

低剂量毒死蜱暴露对新生大鼠黑质多巴胺能
神经元发育及行为的影响

张洁¹ 赵玲玲² 胡治平¹ 周军³ 邓礼² 谷芬² 戴红梅² 黄敏²

(1. 中南大学湘雅二医院神经内科, 湖南 长沙 410011; 2. 中南大学湘雅三医院儿科, 湖南 长沙 410013;
3. 中南大学湘雅三医院医学实验中心, 湖南 长沙 410013)

〔摘要〕 **目的** 探讨低剂量毒死蜱(chlorpyrifos, CPF)暴露对新生大鼠中脑黑质多巴胺能(DA)神经元发育和神经行为的影响。**方法** 将出生后11 d Sprague-Dawley大鼠随机分为CPF组、二甲基亚砜(DMSO)组和生理盐水(NS)组。CPF组在大鼠出生后11~14 d经腹部皮下注射低剂量(每日5 mg/kg) CPF, 其他两组分别注射DMSO和NS作为对照。在生后15 d、20 d、30 d及60 d四个时间点, 观察大鼠体重增长、脑外观、脑系数和脑含水量变化; 免疫组织化学方法检测黑质DA神经元酪氨酸羟化酶(TH)的表达; 免疫透射电镜观察DA神经元亚细胞结构改变; 生后30 d和60 d行旷场实验、握力实验、斜坡实验及Morris水迷宫实验检测大鼠神经行为变化。**结果** 各组大鼠在各观察时间点体重增长、脑外观、脑系数、脑含水量未见异常。CPF组自生后30 d开始与NS和DMSO组相比, 不仅黑质TH表达进行性减少, 部分DA神经元亚细胞结构发生改变, 且逐渐出现活动减少, 动作协调障碍及学习记忆能力受损。**结论** 大鼠脑发育期暴露低剂量CPF, 可诱导中脑黑质DA神经元迟发性进行性丢失, 并影响大鼠远期运动和学习记忆能力。 [中国当代儿科杂志, 2011, 13(12): 989-994]

〔关键词〕 毒死蜱; 多巴胺能神经元; 神经行为; 大鼠

〔中图分类号〕 R-33 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1008-8830(2011)12-0989-06

Effects of low-dose chlorpyrifos exposure on dopaminergic neurons in the midbrain substantia nigra and neural behavioral development in neonatal rats

ZHANG Jie, ZHAO Ling-Ling, HU Zhi-Ping, ZHOU Jun, DENG Li, GU Fen, DAI Hong-Mei, HUANG Min. Department of Neurology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China (Zhao L-L, Email: llzhao@xy3yy.com)

Abstract: Objective To explore the effects of low-dose chlorpyrifos (CPF) exposure on dopaminergic (DA) neurons in the midbrain substantia nigra and neural behavioral development in neonatal rats. **Methods** Postnatal 11 day old Sprague-Dawley rats were randomly assigned into CPF, menstruum dimethylsulfoxide (DMSO) and normal saline (NS) groups. The rats in the CPF group were injected with low-dose CPF (5 mg/kg · d) on postnatal days 11-14. The two control groups were injected with DMSO or NS respectively. The rats were sacrificed on postnatal days 15, 20, 30, and 60. Body weight gain, outward appearance of brain tissue, the coefficient of brain and the water content of brain tissue were measured. Tyrosine hydroxylase (TH) expression in DA neurons in the midbrain substantia nigra was examined by immunohistochemical straining. Immune electron microscopy was used to examine the subcellular structure of DA neurons. Open field test, grip strength test, slope test and Morris water maze test were used to examine the neurobehavioral changes. **Results** The outward appearance of brain tissue was normal in the three groups. There were no significant differences in the absolute value of body weight gain, the coefficient of brain and the water content of brain tissue among the three groups. CPF exposure decreased the level of TH immunoreactivity ($P < 0.05$) in the substantia nigra of CPF group since postnatal day 30 compared with the DMSO and NS groups. The subcellular structures of some DA neurons in the CPF group were impaired. Decreased motor activity and learning and memory impairments were observed in the CPF group compared with those in the DMSO and NS groups ($P < 0.05$) since postnatal day 30. **Conclusions** CPF exposure during the neonatal period can cause long-term motor activity and learning and memory impairments in accompany with DA neurons damage in the midbrain substantia nigra. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13(12): 989-994]

Key words: Chlorpyrifos; Dopaminergic neuron; Neural behavior; Rats

[收稿日期] 2011-07-10; [修回日期] 2011-09-19
[基金项目] 湖南省自然科学基金(OJJJ5043); 湖南省社会发展基金(02ssy3078); 长沙市科技局基金(K1003053-31)。
[作者简介] 张洁, 女, 博士研究生, 主治医师。
[通信作者] 赵玲玲, 教授。

儿童处在不断的生长发育过程中,发育中的脑与成人相比,更易受外界有害环境因素的影响,甚至造成永久性损害^[1-2]。我国是一个农业大国,农药是我国最大的有害环境因素。毒死蜱(chlorpyrifos, CPF)是一种中低等毒性的有机磷酸酯类农药,是目前全球生产和销售最大的农药品种之一。美国疾病控制与预防中心多份调查报告显示^[3-4],发达国家城市人群尿样中毒死蜱的代谢产物检出率高达82%;而地面水和地下水都能检测出农药污染物,严重威胁人类健康。虽然毒死蜱的胆碱酯酶抑制机制所导致的神经系统损害已被公认,但近来研究发现毒死蜱能通过非胆碱酯酶抑制途径导致神经发育毒性^[5-12],其具体机制并未明确。农药的毒性作用与剂量相关;当机体以一定的方式或途径染毒某种农药,使某项观察指标开始出现异常或使机体开始出现损害所需的最低剂量即“中毒阈剂量”;小于“中毒阈剂量”称为“低剂量”,也就是通常被人们所认为的“安全剂量”。因此,本研究建立了大鼠新生期暴露低剂量毒死蜱模型,观察其有无急性中毒症状,并动态观察到大鼠青春期及成年期,探索低剂量毒死蜱对大鼠中脑黑质多巴胺能(DA)神经元的发育和神经行为的影响。

1 材料与方法

1.1 主要药品试剂和仪器

酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)单克隆抗体(Chemicon公司),鼠ABC检测试剂盒(Vector公司),多聚甲醛分析纯(Sigma公司),DAB显色剂(北京中山生物技术有限公司),100%的CPF(AR级别,美国陶氏益农公司),二甲基亚砜(DMSO, Amresco公司)。Shandon AS620冰冻切片机(美国Beckman公司),旷场实验和Morris水迷宫实验等设备(中南大学湘雅二医院精神卫生研究所)。

1.2 实验动物和分组

新生Sprague-Dawley大鼠195只(湖南农业大学动物中心),雌雄不限,体重17~20 g,随机分为CPF组、DMSO组和生理盐水(NS)组,各组再分成生后15 d、20 d、30 d及60 d四个亚组,每个亚组各16只,其中8只用于观察脑外观、测定脑系数和脑含水量,另8只检测黑质DA神经元标记物TH表达水平,同时在生后30 d和60 d分别进行运动能力和学习记忆水平评估;余下3只大鼠随机分配到CPF组、DMSO组和NS组,在生后60 d用免疫透射电镜观察其黑质DA神经元亚细胞结构的改变。

1.3 方法

1.3.1 模型制作 参考文献^[6, 13]制作新生鼠暴露低剂量CPF(每日5 mg/kg)动物模型。将脂溶性CPF溶解于DMSO,配制成浓度为5 mg/mL的CPF溶液,给药体积为每日1 mL/kg。CPF组在大鼠生后11~14 d经腹部皮下注射CPF(1 mL/kg),每日1次。DMSO组和NS组分别用DMSO和NS取代CPF,每日1 mL/kg。每天给药时间为8~10am间,每次给药前测量体重,根据体重给予当次给药剂量。

1.3.2 一般情况观察 (1)每次给药完毕后观察动物的一般情况,如:进食、一般活动,以及有无可辨别的有机磷农药中毒的体征(震颤、流涎、抽搐、呼吸抑制和死亡等)。(2)体重增长:体重增长绝对值(g)=处死日体重(g)-给药开始日体重(g);体重增长率(%)=(处死日体重-给药开始日体重)/给药开始日体重×100%。

1.3.3 脑组织病理学检查 (1)脑组织外观:大鼠在各时间点断头处死,开颅迅速取脑,沿脑桥上界水平面切断,观察有无脑出血、充血、缺失、液化或萎缩等。(2)脑系数及脑含水量测定:用电子分析天平精密称量脑组织湿重,计算脑系数^[14][脑系数(%)=脑组织湿重/体重×100%]。按文献方法^[15]作改进,依Eliot公式计算脑含水量[脑含水量(%)=(脑组织湿重-脑组织干重)/脑组织湿重×100%]。

1.3.4 免疫组织化学方法检测黑质TH表达水平 制作脑组织冰冻切片,厚度35 μm,留取黑质部位按照免疫组化试剂盒说明进行检测,3%双氧水孵育20 min,小鼠抗大鼠的TH抗体,1:1000稀释,4℃冰箱过夜,PBS漂洗,马抗小鼠二抗室温60 min,PBS漂洗,ABC复合物孵育60 min,PBS漂洗,DAB显色,蒸馏水漂洗,贴片,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。采用Motic Image Advanced 3.2系统评估TH免疫阳性物的平均灰度值。反应显色越深灰度值越小,表示TH表达越多。

1.3.5 免疫透射电镜观察TH阳性细胞亚细胞结构 按照上述免疫组织化学法制作中脑黑质TH染色脑片,并在透射电镜下观察TH免疫阳性细胞中亚细胞结构的变化。

1.3.6 旷场实验 采用小动物旷场分析箱^[16],检测大鼠在中央格停留时间(潜伏期);三爪以上跨入邻格的次数(穿越格数);两前爪腾空1 cm以上或攀附墙壁次数(直立次数)。

1.3.7 握力实验 根据文献^[17]改进,大鼠前腿抓住一水平的塑料绳,直径0.3 cm,离开桌面50 cm,

记录大鼠掉下的时间(s),非连续测试3次,取平均值。评分标准:<10 s计1分;10~30 s计2分;30 s~2 min计3分;2~5 min计4分;>5 min计5分。

1.3.8 斜坡实验 大鼠放置在与地面倾斜50度角的较平滑木板上端,头向上方。观察大鼠在30 s内是否会从木板上滑下,记录滑下的次数。

1.3.9 Morris水迷宫实验 采用经典Morris水迷宫设备,进行定位航行实验评估大鼠的学习和空间记忆能力;空间探索实验评估大鼠对平台空间位置记忆的保持能力。

1.4 统计学分析

采用SPSS 12.0统计软件包进行方差分析,所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察

每次给药后观察12 h,无大鼠出现进食和一般活动障碍,未见急性有机磷农药中毒症状;各时间点各组大鼠体重增长绝对值、体重增长率组间两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 大鼠脑组织外观、脑系数及脑含水量比较

各时间点各组大鼠脑系数及脑含水量组间两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。观察脑组织外观均未发现出血、充血、缺失、液化或萎缩等病理改变。

2.3 CPF对黑质DA神经元表达及亚细胞结构的影响

CPF组在生后15 d和20 d时TH表达的灰度值与DMSO组及NS组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。从生后30 d开始,CPF组TH表达的灰度值较DMSO组及NS组明显增强($P < 0.05$),在生后60 d时进一步增强(表1、图1),并与生后30 d CPF组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,利用透射电镜下观察生后60 d CPF组大鼠黑质DA神经元,发现有部分DA神经元出现亚细胞结构改变。见图2。

表1 各组中脑黑质TH平均灰度值结果比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	生后15 d	生后20 d	生后30 d	生后60 d
NS	128 ± 6	123 ± 3	115 ± 8	122 ± 5
DMSO	128 ± 10	126 ± 8	117 ± 5	120 ± 6
CPF	135 ± 12	128 ± 9	136 ± 6 ^a	147 ± 6 ^{a, b}
F值	2.966	0.777	17.823	28.516
P值	> 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.01

a: 与DMSO组和NS组比较, $P < 0.05$; b: 与同组生后15 d、20 d及30 d比较, $P < 0.05$

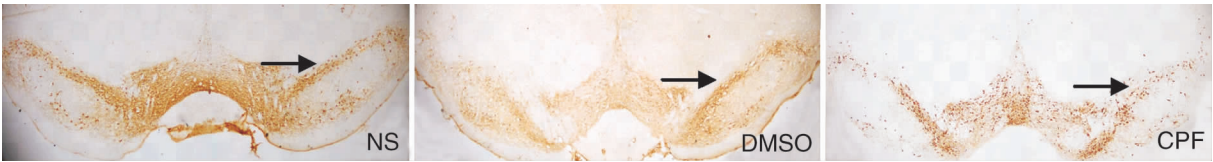


图1 生后60 d大鼠中脑黑质TH阳性细胞表达(SABC法,DAB染色,×4) 免疫组织化学染色显示,CPF组、DMSO组、NS组大鼠中脑黑质部位均可见棕褐色的TH免疫复合物沉积在DA神经元的胞浆和神经突起处,CPF组中脑黑质TH阳性细胞数较DMSO组和NS组比较明显减少。箭头所示为TH阳性表达。

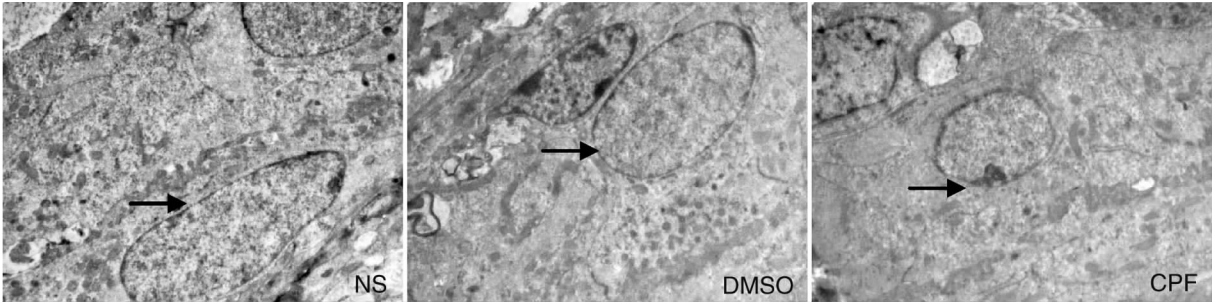


图2 生后60 d大鼠中脑黑质TH阳性细胞免疫电镜图(×10000) NS组和DMSO组中均能观察到胞浆中较多TH免疫阳性复合物,如箭头所示,细胞核膜清晰,染色质均匀;CPF组部分神经元有超微结构的改变:TH免疫阳性产物少见,细胞器模糊,线粒体体积增大,嵴呈不同程度的溶解,部分线粒体呈空泡样变或髓样变,且如箭头所示,部分神经细胞内核膜不完整或不规则,细胞核形不规则,核内染色质凝集靠边。

2.4 对神经行为学的影响

2.4.1 旷场实验结果 生后30 d时 CPF组穿越

总格数少于DMSO组和NS组($P < 0.05$);生后60 d时 CPF组穿越总格数进一步减少,明显少于DMSO

组和 NS 组 ($P < 0.05$), 并与生后 30 d 时 CPF 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 3)。生后 60 d 的 CPF 组直立次数显著少于同时时间点 DMSO 组及 NS 组 ($P < 0.05$), 与生后 30 d 时 CPF 组相比差异也有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 4。

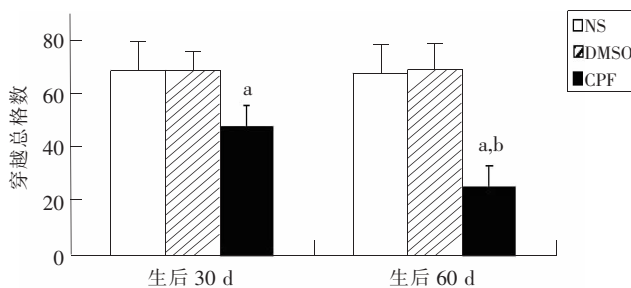


图 3 各组大鼠旷场实验中穿越总格数的比较 ($n = 8$)
a: 与同时时间点 DMSO、NS 组比较, $P < 0.05$; b: 与生后 30 d 的 CPF 组比较, $P < 0.05$

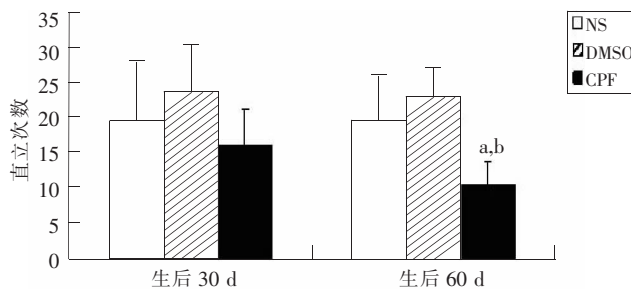


图 4 各组大鼠旷场实验中直立次数的比较 ($n = 8$)
a: 与同时时间点 DMSO、NS 组比较, $P < 0.05$; b: 与生后 30 d 的 CPF 组比较, $P < 0.05$

2.4.2 握力实验结果 生后 30 d 的 CPF 组能抓住绳子维持的时间评分与 DMSO 组及 NS 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 生后 60 d 的 CPF 组能抓住绳子维持的时间评分 (1.64 ± 0.60) 比 DMSO 组 (4.28 ± 0.61) 及 NS 组 (4.21 ± 0.66) 明显缩短 ($P < 0.05$), DMSO 组与 NS 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4.3 斜坡实验结果 生后 30 d 的 CPF 组从斜坡上滑下的次数相对 DMSO 组及 NS 组有增加, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 生后 60 d 的 CPF 组从斜坡上滑下的次数 (8 ± 2) 进一步增加, 与 DMSO 组 (3 ± 1) 和 NS 组 (4 ± 2) 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), DMSO 组及 NS 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4.4 Morris 水迷宫实验结果 训练中各组随生后日龄的增加找到平台的逃避潜伏期都显著缩

短, 说明存在训练的天数累加效应 ($P < 0.05$); 生后 30 d 的 CPF 组逃避潜伏期长于 DMSO 组和 NS 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 生后 60 d 的 CPF 组逃避潜伏期明显长于 DMSO 组和 NS 组 ($P < 0.05$), 并与生后 30 d 时 CPF 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 5)。空间探索实验发现, DMSO 组和 NS 组在目标平台象限的游泳距离比例比其他象限高, 而且其他 3 个象限的搜索轨迹多呈均匀随机分布; 生后 30 d 的 CPF 组在目标平台象限的游泳距离比例比 DMSO 组和 NS 组低, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 生后 60 d 的 CPF 组在目标平台象限的游泳距离比例进一步减少, 且搜索轨迹多集中在原来的起始象限或相邻象限, 与 DMSO 组及 NS 组相比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 并与生后 30 d 时 CPF 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 6。

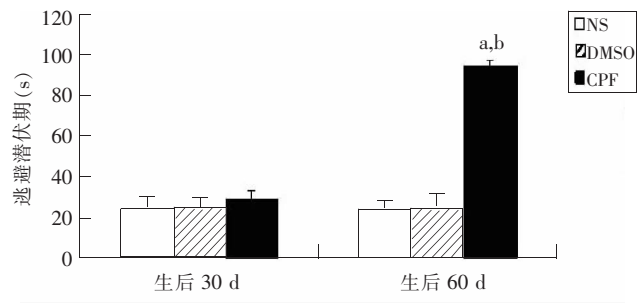


图 5 各组大鼠 Morris 水迷宫实验中逃避潜伏期的比较 ($n = 8$) a: 与同时时间点 DMSO、NS 组比较, $P < 0.05$; b: 与生后 30 d 的 CPF 组比较, $P < 0.05$

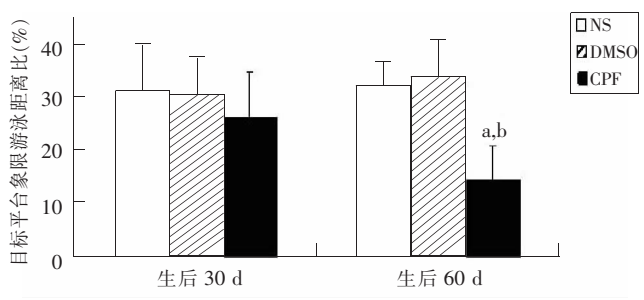


图 6 各组大鼠 Morris 水迷宫实验中目标平台象限游泳距离比的比较 ($n = 8$) a: 与同时时间点 DMSO、NS 组比较, $P < 0.05$; b: 与生后 30 d 的 CPF 组比较, $P < 0.05$

3 讨论

神经系统的发育是一个精密的过程, 生命早期由于脑处于发育的关键阶段, 比生命的其他任何时期都更容易受到有害因素的影响, 且造成的不良影

响可能更隐匿或持久^[18]。许多疾病都与生命早期环境因素的暴露有关,如出生缺陷、1型糖尿病、哮喘、白血病和脑肿瘤等。哈佛大学的相关研究发现,有200多种环境化学物质对发育中的脑有害,但除了铅和汞等少数物质外,绝大多数没有得到有效管理,其造成的疾病所带来的影响比目前认知的要多得多^[2]。CPF是目前全球生产和销售最大的有机磷酸酯类农药之一。Davis等^[19]发现按国家规定标准施药后,CPF仍可在生活环境中持续存在,使暴露于CPF的婴幼儿虽没有明显有机磷类农药中毒症状,但出现较频繁作鬼脸似的行为异常。本研究组既往研究也发现^[20],低剂量CPF暴露后,大鼠在生命早期虽无近期中毒症状,但海马的细胞生物平衡紊乱可持续到青春期(生后30d),并使青春期和成年期(生后60d)焦虑情绪增加。因此,人们在日常生活中不经意的通过呼吸道、消化道和皮肤黏膜等多种途径广泛暴露于CPF中,即使没有急性有机磷中毒症状,也不代表安全,对于发育中的大脑而言尤其具有潜在风险。

DA神经元从血液中摄取酪氨酸,经胞浆中的TH催化,生成多巴,再经芳香族氨基酸脱羧酶的作用生成多巴胺,在这过程中TH是多巴胺合成的限速酶,当TH表达下降时即表示DA神经元的丢失。本研究显示,大鼠在新生期暴露低剂量CPF后,在青春期时,黑质TH表达下降,并在成年期时表达下降更明显;同时,在成年鼠黑质DA神经元中可以观察到部分细胞已经开始有亚细胞结构受损的表现,这都证实了青春期和成年期大鼠黑质DA神经元受到了进行性的损害。

中脑黑质致密部DA神经元的进行性丢失是帕金森病(Parkinson's disease, PD)的特征性病理改变之一。尽管大多数PD是一个在生命晚期发病的神经退行性疾病,但目前已认为生命早期的环境毒素暴露可能与之相关。PD有着特征性的临床表现,如运动迟缓、肌强直、姿势步态异常和静止性震颤;也可能出现智能减退、行为情感异常等高级神经活动障碍,并可在运动功能明显受损之前出现。为了探索CPF所致DA神经元进行性丢失是否可以引起类似PD的行为学改变,本研究采用了目前PD样动物检测运动行为和认知最常用的方法进行论证。旷场实验观察自然状态下动物的活动情况,主要用来检测动物对新奇环境的探索能力及自发运动能力,进而反映其与运动和认知相关的脑功能情况,直立活动反映动物对新鲜环境的好奇程度;握力实验评价大鼠的四肢肌力和运动协调能力;斜坡实验中如果

大鼠频繁的从木板上滑下,暗示大鼠出现了一定的肌僵直;Morris水迷宫实验属于动物行为学的经典实验,主要用于学习、记忆及认知能力方面的研究。因为行为学异常一般并非单一表现形式,可能是多种障碍形式的综合表现,而这些功能障碍常常相互影响,因此本研究综合以上实验发现,大鼠新生期暴露低剂量CPF,虽然没有短期内的行为异常,但随着年龄的增长,大鼠旷场实验中穿越总格数以及直立次数进行性减少,握力实验中大鼠前肢握绳的时间缩短,以及斜坡实验中大鼠频繁的从木板上滑下,这些都说明大鼠远期的主动运动能力、运动协调能力受到进行性影响。同时,随着年龄的增加,CPF组大鼠的空间学习和参考记忆功能进行性受损,并伴有记忆提取能力受损。

由于不能引起自身可觉察的急性有机磷中毒症状,低剂量CPF暴露往往易被忽视。然而,本研究却发现低剂量CPF暴露对大鼠脑发育和远期行为有重要影响。世卫组织区域间研究组组长Terri Damstra博士说,“儿童特别脆弱,接触环境毒素后反应与成人不同,而且这种反应可能根据他们正经历的不同发育阶段而有所不同”。生命早期不良事件的发现对于探讨有关疾病的病因及预防具有重要的意义,并因此被《科学》杂志高度评价^[21-22]。环境因素不同于遗传因素,它可加以有效控制,因此,对致病的环境因素了解越多,就有更多条件进行保护和预防,这对于发病率高,致残率高,疗效差的帕金森病意义尤为重大。

[参 考 文 献]

- [1] Millman A, Tang D, Perera FP. Air pollution threatens the health of children in China[J]. *Pediatrics*, 2008, 122(3): 620-628.
- [2] Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals[J]. *Lancet*, 2006, 368(9553): 2167-2178.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals[DB/OL]. [February 2001]. <http://www.cdc.gov/exposurereport>.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention. Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals[DB/OL]. [January 2003]. <http://www.bvsde.paho.org/bvstox/i/fulltext/cdcexposure/cdcexposure.pdf>.
- [5] Icenogle LM, Christopher NC, Blackwelder WP, Caldwell DP, Qiao D, Seidler FJ, et al. Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos during neurulation[J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2004, 26(1): 95-101.
- [6] Roy TS, Seidler FJ, Slotkin TA. Morphologic effects of subtoxic neonatal chlorpyrifos exposure in developing rat brain: regionally selective alterations in neurons and glia[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2004, 148(2): 197-206.
- [7] Aldridge JE, Levin ED, Seidler FJ, Slotkin TA. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in

adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression[J]. *Environ Health Perspect*, 2005,113(5): 527-531.

[8] Roy TS, Sharma V, Seidler FJ, Slotkin TA. Quantitative morphological assessment reveals neuronal and glial deficits in hippocampus after a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos in neonatal rats[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2005,155(1): 71-80.

[9] Venerosi A, Cutuli D, Colonnello V, Cardona D, Ricceri L, Calamandrei G. Neonatal exposure to chlorpyrifos affects maternal responses and maternal aggression of female mice in adulthood[J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2008, 30(6): 468-474.

[10] Saulsbury MD, Heyliger SO, Wang K, Round D. Characterization of chlorpyrifos-induced apoptosis in placental cells[J]. *Toxicology*, 2008, 244(2-3): 98-110.

[11] Sachana M, Flaskos J, Sidiropoulou E, Yavari CA, Hargreaves AJ. Inhibition of extension outgrowth in differentiating rat C6 glioma cells by chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon; effects on microtubule proteins[J]. *Toxicol In Vitro*, 2008, 22(5): 1387-1391.

[12] Howard AS, Bucelli R, Jett DA, Bruun D, Yang D, Lein PJ. Chlorpyrifos exerts opposing effects on axonal and dendritic growth in primary neuronal cultures[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 207(2): 112-124.

[13] Dam K, Seidler FJ, Slotkin TA. Chlorpyrifos exposure during a critical neonatal period elicits gender-selective deficits in the development of coordination skills and locomotor activity[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2000, 121(2): 179-187.

[14] 颜晓华,杨于嘉,刘苡. 黄芩甙对新生鼠脑血肿继发脑水肿的治疗研究[J]. *小儿急救医学*,2004,11(4):221-223.

[15] Gotoh O, Asano T, Koide T, Takakura K. Ischemic brain edema following occlusion of the middle cerebral artery in the rat[J]. *Stroke*, 1985, 16(1): 101-109.

[16] Alstott J, Timberlake W. Effects of rat sex differences and lighting on locomotor exploration of a circular open field with free-standing central corners and without peripheral walls[J]. *Behav Brain Res*, 2009,196(2): 214-219.

[17] 袁宝莉,李瑞林,周戮平,郭亚乐,张勇,黄立勇. 新生大鼠脑白质损害模型的建立及评价[J]. *中国新生儿科杂志*,2004,19(1):17-19.

[18] 杨慧明,毛萌. 早期营养对生命质量的远期影响[J]. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24(11): 803-805.

[19] Davis DL, Ahmed AK. Exposures from indoor spraying of chlorpyrifos pose greater health risks to children than currently estimated[J]. *Environ Health Perspect*,1998,106(6):299-301.

[20] 张洁,赵玲玲,胡治平,邓礼,谷芬,戴红梅. 有机磷农药毒死蜱低剂量新生期暴露对大鼠远期心理行为的影响及其机制[J]. *中国临床心理学杂志*,2010,18(5):587-590.

[21] 马良,陈燕惠,韦立新. 早期丰富环境对大鼠远期行为发育及血清皮质酮的影响[J]. *中国当代儿科杂志*,2011,13(7):586-589.

[22] Abelson JF, Kwan KY, O'Roak BJ, Baek DY, Stillman AA, Morgan TM, et al. Sequence variants in SLITRK1 are associated with Tourette's syndrome[J]. *Science*, 2005,310(5746):317-320.

(本文编辑:邓芳明)

· 消息 ·

中国医师协会新生儿专业委员会暨中国医师协会 第二次全国新生儿科学术会议征文通知

经中国医师协会新生儿专业委员会常委会研究决定,并报中国医师协会学术会员部批准,第二次全国新生儿科学术会议定于2012年3月23日~25日在北京召开。现开始征文,与新生儿各专业有关的论文(基础研究、临床研究、护理及管理)均可投稿,参加会议者将授予国家级继续教育学分6分。请将论文电子版全文及800字以内的结构式摘要发至新生儿专业委员会办公室电子邮箱:xinshengerwyh@126.com,投稿截止日期为2012年2月29日。

联系人:张倩 电 话:010-84024716

中国医师协会新生儿专业委员会
2011年10月20日