

# 氟病黄牛自由基损伤及硒铜镁 保护作用机理的研究

韩博<sup>1</sup>, 尹文利<sup>1</sup>, 史言<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 南京农业大学动物医学院 南京 210095; <sup>2</sup> 东北农业大学动物医学院)

**摘要:** 32头高氟黄牛随机分为4组, 每组8头, 其中I组为高氟对照; II组为高氟并每日添加0.25mg/kg 硒; III组为高氟并每日添加15mg/kg 铜; IV组为高氟并每日添加0.25mg/kg 硒+15mg/kg 铜+1mg/kg 镁。另设正常对照组奶、黄牛各8头, 连续饲喂83d, 分别于试验的第0、30、83天采样, 检测结果表明: 高氟黄牛GSH-px、CAT和SOD活性显著低于正常对照奶、黄牛, MDA和自由基含量显著高于正常对照奶、黄牛。高氟加硒和加硒铜镁黄牛第30天和第83天的GSH-px、CAT和SOD活性分别比同组第0天和相同时间的高氟对照黄牛升高, MDA和自由基含量分别比同组第0天和相同时间的高氟对照黄牛显著降低。添加硒铜镁使高氟黄牛抗氧化酶类活性第30天时明显升高, 脂质过氧化物和自由基含量下降。加硒使高氟黄牛抗氧化酶类活性到第83天升高, 其抗氧化作用不及硒铜镁联合添加组。表明适宜剂量的硒铜镁联合作用, 使高氟低硒低铜黄牛体氟排泄增加, 脂质过氧化产物和自由基生成减少, 抗氧化功能增强。

**关键词:** 黄牛; 氟中毒; GSH-px; SOD; CAT; MDA; 自由基; 硒; 铜; 镁

**中图分类号:** S511.024 **文献标识码:** A **文章编号:** 0578-1752(2000)06-0080-08

由于环境污染或误饲高氟添加剂, 畜禽氟中毒事件时有发生报道, 给养殖业带来严重危害。氟化物导致早期非骨相损害的研究已引起人们的高度重视<sup>[7-9]</sup>, 一些学者认为氟中毒与脂质过氧化作用有关<sup>[1,2]</sup>, 自由基水平升高是氟中毒发病机制中的一个重要中间介导环节。已有的研究报道了高氟适硒状态下大鼠氟与自由基的关系<sup>[3]</sup>和高氟高硒环境中, 人体氟与脂质过氧化作用的关系<sup>[4]</sup>。本试验旨在阐明高氟低硒低铜环境中, 氟致黄牛抗氧化酶系、自由基含量和脂质过氧化物的动态变化。通过饲料添加硒铜镁研究其对高氟黄牛抗氧化酶系、自由基代谢和脂质过氧化反应的保护作用, 为动物地方性氟病的防治提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选取非高氟区即宁夏银川东门奶牛场6岁荷斯坦奶牛和永宁望洪6~7岁秦杂母黄牛各8头, 作为正常对照组, 饲料草均为非高氟区生产。另选宁夏青铜峡广武乡农民饲养的32头6~7岁秦杂母黄牛为自然饮水型高氟动物, 随机分为4组, 每组8头, 饲料草为当地的稻草、玉米(秆)、胡麻饼等, 其中I组为高氟对照; II组为高氟并每日添加0.25mg/kg 硒(亚硒酸钠); III组为高氟并每日添加15mg/kg 铜(硫酸铜); IV组为高氟并每日添加0.25mg/kg 硒+15mg/kg 铜+1mg/kg 镁(硫酸镁), 即复药组, 连续饲喂83d, 均

收稿日期: 1999-01-04

修订日期: 2000-04-24

作者简介: 韩博(1966-), 男, 甘肃静宁人, 博士, 助研, 主要从事动物代谢病研究。

饮当地高氟水。

1.1.2 主要仪器 SHIMADZU UV-260 紫外分光光度计, 日本岛津; JEOL JES-FE1XG 型电子自旋共振波谱仪(ESR), 日本; LXJ-II 型离心沉淀机, 上海医用分析仪器厂; YDS-10B 生物液氮罐, 中国成都生产。

## 1.2 实验设计

本试验于第 0 天采血做本底值测定, 然后每天添加相应组别的微量元素添加剂, 饲喂 83d, 于第 30 天、第 83 天分别采集血样, 检测相应指标。

## 1.3 检测指标及方法

全血谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定用 5, 5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)法; 红细胞超氧化物歧化酶(SOD)用黄嘌呤氧化酶法; 全血过氧化氢酶(CAT)用过氧化氢酶底物分解法; 红细胞脂质过氧化产物——丙二醛(MDA)用硫代巴比妥酸(TBA)比色法, 以上试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。血液自由基含量测定用电子顺磁共振波谱仪(ESR); 将保存于液氮中的血样快速移到 ESR 谐振腔中, 温度为  $-190^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , 调整中心磁场为  $3300 \pm 500\text{Gauss}$ , 调制磁场为  $100\text{kHz} \ 6.3\text{Gauss}$ , 微波功率  $2\text{mW}$ , 放大倍数  $1 \times 1000$ , 扫描时间  $4\text{s}$ , 应答时间  $0.1\text{s}$ 。上述条件下测得 ESR 谱线, 经确认 0 峰代表活性氧自由基含量, 从 0 峰的基线开始, 测得该峰的峰高表示活性氧自由基的相对含量。

## 1.4 统计方法

所有数据均以平均数 $\pm$ 标准差表示, 用 SAS 软件对试验数据在长城 586 微机上进行分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 试验牛内外环境氟硒铜状况的调查

通过检查宁夏青铜峡市试验牛群, 有部分牛体出现明显的下颌骨肥厚, 长出鸡蛋大的骨瘤, 破溃, 久不愈合。体表有骨质增生(骨瘤), 牙齿有氟斑牙及磨灭不齐的典型症状, 整体营养不良和瘦弱。试验牛饮用水、饲料(草)、土壤、大气、血清、骨骼和牙齿氟含量的测试结果(见表 1)表明宁夏青铜峡市试验黄牛机体内环境氟含量显著超标。

表 1 饮水、饲料、土壤、大气、血清、骨骼和牙齿氟含量<sup>1)</sup>(mg/L)

Table 1 The fluoride contents of drinking water, feedstuff, soil, air, serum, bone and tooth

|                         | 饮水氟<br>Drinking water      | 料(草)氟<br>Feedstuff            | 土壤水溶氟<br>Soil              | 大气氟含量<br>Air(g/m <sup>3</sup> ) | 血清氟<br>Serum               | 骨骼氟<br>Bone                         | 牙齿氟<br>Tooth                      |
|-------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 高氟区<br>High<br>fluoride | 3.27 $\pm$ 0.23**<br>(n=6) | 51.97 $\pm$ 11.96**<br>(n=10) | 8.00 $\pm$ 0.87**<br>(n=6) | 2.44 $\pm$ 0.53**<br>(n=6)      | 0.62 $\pm$ 0.12**<br>(n=8) | 8854.66 $\pm$<br>1723.98**<br>(n=5) | 9393.46 $\pm$<br>48.99**<br>(n=5) |
| 对照区<br>CK               | 0.58 $\pm$ 0.21<br>(n=5)   | 23.75 $\pm$ 1.77<br>(n=2)     | 3.75 $\pm$ 1.77<br>(n=3)   | 0.12 $\pm$ 0.09<br>(n=8)        | 0.24 $\pm$ 0.01<br>(n=8)   | 300~1200<br>(n=2)                   | 240~625<br>(n=2)                  |
| 国标 GB                   | 1.0~1.5                    | 40.0                          | /                          | 1.8                             | 0.2                        | /                                   | /                                 |

<sup>1)</sup>\*\* 该值与对照组值比较差异极显著  $P < 0.01$  Compared with control group  $P < 0.01$

根据对上述同一检样中的硒、铜含量测试(见表 2), 结果显示: 宁夏青铜峡高氟区黄牛

饲料(草)、土壤及全血中的硒、铜含量相对低于对照区,说明青铜峡黄牛内外环境除高氟以外,还存在低硒低铜。从而认定,宁夏青铜峡市试验黄牛,其病的实质是在患地氟病的同时,伴有亚临床的低硒、低铜综合征。添加上述微量元素饲喂 83d,使高氟加硒组和高氟加硒铜镁组黄牛血清氟分别由 0.60mg/L 和 0.81mg/L 降至 0.29mg/L 和 0.23mg/L,血硒分别由 0.067mg/L 和 0.077 mg/L 上升至 0.137 mg/L 和 0.131mg/L,血铜维持在 0.61mg/L 左右,高氟加铜组血清氟由 0.67mg/L 降至 0.37mg/L,血硒由 0.086 mg/L 上升至 0.103mg/L,血铜为 0.54mg/L,但高氟对照组黄牛血清氟始终维持在 0.62 mg/L 左右。

表 2 饮水、饲料、土壤和全血中的硒、铜含量<sup>1)</sup> (mg/L)

Table 2 The contents of selenium and copper in soil, drinking water, feedstuff and blood

|                         | 硒 Selenium           |                      |                         |                            | 铜 Copper                 |                      |                         |                          |
|-------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|
|                         | 饲料<br>Feedstuff      | 土壤<br>Soil           | 饮水<br>Drinking<br>water | 全血<br>Blood                | 饲料<br>Feedstuff          | 土壤<br>Soil           | 饮水<br>Drinking<br>water | 全血<br>Blood              |
| 高氟区<br>High<br>fluoride | 0.072±0.058<br>(n=6) | 0.108±0.08*<br>(n=5) | 0.00                    | 0.064±<br>0.048**<br>(n=7) | 6.32±<br>1.27**<br>(n=7) | 1.87±0.68**<br>(n=5) | 0.00                    | 0.56±<br>0.05**<br>(n=7) |
| 对照区<br>CK               | 0.087±0.073<br>(n=5) | 0.194±0.02<br>(n=2)  | 0.00                    | 0.114±0.056<br>(n=6)       | 8.73±<br>2.64<br>(n=6)   | 3.62±0.28<br>(n=2)   | 0.00                    | 0.95±0.20<br>(n=8)       |

<sup>1)</sup> 该值与对照组值比较差异显著  $P < 0.05$ ; \*\* 该值与对照组值比较差异极显著  $P < 0.01$ , 下同

\* Compared with control group  $P < 0.05$ , \*\* Compared with control group  $P < 0.01$ . The same as below

## 2.2 牛血液中谷胱甘肽过氧化物酶活性的变化

从表 3 看出, 试验期间高氟对照黄牛血液 GSH-Px 活性极显著地低于正常对照奶、黄牛 GSH-Px ( $P < 0.01$ )。不同时间的高氟对照黄牛 GSH-Px 活性差异不明显 ( $P > 0.05$ )。高氟加硒黄牛第 30 天的 GSH-Px 活性比第 0 天高 7.78U/ml, 比相同时间的高氟对照黄牛高 5.77U/ml ( $P < 0.05$ )。第 83 天的高氟加硒黄牛 GSH-Px 活性比第 0 天高 14.79U/ml, 比相同时间的高氟对照黄牛高 15.24U/ml ( $P < 0.01$ ), 比同组第 30 天测值高 7.01U/ml ( $P < 0.05$ )。高氟加硒铜镁黄牛 GSH-Px 活性的变化规律同高氟加硒黄牛, 但第 30 天测值比相同时间的高氟对照组升高 ( $P < 0.05$ ), 第 83 天测值与第 30 天测值差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 高氟加铜黄牛的 GSH-Px 活性变化不明显 ( $P > 0.05$ )。

## 2.3 牛红细胞超氧化物歧化酶活性的变化

由表 4 可知, 不同时期的高氟对照黄牛红细胞 SOD 活性均低于相同时间的正常对照奶、黄牛 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 第 30 天有所下降, 与同组本底值比较 ( $P < 0.05$ ), 到第 83 天时又回升到第 0 天的水平。高氟加硒黄牛第 30 天的 SOD 活性极显著地高于第 0 天 ( $P < 0.01$ ), 但是第 83 天的 SOD 活性低于第 30 天, 接近第 0 天, 高氟加铜黄牛 SOD 活性第 30 天开始下降 ( $P < 0.01$ ), 第 83 天的测值略高于第 30 天, 但仍低于基础值。高氟加硒铜镁组黄牛红细胞 SOD 活性第 30 天比第 0 天高 435.56NU/ml 全血, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 第 83 天比第 0 天高 582.01NU/ml 全血 ( $P < 0.01$ ), 比相同时间的高氟对照组高 375.78NU/ml 全血 ( $P < 0.01$ )。

表 3 牛全血 GSH-Px 活性测值<sup>1)</sup> (U/ml 全血)

Table 3 The whole blood glutathione peroxidase (GSH-px) activities in cattle (U/ml blood)

|  | 0d                       | 30d                      | 83d                         |
|--|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 正常对照组(奶牛)Normal control dairy cattle   | 26.52±5.94 <sup>aa</sup> | 35.97±2.19 <sup>aa</sup> | 29.37±7.08 <sup>aa</sup>    |
| 正常对照组(黄牛)Normal control yellow cattle  | /                        | 24.78±6.43 <sup>a</sup>  | 25.63±3.16 <sup>a</sup>     |
| 高氟对照黄牛组 High F control yellow cattle   | 14.62±5.90               | 16.40±2.97               | 13.94±5.52                  |
| 高氟黄牛加硒组 High F suppl. Se yellow cattle | 14.39±3.43               | 22.17±4.89 <sup>a</sup>  | 29.18±4.83 <sup>**</sup>    |
| 高氟黄牛加铜组 High F suppl. Cu yellow cattle | 17.59±7.48               | 18.91±7.05               | 17.47±1.94                  |
| 高氟黄牛加复药 High F suppl. SeCuMg cattle    | 19.95±2.95               | 27.10±4.19 <sup>a</sup>  | 28.54±6.24 <sup>** aa</sup> |

<sup>1)</sup> <sup>a</sup> 该值与相同时间的高氟对照组值比较差异显著( $P < 0.05$ ), <sup>aa</sup> 该值与相同时间的高氟对照组值比较差异极显著( $P < 0.01$ ), 下同 <sup>a</sup> Compared with high fluoride control group at the same time  $P < 0.05$ , <sup>aa</sup> Compared with high fluoride control group at the same time  $P < 0.01$ . The same as below.

表 4 牛红细胞中的 SOD 测值 (NU/ml 全血)

Table 4 The erythrocyte superoxide dismutase (SOD) activities in cattle (NU/ml blood)

|                                       | 0d                           | 30d                          | 83d                             |
|---------------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 正常对照奶牛 Normal control dairy cattle    | 2132.96±330.23 <sup>aa</sup> | 1983.92±289.75 <sup>aa</sup> | 1919.30±276.96 <sup>5a</sup>    |
| 正常对照黄牛 Normal control yellow cattle   | /                            | 1873.66±445.93 <sup>a</sup>  | 1824.17±250.68                  |
| 高氟对照黄牛 High F control yellow cattle   | 1747.52±462.90               | 1535.81±142.78               | 1728.31±318.24                  |
| 高氟黄牛加硒 High F suppl. Se yellow cattle | 1948.04±332.37               | 2034.31±66.85 <sup>**</sup>  | 1933.86±315.24                  |
| 高氟黄牛加铜 High F suppl. Cu yellow cattle | 1944.69±521.48               | 1803.04±189.71 <sup>**</sup> | 1838.53±477.62                  |
| 高氟黄牛加复药 High F suppl. SeCuMg cattle   | 1522.10±249.20               | 1957.66±289.40 <sup>*</sup>  | 2104.09±245.39 <sup>** aa</sup> |

## 2.4 牛血液过氧化氢酶活力的测值

由表 5 可见, 高氟加硒和高氟加硒铜镁黄牛 CAT 活性于第 30 天时已分别显著升高( $P < 0.05$ )和极显著升高( $P < 0.01$ ), 第 83 天时均显著升高( $P < 0.01$ ), 高氟加硒铜镁黄牛 CAT 活性比单独加硒黄牛 CAT 活性升高时间早。高氟加铜黄牛 CAT 活性随时间延长而降低, 第 83 天的测值已明显低于第 0 天测值( $P < 0.01$ )。

表 5 牛全血过氧化氢酶活力测值 (U/gHb)

Table 5 The catalase activities of blood in cattle

|  | 0d                         | 30d                        | 83d                           |
|--|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| 正常对照组(奶牛)Normal control dairy cattle   | 163.96±57.77 <sup>aa</sup> | 174.01±44.10 <sup>aa</sup> | 163.07±22.52 <sup>aa</sup>    |
| 正常对照组(黄牛)Normal control yellow cattle  | /                          | 132.57±54.12               | 123.95±40.74                  |
| 高氟对照黄牛组 High F control yellow cattle   | 111.20±39.38               | 120.08±26.24               | 135.21±13.35 <sup>*</sup>     |
| 高氟黄牛加硒组 High F suppl. Se yellow cattle | 147.34±19.98               | 152.45±31.61 <sup>*</sup>  | 174.95±17.62 <sup>** aa</sup> |
| 高氟黄牛加铜组 High F suppl. Cu yellow cattle | 139.80±58.52               | 136.68±49.90               | 97.67±40.54                   |
| 高氟黄牛加复药 High F suppl. SeCuMg cattle    | 116.40±26.02               | 136.85±27.75 <sup>**</sup> | 144.03±33.69 <sup>**</sup>    |

## 2.5 牛红细胞中丙二醛的变化

从表 6 看出, 试验期间, 高氟对照黄牛红细胞 MDA 无明显变化( $P > 0.05$ )。高氟加硒、高氟加铜和高氟加硒铜镁黄牛红细胞 MDA 第 30 天测值均比同组基础值显著降低( $P < 0.05$ ), 第 83 天时与同组基础值比较变化不大( $P > 0.05$ ), 但与相同时间的高氟对照黄牛比较, 测值明显偏低( $P < 0.05$ )。说明高氟黄牛加硒、铜或硒铜镁均能降低红细胞 MDA 含量,

抑制机体脂质过氧化物的产生。

表 6 牛红细胞中的 MDA 测值 (nmol/mgHb)

Table 6 The erythrocyte mononaldehyde (MDA) concentrations in cattle

|  | 0d        | 30d                        | 83d                     |
|--|-----------|----------------------------|-------------------------|
| 正常对照组(奶牛)Normal control dairy cattle   | 0.44±0.14 | 0.41±0.14                  | 0.35±0.08 <sup>a</sup>  |
| 正常对照组(黄牛)Normal control yellow cattle  | /         | 0.41±0.14                  | 0.39±0.06               |
| 高氟对照黄牛组 High F control yellow cattle   | 0.37±0.09 | 0.41±0.08                  | 0.41±0.06               |
| 高氟黄牛加硒组 High F suppl. Se yellow cattle | 0.43±0.21 | 0.28±0.04 <sup>** aa</sup> | 0.31±0.05 <sup>aa</sup> |
| 高氟黄牛加铜组 High F suppl. Cu yellow cattle | 0.37±0.10 | 0.26±0.01 <sup>** aa</sup> | 0.36±0.09 <sup>a</sup>  |
| 高氟黄牛加复药 High F suppl. SeCuMg cattle    | 0.33±0.08 | 0.22±0.06 <sup>** aa</sup> | 0.32±0.01 <sup>aa</sup> |

## 2.6 牛血液自由基含量的变化

表 7 显示,高氟黄牛血液自由基本底值均高于正常对照奶黄牛自由基含量( $P < 0.01$ )。高氟对照黄牛第 83 天与第 0 天的自由基含量变化不大( $P > 0.05$ )。高氟加硒、高氟加铜和高氟加硒铜镁黄牛第 83 天的自由基含量均低于各组本底值,也低于相同时间的高氟对照组( $P < 0.01$ )。高氟加硒铜镁黄牛自由基含量下降最明显( $P < 0.01$ )。高氟加硒组次之( $P < 0.01$ ),高氟加铜组相对较高( $P < 0.05$ )。说明硒铜镁联合添加能显著降低高氟黄牛自由基净含量的生成。

表 7 牛血液自由基相对含量测值 (mm)

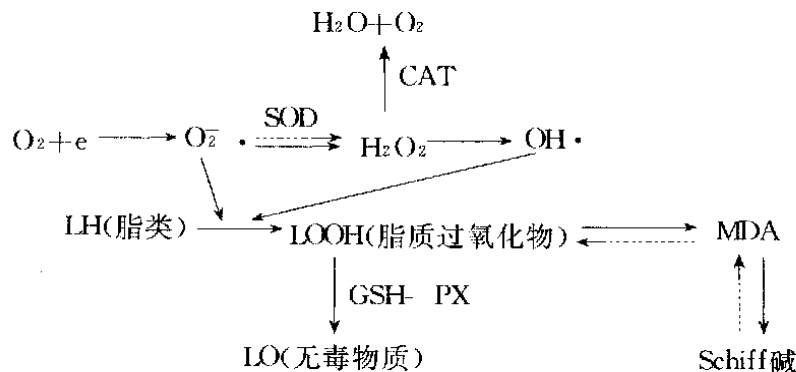
Table 7 The blood free radical contents in cattle

|  | 0d                       | 83d                          |
|--|--------------------------|------------------------------|
| 正常对照组(奶牛)Normal control dairy cattle   | 38.75±7.68 <sup>aa</sup> | 33.75±2.87 <sup>aa</sup>     |
| 正常对照组(黄牛)Normal control yellow cattle  | /                        | 42.20±3.35 <sup>aa</sup>     |
| 高氟对照黄牛组 High F control yellow cattle   | 51.17±8.13               | 60.40±8.65                   |
| 高氟黄牛加硒组 High F suppl. Se yellow cattle | 46.83±11.05              | 33.67±8.94 <sup>**</sup>     |
| 高氟黄牛加铜组 High F suppl. Cu yellow cattle | 47.00±12.63              | 40.00±6.75 <sup> aa</sup>    |
| 高氟黄牛加复药 High F suppl. SeCuMg cattle    | 43.33±9.85               | 31.67±14.79 <sup>** aa</sup> |

## 3 讨论

### 3.1 高氟黄牛自由基的产生及其对机体的损害

生物体内活性氧自由基可在正常或异常代谢过程中产生,也可由外源性物质作用于机体而产生。体内活性氧自由基主要包括超氧阴离子( $O_2 \cdot^-$ )、羟自由基( $OH \cdot$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、脂质过氧自由基( $LOO \cdot$  或  $ROO \cdot$ )等,它们在体内的主要代谢过程如下图:生理条件下,体内不断生成自由基,参与新陈代谢、防御解毒、转化废物、破坏和清除癌细胞,又不断地被清除,两者保持相对平衡,因而不显自由基对机体的氧化损伤或生理破坏作用。但在某些因素作用下,当自由基的产生多于清除时,这些化学性质十分活泼的自由基干扰机体蛋白质、核酸、碳水化合物和花生四烯酸的代谢,使丙二醛交联成 Schiff 碱,在细胞内堆积,促进细胞衰老。另外,自由基使细胞脂质过氧化链式反应发生,破坏细胞膜,造成细胞结构和功能损害,导致细胞凋亡。笔者曾报道,氟化物激活膜结合酶,催化原子氧成为离子氧( $O_2 \rightarrow$



$O_2 \cdot^-$ ), 继而由  $O_2 \cdot^-$  引发一系列自由基反应<sup>[5]</sup>。同时, 氟化物形成氟自由基直接攻击膜系统发生过氧化作用, 张文清认为, 氟与体内某些金属元素结合形成金属络合物, 导致脂质过氧化反应的有关酶活性改变, 破坏呼吸链, 进而引起体内抗氧化功能减弱, 过氧化增强, 使细胞膜结构和功能受损, 细胞能量代谢障碍, ATP 合成减少和蛋白质交联、聚合, 最后失去活性。

### 3.2 清除自由基的抗氧化酶系

生物体内清除自由基的抗氧化酶, 主要包括 GSH-Px、SOD、CAT。GSH-Px 使  $H_2O_2$  还原为  $H_2O$ , 而 CAT 使  $H_2O_2$  起酶解作用, 两者均能清除  $H_2O_2$ , 防止  $H_2O_2$  的破坏作用。GSH-Px 还能使脂质过氧化物分解成无毒的物质, 保护细胞免受损害。SOD 能将  $O_2 \cdot^-$  歧化为  $H_2O_2$ , 再由 CAT 将  $H_2O_2$  酶解为  $H_2O$ 。

### 3.3 高氟低硒低铜环境中黄牛抗氧化酶系的变化

本研究表明, 在高氟低硒低铜环境中, 黄牛血硒、血铜低于正常对照奶、黄牛, 血清氟显著升高<sup>[5]</sup>。硒能促进体氟的排出, 减轻氟致自由基的损伤, 硒缺乏加剧了氟中毒的程度, 高氟低硒较单纯高氟对机体损害更严重, 加之低铜, 黄牛 GSH-Px、CAT 和红细胞 SOD 活性显著降低, 红细胞 MDA 和血液自由基净含量产生过多, 引发自由基链式反应过量发生, 一旦一种抗氧化酶受损, 必将导致整个抗氧化酶系全线崩溃, 造成机体受损。大鼠氟中毒时, 脂质过氧化作用增强, 且随时间延长而趋严重<sup>[1]</sup>。其抗氧化能力降低, 活性氧生成过多, 造成细胞水平、亚细胞水平及分子水平的损害, 从而引起氟中毒的病理发生。本试验首次用 ESR 对高氟低硒铜黄牛血液自由基含量进行测定, 证实氟中毒黄生活性氧自由基明显升高, 这与王志成和咸树梅对氟中毒大鼠自由基含量增多的报道一致。

### 3.4 硒铜镁对高氟黄牛抗氧化酶系的影响

高氟加硒黄牛 GSH-Px 活性和 SOD 活性增强, MDA 和自由基含量降低, 从而减轻机体的过氧化损伤。加硒纠正高氟造成的自由基代谢紊乱。高氟加铜黄牛 GSH-Px 活性不升高, SOD 活性有所下降, 但 MDA 和自由基生成减少。说明高氟低硒低铜环境中黄牛添加 15mg/kg 铜, 还未满足机体需要, 第 83 天血检铜含量仍然较低, 相应的酶活不升高。高氟加硒铜镁黄牛的抗氧化酶类、MDA 和自由基代谢均优于单独加硒组。由于  $Mg^{2+}$  的半径比同族  $Ca^{2+}$  半径小, 故可替代相当的  $Ca^{2+}$  与血氟结合, 从而使血钙增加, 靶器官脱钙减少, 同时, 镁与氟结合排出体外, 抑制氟进一步损害。镁是一种脱氟剂, 联合添加硒铜镁, 既发挥硒铜抗氧化性能, 又发挥镁的脱氟作用, 以此减轻氟的过氧化损伤和它本身的毒害作用。本研究建议, 在生产中按 0.25mg/kg、15mg/kg、1mg/kg 比例添加硒铜镁。我国有大面积的高氟低硒低铜地区<sup>[6]</sup>, 推广应用本研究结果, 将产生巨大的效益。

## 4 结论

- 4.1 高氟黄牛 GSH-Px、CAT 和 SOD 活性降低, 脂质过氧化物(MDA) 和自由基含量升高。
- 4.2 添加硒使高氟黄牛 GSH-Px、CAT 和 SOD 活性升高, 抗氧化能力增强, 脂质过氧化产物(MDA) 和自由基净含量降低, 从而减轻脂质过氧化作用。
- 4.3 单一添加铜使高氟黄牛脂质过氧化物 MDA 和自由基含量降低, 减轻了脂质的过氧化作用, 但是 GSH-Px、CAT 和 SOD 活性并不升高。
- 4.4 在高氟低硒地区, 硒铜镁按 0.25 mg/kg、15 mg/kg、1 mg/kg 比例添加, 其抗氧化性能和抗脂质过氧化作用均优于单纯加硒。

### 参考文献:

- [1] 边建朝, 咸树梅, 叶平. 慢性氟中毒大鼠氟、抗氧化酶类变化及硒的影响[J]. 营养学报. 1997, 19(1): 43~ 49.
- [2] 吴建平, 陈学敏, 杨成峰, 等. 硒氟联合作用对大鼠脂质过氧化作用的影响[J]. 中国地方病学杂志. 1994, 13(4): 213~ 214.
- [3] 杨克敌, 王爱国, 李贤相, 等. 硒对氟致大鼠脂质过氧化拮抗作用的研究[J]. 卫生研究. 1996, 25(1): 13~ 15.
- [4] 曹静祥, 严本武, 张淑兰, 等. 高硒高氟环境与人体健康关系的研究[J]. 卫生研究. 1996, 25(5): 287~ 290.
- [5] 韩博. 牛地方性氟病的毒理学研究[A]. 东北农业大学博士学位论文[C]. 1998, 6.
- [6] 韩博, 史言. 牛地方性氟病的病因、机理及防治对策的研究[J]. 东北农业大学学报. 1998, 29(3): 260~ 270.
- [7] Vashishth S N, Kapoor V, Lall D, et al. Mineral status and serum alkaline phosphate activity in lambs fed diets supplemented with flourine and boron[J]. Indian veterinary Journal. 1998, 75(1): 17~ 21.
- [8] Coetzee C B, Casey N H, Meyer J A. Fluoride tolerance of laying hens[J]. British Poultry Science. 1997, 38(5): 597~ 602.
- [9] Singh J L, Swarup D. Fluorosis in buffaloes[J]. Veterinary Record. 1994, 135(11): 260~ 261.

## *Study on the Free Radical induced Damage in Cattle with Endemic Fluorosis and the Protective Mechanism of Selenium, Copper, and Magnesium*

Han Bo<sup>1</sup>, Yin Wenli<sup>1</sup>, Shi Yan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095;

<sup>2</sup> College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University)

**Abstract:** The changes of antioxidative enzymes, lipid peroxidation and free radicals were observed in cattle with endemic fluorosis under high fluoride, low selenium and low copper environment. Thirty-two cattle were selected from high fluoride area and randomly divided into four groups with eight cattle each as follows: I high fluoride control group (HFC); II supplemented with 0.25 mg/kg selenium (HFSe); III supplemented with 15 mg/kg copper (HFCu); and IV supplemented with 0.25 mg/kg selenium + 15 mg/kg copper + 1 mg/kg magnesium (HFSeCuMg) per day for 83 d, respectively. Eight cattle and eight

dairy cows were selected from non-high fluoride area as normal control groups. The samples were collected and measured on 0d, 30d, and 83d, respectively. The results showed that the contents of relative free radicals and MDA in the high fluoride group were significantly higher, and the whole blood GSH-Px, CAT, erythrocyte SOD activities were lower than that of the control groups. So, free radicals metabolic imbalance and antioxidation disorder were the main factors in endemic fluorosis. GSH-Px, CAT and SOD activities in HFSe group and HFSeCuMg group at 30d and 83d were markedly higher than that of the same group at 0d and the same time HFC. There was a corresponding reduction in the contents of relative free radicals and MDA. Supplementation of selenium, copper and magnesium increased high fluoride bovine anti-oxidative enzymes at 30 days, and decreased MDA and free radicals contents. However, the activities of anti-oxidative enzymes in group supplemented with selenium did not increase until the 83 days, so the anti-oxidative function of the group supplemented with Se, Cu, and Mg was better than that of the groups supplemented with Se. The results showed that the high fluoride affected cattle supplemented with proper selenium, copper, and magnesium increased their fluoride excretion and anti-oxidative function, and decreased lipid peroxidation and free radicals contents.

**Key words:** Bovine endemic fluorosis; GSH-Px; SOD; CAT; MDA; Free radicals; Se; Cu; Mg

---

## 欢 迎 订 阅

### 《中国农业科学》全文数据库光盘

《中国农业科学》全文数据库光盘收集了本刊自 1960 年创刊以来至 1999 年的全部论文。该数据库全文检索采用光盘影像调阅系统,可准确、迅速、多途径进行检索、打印。原价每套(2 盘)880 元。现以优惠价每套 400 元售给作者。数量有限,请作者从速购买。地址:100081 北京中关村南大街 12 号(即原白石桥路 30 号);联系人:赵 琪;联系电话:(010) 68919808 68976244; E-mail: zgnykx@mail.caas.net.cn。

## 书 讯

《中国农业科学》编辑部现有《中国农牧业单位名录大全》2000 版,每册 110 元(含邮费);《中国农用新产品指南》,每册 99 元(含邮费)。款到即寄书,欲购买者请与《中国农业科学》编辑部赵琪联系。联系电话:(010)68919808; 68976244; E-mail: zgnykx@mail.caas.net.cn