

日粮硒碘添加剂量对蛋鸡淋巴细胞氧化应激的影响

宋志刚 郭于明

(中国农业大学 动物科技学院, 北京 100094)

摘要 本试验旨在探讨饲料中添加硒和碘,对蛋鸡淋巴细胞内的抗氧化酶活性和细胞 DNA 损伤的影响,以及是否影响淋巴细胞的抗氧化能力。288 只 33 周龄的新罗曼蛋鸡,饲喂添加不同剂量硒(0、0.2 mg/kg)和碘(0、0.2 mg/kg)的日粮 24 周,测定淋巴细胞中几种酶的情况。结果表明,日粮中碘添加量为 0 时,淋巴细胞谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性比对照组低 41%($P < 0.01$);日粮中硒添加量为 0 时,淋巴细胞内的 GPx 比对照组低 28%、超氧化物歧化酶(SOD)活性比对照组低 31%($P < 0.01$)、CAT 活性比对照组高 30%($P < 0.05$);硒碘互作对淋巴细胞 SOD($P < 0.01$)和 CAT($P < 0.05$)活性影响显著。日粮中碘添加量为 0 时,淋巴细胞拖尾率最高且拖尾尾长最长,分别达到 69%和 96.07 μm ,表明碘不添加引起的 DNA 损伤比硒添加量为 0 和硒碘共同添加量为 0 组严重。

关键词 硒;碘;抗氧化酶;DNA 损伤;蛋鸡

中图分类号 S 816.7

文章编号 1007-4333(2006)01-0069-06

文献标识码 A

Effect of dietary selenium and iodine on the DNA damage of blood lymphocytes 'in laying hens

Song Zhigang, Guo Yuming

(College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract The effects of dietary selenium and iodine on the anti-oxidative enzymes activity were assessed in the blood lymphocytes of laying hens. 33-week-old laying hens received diets supplemented with 0, 0.2 mg/kg selenium and 0, 0.2 mg/kg iodine for 24 weeks. The results showed that the activity of the GPx in the blood lymphocytes ($P < 0.01$) in the iodine deficiency treatment. In the selenium deficiency treatment, the activity of GPx and SOD decreased ($P < 0.01$) and the activity of the CAT increased ($P < 0.05$). The interaction of selenium and iodine could affect the activity of SOD ($P < 0.01$) and CAT ($P < 0.05$) in the blood lymphocytes. The deficiency of both selenium and iodine in the dietary resulted in DNA damage of blood lymphocytes ($P < 0.05$), with more damage observed with iodine ($P < 0.05$) than with selenium or the combined deficiencies. The tail percent reached 69% and the tail length measured 96.07 μm when no iodine was supplemented in the dietary.

Key words Iodine; anti-oxidative enzyme; DNA damage; laying hens

硒是动物体内非常重要的营养素,正常的细胞代谢过程中,至少有 3 个途径不可缺硒^[1]。据估计,在哺乳动物体内约有 100 多种含硒蛋白^[2]。作为脱碘酶的组成成分,硒对甲状腺激素代谢起着重要作用,进而会影响到肝脏中一些酶的基因表达和嗜中性粒细胞的功能^[3]。谷胱甘肽过氧化物酶不仅能够有效清除体内的过氧化氢,还能清除在类二十烷酸合成过程中由脂加氧酶和三加氧酶途径产生的脂

质或者磷脂质过氧化物。日粮中硒含量过高将引起机体的细胞 DNA 发生损伤,而日粮中硒含量水平较低时,细胞 DNA 是否会发生氧化应激性损伤,尚未见研究证实。

碘不仅作为甲状腺激素的组成成分,参与机体的生长、发育和代谢调节,碘离子本身也具有抗氧化作用^[4]。由于含硒脱碘酶的存在,碘作为甲状腺激素组成的代谢途径与机体硒营养状态有关^[5],而机

收稿日期: 2005-05-26

作者简介: 宋志刚,博士研究生;郭于明,教授,通讯作者,主要从事营养与免疫研究, E-mail: guoym@public.bta.net.cn

体碘营养状态对体内硒代谢影响的认识并不一致^[6],最近有研究表明,碘离子本身在体内也能起到抗氧化剂的作用^[7]。

淋巴细胞 DNA 损伤是反映机体氧化损伤的敏感指标^[8],有研究发现^[7],缺碘造成的甲状腺肿大病人,体内 DNA 发生损伤,并且伴随血清硒含量的降低。然而有关硒碘营养互作对机体 DNA 损伤的研究,国内外尚未见报道。本试验测定了不同硒碘添加水平日粮下蛋鸡血液淋巴细胞的 DNA 损伤情况,目的在于以蛋鸡为模型,探讨日粮中硒碘添加水平不同时,机体的氧化还原状态是否会有所不同以及硒碘在影响机体抗氧化能力方面是否存在互作。

1 材料与方

1.1 试验动物的准备

采用随机区组设计,2 × 2 因子排列(表 1)。

表 1 饲料添加水平试验设计

Table 1 Experiment design

处理号	添加 Se/ (mg · kg ⁻¹)	添加 I/ (mg · kg ⁻¹)
1	0	0
2	0.2	0
3	0	0.2
4 对照	0.2	0.2

288 只体重差异不显著(1.92 ± 0.05) kg,预先饲喂 3 周亚缺乏剂量的硒(0.05 mg/kg)和碘(0.098 mg/kg)的新罗曼产蛋鸡(33 周龄),至第 22 天时,进行试验。随机分为 4 组:每组 12 只鸡,每组 6 个重复;3 个组为处理,饲料中不添加硒碘或者只添加硒或碘,第 4 组为对照。试验于中国农业大学动物科技学院试验鸡场进行,采用双层镀锌鸡笼饲养,每天光照 16 h,自由采食饮水。水中硒含量为 0.004 mg/kg、水中碘含量为 0.007 mg/kg(国家营养与疾病预防控制中心测定)。

1.2 试验日粮

参照 NRC^[9]海兰褐商品蛋鸡饲养标准配制鸡基础日粮。基础日粮含硒 0.012 mg/kg(测定值),含碘 0.098 mg/kg(测定值),以饲料级亚硒酸钠为硒源,饲料级碘酸钙为碘源,配制表 1 中硒和碘各种添加剂量的日粮,其他微量元素原料均为饲料级(表 2)。

表 2 基础日粮配方及营养水平

Table 2 Ingredients and nutrient level of control diets

原料	配比/ %	营养指标/ %	营养水平
玉米	63.80	代谢能/(MJ · kg ⁻¹)	11.08
豆粕	25.30	粗蛋白	16.50
石粉	9.00	钙	3.40
磷酸氢钙	1.20	有效磷	0.32
食盐	0.37	赖氨酸	0.81
蛋氨酸	0.11	蛋氨酸	0.35
蛋鸡微量 ¹	0.10	钠	0.16
氯化胆碱	0.10	氯	0.26
蛋鸡多维 ²	0.02	亚油酸	1.50
合计	100.00		

注:每 kg 饲料含 VA 10 800 IU、VD 2160 IU、VE 6.5 mg、VK 1.0 mg、VB₁ 0.4 mg、VB₂ 5 mg、VB₁₂ 6 mg、叶酸 0.1 mg、烟酸 7 mg、酸 5 mg、Cu 6 mg、Fe 60 mg、Mn 60 mg、Zn 50 mg。

The dietary was formulated according to NRC 1994.

1.3 测定指标

于 57 周龄 4 个组各随机取 6 只鸡,翅静脉采血,分离淋巴细胞。测定淋巴细胞抗氧化酶(SOD、GPx、CAT)活性(南京建成生物技术有限责任公司试剂盒)。

用单细胞凝胶电泳法测定淋巴细胞 DNA 氧化损伤^[10]。取 100 μL 0.7%(质量分数,下同)正常熔点的琼脂糖凝胶铺在磨砂载玻片上,加盖玻片,室温下待琼脂糖凝固,去掉盖玻片,此胶作为低层胶;取 10 μL 1 × 10⁶ 个/mL 的淋巴细胞悬液与 70 μL 0.7%低熔点琼脂糖凝胶在 37 °C 下混匀后铺在低层胶上,迅速盖上盖玻片,4 °C 冰箱中凝固 10 min;移去盖玻片,取 85 μL 0.7%低熔点琼脂糖凝胶铺第 3 层胶,4 °C 冰箱中凝固 10 min。将制好的载玻片放在 4 °C 新鲜制备的细胞裂解液(2.5 mol/L NaCl、100 mmol/L Na₂EDTA、10 mmol/L Tris - HCl, pH = 10, 1%(体积分数)肌氨酸钠,用前加入 1%(体积分数) Triton - X 和 10%(体积分数) DMSO)中裂解 1 h,将载玻片转移到 4 °C 电泳液中(1 mmol/L Na₂EDTA、300 mmol/L NaOH)解旋 20 min,使 DNA 充分展开,然后在 25 V 电压下,通过控制电泳液面的高度调节电流为 300 mA,电泳 30 min。电泳结束后,取出载玻片,用蒸馏水将电泳液冲洗掉,将水控干后用 50 μL SYBR Green - 溶液染色,盖上盖玻片,放在潮湿盒中,4 °C 避光保存,24 h 内进行测定。以上所有步骤均在 4 °C 避光条件下进行,以避

免产生额外的 DNA 损伤,在 Olympus 落射式荧光显微镜下观察 DNA 电泳结果,并用自动成像系统拍照($\times 400$)。每张玻片观察 100 个细胞($\times 400$ 倍),计算其中拖尾细胞的百分率,作为 DNA 受损细胞所占的百分率;测量 30 个拖尾细胞的尾长(即 DNA 的迁移距离 MDD),取平均值作为该样品细胞 DNA 尾长。

在正式试验期间,试验鸡每 3 d 捡 1 次蛋,计数,称重,每周统计 1 次饲料消耗。因统计结果表明各处理组的生产性能差异不显著,所以本文侧重于报道饲料中不添加硒碘对蛋鸡细胞和分子水平抗氧化能力的影响。

1.4 单细胞凝胶电泳主要仪器和试剂

DY-A 电泳仪(上海生化所西巴斯生物技术有限公司);双波长飞点凝胶扫描系统(岛津 Shimadzu 公司);低温冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);低温高速离心机(Sigma 公司)。

裂解液(lysis solution)为裂解溶液 20 mL 加 DMSO 2 mL。

裂解溶液中含 NaCl 2.5 mol/L、EDTA 100 mmol/L(pH 10)、Tris 碱 10 mmol/L(pH 10)、十二烷基肌氨酸钠 1%(质量分数)、Triton X-100 1%(体积分数)。

低熔点琼脂糖(comet LMAgarose)(含有 1%(质量分数)的低熔点琼脂糖融解在 PBS 中):沸水浴中熔解 5 min,全部溶解后,置于 37℃ 水浴中冷却至少 20 min,分装到 12 个 37℃ 预热的 1.5 mL 离心管中,每管 300 μ L,37℃ 水浴备用。

碱性溶液(使用前冷却到室温),pH > 13,每 50 mL 中含有:NaOH 颗粒 0.6 g、200 mmol/L EDTA 250 μ L、去离子水 49.75 mL。

电泳液配制(现用现配),每升含有:NaOH 颗粒 12 g、500 mmol/L EDTA、pH 8.0 2 mL;去离子水定容至 1 L。

染液配制(4℃ 避光保存):SYBR Green 1 μ L;TE 缓冲液,pH 7.5,10 mL(TE: 10 mmol/L Tris-Cl,pH 7.5,1 mmol/L EDTA)。

1.5 数据处理

利用 SPSS10.0 中的多因变量多因素方差分析过程(GLM Multivariate)进行 2 \times 2 析因试验方差分析。各处理组之间进行 One-Way ANOVA 分析,Duncan 法多重比较。

2 试验结果

2.1 血液淋巴细胞抗氧化酶活性

硒添加量为 0 时,淋巴细胞 GPx、SOD 活性均显著下降($P < 0.01$),淋巴细胞 CAT 活性则显著上升($P < 0.05$);碘添加量为 0 时,淋巴细胞 GPx 活性显著下降($P < 0.01$),碘对淋巴细胞 SOD 和 CAT 活性没有显著影响;硒碘的营养交互作用显著影响淋巴细胞 SOD 和 CAT 活性,硒添加量为 0.2 mg/kg 时,碘添加量为 0 时淋巴细胞 SOD 活性显著上升、CAT 活性显著下降($P < 0.05$),硒添加量为 0 时,淋巴细胞 SOD 活性显著下降、CAT 活性则显著上升($P < 0.05$)(表 3)。

表 3 血液淋巴细胞抗氧化酶活性

碘添加量 (mg/kg)	硒添加量 (mg/kg)	T-SOD 值	CAT 值	GPx 值
0	0	3.198 d	35.294 a	1.129 c
	0.2	10.835 a	17.625 b	1.544 bc
	0.2	8.706 b	23.986 b	1.896 b
	0.2	6.316 c	23.928 b	2.619 a
SEM		0.466	3.274	0.138
P 值		0.000	0.020	0.287
硒	0	5.952	29.640	1.512
	0.2	8.575	20.777	2.082
	P 值	0.000	0.019	0.001
	碘	0	7.016	26.459
	0.2	7.511	23.957	2.257
P 值		0.310	0.460	0.000

注: 同列中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。n = 6

The results showed the selenium and iodine can affect the antioxidant enzyme activities in the blood lymphocytes.

2.2 单细胞凝胶电泳

1) 拖尾细胞尾长。在荧光显微镜下,硒碘添加剂量均为 0.2 mg/kg 组的淋巴细胞呈现比较明亮的圆形点,出现拖尾现象的比较少,说明在正常添加剂量情况下,淋巴细胞受损较轻。不添加硒碘,细胞 DNA 出现不同程度的拖尾,其中第 3 组拖尾粗短,集中在细胞附近,说明细胞 DNA 发生了一定的损伤;第 1、2 组拖尾细长,说明 DNA 发生的损伤情况加剧(图 1)。统计分析表明,硒碘共同或者单独添加量为 0 组,细胞 DNA 拖尾尾长显著大于硒碘添加剂量为 0.2 mg/kg 组,而添加量为 0 组之间,碘单

独添加量为 0 时拖尾尾长显著大于其他 2 个添加量 为 0 组(图 2) ($P < 0.05$)。

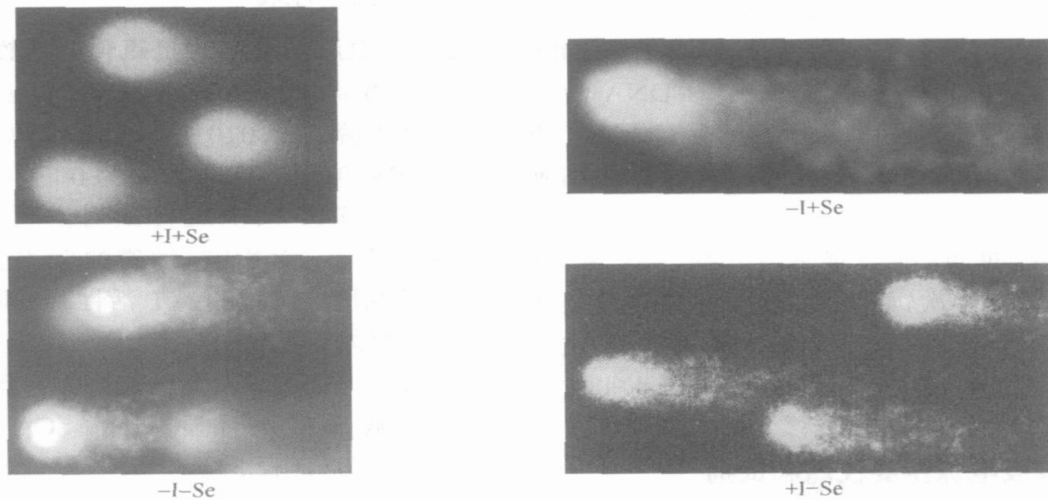


图 1 日粮不同硒碘添加剂处理的 DNA 脱尾损伤 SCGE 电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of blood lymphocytes' SCGE

The results showed that when no iodine was supplemented in the dietary, the blood lymphocytes underwent more severe damage than no selenium was added into the dietary.

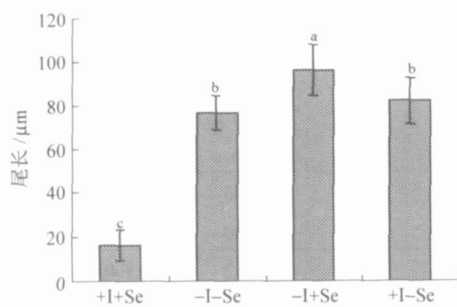


图 2 硒碘处理淋巴细胞拖尾尾长

Fig. 2 Comet tail length of blood lymphocytes

2) 拖尾细胞百分率。统计结果表明(图 3), 硒碘添加量为 0.2 mg/kg 组淋巴细胞仅有不到 5% 的细胞出现拖尾, 表明在这种情况下, 淋巴细胞 DNA 也会出现损伤, 但是损伤很少; 硒碘单独或联合添加量为 0 时, 淋巴细胞拖尾率显著多于硒碘添加量为 0.2 mg/kg 组 ($P < 0.05$), 碘单独添加量为 0 时, 淋

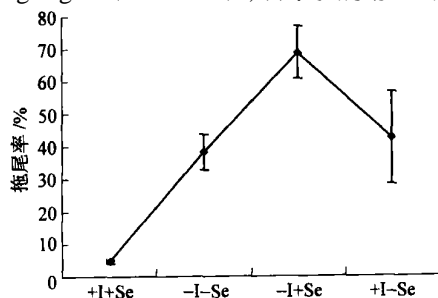


图 3 硒碘处理淋巴细胞拖尾率

Fig. 3 Comet tail percent of blood lymphocytes

巴细胞拖尾率最高, 达到 69%, 与硒单独添加量为 0 和硒碘联合添加量为 0 时差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

DNA 的氧化损伤, 主要是由于 ROS 中羟自由基与 DNA 直接作用的结果, 超氧阴离子和过氧化氢一般情况下并不与 DNA 发生反应。然而在有亚铁离子或者亚铜离子存在时, 超氧阴离子和过氧化氢都能够转变成活性很强的羟自由基(Fenton Reaction)。羟自由基可对 DNA 产生各种各样的氧化损伤, 包括 DNA 碱基丢失、链断裂, 以及各种各样的糖化修饰, 此外, 羟自由基还可使 DNA 损伤形成 AP 位点(DNA 碱基丢失位点)。机体自身存在着 DNA 损伤修复体系, 当 DNA 损伤时, 在一定条件下该修复系统能使之恢复正常或将缺陷加以弥补, 以保证正常生命活动及种族繁衍的稳定性^[11]。

单细胞凝胶电泳, 又称为彗星试验, 是一种分析 DNA 损伤的简单、敏感和快速的方法, 该方法能够检测单个细胞水平的 DNA 损伤包括链的断裂、AP 位点、铰链和易变位点。碱性条件下凝胶电泳, DNA 从细胞核中释放, 形成彗星“头”和“尾”, 荧光染色后, 染色亮度与 DNA 浓度有关, 可用肉眼或者计算机软件识别损伤程度。动物日粮中必需的微量营养成分大约有 40 多种(维生素、微量元素和其他维持正常代谢所需的微量成分)。为维持代谢平衡, 动物体对每一种微量营养成分都有一个合适

摄入量,营养素的缺乏会通过大量复杂的途径扰乱机体代谢,其中一些途径会导致 DNA 损伤^[12]。

3.1 硒营养与蛋鸡生产性能

本研究未发现 24 周的硒添加量为 0 对蛋鸡生产性能造成显著影响。这可能与试验动物的年龄和试验用的饲料有关,本次试验选用的是 33 周龄的成年蛋鸡,饲料也并非是非碘完全缺乏的纯合日粮,这都有可能使得蛋鸡的生产性能不会发生显著变化。

3.2 硒与 DNA 氧化损伤

本研究日粮中硒添加量为 0 时,淋巴细胞中的 GPx 活性显著下降,这与以往的研究结果相一致^[5];当硒添加量为 0 时,淋巴细胞中 CAT 活性显著上升,SOD 活性显著下降,这表明,当日粮中硒含量较低时,蛋鸡淋巴细胞可能会经受氧化应激。

单细胞凝胶电泳结果表明,硒添加量为 0 引起淋巴细胞 DNA 发生了损伤,这与以往的研究结果相一致。Levander^[12]认为,硒是抗氧化酶系统的重要组分,硒缺乏将导致 DNA 的氧化损伤。Huang^[13]研究表明,硒缺乏时,培养细胞对 2 种诱变剂的敏感性增强,细胞 DNA 更容易发生链的断裂损伤。缺硒导致的细胞 DNA 损伤主要与硒的抗氧化作用有关,因为含硒 GPx、硒蛋白 P、硒蛋白 W 和其他 11 种含硒蛋白,都参与体内氧化还原状态的维持。由于 DNA 损伤的形式比较多,包括甲基修饰缺乏,8-OH dG 增加等,因此,缺硒导致的 DNA 损伤具体类型,尚需其他检测 DNA 损伤的试验手段进一步研究。

3.3 碘与 DNA 氧化损伤

日粮中碘添加量为 0 引起淋巴细胞 GPx 活性下降。抗氧化酶的活性变化,仅仅用碘通过甲状腺激素途径参与机体代谢并不能完全解释,极有可能是碘本身直接或者通过与其他营养素的互作间接调控了抗氧化酶的活性变化。有关碘缺乏对组织氧化损伤的影响还仅仅限于对甲状腺的影响,碘缺乏将导致甲状腺和乳腺组织的氧化损伤^[4],但是这种直接影响尚未在除甲状腺和乳腺以外的非蓄碘组织上得到有效证明。本试验的单细胞凝胶电泳结果证明,日粮中碘含量较低时,蛋鸡的淋巴细胞会发生明显的 DNA 损伤。

日粮中碘添加量为 0 引起了细胞的抗氧化酶活性变化,可能是碘和硒互作的结果。有关微量元素与碘的互作研究,大多认为微量元素对甲状腺激素

代谢会产生影响,进而影响碘的营养。如硒通过含硒脱碘酶的作用,可以调控甲状腺激素的代谢,进而影响碘的营养^[1];铁缺乏,亚铁血红素依赖性的甲状腺过氧化物酶活性下降,甲状腺激素合成受阻,因此缺铁性贫血降低补碘的有效性而补铁则会提高补碘的有效性^[14];人甲状腺功能低下时,红细胞锌与血清 T₃/T₄ 比率、TSH 浓度具有相关性^[15],小鼠锌缺乏时,血浆 T₃ 浓度下降,甲状腺细胞出现凋亡^[16];癌性甲状腺细胞中的硒和硒含量低于正常的甲状腺细胞^[17],碘的缺乏将伴随微量元素铁、锰、铜、锌在组织中的分布发生变化^[8]。因为 GPx 的活性中心含有硒,因此,本研究中碘营养不同对 GPx 活性的调节作用表明,碘的营养也可能会影响机体微量元素硒的营养作用发挥。

3.4 硒碘互作与 DNA 氧化损伤

本研究发现,硒碘的互作能够显著影响淋巴细胞的 SOD 和 CAT 活性。这表明,硒碘的营养互作能够影响淋巴细胞的氧化还原状态。

有关硒碘营养的互作对机体抗氧化能力影响的研究结果并不十分一致。在硒营养缺乏时,碘营养缺乏导致组织硒含量、肝脏和肾脏中谷胱甘肽过氧化物酶和 5-脱碘酶活力显著下降,但在适宜的硒营养状态下,三者的下降并不显著^[5]。长期缺碘情况下,大鼠甲状腺组织中的 GPx 和 CAT 活性上升,SOD 活性下降,LPO 含量增加,而补硒仅能提高甲状腺中 GPx 的活性,对其他抗氧化酶和 LPO 含量则没有影响^[6]。在低硒时,碘缺乏使红细胞和肝脏的硒含量和 GPx 活力降低,硒营养水平正常,低碘反而使肝脏硒含量及红细胞、肝脏和肾脏中的 GPx 活力增加。虽然这些研究结果不很一致,但提示硒碘营养在组织抗氧化作用中是相互依赖和制约的。

单细胞凝胶电泳结果表明,淋巴细胞在碘单独添加量为 0 时,DNA 损伤程度显著高于硒单独添加量为 0 和硒碘联合添加量为 0 组。出现这种结果有多种可能,一是本次试验使用的是 57 周龄的老龄蛋鸡,机体衰老导致 DNA 损伤的存在可能使硒单独添加量为 0 组与硒碘联合添加量为 0 组之间的差异被削弱了,因为虽然机体老化与机体内 DNA 损伤蓄积关系的因果尚不明晰,但是衰老总是同体内 DNA 损伤的增加相伴的^[18];二是可能碘添加量为 0 引起的淋巴细胞 DNA 损伤比硒单独添加量为 0 和硒碘联合添加量为 0 更加严重,已有研究证明,碘的缺乏与甲状腺细胞和乳腺组织细胞的 DNA 损

伤有关^[8],在本研究碘添加量为0组,淋巴细胞中SOD活性在4个日粮处理中最高,而CAT活性在4个日粮处理中活性最低、GPx活性也处于比较低的水平,我们知道,SOD能够催化超氧阴离子转变成过氧化氢,而CAT和GPx则负责催化过氧化氢形成水,SOD活性上升而CAT和GPx活性下降,则有可能造成体内过氧化氢蓄积,进而形成羟自由基,羟自由基则可直接对DNA造成氧化损伤,因此,本研究中的抗氧化酶活性变化可部分解释淋巴细胞缺碘DNA氧化损伤最严重的现象;第3种可能就是硒碘共同添加量为0可能会对硒碘单独添加量为0引起的DNA损伤具有缓解作用,因为淋巴细胞在硒碘联合添加量为0组的细胞DNA损伤程度显著低于碘单独添加量为0组,也有低于硒单独添加量为0组的趋势。

4 结 论

微量元素硒和碘都会影响机体的氧化还原状态,日粮中两者含量较低都会引起细胞DNA损伤;日粮中碘添加量为0导致的淋巴细胞DNA损伤比硒添加量为0和硒碘联合添加量为0组严重。日粮中硒碘添加量为0引起的DNA损伤具体类型是什么,尚需要更多的试验进行深入研究探讨。

参 考 文 献

- [1] Arthur J R. Functional indicators of iodine and selenium status [J]. *Proc Nutr Soc*, 1999, 58: 507-512
- [2] Burk F R, Hill K E. Regulation of selenoproteins [J]. *Ann Rev Nutr*, 1993, 13: 65-81
- [3] Brown K M, Arthur J R. Selenium, selenoproteins and human health: a review [J]. *Public Health Nutr*, 2001, 4: 593-599
- [4] Peter P A. Smyth. Role of iodine in antioxidant defence in thyroid and breast disease [J]. *Biofactors*, 2003, 19: 121-130
- [5] 吴于明,李志伟,周毓平.肉仔鸡的硒碘营养互作关系[J].*北京农业大学学报*, 1995, 1: 97-101
- [6] 闫玉芹.碘缺乏对大鼠甲状腺抗氧化酶活性的影响[J].*中国地方病学杂志*, 1992, 11: 328-331
- [7] Collins A R, Ravlova K, Somorovska M, et al. DNA damage in diabetes: correlation with a clinical marker [J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 25: 373-377
- [8] Gray Belma, Filiz Hincal. Oxidative DNA base damage, antioxidant enzyme activities and selenium status in highly iodine-deficient goitrous children [J]. *Free Radical Research*, 2002, 36: 55-62
- [9] National Research Council. Nutrient requirements of poultry [M]. Ninth Revised Edition. Washington, D. C., National Academy Press, 1994: 24
- [10] Errol C, Friedberg. Nucleotide excision repair and cancer predisposition [J]. *American Journal of Pathology*, 2000, 157: 693-701
- [11] Duthie S J, Collins A R. The influence of cell growth, detoxifying enzymes and DNA repair of hydrogen peroxide-mediated DNA damage (measured using the comet assay) in human cells [J]. *Free Rad Bio Med*, 1997, 22: 717-724
- [12] Bruce N. Ames DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer [J]. *Mutation Research*, 2001, 475: 7-20
- [13] Huang A C, Yeh M Y, Ames B N. Increased sensitivity of two selenium deficient primary human cell lines to hydrogenperoxide and to N-methyl-NO-nitro-N-nitrosoguanidine but not to UV radiation (abstract) [M] *Proceedings of the 7th Symposium on Selenium in Biology and Medicine*, 1 - 5 October 2000, Venice: Italy, (s. n.), 2000
- [14] Zimmermann M B, Köhrle J. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health [J]. *Thyroid*, 2002, 12: 867-878
- [15] Liu N, Xu Q. Elements in erythrocytes of population with different thyroid hormone status [J]. *Biol. Trace Ele Res*, 2001, 84: 37-43
- [16] Ruz M, Codoceo J, Galgani J, et al. Single and multiple selenium-zinc-iodine deficiencies affect rat thyroid metabolism and ultrastructure [J]. *J Nutr*, 1999, 129: 174-180
- [17] Kucharzewski M, Braziewicz J, Majewska U, et al. Copper, zinc, and selenium in whole blood and thyroid tissue of people with various thyroid diseases [J]. *Biol Trace Ele Res*, 2003, 93: 9-18
- [18] Liu L, Wylie R, Andrews L, et al. Aging, Cancer and Nutrition: the DNA methylation connection [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2003, 124: 989-998