

邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯宫内暴露对子代大鼠 睾丸发育及铜锌微量元素的影响

Effect of intra-uterine exposure to DEHP [di (2-ethylhexyl) phthalate] on testis development and trace elements of male offspring rats

潘亮^{1,2}, 叶丽杰³, 刘秋芳², 靳翠红², 肖莎², 李丹丹², 关阳阳², 逯晓波²

PAN Liang^{1,2}, YE Li-jie³, LIU Qiu-fang², JIN Cui-hong², XIAO Sha², LI Dan-dan², GUAN Yang-yang², LU Xiao-bo²

(1. 沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024; 2. 中国医科大学公共卫生学院卫生毒理教研室, 辽宁 沈阳 110001; 3. 沈阳医学院公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110031)

摘要: 取雌性 Wistar 大鼠从妊娠日起用 10、100、500 mg/(kg·d) 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)连续灌胃染毒至孕 19 d。测定睾丸脂质过氧化产物丙二醛(MDA)水平, 超氧化物歧化酶(SOD)活力, 睾丸组织中铜、锌微量元素含量。随着 DEHP 剂量的增加, 500 mg/(kg·d) DEHP 染毒组子代大鼠睾丸中的 MDA 含量增加, SOD 活力降低, 与对照组相比, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。500 mg/(kg·d) DEHP 染毒组的锌元素含量与对照组相比, 显著降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 而铜含量在各组间差别不明显。提示 DEHP 胚胎期暴露对子代雄性大鼠的生殖系统发育具有明显的毒性作用, 可增加大鼠睾丸组织的脂质过氧化水平, 同时会干扰生殖系统锌元素的代谢。这是 DEHP 致子代雄性大鼠生殖发育毒性的可能机制之一。

关键词: 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP); 生殖毒性; 胚胎期; 脂质过氧化; 微量元素

中图分类号: R994.6 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2013)02-0108-02

邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 [di (2-ethylhexyl) phthalate, DEHP], 属于邻苯二甲酸酯类化合物 (PAE) 中的重要成员, 是塑料工业最主要的增塑剂之一^[1]。近年来 DEHP 被认为是一种环境内分泌干扰物 (environmental endocrine disruptor, EED)^[2], 表现出生殖毒性、肝肾毒性及致癌性。另外通过动物的胚胎毒性研究发现, DEHP 还能导致动物胚胎的腭裂、脊柱畸形、心脏畸形、眼缺陷、肢体畸形 (包括指、趾) 等严重后果, 具有发育毒性。本实验拟通过在胚胎期暴露 DEHP 观察雄性子代大鼠性成熟前期生殖系统发育的有害作用, 从氧化损伤和微量元素代谢水平改变的角度, 初步探讨 DEHP 的生殖发育毒性机制, 为今后对 DEHP 的深入研究和安全性提供一些线索。

1 材料与方

收稿日期: 2012-10-08

基金项目: 辽宁省教育厅科学技术项目 (批准号 L2010703)

作者简介: 潘亮 (1979—), 男, 硕士, 主治医师。

通讯作者: 逯晓波, 博士, 教授, 研究方向: 分子毒理学, E-mail: xblu@mail.cmu.edu.cn。

1.1 主要试剂与仪器

DEHP (分析纯, 美国 Sigma 公司), SOD 测试试剂盒 (南京建成生物工程研究所), 原子吸收分光光度计 Z-200 型 (日立公司)。

1.2 实验动物分组及染毒

清洁级 Wistar 大鼠雌性, 妊娠后进行如下处理: 对照组给予玉米油, 低、中、高染毒剂量组分别给予 10、100、500 mg/(kg·d) DEHP。实验各组动物自由饮水, 连续染毒 19 d 至仔鼠出生。

1.3 观察指标及检测方法

硫代巴比妥酸法测定睾丸组织 MDA 生成量, 黄嘌呤氧化酶法测定睾丸组织 SOD 活力, 原子吸收法测定子代大鼠睾丸组织中 Zn、Cu 元素的含量。

1.4 数据处理

采用 Excel 数据库录入数据, SPSS16.0 进行实验数据处理及统计分析, 数据统计描述主要以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。根据数据的正态性和方差齐性, 采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 检验, LSD 进行多重比较, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 对睾丸脂质过氧化水平的影响

表 1 所示, 各染毒剂量组 MDA 含量、SOD 活力与对照组比较差异具有统计学意义 ($F = 3.642, P = 0.025$)。500 mg/kg 剂量组 MDA 含量明显升高、SOD 活力下降明显, 与对照组相比, 差别具有统计学意义 ($F = 3.193, P = 0.039$)。

表 1 DEHP 对子代大鼠睾丸组织 MDA 含量及 SOD 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA (nmol/g)	SOD (U/mg prot)
对照组	11.42 ± 5.52	293.40 ± 91.39
染毒 10 mg/kg 剂量组	15.79 ± 3.37	292.14 ± 60.35
染毒 100 mg/kg 剂量组	14.89 ± 3.66	252.97 ± 38.60
染毒 500 mg/kg 剂量组	20.61 ± 8.25*	207.31 ± 55.71*

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.2 对铜锌微量元素的影响

表 2 所示, 500 mg/kg 剂量组锌元素含量与对照组相比显著降低, 差异具有统计学意义 ($F = 3.012, P = 0.047$); 各组

铜元素含量差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 5.832, P = 0.120$)。

表2 DEHP对子代大鼠睾丸组织铜锌微量元素含量的影响 ($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{g/g}$

组别	Zn	Cu
对照组	29.12 \pm 8.08	0.553 \pm 0.063
染毒 10 mg/kg 剂量组	28.28 \pm 6.04	0.615 \pm 0.074
染毒 100 mg/kg 剂量组	26.47 \pm 3.79	0.608 \pm 0.066
染毒 500 mg/kg 剂量组	21.65 \pm 1.65*	0.554 \pm 0.042

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

大量的研究已经证实, DEHP 是一种过氧化物酶体增殖剂, 可能是通过激活生物体内的过氧化物酶体增殖物激活受体 (PAPR), 引起编码过氧化物酶体内各种酶的基因选择性转录, 使活性氧 ROS 为主的各种自由基增加, 产生氧化应激状态^[3]。超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶一起共同清除体活性氧, 减轻和阻止活性氧的过氧化作用, SOD 构成机体对 ROS 侵袭的第一道防线, 它将超氧阴离子转为过氧化氢和其他氢过氧化物。随着 DEHP 浓度升高, 经代谢后能产生大量的自由基引起脂质过氧化作用^[4, 5]。诱导产生的自由基, 超过机体代偿清除能力, 未被及时清除, 对细胞产生毒性损伤, 引起包括抗氧化酶在内的细胞活性降低。本研究发现睾丸 MDA 水平随 DEHP 染毒剂量增加而升高, 而 500 mg/kg 剂量组 MDA 水平升高、SOD 活力下降, 说明 DEHP 或其代谢产物可以启动氧化应激机制, 使睾丸组织发生脂质过氧化, 可能导致睾丸损伤。

锌是机体必需微量元素之一, 与生殖系统发育和功能密切相关。缺锌大鼠睾丸及附睾发育不良, 附睾上皮细胞内有空泡形成, 部分细胞核被推向腔面, 细胞间隙增宽, 静纤毛融合, 管腔内精子数量稀少, 可见少量脱落的细胞核, 间质呈纤维化^[6]。有研究表明在器官形成的关键时期, DEHP 通

过影响与锌代谢有关的基因表达导致畸形。与锌代谢有关的基因有金属硫蛋白-1 (metallothionein, MT-1)、金属硫蛋白-2 (metallothionein, MT-2)、锌转运体蛋白 (zinc transporter, ZnT-1) 等, 研究结果显示在妊娠早期 DEHP 的暴露, 母体肝脏中 MT-1、MT-2 和 ZnT-1 表达上升, 胎鼠脑组织中 MT-1、MT-2 和 ZnT-1 表达下降, 内脏卵黄囊中表达情况未发生明显改变, 可以作为辅酶、辅助因子, 参与一系列生命活动, 因此锌代谢紊乱可能与 DEHP 的胚胎毒性有关^[7]。本实验表明 DEHP 可引起子代大鼠睾丸锌含量显著降低, 由此推测 DEHP 引起机体内锌代谢障碍是造成睾丸萎缩的可能原因之一。另外, 作为 Cu-Zn SOD 酶的必需微量元素之一, 锌含量降低与总 SOD 活性下降结果相对应, 故也可推测微量元素含量降低、抗氧化酶活性下降、脂质过氧化水平升高及 DEHP 所致睾丸发育毒性间存在某些必然联系, 使我们有兴趣在前期工作基础上值得进行深入研究。

参考文献:

- [1] 赵文红, 厉曙光. VitC、VitE 对 DEHP 致果蝇脂质过氧化作用的拮抗 [J]. 同济大学学报医学版, 2003, 24: 179-181.
- [2] Chael Joffel. Are problems with male reproductive health caused by endocrine disruption [J]. Occup Environ Med, 2001, 58: 281-288.
- [3] 王蕊, 王明燕, 李厚勇, 等. DEHP 致大鼠肝组织细胞凋亡的实验研究 [J]. 职业与健康, 2001, 17 (9): 9-10.
- [4] 张蕴晖. 邻苯二甲酸二乙基己酯对环境和生物体的危害 [J]. 国外医学卫生学分册, 2002, 29 (2): 73-77.
- [5] 宋晓峰, 魏光辉. 医用塑料增塑剂 DEHP 安全性研究及对策 [J]. 国外医学卫生学分册, 2005, 32 (6): 358-361.
- [6] Tuerk M J, Fazel N. Zinc deficiency [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2009, 25 (2): 136-143.
- [7] Lee J, Park J, Jang B, et al. Altered expression of genes related to zinc homeostasis in early mouse embryos exposed to di-(2-ethylhexyl)-phthalate [J]. Toxicol Lett, 2004, 152 (1): 1-20.

大鼠吸入氯气后肺表面活性物质相关蛋白 - A 表达变化

Changes on pulmonary surfactant associated protein A expression in chlorine-inhaled rats

江俊康, 覃江纯, 许培培, 瞿建华, 王春, 陈刚

JIANG Jun-kang, QIN Jiang-chun, XU Pei-pei, QU Jian-hua, WANG Chun, CHEN Gang

(南通大学公共卫生学院, 江苏 南通 226019)

摘要: 取 40 只雄性 SD 大鼠随机分为 1 个对照组和 4 个不同浓度的氯气染毒组, 染毒 10 min, 6 h 后行血气分析, 取肺组织测湿重干重比 (W/D) 和病理切片观察, ELISA 法测支气管肺泡灌洗液 (BALF) 和血清 SP-A 蛋白表达水平, RT-PCR 法测肺组织 SP-A mRNA 相对表达。与对照组相比, 各染

毒组大鼠 BALF 中 SP-A 蛋白和肺组织 SP-A mRNA 水平均有降低, 血清 SP-A 蛋白水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果提示 SP-A 表达改变可能是大鼠吸入氯气后急性肺损伤 (ALI) 重要的发病机制之一。

关键词: 氯气; 肺表面活性物质相关蛋白-A; 急性肺损伤

中图分类号: R994.3 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2013)02-0109-03

收稿日期: 2012-12-20

作者简介: 江俊康 (1962—), 男, 硕士, 研究方向: 职业中毒防治及其机制研究。