

黄大敏,曾维德,苏建伟,等. 氟化钠亚慢性染毒致雄性大鼠多脏器损伤效应的初步研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(8): 8-14, 74.

Huang DM, Zeng WD, Su JW, et al. Preliminary study on the effects of subchronic exposure to sodium fluoride on multiple organ injury in male rats [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(8): 8-14, 74.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.08.002

氟化钠亚慢性染毒致雄性大鼠多脏器损伤效应的初步研究

黄大敏¹, 曾维德¹, 苏建伟², 庞雅琴¹, 郭蕊¹, 邓树嵩^{1*}

(1.右江民族医学院公共卫生与管理学院,广西 百色 533000;2.右江民族医学院附属医院,广西 百色 533000)

【摘要】 目的 观察氟化钠(NaF)亚慢性染毒对雄性大鼠心脏、肝、肾以及睾丸组织病理损伤及功能的影响,并探讨其可能的作用机制。**方法** 将32只Wistar雄性大鼠随机分为对照组和低、中、高剂量NaF组,每组8只,分别予0、12、24、48 mg/kg 氟化钠溶液灌胃,每周染毒6 d,持续16周。记录大鼠氟牙症发生情况,体重变化及计算大鼠心脏、肝、肾和睾丸脏器系数;ELISA法检测大鼠血清SOD、CAT、GSH-Px、MDA活力/含量水平;采用HE染色观察心脏、肝、肾和睾丸组织病理损伤;生化法检测大鼠心肌酶谱、肝功能和肾功能;并对大鼠精子质量进行分析。**结果** 与对照组相比,低、中、高剂量NaF组大鼠上、下颌切牙均呈不同程度的氟牙症改变,提示造模成功。高剂量NaF组大鼠体重低于其余3组($P<0.05$),低剂量NaF组和高剂量NaF组肾脏器系数高于对照组($P<0.05$)。与对照组相比,中、高剂量NaF组CAT、GSH-Px活力均下降($P<0.05$);高剂量NaF组血清中MDA含量水平升高($P<0.05$);HE染色结果提示与对照组相比,低、中、高剂量NaF组心脏、肝、肾和睾丸均出现不同程度的病理性损伤;与对照组相比,各剂量NaF组LDH和CK-MB含量水平升高($P<0.05$),中、高剂量NaF组大鼠血清中ALT和AST含量升高($P<0.05$),高剂量NaF组大鼠血清中GGT含量升高($P<0.05$),低、中、高剂量NaF组大鼠血清中BUN和Scr含量升高($P<0.05$),低、中、高剂量NaF组大鼠的精子数量下降,精子活率和精子畸形率上升($P<0.05$)。**结论** 氟化钠亚慢性染毒可使大鼠多脏器组织出现损伤效应,其机制可能与氧化应激诱导有关。

【关键词】 氟化钠;大鼠;多脏器损伤;氧化应激

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 08-0008-07

Preliminary study on the effects of subchronic exposure to sodium fluoride on multiple organ injury in male rats

HUANG Damin¹, ZENG Weide¹, SU Jianwei², PANG Yaqin¹, GUO Rui¹, DENG Shusong^{1*}

(1. School of Public Health and Management, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China.
2. Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000)

【Abstract】 Objective To investigate pathological damage and functions after subchronic exposure to sodium fluoride (NaF) on the heart, liver, kidneys, and testes of male rats, and to explore the possible mechanism. **Methods** Thirty-two Wistar male rats were randomly divided into control, and low, medium, and high dose groups with eight rats in each group. NaF at doses of 0, 12, 24, and 48 mg/kg body weight was applied by intragastric administration once a day at 6 days per week and for 16 weeks. The occurrence of dental fluorosis and body mass in each group of rats was recorded,

[基金项目] 国家自然科学基金(81660549);广西自然科学基金(2019JJD140011,2021GXNSFAA196068);广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0543)。

[作者简介] 黄大敏(1988—),男,硕士,讲师,研究方向:环境毒理学。E-mail:929935275@qq.com

[通信作者] 邓树嵩(1973—),男,硕士,教授,研究方向:健康教育与健康促进。E-mail:514988715@qq.com

and the organ coefficients of the heart, liver, kidneys, and testes of rats were calculated. Serum levels of SOD, CAT, GSH-Px, and MDA were measured by ELISA. Pathological changes of the heart, liver, kidneys, and testes were observed by HE staining. Biochemical method were used to determine the myocardial enzyme profile, liver functions, and kidney functions in rats, and analyze the sperm quality of rats. **Results** Compared with rats in the control group, rats in low, medium, and high dose groups showed different degrees of fluorosis changes in maxillary and mandibular incisors, indicating successful modeling. The body weight of rats in the high dose group was lower than that in the other three groups ($P<0.05$). The renal organ coefficient in low and high dose groups was higher than that in the control group ($P<0.05$). Compared with that in the control group, CAT and GSH-Px activity was decreased in medium and high dose groups ($P<0.05$). The serum level of MDA in the high dose group was increased ($P<0.05$). Compared with the findings in the control group, HE staining showed different degrees of pathological damage in the heart, liver, kidneys, and testes of low, medium, and high dose groups. Compared with those in the control group, LDH and CK-MB levels were increased in each dose group ($P<0.05$). The serum levels of ALT and AST were increased in medium and high dose groups ($P<0.05$), and the serum level of GGT was increased in the high dose group ($P<0.05$). Serum levels of BUN and Scr were increased in low, medium, and high dose groups ($P<0.05$). The sperm count of rats was decreased in low, medium, and high dose groups, and sperm motility and the sperm malformation rate were increased ($P<0.05$). **Conclusions** Subchronic exposure to sodium fluoride damages multiple organs in rats, and the mechanism may be related to oxidative stress induction.

[Keywords] sodium fluoride; rats; multiorgan damage; oxidative stress
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

氟是一种人体必需微量元素,适量的氟化物可以预防龋齿,但由于氟的安全阈值较窄,长期过量的摄入氟化物,可导致慢性氟中毒,对机体产生不利的病理效应。除引起氟斑牙和氟骨症的骨相损害外^[1],氟还会引起心血管系统、肾、肝和生殖系统等其他非骨相器官的损害,氟致机体多脏器损伤效应日益受到关注^[2-3]。研究表明,外源性毒物进入机体致多脏器损伤可能是活性氧和自由基作用的结果。研究显示,细胞氟染毒后线粒体膜电位明显降低,大鼠氟染毒后各脏器组织中丙二醛(malondialdehyde,MDA)水平显著升高,这提示氟可致氧化应激^[4-5]。Wang 等^[6]发现氟可通过诱导氧化应激导致大鼠脏器损伤。由此可见,高氟在活性氧和自由基引起的氧化应激中起着重要作用,而氧化应激可导致机体多脏器病理损伤。在本研究中,我们通过建立大鼠亚慢性氟中毒模型,检测染毒后大鼠血清氧化应激水平,以及观察各脏器的损伤效应,研究亚慢性氟染毒对机体氧化损伤和主要器官的不利影响,系统地评估氟化钠对 Wistar 雄性大鼠的亚慢性毒性,为后续深入研究氟化钠的多脏器损伤机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 32 只,9 周龄,体重 300

~350 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司[SCXK(湘)2019-0014]。动物在 20~26℃ 和湿度 45%~55% 下保持 12 h/12 h 昼夜循环,在右江民族医学院实验动物中心 SPF 级动物房饲养[SYXK(桂)2022-0004]。所有动物实验均通过右江民族医学院实验动物伦理委员会审查和批准(IACUC2020051801),遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

氟化钠(天津市科密欧化学试剂有限公司,GR,≥99.0%);过氧化氢酶(catalase,CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号 A001-1、A003-1、A007-1-1、A005-1-2);苏木素-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色试剂盒(碧云天生物技术有限公司,批号:C0105)。生物组织脱水机、包埋机、切片机、摊烤片机和全自动染色机(德国 Leica 公司);离心机(湖南湘仪);光学显微镜(日本奥林巴斯公司);酶标仪(美国 BioTeK 公司);全自动生化分析仪(南京华仁生物公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

按照随机数字表法将 Wistar 雄性大鼠分为对照组(0 mg/kg)($n=8$)、低剂量 NaF 组(12 mg/kg)($n=8$)、中剂量 NaF 组(24 mg/kg)($n=8$)和高剂量

NaF 组(48 mg/kg) ($n=8$)。将氟化钠用生理盐水溶解成氟化钠溶液,按 2 mL/kg 对 4 组大鼠进行氟化钠溶液灌胃,每周灌胃 6 d,持续 16 周。

1.3.2 各组大鼠样本采集与处理

于末次染毒后禁食 1 晚,采用腹腔注射 2 mL 20.0%浓度的乌拉坦溶液麻醉大鼠,大鼠腹主动脉置管采血,分离血清置于-20℃保存备用。颈椎脱臼法处死大鼠,将大鼠胸、腹腔剥开,依次取出大鼠心脏、肝、肾和睾丸,去除包膜等杂质组织后,洗净并吸干脏器表面水分后,称重并计算各脏器的脏器系数,脏器系数=脏器重量(g)/体重(g)×100.0%。

1.3.3 血清氧化应激指标及心肌酶、肝功能、肾功能指标测定

取 1.3.2 制备的大鼠血清样品按照 ELISA 试剂盒说明书操作,检测大鼠血清中 SOD、CAT、GSH-Px 和 MDA 含量。采用全自动生化分析仪测定大鼠血清中肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB,CK-MB)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)的含量评估大鼠心肌损伤情况;测定大鼠血清中谷氨酸-丙酮酸转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)、谷氨酰转氨酶(γ -glutamyltransferase,GGT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST)、和总胆红素(total bilirubin,TBIL)的含量评估大鼠肝功能;测定大鼠血清肌酐(serum creatinine,SCr)和血清尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)的含量评估大鼠肾功能。

1.3.4 各脏器组织病理学检测

将相同部位的大鼠肺、心脏、肝、肾和睾丸部分组织置于 10%福尔马林中固定,分别制作各脏器组织 HE 病理切片,采用显微镜观察各脏器组织病理学改变。

1.3.5 大鼠精子质量的测定

取大鼠一侧附睾尾,清除结缔组织,将其放入盛有 5 mL,37℃生理盐水的平皿中,用眼科剪将其剪碎后,吸管吹打数次,于 37℃下孵育 5 min 并通过

80 μ m 孔径的尼龙网过滤,制成精子原液,按 1:10 稀释,制成精子悬液。取少量精子悬液,置于血细胞计数板中,显微镜下计数精子数量。另取精子悬液置于载玻片上计数 200 个精子,记录活动的精子数量和运动能力,精子活动率(%)=活动精子数/活动精子数+不活动精子数×100%。另取精子悬液进行涂片,固定后进行吉氏染色,每个样本镜检 500 个精子,记录畸形精子数量并计算精子畸形率。精子畸形率(%)=畸形精子数/(畸形精子数+正常精子数)×100%。

1.4 统计学方法

用 SPSS 23.0 统计软件对数据进行分析,计量资料经正态性检验和方差齐性检验后,以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)进行表示;多组间两两比较采用 LSD-t 法。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物一般状况

实验后期高剂量 NaF 组皮肤毛发凌乱、光泽暗淡,活动明显减弱。染毒结束时,对大鼠牙齿进行观察发现,对照组牙釉面光滑透亮,外观呈棕黄色,低、中、高剂量 NaF 组上、下颌切牙牙釉面均呈不同程度的白垩化表现,且随着染氟剂量增加而加重,其中高剂量 NaF 组大鼠上、下颌切牙出现缺损的异常改变。即成功建立氟中毒大鼠模型。见图 1。

2.2 氟染毒对大鼠体重和各个脏器的影响

大鼠体重称量结果显示,对照组、低、中剂量 NaF 组体重均大于高剂量 NaF 组体重($P<0.05$)。在氟化钠对大鼠各个脏器的影响研究中发现,4 组大鼠的心脏、肝及睾丸脏器系数无显著性差异($P>0.05$);但低剂量 NaF 组和高剂量 NaF 组的肾脏脏器系数均大于对照组($P<0.05$)。两两比较结果见表 1。

2.3 氟染毒对大鼠血清中氧化应激水平的影响

与对照组相比,低、中、高剂量 NaF 组血清中总超氧化物歧化酶(SOD)活力无显著性差异($P>$



图 1 4 组大鼠上、下颌切牙图

Figure 1 Upper and mandibular incisor teeth of rats in four groups

0.05);与对照组相比,低剂量 NaF 组过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力无显著性差异 ($P>0.05$),中剂量 NaF 组和高剂量 NaF 组血清中 CAT 和 GSH-Px 活力与对照组和低剂量 NaF 组相比,活力明显降低 ($P>0.05$);MDA 含量比较,高剂量 NaF 组显著高于对照组 ($P<0.05$)。两两比较结果见表 2。

2.4 氟染毒致大鼠心脏损伤的影响

光镜下可见对照组心肌纤维排列整齐,心肌纤

维未见异常改变;低、中、高剂量 NaF 组表现为不同程度的心肌细胞间隙增宽,心肌纤维排列紊乱及心肌纤维断裂等异常改变。见图 2。对大鼠心肌酶谱中乳酸脱氢酶 (LDH) 和肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 含量进行检测发现,与对照组相比,低、中、高剂量 NaF 组血清中 LDH 和 CK-MB 含量升高 ($P<0.05$)。两两比较结果见表 3。

2.5 氟染毒对大鼠肝损伤的影响

光镜下可见对照组肝细胞形态正常,肝细胞索

表 1 4 组大鼠体重及各个脏器系数的比较 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Comparison of the rat body weight and coefficients of each organ in four groups

组别 Groups	大鼠体重(g) Rat weight	心脏脏器系数(%) Heart organ coefficient	肝脏脏器系数(%) Liver organ coefficient	肾脏脏器系数(%) Kidney organ coefficient	睾丸脏器系数(%) Testis organ coefficient
对照组 Control group	423.13±36.94 ^b	0.26±0.02	2.24±0.17	0.52±0.08	0.77±0.06
低剂量 NaF 组 Low dose NaF group	395.25±33.04 ^b	0.27±0.02	2.26±0.14	0.60±0.05 ^a	0.77±0.12
中剂量 NaF 组 Medium dose NaF group	392.96±30.45 ^b	0.26±0.02	2.28±0.15	0.57±0.04	0.81±0.15
高剂量 NaF 组 High dose NaF group	351.48±31.00	0.26±0.02	2.37±0.34	0.62±0.06 ^a	0.77±0.14
<i>F</i>	6.423	0.313	0.551	4.293	0.258
<i>P</i>	<0.05	0.816	0.652	0.013	0.855

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与高剂量 NaF 组比较,^b $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with the high dose NaF group, ^b $P<0.05$.

表 2 4 组大鼠血清 SOD、CAT、GSH-Px 和 MDA 含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of serum SOD、CAT、GSH-Px and MDA content of rats in four groups

组别 Groups	SOD(U/mL)	CAT(U/mL)	GSH-Px(U/mg Pro)	MDA(nmol/mL)
对照组 Control group	706.82±126.15	14.69±0.96	82.93±4.53	7.60±1.00
低剂量 NaF 组 Low dose NaF group	717.94±149.69	13.66±0.83	78.74±6.52	8.06±1.31
中剂量 NaF 组 Medium dose NaF group	821.84±79.53	11.21±1.29 ^{ab}	70.02±4.67 ^{ab}	8.51±0.93
高剂量 NaF 组 High dose NaF group	771.62±57.56	10.24±1.21 ^{ab}	68.14±3.78 ^{ab}	10.19±1.41 ^a
<i>F</i>	1.680	29.068	16.004	5.358
<i>P</i>	0.199	<0.05	<0.05	<0.05

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与低剂量 NaF 组比较,^b $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with low dose NaF group, ^b $P<0.05$.

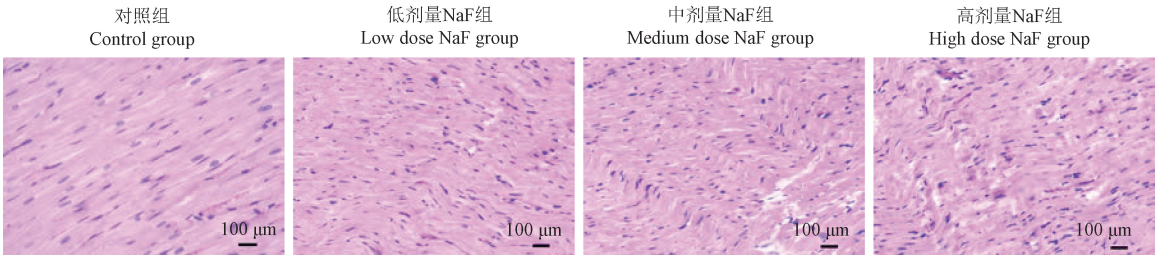


图 2 4 组大鼠心脏组织病理改变
Figure 2 Histopathological changes of hearts of rats in four groups

由中央静脉向四周整齐排列,无炎症细胞浸润,肝窦清晰;低剂量 NaF 组肝细胞索排列不规整,中央静脉变形且周围有炎症细胞灶状浸润;中剂量 NaF 组肝细胞索排列紊乱,肝实质存在炎症细胞浸润;高剂量 NaF 组肝细胞高度肿胀,大量肝细胞存在气球样变形,且肝实质存在炎症细胞浸润。见图 3。对大鼠肝功能进行检测发现,与对照组相比,中、高剂量 NaF 组血清中谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)含量升高($P<0.05$);与对照组相比,高剂量 NaF 组血清中谷氨酰转肽酶(GGT)含量升高($P<0.05$);与对照组相比,低、中、高剂量 NaF 组血清中总胆红素(TBIL)含量无显著性差异($P>0.05$)。两两比较结果见表 4。

表 3 4 组大鼠血清 LDH 和 CK-MB 水平的比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Comparison of serum myocardial zymogram level of rats in four groups

组别 Groups	LDH(U/L)	CK-MB(U/L)
对照组 Control group	1464. 46±256. 37	1354. 63±325. 09
低剂量 NaF 组 Low dose NaF group	2090. 36±516. 31 ^a	2025. 69±464. 35 ^a
中剂量 NaF 组 Medium dose NaF group	2179. 84±488. 23 ^a	2093. 34±351. 92 ^a
高剂量 NaF 组 High dose NaF group	2761. 05±582. 52 ^{abc}	2606. 03±839. 60 ^{ab}
<i>F</i>	9. 906	7. 342
<i>P</i>	<0. 05	<0. 05

注:与对照组比较, ^a $P<0.05$;与低剂量 NaF 组比较, ^b $P<0.05$;与中剂量 NaF 组比较, ^c $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with low dose NaF group, ^b $P<0.05$. Compared with the medium dose NaF group, ^c $P<0.05$.

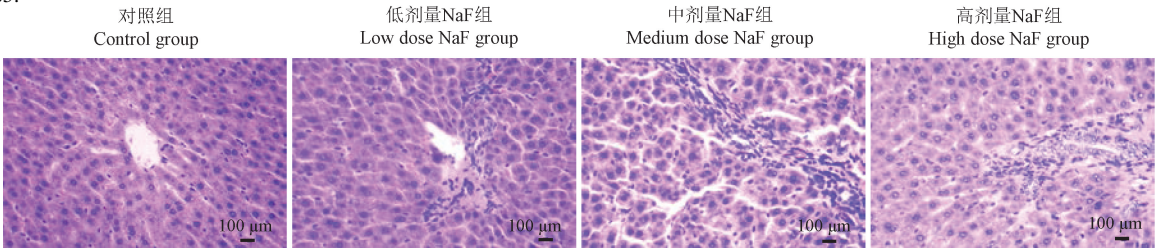


图 3 4 组大鼠肝组织病理改变

Figure 3 Histopathological changes of liver of rats in four groups

表 4 4 组大鼠肝功能指标比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 Comparison of liver function indexes of rats in four groups

组别 Groups	ALT(U/L)	AST(U/L)	GGT(U/L)	TBIL(umol/L)
对照组 Control group	135. 07±25. 63	585. 34±138. 41	8. 07±2. 93	3. 94±0. 50
低剂量 NaF 组 Low dose NaF group	183. 45±30. 17	646. 13±164. 98	9. 33±2. 03	4. 21±1. 08
中剂量 NaF 组 Medium dose NaF group	238. 55±79. 30 ^{ab}	744. 56±173. 25 ^a	8. 83±4. 46	3. 94±0. 53
高剂量 NaF 组 High dose NaF group	287. 76±50. 10 ^{ab}	848. 32±97. 26 ^{ab}	11. 63±2. 46 ^a	4. 44±0. 54
<i>F</i>	13. 556	4. 956	1. 936	0. 946
<i>P</i>	<0. 05	<0. 05	0. 147	0. 432

注:与对照组比较, ^a $P<0.05$;与低剂量 NaF 组比较, ^b $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with low dose NaF group, ^b $P<0.05$.

(BUN)和肌酐(Scr)含量升高($P<0.05$)。见表5。

2.7 氟染毒对大鼠睾丸损伤的影响

光镜下可见对照组生精小管层次分明,细胞排列紧密,管腔中成熟精子充盈其中。但随着染毒剂量增加,各剂量NaF组大鼠睾丸病理学损伤程度逐渐加重,表现为生精小管空隙增加,细胞层次减少,

细胞排列疏松、紊乱,生殖细胞脱落,细胞极性破坏等血-睾屏障破坏的表现,以及生精小管管腔成熟精子数量减少等表现。见图5。对大鼠附睾精子质量进行测定发现,低、中、高剂量NaF组大鼠的精子密度和精子活动率显著低于对照组,而精子畸形率显著高于对照组($P<0.05$)。见表6。

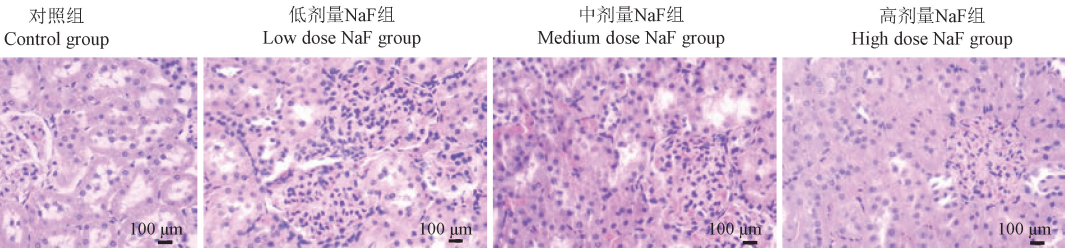


图4 4组大鼠肾组织病理改变

Figure 4 Histopathological changes of kidney of rats in four groups

表5 4组大鼠肾功能指标比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 5 Comparison of renal function indicators of rats in four groups

组别 Groups	BUN(mmol/L)	Scr(mmol/L)
对照组 Control group	293. 59±53. 92	4. 96±1. 05
低剂量 NaF 组 Low dose NaF group	439. 39±74. 27 ^a	6. 45±1. 76 ^a
中剂量 NaF 组 Medium dose NaF group	414. 41±71. 21 ^a	7. 44±1. 19 ^a
高剂量 NaF 组 High dose NaF group	483. 56±40. 44 ^{ac}	8. 69±1. 87 ^{ab}
<i>F</i>	13. 978	11. 505
<i>P</i>	<0. 05	<0. 05

注:与对照组比较, ^a $P<0.05$;与低剂量NaF组比较, ^b $P<0.05$;与中剂量NaF组比较, ^c $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with low dose NaF group, ^b $P<0.05$. Compared with the medium dose NaF group, ^c $P<0.05$.

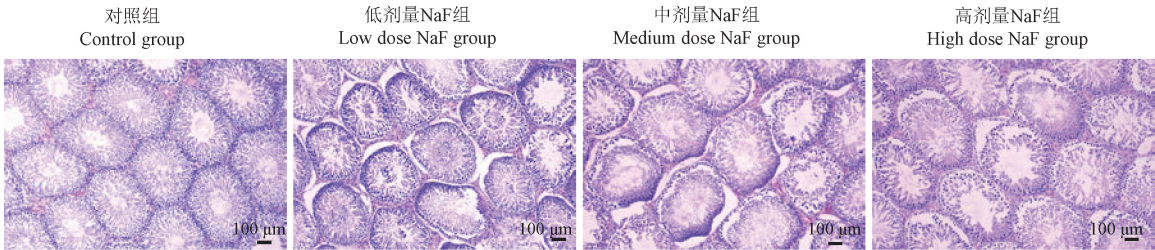


图5 4组大鼠睾丸组织病理改变

Figure 5 Histopathological changes of testis of rats in four groups

表6 4组大鼠精子质量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 6 Comparison of sperm quality of rats in four groups

组别 Groups	精子密度(×10 ⁶ /mL) Sperm density	精子活动率(%) Sperm motility	精子畸形率(%) Rate of sperm deformation
对照组 Control group	9. 76±1. 18	65. 24±3. 92	13. 33±1. 97
低剂量 NaF 组 Low dose NaF group	6. 55±0. 90 ^a	55. 90±4. 12 ^a	20. 78±2. 07 ^a
中剂量 NaF 组 Medium dose NaF group	5. 53±0. 83 ^{ab}	44. 03±4. 25 ^{ab}	24. 41±1. 99 ^{ab}
高剂量 NaF 组 High dose NaF group	4. 34±0. 82 ^{abc}	32. 85±4. 76 ^{abc}	29. 51±3. 30 ^{abc}
<i>F</i>	48. 512	86. 940	64. 379
<i>P</i>	0. 000	0. 000	0. 000

注:与对照组比较, ^a $P<0.05$;与低剂量NaF组比较, ^b $P<0.05$;与中剂量NaF组比较, ^c $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with low dose NaF group, ^b $P<0.05$. Compared with the medium dose NaF group, ^c $P<0.05$.

3 讨论

为了更好地观察氟化钠对大鼠各个脏器的损伤效应,本研究采用经口灌胃染毒的方式对大鼠进行染毒,因此染毒剂量能更加可控和准确。在染毒结束后,不同剂量 NaF 组大鼠的上、下切牙均出现不同程度的氟牙症改变,成功建立氟中毒大鼠模型。一般情况下,染毒对大鼠生长发育的影响可以在大鼠体重增长上得到反映^[7]。本研究结果显示,高剂量 NaF 组大鼠的体重低于其他组大鼠,这与氟化钠导致的大鼠食欲减退,摄食减少有关,摄食减少导致大鼠体重增加缓慢,这说明氟化钠对大鼠体重增加具有消极的影响。正常情况下,脏器与体重的比值比较恒定,脏器系数增大表明组织器官充血、水肿或者增生肥大^[8-9]。本研究结果显示,低、中、高剂量 NaF 组肾脏器系数均高于对照组。肾组织病理学检查也观察到,随着氟染毒剂量增加,肾病理损伤进行性加重,低、中、高剂量 NaF 组大鼠均出现不同程度的肾小球和肾小管肿胀等病理改变,说明氟化钠对大鼠肾具有损害效应,可以导致肾组织水肿。

本研究结果显示,亚慢性氟化钠染毒对大鼠心脏、肝、肾和睾丸组织病理和对应的心肌酶谱、肝功能、肾功能和精子质量均造成了损伤效应。目前关于氟致大鼠多脏器损伤毒性机制尚不明确,但大量的研究发现氧化应激在多脏器损伤中起着重要作用,氧化应激损伤主要表现为生物大分子的结构及功能的损伤^[10-11]。即氟作为外源性化学毒物进入机体内,可致生物体 ROS 稳态失衡,ROS 破坏生物膜的完整性,从而损伤细胞正常的生理功能。研究发现氟可引起细胞内产生过量 ROS,且细胞内的 ROS 水平与染毒剂量呈剂量反应关系。本研究结果显示,氟中毒可引起大鼠机体呈氧化应激状态,脂质过氧化中间代谢产物 MDA 含量升高, CAT、GSH-Px 活性降低。氧化应激降低了各脏器组织对自由基的清除能力,从而导致各脏器组织的病理性损伤,表现为心脏、肝、肾和睾丸组织病理形态结构异常,对应的损伤标志物和功能也发生了异常改变。这充分说明氟可以诱导机体氧化损伤,但其分子机制尚未明了。

机体 ROS 稳态失衡可导致细胞凋亡和自噬发生,最终可导致组织损伤和疾病发生的不利结局。近年来,细胞凋亡和细胞自噬在氟中毒引起的机体

氧化损伤中的作用日益成为研究的热点。汪晓宇^[12]发现氟暴露可导致肾细胞凋亡增强,引起肾细胞的损伤。田晓琳等^[13]发现氟暴露可导致肾组织中肾小球与肾小管的毒性损伤,并通过增加自噬相关蛋白 Beclin1、LC3、p62 的表达而调控肾细胞自噬的发生。张佳勇等^[14]研究发现凋亡信号通路分子氟暴露可导致小鼠生殖细胞凋亡, *Caspase-3* 和 *Caspase-12* 基因表达水平上调。田晓琳^[15]研究发现氟暴露可导致大鼠心肌纤维发生紊乱、肿胀和变性,激活血清心肌酶 LDH 活力,抑制心肌抗氧化酶 (SOD、GSH-PX) 酶活力,氧化应激可以诱导细胞自噬,表现为心肌细胞自噬小体的数量增多,自噬相关基因 *LC3*、*Beclin1*、*p62 mRNA* 及蛋白的表达水平显著上升。

本研究中大鼠各脏器的病理学改变和损伤标志物的异常变化充分证明了氟的多脏器组织损伤效应。下一步,我们将在本次研究的基础上继续探讨氟致雌性大鼠的多脏器损伤效应,同时深入开展氟致多脏器损伤的分子毒理学机制研究,拓宽氟致机体损伤效应研究领域。

参考文献:

- [1] Yuan L, Fei W, Jia F, et al. Health risk in children to fluoride exposure in a typical endemic fluorosis area on Loess Plateau, North China, in the last decade [J]. *Chemosphere*, 2020, 243: 125451.
- [2] 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.
- [3] Zhang J, Zhu Y, Shi Y, et al. Fluoride-induced autophagy via the regulation of phosphorylation of mammalian targets of rapamycin in mice leydig cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(40): 8966-8976.
- [4] 田致远, 陈静雯, 周郭育, 等. 白藜芦醇对氟致人神经母细胞瘤 SH-SY₅Y 细胞线粒体生物发生障碍的影响 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2018, 36(10): 721-727.
- [5] Sharma P, Verma PK, Sood S, et al. Impact of chronic sodium fluoride toxicity on antioxidant capacity, biochemical parameters, and histomorphology in cardiac, hepatic, and renal tissues of wistar rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2023, 201(1): 229-241.
- [6] Wang EH, Yu ZL, Ping GF, et al. Grape seed procyanidin extract attenuate sodium fluoride-induced oxidative damage and apoptosis in rat kidneys [J]. *Biomed Environ Sci*, 2020, 33(6): 454-457.

(下转第 74 页)