

氟对大鼠涎腺脂质过氧化物及抗氧化酶的影响

徐晓雅, 孙璐璐, 袁杰

哈尔滨医科大学附属口腔医学院口腔预防保健科, 黑龙江 哈尔滨 150001

摘要: **目的** 观察氟化钠对大鼠涎腺脂质过氧化物(LPO)水平及抗氧化酶活性的影响。**方法** 18只清洁级8周龄雄性Wistar大鼠随机分为3组(每组6只):对照组(C组)饮用蒸馏水;染氟组1(F1组)饮用含氟化钠15 mg/kg蒸馏水溶液;染氟组2(F2组)饮用含氟化钠50 mg/kg蒸馏水溶液。1个月后处死大鼠,摘取腮腺及颌下腺,取组织匀浆上清液用于检测。采用硫代巴比妥酸比色法检测涎腺组织中丙二醛(MDA)水平(反应LPO水平),采用黄嘌呤氧化酶法检测涎腺组织中总超氧化物歧化酶(TSOD)活性,采用过氧化物酶法检测涎腺组织中过氧化氢酶(CAT)活性。**结果** F2组大鼠腮腺MDA水平较C组和F1组均明显增高($P < 0.05$, $P < 0.01$),F1组与C组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);3组大鼠腮腺TSOD及CAT活性无明显差异(P 均 > 0.05);3组间颌下腺MDA水平、TSOD及CAT活性比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。**结论** 氟化钠可能引起腮腺的损伤,是否引起涎腺氧化应激还需进一步研究。

关键词: 氟化钠;涎腺,腮腺,颌下腺;脂质过氧化物;抗氧化酶;丙二醛;超氧化物歧化酶;过氧化氢酶;大鼠

中图分类号: R-33 R 599.9 文献标识码: B 文章编号: 1674-8182(2016)07-0951-03

Effect of fluorine on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rats salivary glands

XU Xiao-ya, SUN Lu-lu, YUAN Jie

Department of Oral Health Sciences, College of oral medicine, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China

Corresponding author: YUAN Jie, E-mail: hydtkyb@126.com

Abstract: Objective To observe the effect of fluoride sodium on lipid peroxidation (LPO) level and antioxidant enzymes activity in salivary glands of rats. **Methods** Eighteen clean-class male Wistar rats aged 8 weeks were randomly divided into three groups ($n = 6$ each): control group (C group, drinking distilled water), fluorine exposure group 1 (F1 group, drinking distilled water solution containing 15 mg/kg of sodium fluoride), fluorine exposure group 2 (F2 group, drinking distilled water solution containing 50 mg/kg of sodium fluoride). The rats were killed one month later, and the parotid and submandibular glands were taken. Tissue homogenate supernatant was used for detection. The thiobarbituric acid colorimetric method was used to detect malondialdehyde (MDA) level (responding to LPO level) in salivary glands tissues. The xanthine oxidase method was used to detect total superoxide dismutase (TSOD) activity in salivary glands tissues. The peroxidase method was used to detect catalase (CAT) activity in salivary glands tissues. **Results** In parotid gland of rats, MDA level in F2 group was significantly higher than those in F1 group and C group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and there was no significant difference between C group and F1 group ($P > 0.05$), while there were no significant differences in TSOD and CAT activities among three groups ($P > 0.05$). There were no significant differences in MDA level, TSOD and CAT activities in submandibular gland among three groups (all $P > 0.05$). **Conclusion** Fluoride sodium might cause the injury of parotid gland. It is needed for research further that whether fluoride sodium can induce oxidative stress of salivary glands.

Key words: Fluoride sodium; Salivary glands, parotid gland, submandibular gland; Lipid peroxidation; Antioxidant enzymes; Malondialdehyde; Superoxide dismutase; Catalase; Rats

过量的氟引起氟中毒,主要表现为氟斑牙、氟骨症。随着研究的深入,人们开始关注氟中毒对其他组织器官的影响,如肝脏、肾脏、生殖系统、大脑、甲状腺等^[1]。氧化应激损伤是氟化钠的主要毒性机制之一^[2],可通过研究组织中脂质过氧化物(LPO)水平及抗氧化酶活性来评价氟化钠的毒性作用。

腮腺和颌下腺是主要涎腺,对维持正常的口腔功能起重要作用,有关氟化钠对涎腺的影响方面的研究较少。本实验通过大鼠自由饮用不同浓度的氟化钠溶液 1 个月,观察氟化钠对大鼠腮腺及颌下腺 LPO 及主要抗氧化酶活性的影响,探讨氟化钠是否引起大鼠涎腺的氧化应激。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及处理 清洁级 8 周龄雄性 Wistar 大鼠 18 只,体重(171 ± 9)g,购自哈尔滨医科大学动物实验中心。大鼠随机分成 3 组:对照组(C)、染氟组 1(F1 组)和染氟组 2(F2 组),每组 6 只,在哈尔滨医科大学一院动物实验中心饲养。

1.2 主要仪器、试剂与方法 Epoch 酶标仪(USA), 37 °C 恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司), TDL-40B 型台式离心机(北京医用离心机厂生产)。氟化钠(分析纯,天津市化学试剂三厂),冰醋酸(分析纯,天津市化学试剂三厂)。丙二醛(MDA)常用于反应脂质过氧化程度,采用硫代巴比妥酸法检测,总超氧化物歧化酶(TSOD)检测采用黄嘌呤氧化酶法,过氧化氢酶(CAT)检测采用过氧化物酶法,总蛋白检测采用考马斯亮蓝法。MDA、TSOD、CAT 检测试剂盒、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 方法 C 组喂以蒸馏水,F1 和 F2 组分别喂以含氟化钠 15 mg/kg、50 mg/kg 的蒸馏水溶液,1 个月后处死。迅速摘取大鼠腮腺及颌下腺,生理盐水清洗,预冷后置于 -20 °C 冰箱保存。检测时先切碎腺体,加入 0.9% NaCl,在 4 °C 以 2 500 rpm 离心 10 min 组织匀浆,取上清液用于检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 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 各组大鼠腮腺 MDA、TSOD、CAT 变化比较 与 C 组、F1 组比较,F2 组大鼠腮腺中,MDA 水平显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。C 组、F1 组、F2 组组间比较,大鼠腮腺 TSOD 和 CAT 活性差异均无统计学意

义(P 均 > 0.05)。见表 1。

2.2 各组大鼠颌下腺 MDA、TSOD、CAT 的变化比较

C 组、F1 组、F2 组组间比较,大鼠颌下腺 MDA 水平、TSOD 和 CAT 活性差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表 2。

表 1 氟对大鼠腮腺 MDA、TSOD、CAT 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MDA	TSOD	CAT
		(nmol/mg protein)	(U/mg protei)	(U/g protein)
C 组	5	0.90 ± 0.28	34.57 ± 3.14	0.27 ± 0.08
F1 组	6	0.44 ± 0.20	32.11 ± 4.41	0.39 ± 0.10
F2 组	6	1.74 ± 0.94 * Δ	34.17 ± 2.96	0.60 ± 0.37

注:与 C 组比较, * $P < 0.05$;与 15 mg/kg 组比较, Δ $P < 0.01$ 。

表 2 氟对大鼠颌下腺 MDA、TSOD、CAT 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MDA	TSOD	CAT
		(nmol/mg protein)	(U/mg protein)	(U/g protein)
C 组	6	1.78 ± 0.24	64.6 ± 12.1	1.55 ± 0.38
F1 组	6	1.88 ± 0.23	61.8 ± 6.48	2.18 ± 0.7
F2 组	6	1.89 ± 0.12	55.34 ± 6.8	1.78 ± 0.35

3 讨论

大量研究表明,氟促进氧自由基形成,使 LPO 水平升高^[3-8]。在正常情况下,细胞代谢产生自由基,维持细胞内稳态,参与信号传导过程。当外界环境改变时,自由基抗氧化平衡被破坏,过量的自由基导致机体处于氧化应激状态^[9],引起蛋白、脂质、碳水化合物及核苷酸等的损伤^[10]。线粒体是产生自由基的主要部位,氟可以作用于富含线粒体的器官,改变线粒体活性,促进自由基形成^[11]。过量的氧自由基攻击细胞膜脂质双分子层,形成 LPO。MDA 作为 LPO 的终端产物之一,常用于反应 LPO 水平。

本实验中 F2 组大鼠腮腺 MDA 水平明显升高,说明氟化钠暴露引起氧自由基增多,造成腮腺细胞膜的损伤,但 3 组大鼠颌下腺 MDA 水平未见明显差异。颌下腺代谢于厌氧环境,腮腺代谢于需氧环境^[12],代谢条件不同可能造成腺体对氧自由基的敏感性不同。

抗氧化酶是机体防御氧化应激损伤的主要防线之一,主要包括 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、CAT 等。它们将自由基降解成对机体毒性小的分子,保护组织不受氧化应激的损伤。SOD 作为抵抗氧化应激的第一道防线,参与降解超氧阴离子,将其转换成过氧化氢^[13]。CAT 作为重要的抗氧化酶,可以把 SOD 生成的过氧化氢进一步分解成水和基态氧^[13]。

有关氟对抗氧化酶的影响有不同的结论。有实

验表明氟中毒大鼠的肝脏^[4]、肾脏^[5]、血液^[14]中 SOD、CAT 活性下降;另一些研究发现氟未引起 SOD 和 CAT 的活性降低^[15],氟还可能引起 CAT 升高^[16]。本实验中, F1、F2 组与 C 组比较, 腮腺、颌下腺中 TSOD 及 CAT 活性未见明显差异。说明氟中毒的氧化应激作用机制非常复杂, 不同的动物种属、器官或组织, 不同的实验条件, 给药方式, 给药剂量及时间, 均可能对实验结果产生影响。

本研究中, 大鼠腮腺的 MDA 在高剂量氟化钠组升高, 但 SOD 水平未见降低, 推测氟化钠对大鼠腮腺有一定影响, 但是否引起涎腺的氧化应激还需进一步研究证实。

参考文献

- [1] Perumal E, Paul V, Govindarajan V, et al. A brief review on experimental fluorosis[J]. *Toxicol Lett*, 2013, 223(2): 236 – 251.
- [2] Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo LM. Molecular mechanisms of fluoride toxicity [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 188(2): 319 – 333.
- [3] Guo X, Sun G, Sun Y. Oxidative stress from fluoride-induced hepatotoxicity in rats[J]. *Fluoride*, 2003, 36(1): 25 – 29.
- [4] Zhan XA, Wang M, Xu ZR, et al. Effects of fluoride on hepatic antioxidant system and transcription of Cu/Zn SOD gene in young pigs [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2006, 20(2): 83 – 87.
- [5] Błaszczak I, Grucka-Mamczar E, Kasperczyk S, et al. Influence of fluoride on rat kidney antioxidant system; effects of methionine and vitamin E[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2008, 121(1): 51 – 59.
- [6] Basha PM, Rai P, Begum S. Evaluation of fluoride-induced oxidative stress in rat brain; a multigeneration study[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2011, 142(3): 623 – 637.
- [7] Shivarajashankara YM, Shivashankara AR, Bhat PG, et al. Effect of fluoride intoxication on lipid peroxidation and antioxidant systems in rats[J]. *Fluoride*, 2001, 34(2): 108 – 113.
- [8] Liu G, Chai C, Cui L. Fluoride causing abnormally elevated serum nitric oxide levels in chicks[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2003, 13(3): 199 – 204.
- [9] Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, et al. Free radicals and antioxidants in human health; current status and future prospects[J]. *J Assoc Physicians India*, 2004, 52: 794 – 804.
- [10] Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury[J]. *Biochem J*, 1984, 222(1): 1 – 15.
- [11] Dabrowska E, Balunowska M, Letko R, et al. Ultrastructural study of the mitochondria in the submandibular gland, the pancreas and the liver of young rats, exposed to NaF in drinking water[J]. *Rocz Akad Med Białymst*, 2004, 49: 180 – 181.
- [12] Nicolau J, Sasaki KT. Metabolism of carbohydrate in the major salivary glands of rats[J]. *Archives of oral biology*, 1976, 21(11): 659 – 661.
- [13] Yamaguti PM, Simões A, Ganzerla E, et al. Effects of single exposure of sodium fluoride on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in salivary glands of rats[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013: 674593.
- [14] Shanthakumari D, Srinivasalu S, Subramanian S. Effect of fluoride intoxication on lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats[J]. *Toxicology*, 2004, 204(2/3): 219 – 228.
- [15] Reddy GB, Khandare AL, Reddy PY, et al. Antioxidant defense system and lipid peroxidation in patients with skeletal fluorosis and in fluoride-intoxicated rabbits[J]. *Toxicol Sci*, 2003, 72(2): 363–368.
- [16] Akdogan M, Eraslan G, Gultekin F, et al. Effects of fluoride on lipid peroxidation in rabbits[J]. *Fluoride*, 2004, 37(3): 185 – 189.

收稿日期: 2016 – 02 – 10 编辑: 王国品