

[J]. Neuroscience, 1993, 54: 287-322

20. Ye G, Tes AC, Yung W. Taurine inhibits rat substantia nigra pars reticulata neurons by activation of GABA and glycine-linked chloride conductance [J]. Brain Res. 1997; 749 (1): 175-179

作者简介: 徐兆发, 男, 1950 年 12 月出生, 中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室主任 教授, 博士生导师, 研究方向: 重金属中毒机制与防治, 联系电话 (024) 23256666-5395

利鲁唑和地卓西平对氯化锰致大鼠神经毒性影响的实验研究

邓宇 徐兆发* 徐斌 高健 邓小强 辛辛

(中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 辽宁 沈阳 110001)

目的 研究氯化锰对大鼠脑纹状体内谷氨酸-谷氨酰胺循环 (Glu-Gln Cycle) 和细胞凋亡的影响, 探讨利鲁唑和地卓西平对锰神经毒性的保护作用。**方法** 实验用 Wistar 大鼠 36 只, 按体重随机分成 4 组, 每组 9 只。第 1 组为对照组, 第 2 组为染锰组, 第 3、4 组分别为利鲁唑和地卓西平干预组。首先给予第 1、2 组大鼠皮下注射生理盐水; 第 3、4 组大鼠分别皮下注射 $21.35\mu\text{mol/kg}$ 利鲁唑和 $0.3\mu\text{mol/kg}$ 地卓西平。2 小时后, 第 1 组腹腔注射生理盐水, 第 2~4 组腹腔注射 $200\mu\text{mol/kg MnCl}_2$, 注射容量均为 5ml/kg 。连续干预并染毒 4 周, 每周 5 次。最后一次干预并染毒 24 小时后, 首先每组取 6 只大鼠麻醉后处死, 分离脑纹状体, 测定其内 Glu 和 Gln 的含量及谷氨酰胺合成酶 (GS) 和磷酸激活的谷氨酰胺酶 (PAG) 的活力; 再取各组剩余大鼠的纹状体组织制备成单细胞悬液, 用流式细胞仪检测细胞凋亡率。**结果** 与对照组 Glu 和 Gln 的含量 ($19.55\pm 3.23\mu\text{mol/g pro}$; $0.94\pm 0.25\text{mmol/g pro}$) 及 GS 和 PAG 的活力 ($62.53\pm 10.85\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$; $26.57\pm 3.97\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$) 相比, 在染锰组中, Glu 含量显著升高 ($48.81\pm 7.23\mu\text{mol/g pro}$, $P<0.01$); Gln 含量明显降低 ($0.57\pm 0.13\text{mmol/g pro}$, $P<0.01$); GS 活力显著降低 ($44.47\pm 6.93\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$, $P<0.01$); PAG 活力明显升高 ($41.02\pm 6.60\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$, $P<0.01$)。与染锰组比较在利鲁唑和地卓西平干预组, Gln 含量均显著升高 ($0.78\pm 0.16\text{mmol/g pro}$, $P<0.05$; $0.77\pm 0.14\text{mmol/g pro}$, $P<0.05$); GS 活力均明显升高 ($55.62\pm 8.64\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$, $P<0.05$; $56.55\pm 8.38\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$, $P<0.05$); PAG 活力均显著下降 ($30.26\pm 5.14\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$, $P<0.05$; $32.15\pm 5.72\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{pro}$, $P<0.05$), Glu 含量在利鲁唑干预组显著升高 ($40.00\pm 7.40\mu\text{mol/g pro}$, $P<0.05$) 而在地卓西平干预组未见明显改变。与对照组相比, 染锰组细胞凋亡率由 ($0.43\pm 0.11\%$) 明显增加至 ($64.27\pm 8.31\%$, $P<0.01$), 与染锰组相比在利鲁唑和地卓西平干预组中细胞凋亡率均明显降低 ($42.96\pm 6.98\%$, $P<0.01$; $39.55\pm 5.21\%$, $P<0.01$)。**结论** 亚急性染锰可以破坏 Glu-Gln Cycle 并导致细胞凋亡; 利鲁唑和地卓西平对锰的神经毒性有一定的保护作用。

关键词: 锰; 利鲁唑; 地卓西平; 神经毒性

基金项目: 国家自然科学基金 (项目编号: 30771834)

作者简介: 邓宇 (1981-), 女, 沈阳市人, 博士在读, 主要从事重金属毒理学研究。

*通讯作者: 徐兆发, 教授, 博士生导师。

The Effect of Riluzole and Dizocilpine Maleate on the Neurotoxicity in Rats by Manganese Chloride

Yu Deng, Zhaofa Xu*, Bin Xu, Jian Gao, Xiaoqiang Deng, Xin Xin

(Department of Environmental Health, China Medical University, Shenyang, 110001, China)

Abstract: Objectives The aim of this study was to observe the effect of MnCl_2 on "Glutamate-Glutamine Cycle" and apoptosis of cell in striatum and to approach the protection of riluzole and dizocilpine maleate on neurotoxicity of MnCl_2 . **Methods** The 36 Wistar rats were divided into four groups by weight at random, 9 animals for each group. The first group was the control group and the second group was MnCl_2 group. Both of the groups were subcutaneously (sc) injected with 0.9% sodium chloride. The third and fourth groups were intervention groups and were sc injected with $21.35\mu\text{mol/kg}$ riluzole and $0.3\mu\text{mol/kg}$ dizocilpine maleate respectively. Two hours later, the animals in the control group were intraperitoneally (ip) given the injection of 0.9% sodium chloride, from the second to fourth groups were ip injected with $200\mu\text{mol/kg}$ MnCl_2 . The administration above was given five times a week, lasting for 4 weeks. 24 hours after the last injection, 6 rats in each group sacrificed after paralyzed. The content of Glu, Gln and the activities of glutamine synthetase (GS), phosphate activated glutaminase (PAG) in striatum of the rats were determined. Apoptosis of cell in striatum of the other rats in each group was detected by flow cytometry (FCM) technique. **Results** Compared with the control group, in MnCl_2 group, the content of Glu increased; of Gln decreased; the activity of GS depressed and of PAG rose. Compared with MnCl_2 group, in both riluzole and dizocilpine maleate groups, the content of Gln increased; the activity of GS raised and PAG activity depressed. Compared with the control group, the apoptosis rates of cell in striatum increased. Compared with MnCl_2 group, the apoptosis rates of cell in striatum decreased in both riluzole and dizocilpine maleate groups. **Conclusions** "Glu-Gln Cycle" was destroyed and apoptosis was induced by MnCl_2 . Riluzole and dizocilpine maleate have a certain protective effect on neurotoxicity of MnCl_2 in rats.

Key Words: manganese chloride; dizocilpine maleate; riluzole; neurotoxicity

锰 (manganese, Mn) 是机体的必需微量元素之一, 广泛的存在于机体的组织、器官中^[1]。锰既是金属酶的重要组成部分, 又是许多酶的激活剂^[2]。然而, 过量的锰可以通过环境或职业暴露等多个途径接触进入机体主要蓄积在大脑的基底神经节 (包括纹状体、苍白球和黑质等), 可产生一种类似帕金森氏综合征的神经退行性病变, 称为锰中毒^[3]。关于锰中毒的机制尚未完全阐明, 有文献表明谷氨酸 (glutamate, Glu) 所致的神经兴奋毒性可能是锰中毒的机制之一^[4]。"谷氨酸-谷氨酰胺 (glutaminase, Gln) 循环" 在 Glu 的代谢和转运过程中发挥着十分重要的作用^[5]。

利鲁唑 (Riluzole) 属苯噻唑类化合物, 可通过抑制钠通道的激活减少 Glu 的释放, 保护谷氨酸转运体 (glutamate transporters, GluTs) 的功能^[6]。地卓西平马来酸盐 (Dizocilpine maleate, MK-801), 是一种强有力 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受体非竞争性拮抗剂^[7]。本实验通过观察利鲁唑和 MK-801 对 MnCl_2 引起的脑纹状体内 Glu、Gln 含量, 谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GS)、磷酸激活的谷氨酰胺酶 (phosphate

activated glutaminase, PAG) 活力的改变及神经细胞凋亡 (apoptosis) 的影响, 研究锰中毒的机制, 为深入探讨锰的神经毒性提供依据和防治措施。

1 材料与方法

1.1 动物分组及染毒

由中国医科大学实验动物中心提供的实验用清洁级 Wistar 大鼠 36 只, 体重 (180±10) g, 雌雄各半。正式实验前饲养 7d, 然后按体重随机分成 4 组, 每组 9 只。第 1 组为对照组, 第 2 组为单纯染锰组, 均皮下注射 0.9% 的氯化钠; 第 3、4 组为干预组, 分别皮下注射 21.35μmol/kg 的利鲁唑和 0.3μmol/kg 的 MK-801, 皮下注射 2h 后, 第 1 组腹腔注射 0.9% 的氯化钠, 第 2~4 组腹腔注射 200μmol/kg MnCl₂。干预并染锰 4 周, 每周 5 次。

1.2 样品采集及测定指标

最后一次干预并染毒 24h 后, 各组取大鼠 6 只, 用乙醚麻醉后处死, 断头并迅速开颅取完整的大脑, 冰浴下切取脑纹状体, 制成相应的 5% 匀浆液。GS 的活性测定依据 Renis 描述的 γ-谷氨酰转氨酶的非生理学催化反应进行测定^[8]; PAG 的活性按 Curri 的方法测定^[9]; 蛋白含量测定用 Lowry 法^[10]。另取纹状体制成 10% 匀浆液, 根据南京建成试剂盒说明测定 Glu 和 Gln 的含量。

1.3 流式细胞仪检测纹状体组织细胞的凋亡

纹状体组织单细胞悬液的制作参照 Villalba 等^[11]的方法。最后一次干预并染毒 24h 后, 各组取剩余大鼠 3 只, 用乙醚麻醉后处死, 在冰浴下分离并称取 75mg 纹状体组织, 用 PBS 液冲洗 3~5 遍后剪碎, 置于 2ml 0.25% 胰蛋白酶中, 37℃ 水浴, 消化 20~30min, 并用吸管不断吹打。用含有 5~10ml 10% 小牛血清的 DMEM 终止反应。用吸管轻轻吹打 20 次后过 200 目筛网, 后 800rpm 离心 8min, 再次 PBS 液冲洗 1 次, 再 600rpm 离心 10min。用 PBS 液悬浮细胞至 4ml, 取 1ml 于试管中离心 800rpm 离心 5min 后, 弃上清, 加 0.5ml Buff 使细胞悬浮。按照凯基试剂说明书进行 PI 和 Annexin V-EGFP 染色。使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 并计算细胞凋亡率。

1.4 统计分析

用 SPSS 13.0 软件进行数据处理, 实验所得数据以平均值±标准差表示, 采用单因素方差分析进行组间差异的显著性检验, 两组间比较用 Q 检验 (SNK)。

2. 结果

2.1 纹状体内 Glu 和 Gln 的含量 (表 1)

大鼠染锰 4 周后, 与对照组相比, 在单纯染锰组中 Glu 的含量明显增加 ($P<0.01$); Gln 的含量明显降低 ($P<0.01$)。与单纯染锰组相比, 在利鲁唑干预组中 Glu 的含量显著降低 ($P<0.05$), Gln 的含量显著增加 ($P<0.05$); 在 MK-801 干预组中 Gln 的含量显著增加 ($P<0.05$), 而 Glu 的含量未见明显改变。

表 1 各组大鼠纹状体 Glu 和 Gln 的含量 (n=6 $\bar{x} \pm s$)

组别	Glu (μmol/g pro)	Gln (mmol/g pro)
对照组	19.55±3.23	0.94±0.25
MnCl ₂ 组	48.81±7.23**	0.57±0.13**
MK-801+MnCl ₂ 组	43.30±6.30	0.78±0.16 [△]
利鲁唑+MnCl ₂ 组	40.00±7.40 [△]	0.77±0.14 [△]

注: 与对照组比较, ** $P<0.01$; 与 MnCl₂组比较, [△] $P<0.05$

2.2 纹状体内 GS 和 PAG 的活力 (表 2)

大鼠染锰 4 周后，与对照组相比，在单纯染锰组中 GS 的活力明显降低($P<0.01$)；PAG 的活力明显增高($P<0.01$)。与单纯染锰组相比，在利鲁唑和 MK-801 干预组中 GS 的活力均显著增高($P<0.05$ ； $P<0.05$)，PAG 的活力均显著降低($P<0.05$ ； $P<0.05$)。

表 2 各组大鼠纹状体 GS 和 PAG 的活力 (n=6 $\bar{x} \pm s$)

组别	GS (U · min ⁻¹ · g ⁻¹ pro)	PAG (μmol · min ⁻¹ · g ⁻¹ pro)
对照组	62.53±10.85	26.57±3.97
MnCl ₂ 组	44.47±6.93**	41.02±6.60**
MK-801+MnCl ₂ 组	55.62±8.64 [△]	30.26±5.14 [△]
利鲁唑+MnCl ₂ 组	56.55±8.38 [△]	32.15±5.72 [△]

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与 MnCl₂组比较，[△] $P<0.05$

2.3 纹状体组织细胞的凋亡（图 1 及表 3）

大鼠染锰 4 周后，与对照组相比，在单纯染锰组中纹状体组织细胞的凋亡率明显增高 ($P<0.01$)；与单纯染锰组相比，在利鲁唑和 MK-801 干预组中细胞凋亡率均明显降低 ($P<0.01$ ； $P<0.01$)。

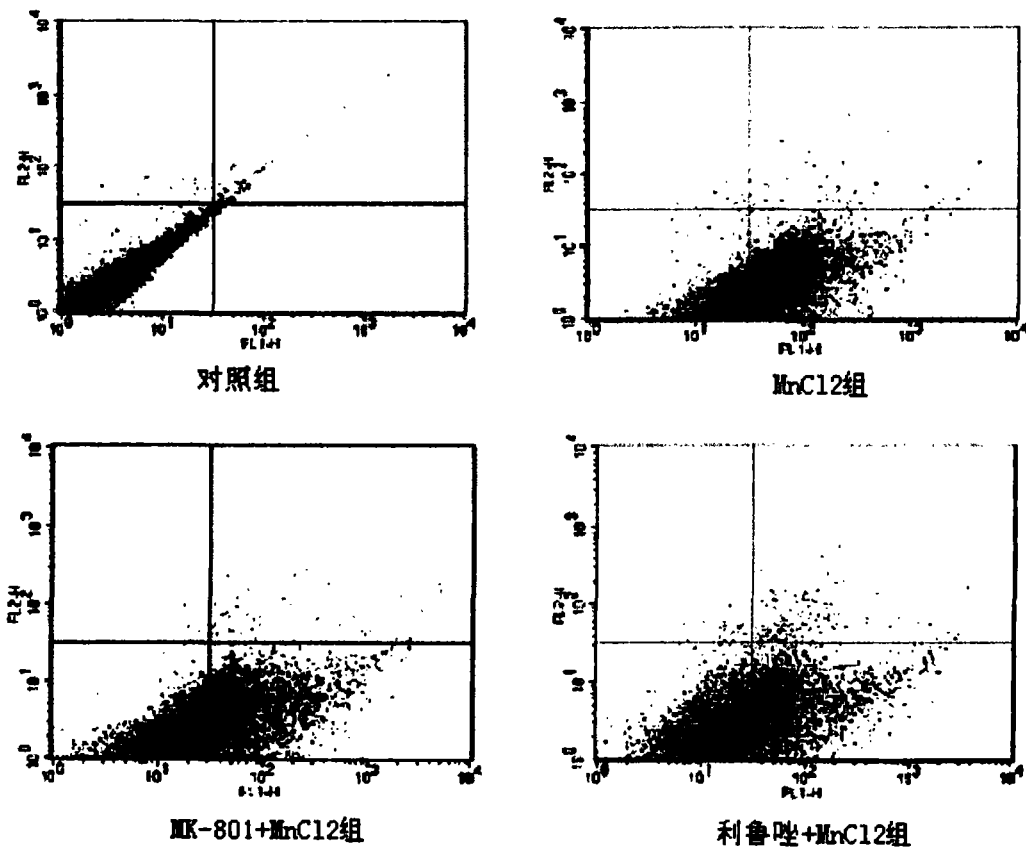


图 1 各组大鼠的细胞凋亡情况

表 3 各组大鼠纹状体细胞凋亡率 (n=3 $\bar{x} \pm s$)

组别	凋亡率 (%)
对照组	0.43±0.11
MnCl ₂ 组	64.27±8.31**
MK-801+MnCl ₂ 组	42.96±6.98 ^{△△}

注：与对照组比较，** $P < 0.01$ ；与 MnCl₂组比较，^{▲▲} $P < 0.01$

3. 讨论

在中枢神经系统中，Mn 和 Glu 的摄取都发生在星形胶质细胞中。GS 只在星形胶质细胞中表达，是其特异性的标志酶，Glu 可在 GS 的作用下转变成 Gln。而后 Gln 再回转至神经元内，在 PAG 的作用下重新生成 Glu，形成“Glu-Gln Cycle”^[12]。本实验结果表明 MnCl₂可抑制 GS 的活力，提升 PAG 的活力，导致 Glu 的含量增加，Gln 的含量降低，破坏“Glu-Gln Cycle”，地卓西平和利鲁唑预处理可以拮抗锰的这种神经毒性。

在本次实验中，连续染锰 4 周后，大鼠脑纹状体内 Glu 含量明显增加。该实验结果与 Lipe 等^[13]给予成年大鼠染 20mg/kg Mn 后，大脑 Glu 含量明显增加的实验结果相一致。Normandin 和 Hazell^[14]的实验研究也发现锰可使细胞外突触间隙的 Glu 浓度增加。此外，Crooks 等^[15]也发现给 GABA 能 AF5 细胞染锰后细胞内外的 Glu 的含量均增加。本实验结果显示亚急性染锰可使 Gln 的含量降低。该结果与 Milatovic 等^[16]关于锰中毒抑制星形胶质细胞的 Gln 转运体的功能，使 Gln 浓度增加的结果相一致，但是，对于 Mn 导致 Gln 含量的改变，根据年龄不同，染毒剂量不同和脑组织区域不同而不同。Lipe 等^[13]分别给刚断奶和成年大鼠染 20mg/kg 和 10mg/kg Mn 后发现，20mg/kg Mn 成年大鼠组中 Gln 含量增加，10mg/kg Mn 幼年大鼠组中 Gln 含量降低。Zwingmann 等^[17]发现在连续给予 50mg/kg Mn 4 天后，苍白球内 Gln 含量与对照组相比降低到 67%，前脑皮质 Gln 含量增加到 56%。

对于染锰后，Glu和Gln含量改变的部分原因可能是由于“Glu-Gln Cycle”中两个关键酶 GS和PAG活力发生改变。在本实验中，连续染锰4周后，大鼠脑纹状体内GS活力降低，PAG活力增高。GS的活力降低与Erikson等^[18]的研究结果相一致，他们给妊娠期和出生后1-18天的大鼠吸入染MnSO₄（1 mg Mn/m³）后发现，纹状体内的GS的蛋白水平和mRNA表达均降低。PAG活力的改变与本课题组的前期研究结果相一致^[19]。

神经元和神经胶质细胞上GluTs具有快速将细胞外液中Glu移走的功能，保护神经细胞不受Glu毒性的影响。NMDA受体是离子型Glu受体主要分布在突触后膜上，该受体的过度激活可产生一系列的毒性作用。染锰后，“Glu-Gln Cycle”的破坏很可能与GluTs和NMDA受体有关。在本实验中，在染锰之前预先给予利鲁唑和MK-801两种干预物质，利鲁唑可通过抑制钠通道的激活减少Glu的释放，保护GluTs^[6]。MK-801是NMDA受体非竞争性拮抗剂^[7]。实验结果表明这两个干预物质均可以保护“Glu-Gln Cycle”正常的代谢，拮抗锰的神经毒性。这也提示我们GluTs和NMDA受体在锰中毒的发生发展中发挥了重要的作用。

细胞凋亡或细胞程序性死亡是一种不同于细胞坏死的死亡方式之一，机体内环境的变化可以导致细胞凋亡。本实验研究表明，锰中毒可以使纹状体内 Glu 含量增加，导致细胞凋亡率明显增加，利鲁唑和 MK-801 均可以使细胞凋亡率降低。Glu 是哺乳动物大脑内含量最高的兴奋性氨基酸，过量的 Glu 可通过激活星形胶质细胞，使其释放 IL-1 β 和 TNF- α ，导致神经元和星形胶质细胞凋亡^[20]。利鲁唑可以通过保护 GluTs 的功能，减少 Glu 的含量，降低细胞凋亡率。过量的 Glu 可以使 NMDA 受体过度激活，使 Ca²⁺通道开放，形成钙超载，导致细胞凋亡^[21]。MK-801 通过抑制 NMDA 受体过度激活，降低细胞凋亡率。

综上，锰可以通过抑制 GluTs，导致 NMDA 受体过度激活，破坏“Glu-Gln Cycle”正常的代谢，产生细胞凋亡。利鲁唑和 MK-801 可以拮抗锰的神经毒性。但是，具体的机制尚需有待于进一步研究。

参考文献：

1. Zorin SN, Baiarzhargal M, Gmoshinski IV et al. Multipurpose assessment of organic forms of essential trace elements: zinc, copper, manganese, chromium in vitro and in vivo experiments. *Vopr Pitan* 2007;76:74-79.

2. Christianson DW, Cox JD. Catalysis by metal-activated hydroxide in zinc and manganese metalloenzymes. *Annu Rev Biochem* 1999;68:33-57.
3. Huang CC. Parkinsonism induced by chronic manganese intoxication—an experience in Taiwan. *Chang Gung Med J* 2007;30:385-395.
4. Hsieh CT, Liang JS, Peng SS et al. Seizure associated with total parenteral nutrition-related hypermanganesemia. *Pediatr Neurol* 2007;36:181-183.
5. Fitsanakis VA, Aschner M. The importance of glutamate, glycine, and gamma-aminobutyric acid transport and regulation in manganese, mercury and lead neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;204:343-354.
6. Fumagalli E, Funicello M, Rauen T et al. Riluzole enhances the activity of glutamate transporters GLAST, GLT1 and EAAC1. *Eur J Pharmacol* 2008;578:171-176.
7. Narita M, Kato H, Mivoshi K et al. Treatment for psychological dependence on morphine: usefulness of inhibiting NMDA receptor and its associated protein kinase in the nucleus accumbens. *Life Sci* 2005;77:2207-2220.
8. Renis M, Cardile V, Russo A et al. Glutamine synthetase activity and HSP70 levels in cultured rat astrocytes: effect of 1-octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-Phosphocholine. *Brain Res* 1998;783:143-150.
9. Curi TC, De Melo MP, De Azevedo RB et al. Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. *Am J Physiol* 1997;273:1124-1129.
10. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951;193:265-275
11. Villalba M, Martinez-Serrano A, Borner C et al. NMDA-induced increase in $[Ca^{2+}]_i$ and $^{45}Ca^{2+}$ uptake in acutely dissociated brain cells derived from adult rats. *Brain Res*. 1992;570:347-353.
12. Aschner M, Allen JW, Kimelberg HK et al. Glial cells in neurotoxicity development. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999;39:151-173.
13. Lipe GW, Duhart H, Newport GD et al. Effect of manganese on the concentration of amino acids in different regions of the rat brain. *J Environ. Sci Health* 1999;34:119-132.
14. Normandin L, Hazell AS. Manganese neurotoxicity: an update of pathophysiologic mechanisms. *Metab Brain Dis* 2002;17:375-387.
15. Crooks DR, Welch N, Smith DR. Low-level manganese exposure alters glutamate metabolism in GABAergic AF5 cells. *Neurotoxicology* 2007;28:548-554.
16. Milatovic D, Yin Z, Gupta RC et al. Manganese induces oxidative impairment in cultured rat astrocytes. *Toxicol Sci* 2007;98:198-205
17. Zwingmann C, Leibfritz D, Hazell AS. Nmr spectroscopic analysis of regional brain energy metabolism in manganese neurotoxicity. *Glia* 2007;55:1610-1617.
18. Erikson KM, Dorman DC, Lash LH et al. Persistent alterations in biomarkers of oxidative stress resulting from combined in utero and neonatal manganese inhalation. *Biol Trace Elem Res* 2005;104:151-163.
19. Jia K, Xu Z, Xu B. Effect of dizocilpine maleate and taurine on the circuitry of glutamate and glutamine in rat striatum exposed by manganese. *Wei Sheng Yan Jiu* 2008;37:8-10.
20. 李清, 刘菊英, 李国华, 朱涛, 秦成名, 周青山. 氯胺酮对谷氨酸诱导大鼠脊髓背角星形胶质细胞凋亡的影响 [J]. *中华麻醉学杂志* 2005;25:860-861.
21. Tjalkens RB, Zoran MJ, Mohl B et al. Manganese suppresses ATP-dependent

intercellular calcium waves in astrocyte networks through alteration of mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium dynamics. Brain Res 2006;1113:210-219.

燃煤型氟中毒人群血液氧化应激情况及抗氧化物酶 Cu/Zn-SOD 基因表达

王琪^{1,2}, 李达圣³, 徐园园¹, 高艳玲¹, 李小雷¹, 黄厚今*

(遵义医学院预防医学教研室, 遵义, 563003)

摘要 目的: 探讨氧化损伤在燃煤型地方性氟中毒发生发展中的作用。方法: 按照历史资料和国家标准, 对贵州省毕节地区历史氟病区进行流行病学调查, 并从织金县、金沙县获得氟中毒轻、重病例共计 121 例, 从毕节市周边农村获得正常对照 23 例, 搜集上述样本的血清和 EDTA.K2 抗凝全血。检测血液中抗氧化物酶 Cu/Zn-SOD, GSH-Px, CAT 的活性以及氧化损伤产物 MDA 的含量, 采用逆转录 PCR 与凝胶电泳分析法检测血样中 Cu/Zn-SOD 的 mRNA 相对表达情况。结果: 重症患者血液中的抗氧化物酶活性均低于同地区轻症患者, 而 MDA 的含量均高于同地区轻症患者, 且结果均有显著差异 $P < 0.01$; 患者与正常组相比血液抗氧化物酶活性下降, MDA 含量增加, 差异显著 $P < 0.01$; Cu/Zn-SOD 的 mRNA 相对表达量, 重病组高于轻病组, 患者组高于正常组 $P < 0.05$ 。结论: 燃煤型地方性氟中毒患者体内确实存在氧化损伤情况, 氟中毒可以使 Cu/Zn-SOD 的 mRNA 表达量下降, 造成转录后的酶活性下降, 提示氟可能从分子水平抑制 Cu/Zn-SOD 蛋白的产生从而影响机体的抗氧化能力, 为进一步从明确的量效关系上研究氟对其他抗氧化物酶基因表达的影响提供了参考。

关键词: 氟中毒; 氧化损伤; 原子吸收; 逆转录;

Effect of fluoride on antioxidant system and transcription of Cu/Zn SOD gene in groups of coal-burning endemic fluorosis

Abstract Objective: To observe the situation of oxidant stress and gene expression of Cu/Zn-SOD mRNA in group of coal endemic fluorosis. Method: The activities of antioxidant related enzyme included copper/zinc superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and the contents of malondialdehyde (MDA) in serum, as well as the relative expression levels of Cu/Zn-SOD mRNA of these samples were analyzed. Result: The expression levels of Cu/Zn-SOD mRNA dramatically decrease in patient group ($P < 0.05$), as well as the activities of Cu/Zn-SOD, CAT, GSH-Px decrease significantly in severe group compared with slight group and control group ($P < 0.01$). The content of MDA in patient's serum significantly increased compared with normal groups ($P < 0.01$). Conclusion: The fact of oxidant stress in patients of coal endemic fluorosis was determined. F⁻ can inhibit the expression of Cu/Zn-SOD mRNA, thereby reduced the production of Cu/Zn-SOD protein, consequently cut down the ability for antioxidant in patients.

Key words: Endemic fluorosis; mRNA; Enzyme

地方性氟中毒是由于机体摄入了过量的氟, 引起的以骨质系统损害为主的疾病^[1]。贵州地区是氟中毒高发区, 主要是当地居民长期食用经高氟煤烘烤的食物引起机体过量的氟聚

作者简介: 王 琪, 男, (1981-), 博士研究生

1, 遵义医学院预防医学教研室; 2, 复旦大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生教研室; 3, 贵州省疾病预防控制中心

通讯作者: 黄厚今 E-mail: huanghj6688@sina.com