

李博研,张卓,周波,等. 氟中毒大鼠骨、肝、肾及脑组织的病理学变化[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 99 – 104.
Li BY, Zhang Z, Zhou B, et al. Pathological changes of femur, liver, kidney, and brain tissues in rats exposed to fluoride [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 99 – 104.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.016

氟中毒大鼠骨、肝、肾及脑组织的病理学变化

李博研,张卓*,周波,郭连莹,王晓红,于叶,胡博森

(沈阳医学院公共卫生学院,辽宁省高等学校环境与人口健康重点实验室,沈阳 110034)

【摘要】 目的 研究氟化钠对大鼠骨、脑、肝及肾组织病理学的影响。**方法** 选择健康断乳 SD 大鼠 20 只,雌雄各半,随机分为对照组和氟中毒组。氟中毒组大鼠自由饮用含氟化钠的自来水(氟离子浓度为 100 mg/L),定期称重,测量身长、尾长,并观察氟斑牙及中毒症状。饲养 12 周后,检测各组大鼠股骨、肝脏、肾脏及脑组织氟含量,测定血清、肝脏、肾脏及脑组织丙二醛(MDA)含量,光镜和电镜下观察各组织的病理学结构变化。**结果** 氟中毒组大鼠摄食量、摄水量、体重、身长及尾长均略低于对照组,但差异无统计学意义;对照组大鼠无氟斑牙发生,氟中毒组大鼠氟斑牙发病率为 100%;与对照组相比,氟中毒组大鼠股骨、肝脏、肾脏及脑组织氟含量均显著升高($P<0.01$);氟中毒组大鼠血清及肝脏、肾脏及脑组织 MDA 含量均高于对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。光镜结果显示,氟中毒组大鼠骨小梁粗细不均、间距增大;肝细胞部分水肿明显,肝细胞索排列紊乱;肾皮质近曲小管上皮细胞肿胀,管腔增大;海马区神经细胞肿胀和空泡化。电镜下,氟中毒组大鼠成骨细胞、肝细胞、肾脏近曲小管上皮细胞及脑神经元的超微结构均呈现细胞凋亡的典型特征,表现为细胞核固缩,染色质浓聚边集,线粒体肿胀、空泡化。**结论** 氟化钠可引起实验性大鼠骨、肝、肾及脑组织病理性损伤,导致细胞凋亡。

【关键词】 氟中毒;大鼠;氧化应激;病理变化

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 06-0099-06

Pathological changes of femur, liver, kidney, and brain tissues in rats exposed to fluoride

LI Boyan, ZHANG Zhuo*, ZHOU Bo, GUO Lianying, WANG Xiaohong, YU Ye, Hu Bosen
(Department of Public Health, Shenyang Medical College, Key Laboratory of
Environment and Population Health of Liaoning Province, Shenyang 110034, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of sodium fluoride on the pathological and morphological changes in femur, liver, kidney, and brain tissues of rats with fluorosis. **Methods** Ten healthy male and ten healthy female weaned Sprague-Dawley rats were randomly divided into a control group and fluorosis group. Rats in the fluorosis group were fed with tap water containing a fluorine ion concentration of 100 mg/L for 12 weeks. Contents of fluoride ion in the femur, liver, kidney, and brain tissues of rats in each group were determined, as well the content of malondialdehyde (MDA) in serum, liver, kidney, and brain. Pathological and morphological changes in the femur, liver, kidney, and brain of rats with fluorosis were observed using light microscopy and transmission electron microscopy (TEM). **Results** Body weight, body length, and tail length of rats in the fluorosis group were slightly lower than those in the control group, but the incidence of dental fluorosis in rats treated with fluoride was 100%. Fluoride levels in the femur, liver, kidney, and brain

[基金项目] 辽宁省自然科学基金(201602733);沈阳市科学技术计划项目(18-013-0-48);沈阳医学院青年基金(20152036)。

[作者简介] 李博研(1993—),女,硕士研究生,专业:营养与食品卫生学。E-mail: 1215484603@qq.com

[通信作者] 张卓,男,副教授,博士,硕士生导师,研究方向:营养与慢性病防治。E-mail: zhangzhuo@symc.edu.cn

tissues of fluorosis group rats were significantly increased compared with the control group ($P < 0.01$), and MDA content in serum, liver, kidney, and brain of rats with fluorosis was higher than that of the control group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The results of pathological examination in rats with fluorosis revealed: 1) shortened bone trabecula, 2) wider trabecular spacing in bone tissue, 3) hepatocyte degeneration and vacuolization in liver tissue, 4) vacuolar degeneration of epithelial cells in the kidney proximal tubule, as well as mildly congestive and expanded interstitial tubules, and 5) sparsely distributed hippocampal cells exhibiting swelling and vacuolation. Under TEM, all the osteoblasts, hepatocytes, epithelial cells of the kidney proximal tubules, and neurons in rats treated with fluoride all exhibited shrinkage, chromatin margination, and mitochondrial swelling. **Conclusions** Sodium fluoride can cause pathological damage in the femur, liver, kidney, and brain tissues in rats, and can induce cell apoptosis.

[Keywords] Fluorosis; rats; oxidative stress; pathology

自然界中,氟元素常以氟化物的形式稳定存在。在高氟环境条件下,机体长期过量摄入氟化物,可使其在体内广泛蓄积,最终导致慢性氟中毒。在我国,氟中毒是危害较为严重的一种地方病,属于全身中毒性疾病,除了可以引起以骨代谢紊乱为典型特征的氟骨症,还可造成肝、肾及中枢神经系统等非骨相组织的功能异常^[1-3]。目前,氟中毒病因已明确,虽然其致病机制尚未完全清楚,但多数学者认为^[1,4-5],氟的毒性损伤作用与机体氧化应激状态密不可分。本研究通过对正常大鼠和慢性氟中毒模型大鼠的比较,主要从形态学角度观察氟化钠引起实验大鼠骨相和非骨相组织的病理学改变,为探讨氟中毒的毒性机理、深入研究氟中毒器官组织损伤及其防治措施提供基础科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

20 只断乳 4 周龄,体重 65~75 g,清洁级 SD 大鼠(雌雄各半)购自中国医科大学实验动物部[SCXK(辽)2013-0001]。常规喂养 1 周后,根据体重均衡的原则将大鼠随机分为对照组和氟中毒组,每组 10 只(雌雄各半,分笼饲养)。对照组饮用自来水(F^- 浓度:0.4536 mg/L),氟中毒组饮用含氟化钠(NaF)的自来水(F^- 浓度:100 mg/L);两组大鼠均喂饲市售普通颗粒饲料。实验在中国医科大学实验动物室[SYXK(辽)2013-0007]进行。实验共持续 12 周,期间,保持动物室良好通风,室温 20℃~25℃,相对湿度(60±10)%,实验大鼠自由摄食、饮水,定期称重,并观察日常活动状态。按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器

HITACHI H-7650 透射电镜(日本日立公司);SpectraMax Plus384 高通量酶标仪(美国 Molecular

Devices 公司);CSB-F-1 型氟离子选择电极(长沙半导体材料厂)。氟化钠(Sigma,USA);东盛牌普通饲料(沈阳市于洪区前民饲料厂);多聚甲醛(上海圻明生物科技有限公司);戊二醛(上海双博生物科技有限公司);四氧化钼(北京寰宇科创科技发展有限公司);柠檬酸铅(北京达昱科仪科技有限公司);丙二醛试剂盒(南京建成生物工程研究所);考马斯亮兰试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 实验方法

实验周期结束,各组大鼠称重,测量身长、尾长,采用大鼠氟斑牙分度方法^[6]记录氟斑牙发生情况。随后,所有大鼠麻醉后,腹主动脉采血,分离血清,处死后,迅速分离股骨、肝、肾及脑组织,除股骨外,同一脏器取相同部位组织进行 MDA 含量测定;每组抽取 6 只大鼠(雌雄各半)组织样本,用于氟含量测定;另取雌雄大鼠各 1 只组织样本,用于光镜标本制备和观察;剩余 2 只大鼠组织样本用于电镜标本制备。具体按下列步骤进行操作:

1.3.1 氟含量测定

参照相关文献方法,骨组织中氟含量采用管式炉高温燃烧水解法进行测定^[7],软组织氟含量采用氟离子选择电极法进行测定^[8]。

1.3.2 MDA 含量测定

血清中 MDA 含量按照说明书进行操作,MDA (nmol/mL)=(测定管的 OD 值-测定空白管的 OD 值)/(标准管的 OD 值-标准空白管的 OD 值)×标准品的浓度×稀释倍数。组织中 MDA 含量测定,首先准确称取待测组织的重量,按照重量体积比加预冷生理盐水,使用匀浆器在冰上操作将标本匀浆充分,制成 10%的组织匀浆,3000 r/min 离心 10 min,取上清液,再按照说明书要求进行操作,MDA (nmol/mgprot)=(测定管的 OD 值-测定空白的 OD 值)/(标准管的 OD 值-标准空白管的 OD 值)×标准品浓度/样品蛋白质含量。

1.3.3 光镜标本制备

各组织样本均用 4% 多聚甲醛固定 72 h(股骨固定后需用 10% EDTA 脱钙)。固定结束后,流水冲洗 3 h。石蜡常规包埋后,机械切片,伊红-苏木素普通染色,显微镜下观察组织形态。

1.3.4 电镜标本制备

取股骨干骺端松质骨块,其他组织取相同部位组织块,均用 2.5% 的戊二醛溶液固定 24 h(骨组织需 EDTA 脱钙)。小心清洗后,用 1% 的四氧化锇溶液固定,乙醇梯度脱水,环氧树脂包埋,机械加工制备超薄切片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,透射电镜下观察细胞形态。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。实验数据以平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间均数比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

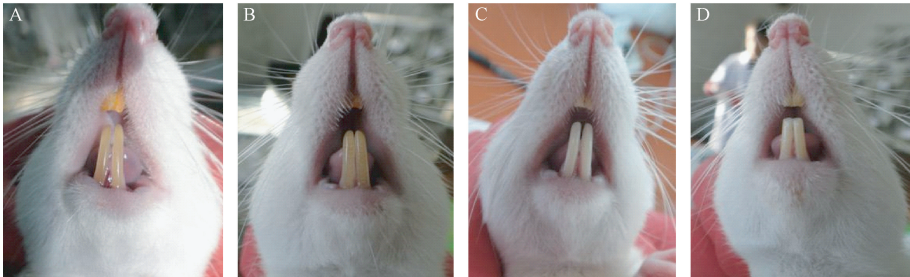
2.1 实验动物一般状况

表 1 各组大鼠一般状况 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 General conditions of the rats in each group

组别 Groups	摄食量(g/week) Food intake	摄水量(g/week) Water intake	终体重(g) Body weight	身长(cm) Body length	尾长(cm) Tail length
对照组 Control group	140.54±22.67	264.41±45.90	311.25±89.99	22.84±2.05	18.66±1.32
氟中毒组 Fluorosis group	135.14±16.19	235.41±25.97	292.85±74.72	22.38±1.65	18.64±0.92

表 2 各组大鼠氟斑牙发生情况 (*n* = 10)
Table 2 Incidence of dental fluorosis of rats in each group

组别 Groups	正常 Normal	轻度 Mild	中度 Moderate	重度 severe
对照组 Control group	10	0	0	0
氟中毒组 Fluorosis group	0	4	5	1



注:A:正常;B:轻度;C:中度;D:重度。
图 1 各组大鼠氟斑牙情况
Note. A, Normal. B, Mild. C, Moderate. D, severe.

Figure 1 Dental fluorosis of rats in each group

实验期间,氟中毒组大鼠摄食量、摄水量、体重、身长及尾长均略低于对照组,但差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。氟中毒组大鼠行为表现未见明显异常。

2.2 氟斑牙发病情况

对照组大鼠未见氟斑牙发生,表现为门齿生长发育良好,牙面为棕黄色,表面光滑有光泽,透明度好无破损。氟中毒组大鼠氟斑牙发病率为 100%,出现不同程度的氟斑牙,其中轻度 4 只、中度 5 只、重度 1 只,表现为实验初期大鼠门齿出现棕白横纹,后期横纹加重,齿面着色不匀,部分区域呈白垩状改变,牙面粗糙,光泽减退,重者出现破损,见表 2 和图 1。

2.3 各组大鼠组织中氟含量

表 3 结果显示,氟中毒组大鼠骨氟、肝氟、肾氟及脑氟含量均显著高于对照组大鼠(*P*<0.01)。

2.4 各组大鼠不同组织中 MDA 含量

氟中毒组大鼠血清及肝、肾、脑组织中 MDA 含量均显著高于对照组大鼠(*P*<0.01 或 *P*<0.05),见表 4。

2.5 光镜下各组织的病理学改变

光镜结果显示,对照组大鼠骨小梁致密完整,网状结构排列均匀、整齐;氟中毒组大鼠骨小梁粗细不均,小梁间距增大、髓腔扩大,有部分断裂发生(图 2 a,b)。对照组肝组织轮廓清楚,肝细胞索排列有序,胞浆红染,细胞核大、圆且居中;氟中毒组大鼠肝细胞部分水肿明显,肝细胞索排列紊乱,胞浆结构疏松,肝细胞轮廓不清(图 2 c,d)。对照组大鼠肾皮质近曲小管上皮细胞排列整齐,核圆形,染色质分布均匀,肾小球囊壁完整,系膜细胞和足细胞未见异常;氟中毒组大鼠肾皮质近曲小管可见

上皮细胞肿胀、溶解、坏死,管腔增大,腔内可见脱落的上皮细胞(图 2 e,f)。对照组大鼠海马区神经细胞排列正常、边缘清晰,核圆居中;氟中毒组大鼠海马区神经细胞肿胀、空泡化,部分细胞核浓染、固缩,顶树突排列紊乱(图 2g,h)。

2.6 电镜下各组织的病理学改变

电镜下可见,对照组成骨细胞核形状完整、核仁明显,胞质内含大量细胞器,线粒体结构清晰,内质网丰富;氟中毒组大鼠的成骨细胞胞浆成分减少,轻度核固缩、呈不规则型、核仁消失,染色质浓聚边集,多数线粒体发生肿胀,部分呈现空泡化(图

表 3 各组大鼠组织氟含量($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Changes in tissue fluoride of rats in each group

组别 Groups	骨氟($\mu\text{g/g}$) Bone fluoride	肝氟($\mu\text{g/kg}$) Liver fluoride	肾氟($\mu\text{g/kg}$) Kidney fluoride	脑氟($\mu\text{g/kg}$) Brain fluoride
对照组 Control group	415. 27±35. 05	198. 20±90. 99	284. 53±110. 12	210. 28±130. 45
氟中毒组 Fluorosis group	2195. 87±66. 22 **	581. 03±158. 31 **	914. 32±306. 81 **	800. 21±195. 53 **

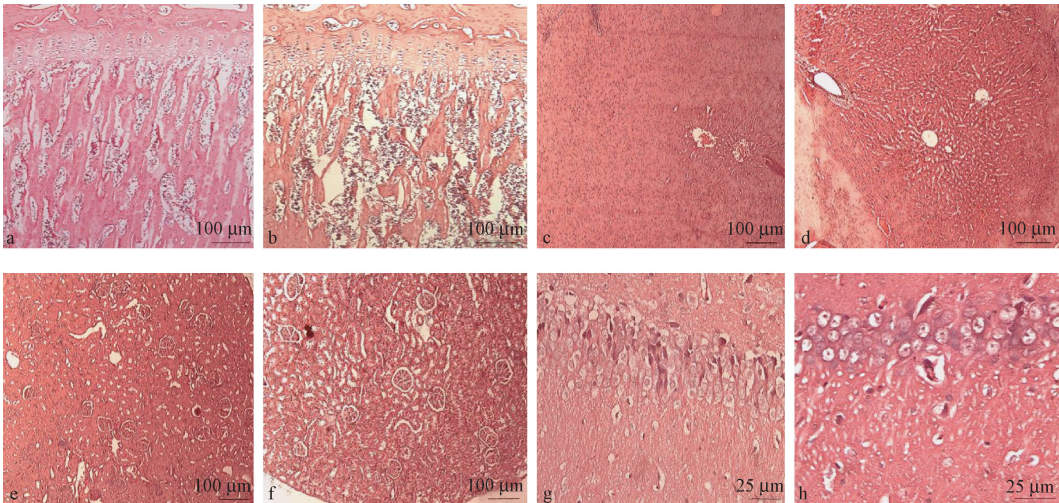
注:与对照组比较, ** $P < 0. 01$ 。
Note. Compared with the control group, ** $P < 0. 01$.

表 4 各组大鼠不同组织中 MDA 含量($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 MDA content in different tissues of the rats in each group

组别 Groups	血清(nmol/mL) Serum	肝组织(nmol/mgprot) Liver tissue	肾组织(nmol/mgprot) Kidney tissue	脑组织(nmol/mgprot) Brain tissue
对照组 Control group	2. 97±0. 72	1. 52±0. 35	0. 71±0. 14	1. 26±0. 26
氟中毒组 Fluorosis group	3. 94±0. 94 *	2. 54±0. 59 **	1. 71±1. 18 *	2. 29±0. 84 **

注:与对照组比较, * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 01$ 。
Note. Compared with the control group, * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 01$.



注:对照组:a,股骨;c,肝脏;e,肾脏;g,脑海马区。氟中毒组:b,股骨;d,肝脏;f,肾脏;h,脑海马区。

图 2 实验大鼠各组织病理学改变

Note. Control group: a, femur; c, liver; e, kidney; g, hippocampus. Fluorosis group: b, femur; d, liver; f, kidney; h, hippocampus.

Figure 2 Histopathological changes in different tissues of the rats in each group

3 a,b)。对照组大鼠肝细胞结构完整、形态规则,细胞界限清晰,细胞核圆且位置居中,细胞质内细胞器丰富,线粒体呈椭圆形,线粒体嵴连续清晰;氟中毒组大鼠肝细胞变形,细胞界限不清,染色质浓缩边集,在核膜下成新月形改变,细胞内广泛线粒体明显肿胀,嵴断裂或消失,内质网扩张(图 3 c,d)。对照组大鼠肾近曲小管上皮细胞核圆,位于中心,细胞周围排列细长而密集的微绒毛,线粒体丰富、嵴膜清晰、内质网发达;氟中毒组大鼠细胞肿胀,线粒体普遍肿大,线粒体嵴减少或消失,成空泡状,个别线粒体膜破裂,细胞核染色质边集,核膜褶皱,并出现断裂(图 3 e,f)。对照组大鼠脑神经元细胞核大而圆,细胞核膜的双层结构较为清晰,核内染色质分布均匀,胞浆中细胞器含量丰富且分布正常;氟中毒组大鼠神经细胞膜褶皱,线粒体变形、嵴消失、空泡形成,染色质固缩、浓染(图 3 g,h)。

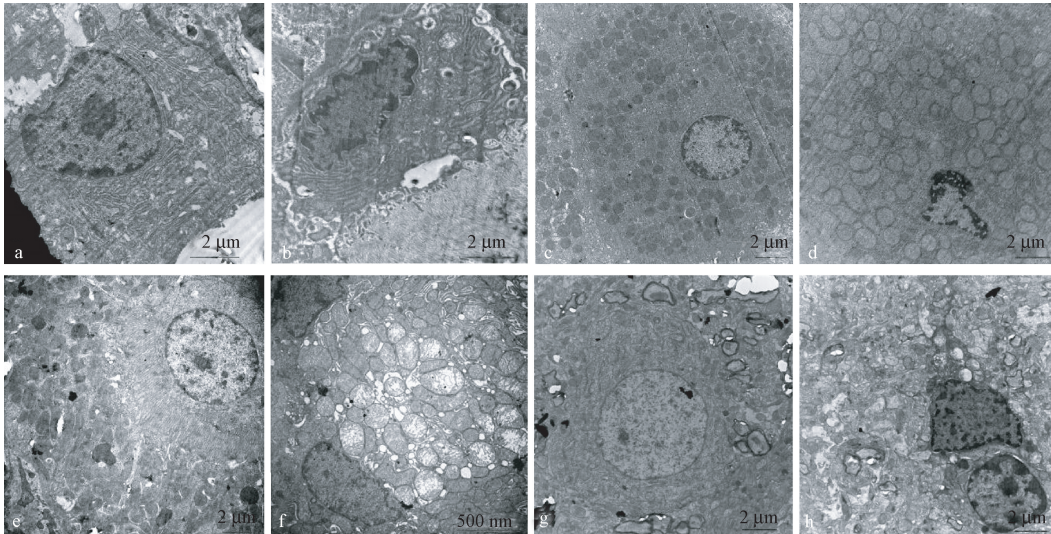
3 讨论

氟化物在自然环境中广泛存在,可通过经口摄入、皮肤接触及呼吸吸入等多种途径进入机体^[9]。绝大部分经口摄入的氟化物可由消化系统迅速吸收入血,最终以离子状态分布全身^[10-11],主要集中在骨骼和牙齿,其余部分可在肝、脑、肾等软组织中蓄积^[11-13],当含量达到一定程度即可引起相应组织病理学改变,导致氟中毒。地方性氟中毒在我国分布广

泛,饮水型氟中毒是其主要形式之一,考虑到相似的摄入途径,结合相关研究结果^[1,9-11],本实验通过给予大鼠饮用含氟量较高的自来水制备氟中毒大鼠模型,结果发现,氟中毒大鼠出现不同程度的氟斑牙,且骨、肝、肾及脑组织中氟含量均显著增加,说明氟中毒模型制备成功,此外,氟中毒大鼠还伴有组织 MDA 水平增高,及光镜下显著的病理学改变,可见,高氟摄入已引起实验大鼠组织病理学损伤。

氟对骨组织的损伤呈多种病理状态^[17-18],通常,氟在低剂量条件下可激活成骨细胞,促进成骨作用,而高剂量条件下则抑制成骨过程。本次实验观察到,氟中毒大鼠骨小梁呈现粗细不均、间距增大和部分断裂等骨质疏松样改变,这与郑冬冬等^[19]的研究结果相似;作为机体的主要代谢器官,肝和肾在氟性细胞损伤作用中首当其冲,动物实验均已证实,过量氟摄入可导致肝肾组织的结构和功能异常^[1];此外,氟亦可穿过血脑屏障进入脑组织,对神经元产生毒性作用,进而影响脑功能,干扰正常的记忆和思维能力^[20],本实验中,氟中毒大鼠海马神经细胞出现的细胞肿胀、空泡化等形态学变化,可为脑功能异常提供病理学解释。

近些年,多数研究认为^[21-22],氧化应激主导了氟中毒状态下机体的损伤作用,而组织细胞氧化损伤时又多伴有细胞凋亡的典型特征,如细胞核染色质边集、线粒体肿胀等。在此过程中,作为脂质过



注:对照组:a,成骨细胞;c,肝细胞;e,肾脏近曲小管上皮细胞;g,脑神经元。氟中毒组:b,成骨细胞;d,肝细胞;f,肾脏近曲小管上皮细胞;h,脑神经元。

图 3 实验大鼠各组织细胞超微结构

Note. Control group: a, osteoblast; c, hepatocyte; e, epithelial cells of proximal convoluted tubules; g, cerebral neuron. Fluorosis group: b, osteoblast; d, hepatocyte; f, epithelial cells of proximal convoluted tubules; h, cerebral neuron.

Figure 3 Ultrastructural changes of different organ tissues in the rats

氧化的终产物,MDA 常用作反映组织细胞氧化损伤程度的首选指标^[23]。结合本次研究结果,氟中毒组大鼠血清及各组织中 MDA 水平明显升高,这就提示氟中毒大鼠正处于相对严重的氧化应激状态。而这种氧化应激状况的产生,可能涉及下列因素^[24-26]:①氟能与某些抗氧化酶中的金属元素形成复合物,该抗氧化酶的活性部分丧失;②氟化物在生物代谢中可形成部分有机氟,去烷基后便可形成氟自由基;③过量的氟通过激活膜结合酶,催化原子氧,导致抗氧化酶消耗量剧增;④电负性极强的氟元素,可以直接攻击氧,细胞氧代谢紊乱,自由基产生。因此,学者们普遍认为氧化应激是氟中毒所致的细胞凋亡的机制之一。本研究电镜结果显示,氟中毒大鼠的成骨细胞、肝细胞、肾近曲小管上皮细胞及脑神经元均呈现细胞凋亡的典型形态特征,如细胞核固缩、核仁消失,染色质浓集,线粒体肿胀、空泡化等,这也印证了上述观点。只是,氟对机体的损伤机制错综复杂,而氟性氧化损伤作用在其中占有多大比重,亟待进一步研究探讨。

总之,氟化钠可引起实验性大鼠骨、肝、肾及脑组织病理性损伤,导致细胞凋亡。

参考文献:

- [1] Zhang Z, Zhou B, Wang XH, et al. Maize purple plant pigment protects against sodium fluoride-induced oxidative damage of liver and kidney in rats [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2014, 11(1): 1020-1033.
- [2] 王飞清,夏曙华,邹文兵,等. 营养元素和蛋白联合干预氟中毒对雌鼠卵巢功能作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(7): 52-57.
- [3] 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.
- [4] Varol E, Icli A, Aksoy F, et al. Evaluation of total oxidative status and total antioxidant capacity in patients with endemic fluorosis [J]. *Toxicol Ind Health*, 2013, 29(2): 175-180.
- [5] Jothiramajayam M, Sinha S, Ghosh M, et al. Sodium fluoride promotes apoptosis by generation of reactive oxygen species in human lymphocytes [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2014, 77(21): 1269-1280.
- [6] 王连方. 氟斑牙的几种“Dean 氏分类法”浅析 [J]. *地方病通报*, 2007, 22(1): 71-73.
- [7] 张志瑜,翟城,钱聪,等. 高温燃烧水解氟电极法测定骨氟化物水平实验条件的研究 [J]. *中国地方病学杂志*, 2006, 25(4): 450-452.
- [8] 张志瑜,韩冰,钱聪. 痕量氟化物快速测定方法建立 [J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(2): 255-256.
- [9] Perumal E, Paul V, Govindarajan V, et al. A brief review on experimental fluorosis [J]. *Toxicol Lett*, 2013, 223(2): 236-251.

- [10] Zuo H, Chen L, Kong M, et al. Toxic effects of fluoride on organisms [J]. *Life Sci*, 2018, 198: 18-24.
- [11] Buzalaf MA, Whitford GM. Fluoride metabolism [J]. *Monogr Oral Sci*, 2011, 22: 20-36.
- [12] Dec K, Lukomska A, Maciejewska D, et al. The influence of fluorine on the disturbances of homeostasis in the central nervous system [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2017, 177(2): 224-234.
- [13] Khandare AL, Gourineni SR, Validandi V. Dental fluorosis, nutritional status, kidney damage, and thyroid function along with bone metabolic indicators in school-going children living in fluoride-affected hilly areas of Doda district, Jammu and Kashmir, India [J]. *Environ Monit Assess*, 2017, 189(11): 579.
- [14] Qin SL, Deng J, Lou DD, et al. The decreased expression of mitofusin-1 and increased fission-1 together with alterations in mitochondrial morphology in the kidney of rats with chronic fluorosis may involve elevated oxidative stress [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2015, 29: 263-268.
- [15] 李惠兰,于燕妮,陈扬,等. 燃煤污染型氟中毒大鼠 Mn-超氧化物歧化酶 mRNA 和蛋白水平的改变 [J]. *中华病理学杂志*, 2012, 41(09): 627-630.
- [16] Nabavi SF, Habtemariam S, Jafari M, et al. Protective role of gallic acid on sodium fluoride induced oxidative stress in rat brain [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2012, 89(1): 73-77.
- [17] 陈荣,于燕妮,徐淋,等. mTOR 自噬通路在染氟大鼠关节损伤中的作用 [J]. *中国地方病防治志*, 2017, 32(1): 18-19.
- [18] Liu L, Zhang Y, Gu H, et al. Fluorosis induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in osteoblasts in vivo [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2015, 164(1): 64-71.
- [19] 郑冬冬,周涛,段小红. 活体小动物显微 CT 对氟中毒小鼠骨质特征的分析 [J]. *实用口腔医学杂志*, 2013, 29(2): 181-184.
- [20] Liu F, Ma J, Zhang H, et al. Fluoride exposure during development affects both cognition and emotion in mice [J]. *Physiol Behav*, 2014, 124: 1-7.
- [21] Rashid K, Sinha K, Sil PC. An update on oxidative stress-mediated organ pathophysiology [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62: 584-600.
- [22] Zuo H, Chen L, Kong M, et al. Toxic effects of fluoride on organisms [J]. *Life Sci*, 2018, 198: 18-24.
- [23] Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges [J]. *Anal Biochem*, 2017, 524: 13-30.
- [24] Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo LM. Molecular mechanisms of fluoride toxicity [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 188(2): 319-333.
- [25] Chlubek D. Fluoride and oxidative stress [J]. *Fluoride*, 2003, 36(4): 217-228.
- [26] 官志忠,刘家骥. 氟的细胞毒作用 [J]. *贵阳医学院学报*, 1985, 10(4): 287-290.