm 106	
	6	4	2864 \pm 200	1852 \pm 765	334 \pm 23*	
	7	5	2524 \pm 762	1633 \pm 651	280 \pm 81*	1247 \pm 110*
	8	2	2356 \pm 664	1262 \pm 168**	232 \pm 51**	1104 \pm 142*

注 同非病区同龄组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 病区与非病区胎儿海马皮质锥体细胞体视学测量结果($\bar{x} \pm s$)

组别	胎龄 (月)	例数	锥体细胞		未分化神经母细胞
			数密度(个/100 μm^3)	平均体积(μm^3)	数密度(个/100 μm^3)
非病区	5	5	2068 \pm 879	344 \pm 148	97 \pm 17
	6	4	1611 \pm 186	369 \pm 113	76 \pm 45
	7	3	1599 \pm 534	364 \pm 82	54 \pm 23
	8	4	1363 \pm 198	471 \pm 59	49 \pm 18
氟病区	5	4	2511 \pm 673	207 \pm 30	378 \pm 59**
	6	4	2074 \pm 352	219 \pm 53	283 \pm 70**
	7	5	1608 \pm 327	260 \pm 66	203 \pm 42**
	8	2	1365 \pm 297	338 \pm 82	145 \pm 14*

同非病区同龄组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 病区与非病区胎儿小脑皮质浦氏细胞体视学测量结果($\bar{x} \pm s$)

组别	胎龄 (月)	例数	数密度个/ μm^3	平均体积 μm^3
非病区	5	5	273 \pm 18	2631 \pm 599
	6	4	250 \pm 30	2835 \pm 459
	7	3	221 \pm 27	3403 \pm 739
	8	4	146 \pm 20	4043 \pm 580
氟病区	5	4	387 \pm 71	1634 \pm 63*
	6	4	294 \pm 35	1699 \pm 191**
	7	5	241 \pm 33	1936 \pm 645*
	8	2	228 \pm 35*	2195 \pm 130*

同非病区同龄组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表明其体内蓄积过量的氟,造成不同程度地慢性氟中毒。资料表明^[1~3],过量的氟可通过胎盘屏障转移给胎儿,并经血脑屏障蓄积于脑组织中,损害神经组织细胞,出现形态学改变。我们实验结果显示,病区胎儿脑氟含量增高,体视学检查病区各胎龄胎儿大脑皮质神经

细胞、海马锥体细胞及小脑浦氏细胞、未分化神经母细胞的数密度和核质比均较同龄非病区组高,平均体积均较非病区组低。部分胎龄由于样本例数较少,统计学处理无显著性差异($P > 0.05$),但仍存在一致的变化趋势。病区胎儿大脑皮质神经细胞线粒体的数密度、体积密度及表面积密度均低于非病区组。按 Robinowich 的观点^[5],单位体积中神经细胞及未分化神经母细胞数量增多,是神经组织细胞发育差的形态学指征之一。核质比的增高,反映了神经细胞的增殖能力、成熟程度及蛋白质合成受到了影响。一定浓度的氟化物能抑制体外培养细胞的蛋白质合成,氟中毒大鼠及其仔鼠脑组织 RNA 含量减少,ATP 的生成减少,能量代谢障碍^[6]。结合本文,可以推测,过量的氟可经血脑屏障进入脑组织,使 RNA 合成及能量代谢障碍,蛋白质及有关酶合成受阻,导致神经细胞发育分化迟缓。

海马及小
神经细胞
的影响。

固定于 2.5%戊
二为 60kV 电镜
音得总放大倍数
测量线粒体的面
积及外膜表面积
照片总放大倍

$\pm 0.14\mu\text{g/g}$,
0.05)。

5 个月龄胎
子层、外颗粒
、月龄胎
儿海马及小
3 个月龄非病
行整齐排列,
胎龄小脑外颗
、脑内锥体细
胞的核质比,

神经细胞细胞
, 畸不明显,
神经细胞线粒
密度, 病区较

病区, 食用高
病率 100%,

综上所述,慢性氟中毒时,妊娠母体血中过多的氟可通过胎盘屏障进入胎儿体内,并通过血脑屏障蓄积于脑组织中,对发育中的中枢神经系统产生影响,导致神经组织细胞发育分化迟缓。

本实验得到肖开棋、黄耀德、邓传静、蒋功博及唐慧等同志在课题设计、制片、光镜及电镜照像方面的帮助,特此志谢。

参 考 文 献

1 Geeraert F. Kinetics of fluoride penetraion in liver and

brain. Fluoride, 1986 19:108.
 2 官志忠,等.慢性氟中毒大鼠所生仔鼠大脑形态学改变的研究.中华病理学杂志,1986,15:297.
 3 何议,等.氟对人胎儿的影响.中国地方病防治杂志,1989,4:136.
 4 Weibel E R. Stereological Methods, Vol.1 :Practical Methods for Biological Morphometry, London: Academic Press, 1979;40-50.
 5 Robinowich T H. The cerebral cortex of the premature infant of the 8th-month. In:Purpura D P.ed. Growth and Maturation of the brain. New York: Elsevier, 1964,39-4.
 6 Holland R I. Fluoride inhibition of protein and DNA synthesis in cells in vitro. Acta Pharmacol Toxicol, 1979;45:96.

(收稿:1990-10-30 修回:1991-09-28)

The effect of fluorine on the developing human brain

Du Li et al

Department of Pathology, Guiyang Medical College, Guiyang 550001

Fifteen therapeutically aborted fetuses at the 5th-8th gestation month from the endemic fluorosis area were compared with those from the non-endemic area. Stereological study of the brains showed that the numerical density of volume of the neurons and the undifferentiated neuroblasts as well as the nucleus-cytoplasm ratio of the neurons were increased: The mean volume of the neurons was reduced, The numerical density of volume, the volume density and the surface density of the mitochondria were significantly reduced.

The results showed that chronic fluorosis in the course of intrauterine fetal life may produce certain harmful effects on the developing brain of the fetus.

Key words Fluorides Brain Poisoning Image processing, computer-assisted

• 技术交流 •

介绍两种最新自制玻璃标本缸封存剂

北京市创伤骨科研究所病理研究室* 席 越 韩 巽 林秀贞 孟淑琴

制做病理解剖大体标本,标本缸封口是较关键的技术,其封口质量由封存剂(又称接合剂)的性质和效果而定。我们找到了两种较为满意的工艺配方,经过反复实验,效果很好,现介绍如下。

一、配方

配方 I: 白色酯漆 100ml, 燕牌胶水 100ml, 蓝色酯漆 3~5 滴, 石膏粉 50~100g。

先将白色酯漆与胶水混合,搅拌均匀后加入蓝色酯漆调成淡蓝色(尽量接近标本缸颜色),最后加入石膏粉调成糊状。

配方 II: 生橡胶 80g, 氯仿 60ml, 硅酸钠 30g, 蒸馏水 30ml。

先将生橡胶溶于氯仿中,另将硅酸钠溶于蒸馏水中,再将上述两种溶液混合调匀,便可制成很好的封存剂,它的优点很突出,不仅接合牢固,且透明,并

不受潮湿侵蚀和温度的影响。

二、用法

将配制的上述封存剂,涂抹于已擦拭干净的标本缸口边缘(不可使封存剂流入缸内),涂抹厚度 2~3mm,稍干后即将缸盖垂直压放于封存剂上,观察四周无漏处,其上压以重物,数小时后即干,取下重物封存完成。

三、优点

(1)配制简便,易于掌握。(2)涂抹一次即可成所需厚度。(3)对缸口周边的缺损有修补作用。(4)干燥快。(5)坚固、耐久,不易受腐蚀。

以上两种封存剂都不易配制过多,最好用多少配多少,以免干涸浪费。

(收稿: 1991-03-09 修回: 1992-02-18)

邮政编码 100035

化学和
学上有
胃癌中
夫

我们
激素(HC
标记结合
细胞, 联
转移情况

128 例
均来自外科
一块组织,
染色, 按
扫的淋巴结
免疫组
法见表 1。
第一抗体,
胺阳性
Masson-F

抗 体
抗癌胚抗原
抗人绒毛膜
激素多克隆
抗 5 羟色胺

抗胃泌素多
抗溶菌酶多

电镜:
中切取小块
10% 锇酸固
柠檬酸铅双