

## 长期硒碘缺乏对发育期大鼠不同脑区单胺类神经递质的影响

张舸 田东萍 苏敏 林凌云

为模拟硒碘缺乏病区人口世代生存繁衍于低硒或联合低碘环境所致的长期损害,尤其是对子代儿童所致的智力损害,我们与多方学者共同合作建立了人工膳食低硒低碘喂养繁殖的 SD 大鼠动物模型<sup>[1]</sup>,并历时近两年繁衍至仔四代。在本模型仔三代时大鼠已经表现出不同程度神经行为发育延迟和 Morris 水迷宫的空间学习记忆能力降低等变化。由于学习记忆等脑功能衰退可能反映为多种神经递质更新率下降、含量减少,因此,本研究对仔四代发育期大鼠不同脑区单胺类神经递质水平进行了测定,拟求初步探讨其脑功能损害的神经生化机制。

### 一、材料与方法

1. 实验动物:采用已成功建立的人工膳食低硒喂养繁殖的 SD 大鼠动物模型,仔四代 21d 大鼠。实验分 4 组,分别喂以不同硒碘水平的人工配制饲料:(1)合成饲料对照组,硒水平 0.1~0.3 μg/g,碘水平 0.2 μg/g;(2)低硒组,硒水平 0.02 μg/g,碘水平 0.2 μg/g;(3)低碘组,硒水平 0.1~0.3 μg/g,碘水平 0.04 μg/g;(4)低硒低碘组,硒水平 0.01 μg/g,碘水平 0.04 μg/g。硒以亚硒酸钠溶液,碘以碘酸钾溶液形式按上述量加入人工配置的固体饲料。饲料配方(%):低硒低碘酵母 45,植物油 5,混合盐 3,混合维生素 0.3,蛋氨酸 0.3,氯化胆碱 0.1,加蔗糖至 100。动物喂养繁殖与饲料和硒碘水平的质量监控详见文献[1]。

2. 样品制备:大鼠断头取脑,参照 Cuelb 图谱定位,迅速分离下丘脑、前额叶和海马,称重后 -80 冻存。测定时,冰上解冻,每个样品按 1:20 (重量体积比)加入 0.1 mol/L 高氯酸溶液(含 0.02% 抗坏血酸,0.2 mmol/L EDTANa<sub>2</sub>)充分匀浆,4 12 000 r/min 离心 15 min,取上清液过滤后进样 20 μl。所有操作均在 0~4℃ 进行。

3. 指标测定:(1)方法:高效液相色谱仪 荧光

检测器法<sup>[2]</sup>。(2)主要仪器、分析软件和试剂:高效液相色谱仪(美国 WATERS 2690 型),荧光检测器(美国 WATERS 474 型),NovaPack C18 柱(美国 WATERS)等。分析软件:Millennium3.20(美国 WATERS)。试剂:去甲肾上腺素酒石酸盐、5-羟色胺盐酸盐、5-羟吲哚乙酸盐、L-色氨酸、L-酪氨酸(美国 Sigma 公司分析纯)等。

4. 统计学处理:利用 SPSS 11.0 软件,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)和独立样本 *t* 检验进行统计。

### 二、结果

1. 海马神经递质浓度(表 1):5-羟色胺(5-HT)、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)含量低硒低碘组均显著低于对照组(*P* 分别等于 0.001 和 0.022);低碘组、低碘组与对照组间差异无统计学意义,但似有降低的趋势。

表 1 各组大鼠海马神经递质浓度(μg/mg,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	酪氨酸	色氨酸	5-羟色胺	5-羟吲哚乙酸
对照组	6	15.3 ± 4.1	7.9 ± 2.8	0.44 ± 0.08	1.23 ± 0.30
低碘组	6	17.4 ± 3.2	7.0 ± 0.4	0.40 ± 0.04	1.03 ± 0.11
低硒组	5	14.4 ± 2.9	7.6 ± 1.4	0.41 ± 0.14	1.12 ± 0.32
低硒低碘组	6	15.5 ± 4.1	8.3 ± 1.9	0.24 ± 0.07	0.80 ± 0.25*

注:与对照组相比,\**P* < 0.05, *P* < 0.01

2. 额叶皮质神经递质浓度(表 2):5-HT 含量低碘组、低硒低碘组显著低于对照组(*P* 分别等于 0.011 和 0.007);5-HIAA 含量低碘组、低碘低硒组亦显著低于对照组(*P* 分别等于 0.011 和 0.002),低硒组虽有所降低,但差异无统计学意义;去甲肾上腺素含量低硒低碘组显著高于对照组(*P* = 0.001)。

3. 下丘脑神经递质浓度(表 3):5-HT 含量低碘组、低硒低碘组显著高于对照组(*P* 分别等于 0.039 和 0.011);5-HIAA 含量各组间差异无显著意义;NE 含量低硒低碘组显著高于对照组(*P* = 0.002)。

基金项目:国家自然科学基金资助(30170832)

作者单位:515031 汕头大学医学院病理学教研室(张舸、田东萍、苏敏),汕头大学精神卫生中心(林凌云)

通讯作者:苏敏,电子信箱:minsu@stu.edu.cn

表 2 大鼠额叶皮质神经递质浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	酪氨酸	去甲肾上腺素	色氨酸	5羟色胺	5羟吲哚乙酸
对照组	6	17.0 ± 3.5	0.50 ± 0.12	8.4 ± 1.2	0.31 ± 0.09	1.52 ± 0.19
低碘组	6	15.9 ± 2.6	0.49 ± 0.17	7.9 ± 1.5	0.17 ± 0.05*	1.19 ± 0.18*
低硒组	5	16.3 ± 4.5	0.46 ± 0.09	8.1 ± 1.8	0.31 ± 0.12	1.38 ± 0.49
低硒低碘组	6	16.4 ± 2.3	0.80 ± 0.09	8.2 ± 0.6	0.15 ± 0.04	1.04 ± 0.21

注:与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 表 3 大鼠下丘脑神经递质浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	酪氨酸	去甲肾上腺素	色氨酸	5羟色胺	5羟吲哚乙酸
对照组	6	22.0 ± 3.2	1.43 ± 0.30	10.1 ± 2.4	0.27 ± 0.13	4.0 ± 0.6
低碘组	6	21.2 ± 1.7	1.49 ± 0.20	9.8 ± 1.6	0.46 ± 0.14*	3.9 ± 0.7
低硒组	5	20.6 ± 5.1	1.59 ± 0.42	10.0 ± 0.6	0.20 ± 0.06	4.0 ± 0.7
低硒低碘组	6	21.3 ± 3.4	2.18 ± 0.30	10.3 ± 1.4	0.48 ± 0.04*	4.6 ± 1.2

注:与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 。

### 三、讨论

单胺类神经递质 5-HT 和 NE 等与学习记忆密切相关,并在调节机体情绪、睡眠等方面具有重要作用<sup>[3,4]</sup>。探讨大鼠脑内的单胺类神经递质的变化,对了解在低硒低碘时大鼠所出现的神经发育落后和空间学习记忆障碍的分子机制有着非常重要的意义。我们选取低硒低碘繁殖仔四代发育期大鼠的大脑额叶皮层、海马、和下丘脑为研究对象,采用高效液相色谱分析方法对其单胺类递质含量和代谢活性进行了检测分析。

1. 不同脑区 5-HT 及其前体色氨酸 (Tyr)、代谢产物 5-HIAA 变化:研究发现低硒低碘组大鼠在海马、额叶皮层 5-HT 及 5-HIAA 均显著低于对照组 ( $P < 0.01$ );低碘组在额叶皮质 5-HT 及 5-HIAA 显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。结果提示,长期低碘和硒碘联合缺乏可能影响脑内 5-HT 能系统。中枢神经系统内 5-HT 合成量易受通过血脑屏障进入脑组织的 Tyr 量的影响<sup>[5]</sup>,但本实验各组间 Tyr 含量并无统计学差异。由于实验中 5-HIAA 含量亦降低,提示 5-HT 的降解代谢并无明显增强,故其降低原因可能是由于合成不足。

低硒低碘组和低碘组大鼠在下丘脑表现为 5-HT 显著高于对照组。下丘脑是 5-HT 灭活的主要酶——A 型单胺氧化酶活性最高的脑区之一<sup>[5]</sup>,可能在调节脑内 5-HT 整体水平上发挥重要作用。由于 Tyr 和 5-HIAA 并无明显变化,提示 5-HT 增高可能是由于其储存增多的缘故。5-HT 储备增高,可与下丘脑垂体激素发生交互反应,诱发或作为机体整体代偿反应的一部分。所以,对下丘脑的影响可能是对海马、额叶皮质影响的代偿效应。

2. 不同脑区 NE 及其前体酪氨酸 (Tyr) 的变化:硒、碘缺乏对 NE 系统的影响表现为低硒低碘组大鼠 NE 在额叶皮质和下丘脑显著增高。NE 的合成量可受 Tyr 入脑量的影响,但实验中 Tyr 均无统计学差异。脑内 5-HT、NE 能神经元胞体定位和纤维投射有相似的区域性分布,一般认为两者常互为矛盾,表现出对立的统一<sup>[5]</sup>。本实验大鼠 5-HT 含量降低的同时,NE 含量有所增高,似乎也支持这一理论。结果提示硒、碘缺乏对 NE 系统的影响可能是通过影响 5-HT 系统的间接作用。

低硒组大鼠未表现出对 5-HT 和 NE 能系统影响的显著差异。但低硒低碘组在海马表现出对 5-HT 系统的影响,还在额叶皮质和下丘脑引起 NE 增高,这些在低碘组大鼠均无。低硒低碘组这种更广泛的影响,提示低硒可能增强了低碘的作用,抑或是低碘可易化低硒的损伤。

### 参 考 文 献

- Su M, Zhang RJ, Tian DP, et al. Established prolonged selenium deficiency of the SD rat animal model breed third generation in series. Hygi Res, 2004, 33: 705-710.  
苏敏,张瑞娟,田东萍,等.三代繁殖低硒和低硒低碘大鼠动物模型的建立.卫生研究,2004,33: 705-710.
- Lakshmana MK, Raju TR. An isocratic assay for norepinephrine, dopamine, 5-hydroxytryptamine using their native fluorescence detection in discrete brain areas of rat. Anal Biochem, 1997, 246: 166-170.
- Meneses A. 5-HT system and cognition. Neurosci Biobehav Rev, 1999, 23: 1111-1125.
- Hermann N, Lanctot KL, Khan LR. The Role of norepinephrine in the Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2004 Summer, 16: 261-276.
- Wang R, Du ZW. Neurobiochemistry and molecular biology. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997. 163-170.  
王尧,杜子威.神经生物化学与分子生物学.北京:人民卫生出版社,1997. 163-170.

(收稿日期:2004-10-21)

(本文编辑:徐弘道)