

# 高钼低铜对小鼠睾丸组织脂质过氧化作用的影响

郭书周, 杨自军\*, 张 才

(河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 为研究高钼、低铜及两因素协同作用对小鼠睾丸组织脂质过氧化作用的影响, 将 80 只健康雄性昆明系小鼠随机分为 4 组, 分别为对照组 (Cu 3 mg/L, Mo 0 mg/L)、高钼组 (Cu 3 mg/L, Mo 600 mg/L)、低铜组 (Cu 0 mg/L, Mo 0 mg/L)、低钼高铜组 (Cu 0 mg/L, Mo 600 mg/L), 建立实验动物模型。在试验的第 90 天采集样品, 用试剂盒测定睾丸组织内丙二醛 (MDA) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性。结果显示: 高钼低铜组 MDA 含量分别比对照组、高钼组、低铜组高 111%、56.8%、58.3%, 差异均达极显著水平 ( $P < 0.01$ ); 高钼低铜组 SOD 活性比对照组、高钼组、低铜组分别降低 45.8%、32.4%、31.1% ( $P < 0.01$ ); 高钼组、低铜组睾丸组织内 GSH-Px 活性分别比对照组降低 22.1%、32.8%, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 比对照组降低 45.0%, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。结果表明: 高剂量的钼 (600 mg/L) 造成睾丸脂质过氧化损伤, 铜摄入不足降低了睾丸的抗氧化能力, 加剧了钼对睾丸的氧化损伤。

**关键词:** 钼 (Mo); 铜 (Cu); 小鼠; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶

**中图分类号:** S816.7    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1004-3268(2011)11-0145-04

## Effects of High Molybdenum and Low Copper on Testis Lipid Per-oxidation of Mice

GUO Shu-zhou, YANG Zi-jun\*, ZHANG Cai

(Institute of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** To investigate the synergistic action of the molybdenum excessive and copper deficiency on testis lipid peroxides of mice, eighty healthy male Kunming mice were randomly divided into 4 groups and animal models were established by adding different doses of molybdenum (600 mg/L) or copper (3 mg/L) into drinking water. On the 90th day, tissues from testis were collected for the determinations of the content of MDA and the activities of SOD and GSH-Px. The results showed that the content of testis organization MDA in the high molybdenum and low copper group was 111%, 56.8% and 58.3% higher than that of the control group ( $P < 0.01$ ), high molybdenum group ( $P < 0.01$ ) and low copper group ( $P < 0.01$ ), respectively. The SOD activity in the high molybdenum and low copper group was 45.8%, 32.4% and 31.1% lower than that of the control group ( $P < 0.01$ ), high molybdenum group ( $P < 0.01$ ) and low copper group ( $P < 0.01$ ), respectively. The GSH-Px activity of testis organization in the high molybdenum group and the low copper group were 22.1% and 32.8%, significantly lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ). The GSH-Px activity in the high molybdenum and low copper group was 45.0% lower than that of the control group ( $P < 0.01$ ). The results indicated that excessive molybdenum (600 mg/L) induce sever damage in the testis. Deficiency copper reduces the oxidation resistance of testis and ag-

收稿日期: 2011-06-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31040081)

作者简介: 郭书周 (1984-), 男, 河南方城人, 在读硕士研究生, 研究方向: 动物营养代谢与中毒病。

E-mail: guoshuzhou2008315@163.com

\* 通讯作者: 杨自军 (1963-), 男, 河南柘城人, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事动物营养代谢与中毒病的教学、研究工作。

E-mail: yangzijun@mail.haust.edu.cn

gravated the molybdenum toxic action in testis.  
**Key words:** Molybdenum; Copper; Mice; MDA; SOD; GSH-P<sub>x</sub>

脂质过氧化作用(lipid per-oxidation)是自由基生物学的一个分支,主要是指脂类不饱和脂肪酸与自由基反应,先形成中间体自由基,再与氧分子氧化反应形成脂质过氧化自由基,引起酸败作用<sup>[1]</sup>。生物膜脂质中含有较多的多不饱和脂肪酸,易发生脂质过氧化反应而损伤膜的结构与生物功能。正常生命活动过程中产生的自由基是维持机体代谢所必需的,正常情况下,体内的自由基产生与清除处于动态平衡中,平衡一旦破坏就会危害机体<sup>[2]</sup>。目前,关于外界理化因素对小鼠脂质过氧化酶的影响研究较多,对小鼠的研究也多为血清中抗氧化酶的变化,而在铜缺乏状态下,高剂量的钼对小鼠睾丸组织内主要抗氧化酶的影响尚未见报道。为此,通过在饮水中添加不同剂量的钼和铜,研究了钼过量、铜缺乏状态下小鼠睾丸组织的氧化损伤情况,旨在探讨高钼、低铜及两因素协同作用对小鼠睾丸组织脂质过氧化作用的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

供试动物:80 只 20 日龄的健康雄性昆明系小鼠,体质量约 20 g 左右,活动能力相当,购自郑州大学实验动物中心。

主要试剂:钼酸钠(Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O)、硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)均为天津化学试剂四厂产品;分光光度计(2100 型)为尤尼柯仪器有限公司产品;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-P<sub>x</sub>)试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。

饲喂小鼠的饲料(低钼低铜)成分为:白面 25%,麸皮 18%,玉米面 20%,酵母粉 1%,骨粉 3%,高粱面 15%,鱼粉 4%,食盐 1%,豆粕粉 22%,鸡蛋 1%,骨肉粉 2%,鱼肝油 1%。饲料微量元素的含量详见表 1。

表 1 饲料中几种微量元素的含量					
mg/kg					
Mo	Cu	Ca	P	S	Zn
0.02	0.03	0.49	0.45	0.15	1.25

1.2 方法

1.2.1 试验设计 选取 80 只健康雄性昆明系小鼠,随机分为 4 组,在饲喂低钼低铜复合饲料的基础上,通过饮水添加钼和铜,建立实验动物模型,详见表 2。在试验的第 90 天采集样品,测定小鼠睾丸 MDA 含量、SOD 活性、GSH-P<sub>x</sub> 活性。

表 2 饮水中铜和钼的添加量		
mg/L		
项目	铜(Cu)	钼(Mo)
对照组(Cu3-Mo0)	3	0
高钼组(Cu3-Mo600)	3	600
低铜组(Cu0-Mo0)	0	0
高钼低铜(Cu0-Mo600)	0	600

1.2.2 样品的采集及测定 采用摘眼球放血的方法处死小鼠,迅速取出睾丸,剥去睾丸被膜,用 4℃ 的生理盐水冲洗睾丸,在冰浴下用玻璃匀浆器匀浆,6 000 r/min 离心 15 min,取上清液待测各项指标。MDA 含量、SOD 活性、GSH-P<sub>x</sub> 活性的检测严格按照试剂盒说明书进行,根据公式计算出它们的含量。

1.2.3 数据处理 数据采用 SPSS 17.0 进行分析,结果用平均数±标准差(Mean±SD)表示。

2 结果与分析

由表 3 可知,高钼组、低铜组小鼠睾丸组织内 MDA 含量分别比对照组高 34.6%、33.3%(*P*<0.05);高钼低铜组 MDA 含量比对照组高 111%(*P*<0.01),比高钼组高 56.8%(*P*<0.01),比低铜组高 58.3%(*P*<0.01)。与对照组相比,高钼组、低铜组、高钼低铜组小鼠睾丸组织内 SOD 活性分别降低 19.8%、19.6%、45.8%,差异均达极显著水平(*P*<0.01),高钼低铜组小鼠睾丸组织内 SOD 活性比高钼组降低 32.4%(*P*<0.01),比低铜组降低 31.1%(*P*<0.01)。高钼组、低铜组小鼠睾丸组织内 GSH-P<sub>x</sub> 活性分别比对照组降低 22.1%、32.8%,差异达显著、极显著水平,高钼低铜组小鼠睾丸组织内 GSH-P<sub>x</sub> 活性比对照组降低 45.0%(*P*<0.01),比高钼组降低 29.3%(*P*<0.05)。

表 3 不同钼、铜添加量对小鼠睾丸组织内抗氧化酶的影响			
组别	SOD 活性/(U/g)	MDA 含量/(μmol/g)	GSH-P <sub>x</sub> 活性/(U/g)
对照组(Cu3-Mo0)	17.94±1.96	0.81±0.12	1.40±0.32
高钼组(Cu3-Mo600)	14.37±2.52**	1.09±0.24*	1.09±0.30*
低铜组(Cu0-Mo0)	14.42±2.40**	1.08±0.18*	0.94±0.32**
高钼低铜组(Cu0-Mo600)	9.71±1.06***+▲▲	1.71±0.42***+▲▲	0.77±0.32***+▲

注:上标为\*表示与对照组相比差异显著,\*\*表示差异极显著;上标为+表示与高钼组相比差异显著,++表示差异极显著;上标为▲表示与低铜组相比差异显著,▲▲表示差异极显著

### 3 讨论

#### 3.1 高钼低铜对小鼠睾丸组织内 MDA 活性的影响

环境中有多因素促使自由基产生,引起脂质过氧化,如电离辐射、紫外线、杀虫剂、除草剂、光敏剂以及金属离子等。所产生的脂质过氧化物很不稳定,可以自发地降解成小分子复杂产物,如醛、酮、烃、酸及聚合物等<sup>[3]</sup>。对降解产物的检测最能有效反映脂质过氧化水平,氧自由基的堆积可使细胞膜发生脂质过氧化反应,生成大量的 MDA,MDA 是脂质过氧化物的最终产物,其含量的高低与脂质过氧化程度具有直接的相关性<sup>[4]</sup>。因此,MDA 代表脂质过氧化产物,其含量不仅可以反映机体内自由基产生的多少,而且还反映脂质过氧化的程度,间接反映细胞受损伤的程度。

本试验结果表明:高钼组、低铜组小鼠睾丸组织内 MDA 含量分别比对照组高 34.6%、33.3% ( $P < 0.05$ );高钼低铜组比对照组高 111%,说明不论高剂量的钼,还是铜的相对缺乏都可造成小鼠睾丸组织的氧化损伤,造成细胞内 MDA 的堆积;高钼低铜组 MDA 含量比高钼组高 56.8% ( $P < 0.01$ ),比低铜组高 58.3% ( $P < 0.01$ )。说明动物机体在高剂量的钼和低剂量的铜双因素作用下,睾丸组织的损伤要比单一因素作用时更为严重。进一步说明了铜的相对缺乏加剧了钼的毒性。动物机体摄入过量的钼后,发生的脂质过氧化反应,对小鼠睾丸组织造成了一定的损伤,这可能是钼致小鼠睾丸毒性的重要机制之一。李建喜等<sup>[5]</sup>研究发现,在饲料添加钼和硫后,小鼠在第 120 天时,血清中 MDA 的含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ),肝组织中 MDA 在第 60 天时就显著高于对照组,这表明饲料中钼过量会增加机体脂质过氧化反应的程度。

#### 3.2 高钼低铜对小鼠睾丸组织内 SOD 活性的影响

SOD 是生物体内重要的抗氧化酶,广泛分布于各种生物体内。SOD 能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质。SOD 具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质<sup>[6]</sup>。SOD 在生物体内的水平高低是衰老与死亡的直观指标,现已证实,由氧自由基引发的疾病多达 60 多种,而 SOD 可以对抗或阻断氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,减轻自由基对细胞造成的伤害<sup>[7]</sup>。

在正常生理状态下,生物体内的氧自由基不断地产生,也在不断地被消除,处于动态平衡状态。由于某些外在原因,导致氧自由基的产生增多或机体清除氧自由基的速度下降,机体就会出现氧化应激

反应<sup>[7]</sup>。正常情况下,机体内存在着许多清除氧自由基的体系,包括抗氧化酶和抗氧化剂,其中 SOD 可催化氧自由基歧化为  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,从而起到保护细胞膜结构和功能完整性的作用<sup>[8]</sup>。SOD 是以铜、锌等为辅助因子的,当机体内铜增加时,SOD 活力会明显升高,当机体铜摄入量不足时,SOD 活力会受到抑制。

本试验结果显示,高钼组、低铜组、高钼低铜组与对照组相比较,小鼠睾丸组织内 SOD 活性均极显著下降 ( $P < 0.01$ )。SOD 活性的降低,说明试验各组动物机体内需要清除的自由基过多。高钼组、低铜组 SOD 活性均极显著高于高钼低铜组 ( $P < 0.01$ ),表明在高剂量的钼和铜摄入不足双重条件下,SOD 活性显著降低,说明高钼、低铜可引起睾丸组织脂质过氧化反应,从而导致睾丸组织的损伤。

#### 3.3 高钼低铜对小鼠睾丸组织内 GSH-Px 活性的影响

GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶。GSH-Px 的生理功能主要是催化 GSH 参与过氧化反应,清除在细胞呼吸代谢过程中产生的过氧化物和羟自由基,从而减轻细胞膜多不饱和脂肪酸的过氧化作用<sup>[9]</sup>。GSH-Px 使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,同时促进  $H_2O_2$  的分解,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰和损害。

从试验结果看:高钼组、低铜组、高钼低铜组睾丸组织内 GSH-Px 活性均比对照组降低;这与李建喜等<sup>[5]</sup>报道的不一致。李建喜等研究发现,当给小白鼠饲喂高含量的钼和硫饲料后,组织内钼含量并未升高反而降低,但 GSH-Px 的活力则有升高趋势。这可能是小鼠采食了高含量钼饲料后,攻毒时间长,黄嘌呤氧化酶的活性增强,氧自由基大量生成,过氧化物酶如 GSH-Px 活性代偿性地先升高后又降低<sup>[10]</sup>。但具体在某个时间段内,GSH-Px 含量是如何变化的还有待进一步研究。

综上所述:高剂量的钼 (600 mg/L) 导致小鼠睾丸组织内 MDA 含量升高,GSH-Px、SOD 活力降低,造成睾丸脂质过氧化损伤,铜缺乏降低了睾丸的抗氧化能力,加剧了钼对睾丸的氧化损伤。

#### 参考文献:

- [1] 王建华. 家畜内科学[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.
- [2] 左玉,张改玲. 脂质氧化和抗氧化作用的研究进展[J]. 科学之友, 2010, 35(12): 24-25. (下转第 151 页)

1.2265 kg 和 0.9736 kg,公母之间比较差异极显著水平( $P < 0.01$ );体质量与半净膛质量、全净膛质量公母之间比较差异也达极显著水平( $P < 0.01$ )。本研究结果显示,贵妃公鸡和母鸡 13 周龄平均体质量分别为 1.117 kg 与 0.890 kg,与国内地方鸡种相比,贵妃鸡个体较小,体质量、半净膛质量、全净膛质量有明显差距,可能是品种差异和饲养方式不同所致,但公母之间差异达到了显著水平与其他品种报道一致。

关于禽类的体质量与体尺性状、屠宰性状的相关分析报道较多。本研究结果显示,体质量与髌骨宽呈负相关,与其余体尺指标间均呈正相关,但均未达到显著水平。与王得钱等<sup>[12]</sup>测定仙居鸡 12 周龄的体质量与各体尺指标间相关性均达到极显著水平的结果不一致。本研究结果显示,贵妃鸡体质量与屠宰性能各指标之间呈极强的正相关,这与王得钱<sup>[12]</sup>研究仙居鸡的试验结果一致。

现在贵妃鸡在全球市场已经达到了供不应求的状况,市场需求量极大。但是贵妃鸡生长周期长,普通鸡 45 d 即可出售,贵妃鸡至少 80 d 才能上市,导致成本高,相对经济利润比较低。本研究结果表明,贵妃鸡体尺性状和屠宰性状各指标的标准差都较大,说明其整齐度差,其生产性能存在进一步提高的空间。由于国内引进贵妃鸡数量少,难免造成近交,今后希望通过分散到各不同地区饲养,进行选育和保种,以不同地区的种禽交换等来弥补以上的不足,以提高我国贵妃鸡的生产性能,满足市场需求。

#### 参考文献:

- [1] 肖喜东,顾洁,郑季,等. 贵妃鸡的饲养管理[J]. 河南畜牧兽医,2002,23(1):42-43.
- [2] 杜炳旺. 珍禽贵妃鸡的特色研究选育现状及前景分析[J]. 中国畜禽种业,2008,4(12):35-36.
- [3] 于世良. 贵妃鸡的四季管理要点[J]. 四川畜牧兽医,2000,27(6):39-40.
- [4] 杜炳旺,张继东,曹宁贤,等. 桂皮型中草药添加剂对贵妃鸡屠宰性能及肌肉品质的影响[J]. 家禽科学,2010,6(12):11-12.
- [5] 杜炳旺. 珍禽贵妃鸡的特色研究选育现状及前景分析[J]. 中国畜禽种业,2008,4(8):12-15.
- [6] 中华人民共和国农业部. NY/T 823-2004 家禽生产性能名词术语和度量统计方法[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [7] 包文斌,周群兰,吴信生,等. 藏鸡和萧山鸡体尺及屠宰性能的比较分析[J]. 中国家禽,2005,27(7):17-19.
- [8] 朱远春,查龙应,傅筑荫,等. 贵州兴义矮脚鸡与矮脚黄鸡早期生长及屠宰性能的比较[J]. 贵州农业科学,2004,32(3):19-21.
- [9] 韩庆,黄春红,罗玉双,等. 桃源鸡屠宰性能测定及肌肉营养成分分析[J]. 食品工业科技,2008(12):221-224.
- [10] 游小燕,朱庆,刘益平,等. 优质草鸡屠宰性能测定[J]. 安徽农业科学,2007,35(36):11862,11889.
- [11] 赵志远,江新生,吴薇薇,等. 怀乡鸡×贵妃鸡杂交一代不同日龄屠宰性能及肉品质的测定[J]. 家禽科学,2010(7):5-8.
- [12] 王得钱,陈国宏,吴信生,等. 仙居鸡的体尺测量及屠宰性能测定[J]. 浙江畜牧兽医,2004(3):1-3.

(上接第 147 页)

- [3] 王忠山,赵慧,邹冬辉,等. 短期糖尿病雄性大鼠自由基和抗氧化水平的研究[J]. 中国男性科学杂志,2003,17(2):79-81.
- [4] 吕爱军,杨在宾,杨维仁,等. 不同铜钼水平对小尾寒羊血清铜蓝蛋白和血浆过氧化物歧化酶活性的影响[J]. 2005,17(1):61-64.
- [5] 李建喜,王学智,杨志强. 钼和铜对小鼠抗氧化机能的影响[J]. 中国兽医科技,2004,34(11):22-25.
- [6] Portugal-Cohen M, Numa R, Yaka R, *et al.* Cocaine induces oxidative damage to skin via xanthine oxidase and nitric oxide synthase[J]. J Dermatol Sci, 2010, 58: 105-112.
- [7] 季宇彬,蒋晖,郎朗,等. 甲苯二异氰酸酯致小鼠睾丸脂

质过氧化损伤及标志酶活力的变化[J]. 毒理学杂志, 2005,19(3):225-226.

- [8] 寇素茹,刘晋芝,孙晓芳,等. 红外线对大鼠睾丸脂质过氧化作用的影响[J]. 军医进修学院学报,2009,30(6): 881-882.
- [9] Doreswamy K, Shrilatha B, Rajeshkumar T, *et al.* Nicotene-induced oxidative stress in testis of mice; evidence of DNA damaged genotoxic effects[J]. Androl, 2004, 25(6):996-1003.
- [10] Li H, Samouilov A, Liu X, *et al.* Characterization of the magnitude and kinetics of xanthine oxidase catalyzed nitrate reduction: evaluation of its role in nitrite and nitric oxide generation in anoxic tissue[J]. Biochemistry, 2003, 42(4):1150-1159.