

营养元素和蛋白联合干预氟中毒对雌鼠 卵巢功能作用

王飞清¹, 夏曙华^{2*}, 邹文兵³, 杨 华¹, 喻茂娟⁴

(1. 贵阳中医学院第一附属医院检验科, 贵阳 550001; 2. 贵州医科大学附属乌当医院检验科, 贵阳 550018;
3. 贵航 300 医院检验科, 贵阳 550002; 4. 贵州医科大学公共卫生学院, 贵阳 550004)

【摘要】 目的 探讨钙、镁、铜、锌、维生素 D 和蛋白联合干预燃煤型氟中毒对雌鼠卵巢功能变化。**方法** 120 只体重 80 g 左右的清洁级 SD 雌性大鼠为研究对象, 随机分为对照组、染氟组、多种元素组、多种元素 + 蛋白组, 每组 30 只。各模型组大鼠自由食用不同配方的病区原煤加拌泥煤烘烤的玉米饲料。分别于染氟 60, 120, 180 d 处死雌鼠, 分离双侧卵巢。免疫组化法检测卵巢颗粒细胞凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bax 的表达。HE 染色光镜下观察卵巢组织形态、各级卵泡数量变化。**结果** 卵巢颗粒细胞 Bcl-2 蛋白表达量差异无显著性。各组与染氟组 Bax 蛋白比较, 120 d 和 180 d 差异有显著性($P < 0.05$), 180 d 两干预组比较差异有显著性($P < 0.05$)。各组内比较, 染氟组 Bax 蛋白表达量逐渐增多, 差异有显著性($P < 0.05$)。多种元素组 60 d 与 180 d 比较差异有显著性($P < 0.05$)。染氟组随时间延长, 卵巢颗粒细胞呈现渐进性水肿的变化, 闭锁的卵泡和黄体退化逐渐增多。两干预组卵巢颗粒细胞少见轻度水肿, 正常的各级卵泡多见, 闭锁的卵泡和退化的黄体明显降低; 与染氟组相比, 60 d 对照组和多种元素 + 蛋白组闭锁卵泡降低, 差异有显著性($P < 0.05$); 120 d 和 180 d 对照组、两干预组差异有显著性($P < 0.05$)。**结论** 钙、镁、铜、锌、维生素 D 可拮抗燃煤型氟中毒对卵巢生殖毒性降低 Bax 蛋白的表达量, 降低闭锁卵泡数量, 同时添加蛋白联合干预效果更佳。

【关键词】 燃煤型氟中毒; 卵巢功能; 营养元素; 干预

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 07-0052-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.07.009

Effect of nutritional elements and protein on ovarian functions in female rats

WANG Feiqing¹, XIA Shuhua^{2*}, ZOU Wenbing³, YANG Hua¹, YU Maojuan⁴

(1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550001, China. 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Wudang Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550018. 3. Department of Clinical Laboratory, Guihang 300 Hospital, Guiyang 550002.
4. School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

【Abstract】 Objective To study effects of Ca, Mg, Cu, Zn, V_D combined with protein on ovarian functions in female rats with coal-burning fluorosis. **Methods** A total of 120 clean-grade SD female rats with body weights of about 80 g were used. Rats were randomly divided into control, fluorosis, element, and element + protein groups with 30 rats in

【基金项目】 贵州省科技厅项目(黔科合基础[2018]1015, 黔科合 LH 字[2017]7127 号、7128 号, 黔科合 LG 字[2011]036 号); 贵州省卫生计生委科学技术基金项目(编号: gzwjkj2017-1-055); 贵中医科学院内[2017]14 号。

【作者简介】 王飞清(1988—), 男, 主管, 硕士, 研究方向: 地方病学与生殖医学。E-mail: wfq8806@163.com

【通信作者】 夏曙华(1955—), 女, 教授, 本科, 研究方向: 地方病学与生殖医学。E-mail: xsh523@126.com

each group. Model groups were fed edible raw coal mixed with peat and different formulas of zhijin roasted corn feed. Rats were sacrificed at 60, 120, and 180 days, and bilateral ovaries were harvested. Expression of apoptosis proteins Bcl-2 and Bax in ovarian granulosa cells was observed by immunohistochemistry. HE staining was used to observe ovarian tissue morphology and changes in follicle and corpus luteum numbers. **Results** There was no statistical significance in the protein expression of Bcl-2 in ovarian granulosa cells. The expression of Bax in each group was compared with that in the fluorosis group, and a significant difference was found at 120 and 180 days ($P < 0.05$). There were significant differences at 180 days between the two intervention groups ($P < 0.05$). Compared within each group, Bax expression in the fluorosis group gradually increased and the difference was significant ($P < 0.05$). There was a significant difference at 60 and 180 days for various elements ($P < 0.05$). Over a prolonged time in the fluoride group, ovarian granulosa cells showed progressive edema, atretic follicles, and corpus luteum degradation, and mature follicles were decreased significantly. Ovarian granular cells in the two intervention groups showed rare mild edema and normal numbers of follicles at all levels. Atresia of follicles and degeneration of the corpus luteum were decreased significantly. Compared with the fluorosis group, there were significant differences in atresia follicles between control and multiple element + protein groups at 60 days, and the control group and two intervention groups at 120 and 180 days ($P < 0.05$). **Conclusions** Ca, Mg, Cu, Zn, and V_D antagonize the reproductive toxicity of coal-burning fluorosis and reduce protein expression of Bax and the number of atresia follicles. And the effects of intervention combined with protein can be better.

【Key words】 coal-burning fluorosis; ovarian function; nutritional elements; intervention

地方性氟中毒(地氟病)是由于长期摄入过量氟而引起的,根据氟源和人体摄氟的不同途径,大体上可分为饮水型、燃煤污染型、饮茶型三种。燃煤型氟中毒是中国特有的一种氟中毒,其中贵州为受灾严重地区之一。其发病的主要原因是机体摄氟量水平,营养因素和摄氟量之间存在一种叠加效应,氟中毒患病率与营养水平的高低有着密切关系。流行病学报道,除机体高氟直接摄入的危害外,饮食中维生素、蛋白质及矿物质的摄入量不足可加重氟中毒的危害和流行程度。实验研究发现,蛋白质、矿物质元素等能改善机体营养,提高机体的抗氟抗病能力,减轻氟中毒对牙齿的损害^[1]。本课题组前期研究发现燃煤型氟中毒可影响雌鼠动情周期、性激素分泌、促进卵泡闭锁^[2-4]。目前对于氟中毒致雌性生殖系统功能的临床防治干预还未得到足够的关注,给予营养成分和蛋白饮食是否能拮抗氟中毒对雌鼠卵巢生殖功能毒性研究非常缺乏。通过相关的理论依据,本课题设计以 SD 雌性大鼠为研究对象,构建雌鼠燃煤型氟中毒动物模型并对其同时添加营养元素和蛋白干预。通过拮抗后,观察 SD 雌鼠氟斑牙、尿氟、骨氟、体重变化、各级卵泡、闭锁卵泡以及黄体数量和形态变化,凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bax 表达量。探究钙、镁、铜、锌、维生素 D 和蛋白对燃煤型氟中毒雌性生殖系统毒性损伤的干预,解析其对燃煤型氟中毒雌性生殖系统毒性损伤干预的机制,为促进对高氟区女性的生殖健康和生殖内分泌系统影响的防治干预研究奠定一定的基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

以 120 只断乳 2 周体重 80 g 左右的清洁级 SD 雌性大鼠为研究对象,由贵州医科大学动物实验中心提供[SCXK(黔)2012-0001]。贵州医科大学动物实验中心动物实验室环境温度 20℃ ~ 25℃,湿度(60 ± 20)%,正常明暗交替[SYXK(黔)2012-0001]。

1.2 主要仪器与试剂

Bcl-2 和 Bax 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);氟化钠(优质纯,成都金山化学试剂有限公司);营养元素组合片由惠氏制药有限公司提供。青岛海尔集团产海尔-20℃冰箱(BCD-539WE);奥林巴斯光学工业株式会社生产 Olympus 双目光学显微镜;德国 Leica 公司产 EG1150 石蜡包埋机;德国 Leica 公司产 Leica RM2135 型切片机。

1.3 实验方法

1.3.1 构建动物模型方法

雌鼠适应性喂养一周,无异常发现后,根据体重由小到大排序,按随机数表法分组、编号。随机分为 4 组:对照组、染氟组(100 mg/kg)、多种元素组(氟 100 mg/kg + 营养元素组合片 2.08 g/kg)、多种元素 + 蛋白组(氟 100 mg/kg + 营养元素组合片 2.08 g/kg + 蛋白 30%),每组 30 只,每周调整鼠笼的位置,力求各组大鼠的实验条件一致。自由饮用自来水,各模型组大鼠自由食用不同配方的病区原

煤加拌泥煤烘烤的玉米饲料。每天动态观察大鼠日常情况(毛色、饮水、食用饲料量等),每周观察大鼠牙齿的变化并称重、记录数据。分别于染氟 60, 120, 180 d 处死,每次处死之前连续 10 d 每天早上(8:00 ~ 10:00)对雌鼠进行阴道脱落细胞涂片,观察动情周期变化,于动情期处死大鼠。本实验经贵州医科大学伦理委员会批准实施:1305020,亦经贵阳中医学院第一附属医院伦理委员会批准,符合动物伦理学要求。研究过程中按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。

1.3.2 免疫组织化学法检测卵巢颗粒细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白

处死雌鼠后,迅速取其一侧卵巢,立即放入 10% 的中性福尔马林固定液中固定,待固定液浸透后,用锋利的刀片取大小 1 mm 左右的卵巢组织,石蜡包埋,常规切片,免疫组织化学法检测卵巢颗粒细胞凋亡蛋白 Bcl-2、Bax 表达情况。Bcl-2 和 Bax 蛋白定位于细胞浆中,阳性细胞胞浆着色呈棕黄色,不显棕黄色者为阴性细胞。在高倍镜下,每张切片随机取 5 个视野,计算每个视野下 100 个细胞中阳性细胞百分比(阳性细胞数/总细胞数)。

1.3.3 HE 染色观察卵巢组织形态学并记录各级卵泡

于实验 60, 120, 180 d 动情期股动脉取血处死雌鼠,立即取出卵巢剔除脏器周围脂肪和结缔组织,滤纸吸干表面血液,经 10% 甲醛溶液固定,每组取 10 只大鼠卵巢组织进行包埋做形态学。取材、脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色。200 倍镜下观察卵巢组织结构形态学,且每张切片随机选取 20 个高倍镜视野镜下计算原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡、黄体卵泡、闭锁卵泡数量变化。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 22.0 软件对数据进行正态性检验和方差齐性检验。检测结果用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布且方差齐的数据,用单因素方差分析进行比较,各组之间的比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 一般情况与模型构建

阴性对照组雌鼠食欲正常,精神较好,毛色有光泽;模型组雌鼠食欲降低,活动减少,精神萎靡不振,毛色光泽度下降;随着时间延长多种元素组和

多种元素 + 蛋白组雌鼠与对照组区别不大,但随染氟时间的延长染氟组表现加重。模型构建依据课题组前期文献报道氟斑牙、尿氟和骨氟检测^[5-7]。

2.2 各组卵巢颗粒细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达情况

2.2.1 Bcl-2 蛋白表达情况

各组间和组内比较,雌鼠卵巢颗粒细胞 Bcl-2 蛋白表达量差异无显著性($P > 0.05$),结果见表 1 和图 1。

2.2.2 Bax 蛋白表达情况

相同时间比较(60, 120, 180 d):60 d 各模型组与对照组比较,雌鼠卵巢颗粒细胞 Bax 蛋白表达量差异均无显著性($P > 0.05$)。120 d 和 180 d 染氟组雌鼠卵巢颗粒细胞 Bax 蛋白表达量明显高于对照组、多种元素组和多种元素 + 蛋白组,差异均有显著性($P < 0.05$);多种元素 + 蛋白组比多种元素组 Bax 蛋白表达量低,且 180 d 比较差异有显著性($P < 0.05$)。结果见表 1 和图 2。

各组内比较,染氟组雌鼠卵巢颗粒细胞 Bax 蛋白表达量逐渐增多,60 d 明显低于 120 d、180 d,且差异均有显著性($P < 0.05$)。多种元素组和多种元素 + 蛋白组 Bax 蛋白表达量逐渐增多,且多种元素组 60 d 与 180 d 比较,差异有显著性($P < 0.05$);多种元素 + 蛋白组组内之间表达差异无显著性($P > 0.05$),结果见表 1 和图 2。

2.3 各组雌鼠卵泡及黄体的情况

对照组和各染氟组雌鼠卵巢外观色泽鲜红,光镜下卵巢组织结构形态正常,均可见多个黄体及不同发育阶段的卵泡,颗粒细胞呈单层或多层排列,排列整齐。染氟组随时间延长,卵巢颗粒细胞呈现渐进性水肿的变化,闭锁的卵泡和黄体退化逐渐增多,成熟卵泡明显减少。多种元素组随时间延长,卵巢颗粒细胞呈现轻中度水肿,闭锁的卵泡和黄体退化低于染氟组,可见成熟卵泡。多种元素 + 蛋白组随时间延长,卵巢颗粒细胞少见轻度水肿,闭锁的卵泡和黄体退化程度低于染氟组,可见成熟卵泡。见图 3。

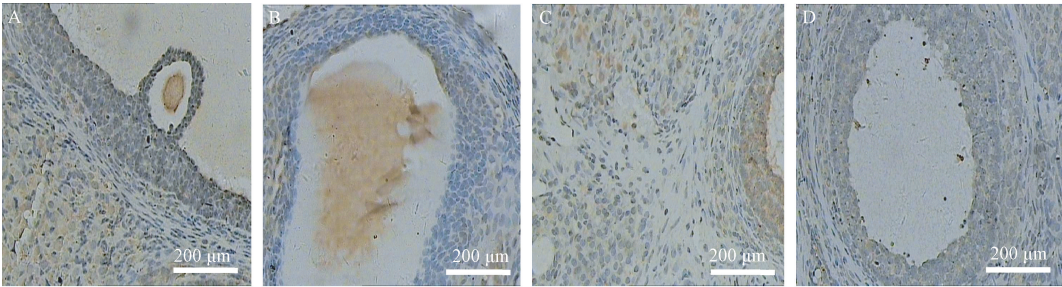
各组间雌鼠的原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡、黄体数量差异均无显著性($P > 0.05$)。各组间雌鼠闭锁卵泡数量比较:60 d 对照组、多种元素 + 蛋白组与染氟组比较,差异有显著性($P < 0.05$)。120 d 和 180 d 染氟组闭锁卵泡数量明显高于对照组、多种元素组、多种元素 + 蛋白组,差异有显著性

($P < 0.05$)。各时间点干预组与对照组比较,差异均无显著性($P > 0.05$)。各组内比较,随时间延长,闭锁卵泡数量差异均无显著性($P > 0.05$)。结果见表 2。

表 1 各组雌鼠 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达量($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Bcl-2 and Bax expression of the female rats in each group

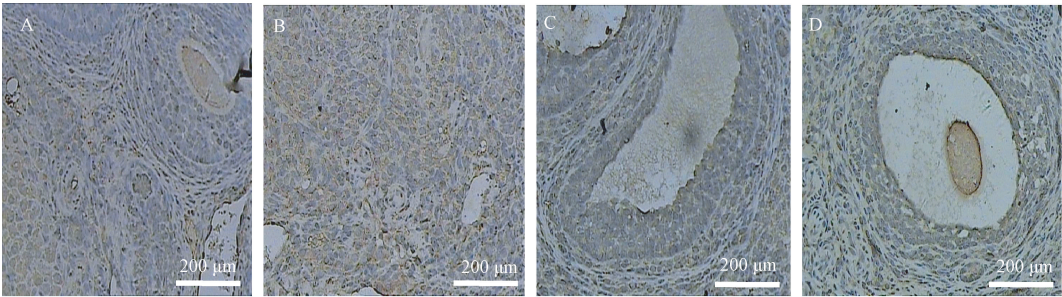
组别 Groups	天数(d) Days	Bcl-2(%)	Bax(%)
对照组 Control group	60	64.900 ± 8.252	51.300 ± 7.088
	120	62.200 ± 10.086	50.400 ± 9.155 *
	180	63.300 ± 8.193	50.900 ± 10.045 *
染氟组 Fluorosis group	60	61.800 ± 9.247	54.100 ± 6.280 ◇
	120	60.800 ± 8.715	63.300 ± 7.732 ◇
	180	68.500 ± 9.107	73.800 ± 8.766 ◇
多种元素组 Various elements group	60	63.400 ± 9.969	52.600 ± 8.934
	120	62.100 ± 9.837	54.100 ± 10.071 *
	180	63.200 ± 7.584	61.700 ± 9.832 *△◇
多种元素 + 蛋白组 Various elements + protein group	60	64.800 ± 8.991	51.200 ± 7.941
	120	64.400 ± 9.857	52.400 ± 7.043 *
	180	63.800 ± 10.130	55.100 ± 7.852 *

注:相同时间组间比较,* $P < 0.05$;与多种元素组比较,△ $P < 0.05$;相同剂量组间比较,◇ $P < 0.05$;与 180 d 比较,◇ $P < 0.05$ 。
Note. Comparison among groups at the same time, * $P < 0.05$. Compared with the various elements group, △ $P < 0.05$. Comparison among groups with the same dose, ◇ $P < 0.05$. Compared with 180 d, ◇ $P < 0.05$.



注:A:对照组;B:染氟组;C:多种元素组;D:多种元素 + 蛋白组。
图 1 180 d 雌鼠卵巢颗粒细胞 Bcl-2 表达(× 200)
Note. A: Control group; B: Fluorosis group; C: Various elements group; D: Various elements + protein group.

Figure 1 Bcl-2 expression in ovarian granulosa cells at 180 days in female rats



注:A:对照组;B:染氟组;C:多种元素组;D:多种元素 + 蛋白组。
图 2 180 d 雌鼠卵巢颗粒细胞 Bax 表达(× 200)
Note. A: Control group; B: Fluorosis group; C: Various elements group; D: Various elements + protein group.

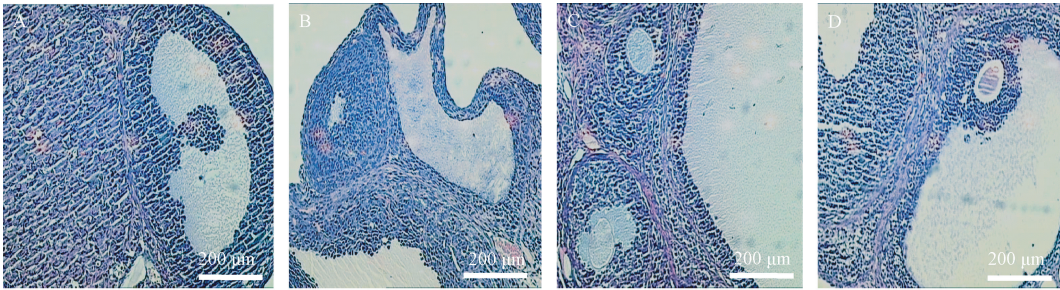
Figure 2 Bax expression in ovarian granulosa cells in 180 days in female rats

表 2 各组雌鼠各阶段卵泡数量比较($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Comparison of follicles at each stage in the female rats of each group

组别 Groups	天数(d) Days	原始卵泡数量 Number of primordial follicles	初级卵泡数量 Number of primary follicles	次级卵泡数量 Number of secondary follicles	黄体数量 Number of corpora lutea	闭锁卵泡数量 Number of follicle atresia
对照组 Control group	60	16.1 ± 3.9	8.7 ± 1.8	5.3 ± 1.6	18.2 ± 4.8	19.8 ± 4.4 *
	120	16.7 ± 2.8	7.3 ± 2.1	5.6 ± 1.7	22.2 ± 4.6	19.2 ± 3.9 *
	180	16.9 ± 3.6	7.9 ± 2.0	6.5 ± 1.6	19.1 ± 4.5	19.6 ± 4.4 *
染氟组 Fluorosis group	60	16.5 ± 3.3	8.2 ± 1.6	6.6 ± 1.3	18.7 ± 3.7	24.6 ± 5.2
	120	15.9 ± 3.1	8.3 ± 1.5	5.9 ± 1.3	19.6 ± 3.3	25.4 ± 4.1
	180	16.2 ± 4.3	7.8 ± 1.7	5.7 ± 1.6	18.6 ± 4.5	26.1 ± 5.3
多种元素组 Various elements group	60	16.4 ± 3.9	7.8 ± 1.5	6.2 ± 1.7	19.3 ± 4.9	21.5 ± 4.2
	120	17.4 ± 3.0	7.4 ± 2.2	6.2 ± 1.8	20.8 ± 4.5	20.6 ± 3.3 *
	180	16.7 ± 3.9	7.4 ± 2.1	5.8 ± 2.1	18.8 ± 3.1	21.2 ± 3.3 *
多种元素 + 蛋白组 Various elements + protein group	60	17.2 ± 2.7	9.2 ± 1.6	5.8 ± 1.8	19.1 ± 3.8	20.4 ± 4.2 *
	120	16.3 ± 3.0	8.2 ± 2.1	5.6 ± 2.1	21.6 ± 3.5	19.2 ± 3.1 *
	180	16.6 ± 3.0	8.8 ± 2.1	6.4 ± 1.9	19.7 ± 3.7	20.9 ± 4.3 *

注:与染氟组比较, * $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the fluorosis group, * $P < 0.05$.



注:A:对照组;B:染氟组;C:多种元素组;D:多种元素 + 蛋白组。

图 3 180 d 雌鼠卵巢组织形态(× 200)

Note. A: Control group; B: Fluorosis group; C: Various elements group; D: Various elements + protein group.

Figure 3 Ovarian tissue morphology at 180 days in female rats

3 讨论

实验研究发现,氟中毒可引起凋亡蛋白表达增高,促进细胞凋亡发生^[8]。而钙、镁、铜、锌很早已被人们作为拮抗氟中毒的主要营养元素之一,科提高机体抗氧化力,拮抗氟对机体毒性损伤和细胞凋亡^[9-10]。文献报告,锌和铜可增加男性生殖细胞对氧化应激的耐受性,降低生精细胞的凋亡^[11]。钙、镁、铜等参与机体抗氧化酶合成同时,可降低凋亡蛋白 Bax 的表达,这已在神经元和雄性精子的抗氟抗氧化损伤作用得到实验论证^[12-13]。本实验结果显示,两干预组 Bcl-2 蛋白表达量与对照组相比无明显差异,与染氟组比较有所升高,但差异无显著性,表明染氟和营养因素对蛋白 Bcl-2 表达量影响不大。实验结果进一步显示,染氟组 Bax 蛋白表达量明显增加,而添加营养成分干预,两干预组 Bax 蛋白表达量与染氟组比较明显降低。两干预组间比

较,Bax 蛋白表达差异无显著性。通过干预,两干预组 Bax 蛋白表达量与对照组比较差异无显著性,显示钙、镁、铜、锌、维生素 D 和蛋白可降低氟中毒卵巢颗粒细胞 Bax 蛋白表达。本实验初步探讨氟对雌性生殖系统毒性机制和干预情况,为今后对氟病区女性生殖毒性防治和治疗起到重要意义。

卵泡退化主要因素与卵巢颗粒细胞的凋亡密切相关^[14]。本实验结果显示,高剂量氟可促进卵巢颗粒细胞的凋亡,且光镜结果显示闭锁卵泡和退化黄体增多,这与本实验组前期报到高氟对卵巢损伤相符^[15]。实验研究报道,卵巢颗粒细胞和卵泡膜细胞分布丰富维生素 D 受体,给予维生素 D 可调节卵巢功能^[16]。本实验结果显示,两干预组与对照组比较,原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡及黄体数量均未产生明显的影响。多种元素组和多种元素 + 蛋白组卵巢颗粒细胞少见轻度水肿,正常的各级卵泡多见,闭锁的卵泡和退化的黄体明显低于染氟组,且

从形态学比较两干预组效果差异不明显。结果还发现,两干预组与对照组比较闭锁卵泡数量无明显差异,与染氟组比较逐渐降低,差异有显著性,显示钙、镁、铜、锌、维生素 D 和蛋白可拮抗氟对卵泡细胞毒性作用,两干预组间卵巢组织形态和卵泡数量无明显差异,提示与干预时间长短和干预因素无明显相关性,这与本课题组前期研究报道卵巢颗粒细胞超微结构的改变相符^[17]。

综上所述,本研究显示高剂量的氟对雌鼠卵巢生殖功能存在明显毒性作用,表现为卵巢颗粒细胞促凋亡蛋白 Bax 表达明显增高,光镜下卵巢颗粒细胞明显水肿、闭锁卵泡增加、黄体退化,明显影响卵泡发育。添加钙、镁、铜、锌、维生素 D 和蛋白干预氟中毒对卵巢组织毒性作用,结果显示上述干预因素可使染氟所致卵巢颗粒细胞促凋亡蛋白 Bax 表达显著降低,光镜下闭锁卵泡的数量明显降低,各阶段发育卵泡可见;在添加钙、镁、铜、锌、维生素 D 基础上加入蛋白,可使雌鼠卵巢颗粒细胞凋亡蛋白 Bax 表达和闭锁卵泡数量降低,且随干预时间延长,效果更佳。

参考文献:

- [1] 黄德远,张秀慧,喻茂娟,等. 大豆、硒粉、螺旋藻对高摄铝下氟中毒大鼠的干预效果 [J]. 中国地方病学杂志, 2009, 28(4): 376-380.
- [2] 王世君,夏曙华,余司文,等. 煤氟污染的粮食对雌鼠动情周期的影响 [J]. 中华地方病学杂志, 2014, 33(2): 138-140.
- [3] 王飞清,余司文,夏曙华,等. 燃煤型氟中毒对雌鼠卵巢生殖功能影响 [J]. 中国公共卫生, 2015, 31(1): 76-79.
- [4] 邹文兵,夏曙华,徐静峰,等. 燃煤型氟中毒对雌性大鼠卵巢颗粒细胞的影响 [J]. 环境与健康杂志, 2014, 31(2): 124-127.
- [5] 李学会,夏曙华,王世君,等. 复合维生素和蛋白质协同拮

- 抗氟中毒对雌性大鼠卵巢损伤的动态观察 [J]. 环境与健康杂志, 2014, 31(12): 1055-1059.
- [6] 余司文,王飞清,夏曙华,等. 多种营养素干预燃煤型氟中毒对雌鼠氟斑牙及骨氟和尿氟的影响 [J]. 环境与健康杂志, 2017, 34(6): 477-480.
- [7] 刘洋,韩伦英,何川,等. 不同性别氟中毒大鼠模型的比较研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(1): 33-37.
- [8] Fan B, Yu Y, Zhang Y. PI3K-Akt1 expression and its significance in liver tissues with chronic fluorosis [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(2): 1226-1236.
- [9] Sahin N, Onderci M, Sahin K, et al. Magnesium proteinate is more protective than magnesium oxide in heat-stressed quail [J]. J Nutr, 2005, 135(7): 1732-1737.
- [10] 刘永祥, 吕于明. 饲料镁对肉仔鸡生长、组织镁浓度及抗氧化功能的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2007, 43(19): 29-33.
- [11] Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, et al. Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase [J]. PLoS One, 2011, 6(2): e16938.
- [12] Chung JY, Kim HJ, Kim M. The protective effect of growth hormone on Cu/Zn superoxide dismutase-mutant motor neurons [J]. BMC Neurosci, 2015, 16: 1.
- [13] 冯亚静,高利华,段丽菊,等. 锌对染氟大鼠生精细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响 [J]. 郑州大学学报(医学版), 2011, 46(1): 48-50.
- [14] Johnson AL. Intracellular mechanisms regulating cell survival in ovarian follicles [J]. Anim Reprod Sci, 2003, 78(34): 185-188.
- [15] 王飞清,李艳菊,王宁,等. 氧化应激-炎性因子对氟中毒卵巢早衰的影响 [J]. 现代预防医学, 2017, 44(12): 2296-2299.
- [16] Rachel PU, John MD. Vitamin D in pregnancy: current concepts [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2012, 24(2): 57-64.
- [17] 李学会,夏曙华,王世君,等. 多种营养元素和强化大豆对氟中毒雌鼠性腺轴内分泌功能的作用 [J]. 中华地方病学杂志, 2015, 34(9): 660-665.

[收稿日期]2018-04-07