

硒对氟中毒大鼠尿氟及脑肾组织 脂质过氧化物含量的影响

杜晓阳 李广元 程小丽

(西安医科大学, 西安 710061)

刘韵辉 马长安 郑来义

(陕西地方病防治研究所)

何治荣 张维民 白志军

(陕西定边县地方病防治研究所)

摘 要

大鼠饲料分别加入 2×10^{-6} 、 4×10^{-6} 硒, 饮用 7.5×10^{-6} 、 15×10^{-6} 氟水, 1 个月后, 随尿粪硒排量增加, 尿氟排量也增高, 以 2×10^{-6} 硒饲料排氟效果最佳。血浆中 ALP、GOT、GPT 及 LDH 等酶活性加硒组有不同程度的降低。随后两次增高氟水量重复试验, 给以 2×10^{-6} 硒饲料, 仍观察到尿氟排量增高。血中含硒酶谷胱甘肽过氧化物酶活性也有升高趋势, 脑及肾中脂质过氧化物 (LPO) 含量明显减少, 病区患者服硒后, 尿氟含量亦高于对照组。实验结果提示: 1) 硒能促使体内氟由尿中排出; 2) 降低某些组织 LPO 含量; 3) 减少体内氟含量; 4) 预防和改善氟中毒某些临床症状。

关键词: 硒, 氟中毒, 脂质过氧化物。

硒是人体必需的微量元素, 对它的生物学作用, 文献报道甚多, 但其对氟中毒的影响, 文献却很少报道, 有的学者曾认为硒与氟没有关系。地方性氟中毒是一种慢性全身性疾病, 在世界上分布很广, 在我国除上海市外, 其它各省、自治区、直辖市都有不同程度的流行。该病的发生与饮水含氟量过高有密切关系。但广大病区因条件限制, 改变高氟环境不是易事, 即使改变高氟饮水, 体内保留较多的氟排出较慢, 故研究机体排氟药物, 仍是重要的探讨课题。本文在硒防治克山病及大骨节病取得成效的基础上, 又观察了硒对氟中毒动物及患者的作用, 以探讨两者的关系, 为防治氟危害提供新的思路。

1 材 料 及 方 法

1.1 动物实验

第一探索性试验, 用 50 只 wistar 纯种大白鼠, 雌性, 断乳后随机分为 10 组; 分常备饲料组 (S_0)、加 2×10^{-6} 硒组 (S_2)、 4×10^{-6} 硒组 (S_4), 喂各种饲料, 又分别饮用 3 种氟水, 即

• 陕西省地办室资助项目

1×10^{-6} 氟水 (F_1)、 7.5×10^{-6} 氟水 ($F_{7.5}$) 及 15×10^{-6} 氟水 (F_{15})。喂养 1 个月后, 分别放入不锈钢有机玻璃代谢笼, 收集 24h 尿液及粪便, 尿液加盐酸防腐, 粪 60°C 下烘干备用。喂养 6 个月后, 乙醚麻醉, 腹腔动脉取血、肝素抗凝, 分离血浆待测。

上述试验, 饲料中加 2×10^{-6} 硒组、尿排氟量最高。故选用 2×10^{-6} 硒饲料, 以 10×10^{-6} 氟水延长至 8 个月和增高水氟含量至 100×10^{-6} , 分对照、氟水及服硒饮氟水 3 组进行重复。以氟离子选择电极测氟, 以四乙氧基丙烷 (tetraethoxypropane, TEP) 为标准物, 硫巴比妥酸荧光法^[1]测脂质过氧化物 (LPO), 2, 3-二氨基萘荧光法测硒^[2]。以 1L MCA PLUS F/LS 微量离心生化分析仪测血浆碱性磷酸酶 (ALP)、谷草转氨酶 (GOT)、谷丙转氨酶 (GPT)、及乳酸脱氢酶 (LDH)。以 DTNB 比色法测谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性^[3]。

1.2 病区患者试验

选陕西定边县氟中毒重病区, 经临床体检及前臂 X-线拍片确诊为 I°~III° 氟病患者 129 例, 除 2 例 10 岁儿童外, 余为 20~70 岁成人, 男性 60 例、女 69 例, 随机分为 3 组: 第 1 组每人每周口服硒片 4 粒 (每片含亚硒酸钠 1mg), 第 2 组为对照服淀粉片, 第 3 组服其它药物 (另报)。每疗程 3 个月, 共服 2 个疗程, 结束后同部位拍 X-片, 取尿, 血及发待测。

2 结 果

尿中氟、硒及粪硒含量列于表 1, 可看到饲料加硒的各组, 对饮用不同浓度的氟水, 随尿硒含量增高, 尿氟含量也显著增加。但饲料中硒量加大 (S_1), 尿氟含量则有较 S_2 组降低现象, 此可能较长期服用过量硒引起硒中毒, 造成肾损伤有关。观察到大鼠饲料中加入 2×10^{-6} 硒, 尿排氟量最高, 为进一步研究硒促进机体排除过量的氟提供有益的依据。

表 1 大鼠尿氟、尿硒及粪硒含量比较 ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $\mu\text{g/d}$)

组 别	例数	尿 氟	尿 硒	粪 硒
S_0F_1	5	28.0 ± 2.2	2.8 ± 0.8	0.14 ± 0.02
S_2F_1	5	45.0 ± 10.0	27.2 ± 2.1	10.19 ± 0.51
S_4F_1	5	45.0 ± 8.9	33.0 ± 2.2	17.61 ± 1.32
$S_0F_{7.5}$	5	50.0 ± 8.5	1.5 ± 0.4	0.22 ± 0.05
$S_2F_{7.5}$	5	70.0 ± 14.7	37.5 ± 7.1	11.66 ± 3.02
$S_4F_{7.5}$	5	52.0 ± 4.5	46.4 ± 9.2	14.44 ± 3.35
S_0F_{15}	5	77.0 ± 16.1	1.7 ± 0.4	0.29 ± 0.02
S_2F_{15}	5	111.0 ± 25.9	24.3 ± 2.8	11.50 ± 0.00
S_4F_{15}	5	106.0 ± 22.8	23.0 ± 2.1	13.85 ± 1.81

血浆中 ALP、GOT、GPT 及 LDH 酶活力测定结果列于表 2。看到饲料中两种硒水平, 皆有不同程度的降低这些酶的活性, 同时过量的氟确能引起一些软组织的损害, 致这些酶释放到血液中, 使酶活性增高, 而硒却能减轻这些组织损伤, 起到良好的保护作用。

表 2 硒、氟对在血浆中某些酶活性的影响 ($\bar{x} \pm SD$, U/L)

组 别	ALP	GOT	GPT	LDH
S ₀ F ₀	135.9±8.9	92.2±10.4	36.1±3.8	233.3±87.7
S ₀ F ₁	142.5±18.6	120.3±17.3	37.6±4.2	861.3±348.5
S ₂ F ₁	140.4±20.2	131.5±21.3	38.1±2.4	1273.6±387.5
S ₄ F ₁	122.9±9.0	106.9±18.7	41.4±4.9	292.2±86.3
S ₀ F _{1.5}	149.2±14.1	170.4±31.6	60.4±9.0	2106.4±718.0
S ₂ F _{1.5}	140.7±17.4	134.9±22.0	35.4±9.9	723.5±298.1
S ₄ F _{1.5}	134.3±10.2	95.0±5.7	37.7±2.9	272.9±87.0
S ₀ F ₁₅	148.2±10.7	108.3±12.7	42.5±4.2	625.8±193.6
S ₂ F ₁₅	121.1±16.8	77.1±6.6	29.7±2.0	234.5±44.0
S ₄ F ₁₅	147.0±9.7	84.1±5.4	33.6±3.0	339.6±117.6

喂含硒 2×10^{-6} 饲料, 饮用 10×10^{-6} 和 100×10^{-6} 氟水的大白鼠和服硒治疗前后的患者尿氟含量的比较, 见表 3。由表 3 结果说明了适当的服硒制剂能促使尿氟排出, 降低过量氟在机体的存留, 减轻了其对组织的损伤。

表 3 服硒促使尿氟排泄比较

组 别	饮 10×10^{-6} 氟水 ($\mu\text{g F}^-/\text{d}$)	饮 100×10^{-6} 氟水 ($\mu\text{g F}^-/\text{d}$)	患 者 Δ ($\times 10^{-6}$ F)
对 照	29.6±9.6 (11)	25.2±14.9 (10)	
氟 水	90.3±24.8 (12)	305.1±103.3 (10)	8.1±2.3 (19)
氟+硒	121.0±33.8 (11)*	411.3±227.3 (10)*	11.6±6.7 (10)*

() 内为例数; * 与氟水组比较, $P < 0.05$; Δ 所列数据为氟病患者服硒前后尿氟含量。

全血 GSH-PX 活性、脑及肾组织中 LPO 含量列于表 4, 观察到 LPO 在加硒组含量降低, 有统计学意义, ($P < 0.05$)。GSH-PX 活力, 服硒组有增高趋势, 差别不显著, 尚待进一步研究。

表 4 大鼠血 GSH-PX 活性及脑、肾组织 LPO 含量比较

组别	N	血 GSH-PX (单位) Δ	脑 LPO (nmol TEP/mg Pr)	肾 LPO (nmol TEP/mg Pr)
对照	11	22.7±9.5	0.38±0.05	9.14±1.65
氟水	12	27.2±3.1	0.34±0.05	11.16±1.57
氟+硒	11	29.3±16.5	0.29±0.06*	8.18±1.28*

* 与氟水组比较, $P < 0.05$; TEP/mg Pr = TEP/mg 蛋白;

Δ 每 10 μL 全血, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5min 扣除非酶反应, 谷胱甘肽降低 1 微摩尔浓度, 为 1 酶活力单位。

3 讨 论

微量元素硒能维持肌肉和红细胞的完整,并控制某些金属离子穿过细胞膜。根据硒和维生素E的作用,Frost和Lish^[4]认为它们的缺乏构成了人类各种慢性病的基础,将硒誉为机体自身稳定作用的中枢。因之硒可能对过量的氟在体内有一定的拮抗作用。1988年波兰学者Wasowicz等^[5]发现高氟区氟斑牙儿童尿硒每日排出量高于正常组儿童。同年孙阳等^[6]报道大鼠服硒组尿氟含量增高。陈友发等^[7]给在氟污染牧场放牧的羔羊,每周投以亚硒酸钠一次,能延缓骨氟增长,增强机体排氟能力,降低机体对氟的负荷,有效地推迟慢性氟中毒发病时间。给氟中毒患者服硒后,尿排氟量亦明显增多,同时临床症状体征及X-线拍片皆有一定的好转率(前者22.2%,后者8.1%),无加重者,首次将硒用到氟中毒患者,取得了一定效果,并证明硒与氟在体内有相当的拮抗作用,但机制尚不清楚。

氟中毒动物血清和红细胞LPO含量增高,GSH-PX活力下降,慢性氟中毒体内出现广泛的损害与脂质过氧化作用增强有关^[8]。而硒确能提高GSH-PX活力,降低脂质过氧化产物^[9],稳定膜结构^[10],对机体会起良好的作用。本文实验观察到硒能降低氟中毒大鼠脑及肾中LPO含量,提高血中GSH-PX活力,同意慢性氟中毒机体损伤与脂质过氧化作用增强有一定关系的看法,仍需从各学科进行深入研究。

参 考 文 献

- 1 王光亚,李文仙,杨光圻.人和动物血清及组织中脂质过氧化物的测定方法.卫生研究.1980.1:73~78
- 2 Kon T S and Benson T H. Critical re-appraisal of fluorometric method for determination of selenium in biological material. J Assoc Off Anal Chem. 1983. 66(4):918~926
- 3 中国医科院克山病防治科研小分队.全血中谷胱甘肽过氧化物酶测定方法.克山病科研资料汇编.1977.(1):61~66
- 4 Frost D V, Lish P M. Selenium in Biology. Ann Rev Pharmacol. 1975. 15:259~284
- 5 Wasowics W, Golebiowska M, Chlebna-Sokot D. Increased urinary excretion of selenium in children a response to surplus fluorine in drinking water. Trace Elements in Med. 1988. 5(1):43~46
- 6 孙阳等.硼、硒、氟宁、维C对氟中毒动物生化指标的影响.地方病通报.1988.3(4):14~16
- 7 陈友发等.亚硒酸钠对山羊慢性氟中毒防治效果的观察.中国环境科学.1988.8(6):34~37
- 8 官志忠,杨沛施.氟中毒大鼠血清和红细胞中脂质过氧化物水平及抗氧化物质含量变化.中国地方病学杂志.1990.9(1):4~6
- 9 李广元.环境低硒对有机体的损伤.国外医学——医学地理分册.1980.1:12~6
- 10 沃维汉,杨福愉.硒与红细胞膜的研究I.硒对红细胞膜的保护作用.中国科学.B辑.1986.4:401~406

Effect of Selenium on Urine Fluorine and LPO in Brain and Kidney of the Fluorosis Rats

Du Xiaoyang, Li Guangyuan et al
(Xian Medical University, Xian 710061)

Abstract

Wistar rats were fed with two kinds of se-supplement diet (SSD, Se 2×10^{-6} and 4×10^{-6}) and water with different concentration of fluorine (F, 7.5 and 15 mg/L). After one month, the contents of urine F in the rats fed with SSD were increased along with the increment of urine and stool selenium. The excretive effect of F in the rats fed with 2×10^{-6} SSD was the best. The activities of plasma ALP, GOT, GPT and LDH in SSD group were decreased to different level, the levels of lipid peroxides (LPO) in the brain and kidney were also diminished. The activities of the glutathione peroxidase were increased slightly. The patients with fluorosis were treated by 4mg sodium selenite per week (oral), after six months the contents of urine F of them were more increased than that of the control, 22.2 percent of clinic symptoms was improved. These results showed that selenium could: 1) accelerate the excess of F in vivo excretion from urine; 2) diminish the content of LPO in some tissues; 3) decrease the content of F in vivo; 4) prevent and ameliorate the clinic symptoms of fluorosis to certain degrees.

Keywords: Selenium, Fluorosis, LPO.