

大豆异黄酮对不同发育期雌性大鼠生殖系统毒性作用的研究

张晓鹏 李 丽 张文众 王 伟 刘兆平
(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘 要:为研究不同发育期雌性大鼠暴露于大豆异黄酮(soy isoflavones,SIF)对生殖系统的影响,并确定敏感期及有害作用剂量,在孕鼠妊娠第12~18天灌胃给予SIF(胎儿期暴露),母鼠分别在仔鼠出生后第5~10天和第15~20天灌胃给予SIF(新生儿期暴露和婴儿期暴露),仔鼠在出生后第25~30天灌胃给予SIF(青春前期暴露)。SIF的剂量分别为0(对照)、10、50、100、150、200 mg/kg BW。观察雌性仔鼠生殖系统发育指标的近期和远期(出生后70 d)改变。对近期的影响:(1)胎儿期暴露:100、150、200 mg/kg BW SIF组肛殖距(anogenital distance,AGD)显著增大,200 mg/kg BW SIF组阴门开张时间(Vaginal opening,VO)提前,150、200 mg/kg BW SIF组出生后第14天的卵巢/体重比显著增加;(2)新生儿期暴露:150、200 mg/kg BW SIF组出生后第11天的子宫/体重比和卵巢/体重比显著增加,200 mg/kg BW SIF组动情周期延长;(3)婴儿期和青春前期暴露于SIF对生殖系统发育各指标无明显影响。对远期的影响:胎儿期、新生儿期、婴儿期和青春前期暴露于SIF对出生后70天的各指标亦无明显影响。150 mg/kg BW SIF可对仔代雌性大鼠表现出明显的不良作用,胎儿期和新生儿期是大豆异黄酮生殖毒性的两个敏感期。
关键词:豆科;异黄酮类;大鼠,SPRAGUE-DAWLEY; 毒性试验

参考文献

[1] 刘长令.世界农药大全 除草剂卷[M].北京:化学工业出版社,2002. 45-57.

[2] Tibor Cserhati, Esther Forgacs. Review: phenoxyacetic acids separation and quantitative determination [J]. J Chromatogr B, 1998, 717:157-178.

[3] SN 0661—1997.粮谷中2,4,5-T的检测[S].

[4] SN 0687—1997.粮谷油籽中禾草灵的检测[S].

[5] SN/T 1392—2004.肉和肉制品中MCPA、MCPB的检测[S].

[6] SN 0195—1993.肉和肉制品中2,4-滴的检测[S].

[7] J Patsias, E N Papadakis, Papadopoulou-Mourkidou E. Analysis of phenoxyalkanoic acid herbicides and their phenolic conversion products in soil by microwave assisted solvent extraction and subsequent analysis of extracts by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2002, 959:153-161.

[8] Noboru Motohashi, Hideo Nagashima, Cyril Parkanyi, et al. Official multiresidue methods of pesticide analysis in vegetables, fruits and soil [J]. J Chromatogr A, 1996, 755: 333-346.

[9] Satoru Nemoto, Steven J Lehotay. Analysis of multiple herbicides in soybeans using pressurized liquid extraction and capillary electrophoresis [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46: 2190.

[10] 卫锋,董振霖,于玲.气相色谱-质谱法检测粮谷中酸性除草剂[J].分析测试学报,2005,24:304-308.

[11] Hing-Biu Lee, Thomas E Peart, John M Carron, et al. Chemical derivation analysis of pesticides residues. Part . an improved method for the determination and confirmation of acidic herbicides in water [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1991, 74 (3):835-842.

[12] CLG/CBX1. 01. United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service Office of Public Health and Science Sop [Z].

[13] Marvin L Hoppep, Bernadette McMahon, Kenneth R, et al. Analysis of fatty and nonfat foods for chlorophenoxy alkyl acids and pentachlorophenol [J]. AOAC, 1992, 75 (4):707-713.

[14] Tadeo J L, Sanchez-Brunete C, Perez R A, et al. Analysis of herbicide residues in cereals, fruits and vegetables [J]. J Chromatogr A, 2000, 882:175-191.

[15] 林维宣.各国食品中农药残留兽药残留限量规定[M].第2版,大连:大连海事大学出版社,2002. 28-209.

[收稿日期:2006-09-13]

中图分类号:R15;O657.71;TQ450.263;TQ457 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2006)06-0503-06

基金项目:国家自然科学基金项目(30400350)
作者简介:张晓鹏 女 助理研究员

Abstract: The purpose of this study was to explore the effects of fetal, neonatal, infant and prepubertal exposure to soy isoflavones (SIF) on female reproductive system, and identify the most sensitive development period and the dose level of SIF to cause adverse effects on reproductive system. In the fetal exposure study, SIF was administered to pregnant rats by gavage during gestation day (GD) 12 ~ 18. In the neonatal and infant exposure studies, SIF was administered to maternal rats by gavage during postnatal day (PND) 5 ~ 10 and PND 15 ~ 20, respectively. And in the prepubertal exposure study, SIF was administered directly to the offspring by gavage during PND 25 ~ 30. The test levels of SIF were 0 (control), 10, 50, 100, 150 and 200 mg/kg BW. Some indicators related to the development of female reproductive system were measured after SIF treatment. The following facts were found: (1) In the animals of fetal exposure, compared with those in the control group, the anogenital distance (AGD) on PND 1 in 100, 150 and 200 mg/kg BW groups was increased, the vaginal opening time (VO) in 200 mg/kg BW group was advanced and the ratio of ovary to body weight in 150 and 200 mg/kg BW groups was significantly higher on PND 14. (2) On PND 11, in the animals of neonatal exposure, the ratios of ovary to body weight and uterine to body weight in 150 and 200 mg/kg BW groups were higher and estrus cycle was prolonged, significantly when compared with those of the animals in the control group. (3) On PND 21, in the animals of infant exposure and on PND 31 in the animals of prepubertal exposure, SIF had no significant effect on the indicators mentioned. And on PND 70, in animals of all the 4 modes of exposure (fetal, neonatal, infant and prepubertal), no influence on these indicators was observed. It is concluded that SIF in the exposure level of 150 mg/kg BW was sufficient to induce significant adverse effects to female reproductive development. And fetal stage and neonatal stage in life were, at least, more sensitive to SIF exposure.

Key word: Legumes; Isoflavones; Rats, SPRAGUE-DAWLEY; Toxicity Tests

近年来,国际学术界一直担心婴幼儿配方豆奶粉是否会干扰婴幼儿生殖系统的正常发育和后期功能^[1]。这种忧虑主要基于两个原因:一是豆奶粉中含有具有雌激素活性的大豆异黄酮(isoflavones, SIF),主要包括染料木黄酮(genistein, GEN)和大豆苷元(daidzein, DAI),部分动物实验已经发现这种物质对生殖系统发育具有潜在的不良影响;二是胎儿期、新生儿期或婴幼儿期是生殖系统正常发育的关键时期,对外源性毒物尤其是具有激素活性的内分泌干扰物十分敏感。已有研究发现,孕鼠通过膳食暴露于300 mg/kg饲料的染料木黄酮,其仔鼠在生命后期会出现性行为降低(雄性),血清睾酮浓度降低;皮下注射染料木黄酮可促进新生鼠子宫内腺增生,动情周期紊乱(雌性)^[2]。但是,另有研究报道认为早期接触大豆异黄酮可降低生命后期的乳腺癌发生率,故目前对于大豆异黄酮对生殖系统的影响仍未最后定论。在这种情况下,深入研究大豆异黄酮对生殖系统的作用是十分必要的。

1 材料与方法

1.1 材料

试剂 大豆异黄酮:纯度为80%(GEN DAI 黄豆素=13.5:21),其余20%为大豆蛋白,购自上海同田生化技术有限公司,实验前用蒸馏水配制成混悬液;不含大豆异黄酮和紫花苜蓿的大鼠饲料(soy and

alfalfa freediets, SAFD) 由中科院实验动物中心合成。

1.2 方法

1.2.1 实验动物 清洁级SD(Sprague-Dawley)大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养于中国疾控中心二级实验动物房,温度20~24℃,湿度40%~70%,12 h明暗交替。

9周龄SD大鼠适应性喂养3 d,雌雄1:1进行交配,每日观察阴栓,查出阴栓认为该鼠受孕,当日作为妊娠0天(gestational day 0, GD0),仔鼠出生当天作为出生后0天(出生后0),整个试验期间母鼠和仔鼠均喂饲SAFD。

分4个发育期(胎儿期、新生儿期、婴儿期和青春前期)进行研究,每期42只孕鼠分为6个剂量组(即0、10、50、100、150、200 mg/kg BW的SIF),每组7只,胎儿期、新生儿期和婴儿期仔鼠出生后进行重新分配,使每只母鼠哺乳8~10只仔鼠,其中含有4~6只雌性仔鼠;青春前期42只孕鼠所生育的雌性仔鼠按体重进行随机分组,每组20只。

暴露及处死时间 胎儿期:母鼠妊娠12~18 d灌胃给予不同剂量SIF,使SIF经胎盘暴露于胎鼠;新生儿期:母鼠产后5~10 d灌胃给予不同剂量SIF,使SIF经乳汁暴露于仔鼠;婴儿期:母鼠产后15~20 d灌胃给予不同剂量SIF,使SIF经乳汁暴露于仔鼠;青春前期:仔鼠出生后25~30 d直接灌胃给予不同剂量SIF。

胎儿期雌性仔鼠出生后第 14 天随机处死一半,其余各期均在给予 SIF 结束后第 2 天随机处死一半。四期的剩余仔鼠于出生后 70 d 处死。

1.2.2 指标测定 胎儿期雌性仔鼠出生后第一天,用游标卡尺测量肛殖距(AGD),并计算肛殖距指数(AGDI=AGD/BW);各期雌性仔鼠出生后 21 d 断乳后,每天观察生殖孔,记录其阴门开张时间(VO);各期雌性仔鼠在出生 56~70 d 的每天上午 9:00 进行阴道涂片,镜下观察涂片细胞形态,据此判断该鼠所处的动情周期阶段;仔鼠称重后处死,剥离卵巢和子宫并称重。

1.3 数据处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS1.0 软件进行 ANOVA 分析。

2 结果

2.1 胎儿期暴露于 SIF 对雌性仔鼠生殖系统发育的影响

2.1.1 对 AGD、VO 和动情周期的影响 雌性仔鼠出生体重各处理组与对照组(即 0 mg/kg BW)比较差异无统计学意义。SIF 50、100、150 和 200 mg/kg BW 剂量组雌性仔鼠的 AGD 显著大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);SIF 100、150 和 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠的 AGDI 显著大于对照组($P < 0.05$),并具有剂量-反应关系;SIF 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠 VO 时间明显提前,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),SIF 50、100、150 和 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠的动情周期较对照组延长,但差异无统计学意义,见表 1。

表 1 胎儿期暴露于大豆异黄酮对雌性仔鼠 AGD、VO 和动情周期的影响($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg BW)	AGD				VO 和动情周期		
	例数	体重(g)	AGD(mm)	AGDI	例数	VO(d)	动情周期(d)
0	19	6.03 ±0.59	0.942 ±0.101	0.156 ±0.006	9	31.6 ±1.0	4.15 ±0.24
10	18	6.08 ±0.68	1.010 ±0.106	0.166 ±0.002	8	31.6 ±1.0	4.15 ±0.34
50	20	6.15 ±0.83	1.034 ±0.140 ^a	0.168 ±0.006	10	31.9 ±0.9	4.35 ±0.47
100	21	6.18 ±1.06	1.078 ±0.162 ^b	0.174 ±0.004 ^b	10	32.2 ±2.1	4.45 ±0.55
150	22	5.88 ±0.58	1.032 ±0.102 ^a	0.176 ±0.004 ^b	10	30.7 ±2.5	4.30 ±0.48
200	19	6.05 ±0.93	1.098 ±0.168 ^b	0.182 ±0.003 ^b	9	29.4 ±3.1 ^a	4.35 ±0.53

注:与对照组比较:a: $p < 0.05$,b: $p < 0.01$ 。

2.1.2 对出生后 14 d 和出生后 70 d 大鼠的卵巢和子宫重量的影响 雌性仔鼠出生后 14 d 的体重、卵巢重量、子宫重量及子宫/体重,各处理组与对照组比较差异无统计学意义;SIF 150 和 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠的卵巢/体重显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);雌性仔鼠出生后 70 d 的体重、卵巢重量、卵巢/体重、子宫重量及子宫/体重与对照组比较差异无统计学意义,见表 2。

2.2 新生儿期暴露 SIF 对雌性仔鼠生殖系统发育的影响

2.2.1 对雌性仔鼠出生后 11 d 卵巢和子宫重量的影响 与对照组比较,SIF 100、150 和 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠的卵巢重量、卵巢/体重显著增加($P < 0.05$),SIF 150、200 mg/kg BW 组雌性仔鼠的子宫重量、子宫/体重显著增加($P < 0.05$),并具有剂量-反应关系;出生后 70 d 的体重、卵巢重量、卵巢/体重、子宫重量及子宫/体重各剂量组与对照组比较差异无统计学意义,见表 3。

2.2.2 对雌性仔鼠 VO 和动情周期的影响 各剂量组雌性仔鼠 VO 时间与对照组比较差异没有统计学意义。SIF 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠的动情周期显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);SIF 150 mg/kg BW 组雌性仔鼠动情周期与对照组比较差异无统计学意义,但该组有 1 只仔鼠出现持续动情间期,见表 4。

表 4 新生儿期暴露大豆异黄酮对雌性仔鼠 VO 和动情周期的影响($\bar{x} \pm s$)

剂量(mg/kg BW)	例数	VO(d)	动情周期(d)
0	10	35.3 ±2.8	3.78 ±0.44
10	10	32.6 ±1.6	4.00 ±0.47
50	10	33.1 ±0.9	4.00 ±0.24
100	10	34.6 ±2.3	4.15 ±0.58
150	10	35.5 ±3.7	4.28 ±0.36
200	10	35.3 ±1.8	4.50 ±0.71 ^a

注:与对照组比较,a: $P < 0.05$ 。

2.3 婴儿期暴露大豆异黄酮对雌性仔鼠生殖系统发育的影响

2.3.1 SIF 对雌性仔鼠出生后 21 d 卵巢和子宫重量的影响 出生后 21 d 和出生后 70 d 各剂量组雌性仔鼠体重、卵巢和子宫重量、卵巢/体重、子宫/体重与对照组比较差异无统计学意义,见表 5。

2.3.2 SIF 对雌性仔鼠 VO 和动情周期的影响 各处理组雌性仔鼠 VO 和动情周期与对照组比较差异无统计学意义,但 SIF 100、150 和 200 mg/kg BW 组分别有 2、1 和 2 只动物出现持续动情间期,见表 6。

2.4 青春前期暴露大豆异黄酮对雌性仔鼠生殖系统发育的影响

2.4.1 SIF 对雌性大鼠出生后 31 d 和出生后 70 d 卵巢和子宫重量的影响 各剂量组雌性仔鼠出生后 31 d 和出生后 70 d 的体重、卵巢和子宫重量、卵巢/体重及子宫/体重与对照组比较差异无统计学意义,见表 7。

表2 胎儿期暴露大豆异黄酮对雌性仔鼠出生后 14 d 和出生后 70 d 卵巢和子宫重量的影响($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg BW)	出生后 14 d					出生后 70 d				
	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)	子宫 ($\times 10^{-3}$ g)	子宫/体重 ($\times 10^{-4}$)	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)
0	10	36.57 \pm 2.94	1.06 \pm 0.14	2.90 \pm 0.22	2.52 \pm 0.31	6.89 \pm 0.62	9	267.22 \pm 23.91	11.15 \pm 1.08	4.17 \pm 0.38
10	10	30.36 \pm 6.90	0.89 \pm 0.30	2.93 \pm 0.28	1.88 \pm 0.63	6.23 \pm 1.16	8	259.60 \pm 12.69	11.41 \pm 1.16	4.57 \pm 0.41
50	10	35.37 \pm 5.62	1.12 \pm 0.20	3.17 \pm 0.31	2.22 \pm 0.31	6.28 \pm 0.68	10	256.25 \pm 12.01	11.55 \pm 0.78	4.51 \pm 0.34
100	11	27.56 \pm 5.23	0.88 \pm 0.24	3.19 \pm 0.29	1.79 \pm 0.55	6.50 \pm 1.09	10	257.20 \pm 23.82	10.78 \pm 1.08	4.19 \pm 0.42
150	12	30.55 \pm 6.31	1.05 \pm 0.18	3.44 \pm 0.38 ^a	2.10 \pm 0.28	6.87 \pm 0.74	10	273.90 \pm 18.50	10.91 \pm 1.22	3.98 \pm 0.42
200	10	29.39 \pm 6.49	1.13 \pm 0.48	3.84 \pm 0.40 ^b	2.04 \pm 0.60	6.94 \pm 0.95	9	256.00 \pm 22.95	10.31 \pm 0.52	4.03 \pm 0.29

注:与对照组比较;a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$ 。

表3 新生儿期暴露大豆异黄酮对雌性大鼠出生后 11 d 和出生后 70 d 卵巢和子宫重量的影响($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg BW)	出生后 11 d					出生后 70 d				
	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-3}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)	子宫 ($\times 10^{-3}$ g)	子宫/体重 ($\times 10^{-4}$)	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)
0	10	22.80 \pm 3.07	4.14 \pm 0.73	1.81 \pm 0.17	7.75 \pm 0.86	3.40 \pm 0.51	10	245.10 \pm 62.54	10.83 \pm 3.49	4.42 \pm 1.03
10	10	23.70 \pm 1.57	4.33 \pm 0.51	1.83 \pm 0.20	7.50 \pm 0.69	3.17 \pm 0.39	10	262.35 \pm 36.66	12.02 \pm 1.25	4.58 \pm 0.44
50	10	22.85 \pm 1.60	5.01 \pm 0.67	2.17 \pm 0.23	9.2 \pm 1.62	4.02 \pm 0.92	10	256.00 \pm 18.24	11.21 \pm 2.21	4.38 \pm 1.02
100	10	25.85 \pm 3.35	7.04 \pm 0.91 ^a	2.72 \pm 0.28 ^a	10.7 \pm 1.93	4.14 \pm 0.89	10	258.65 \pm 19.76	11.19 \pm 0.51	4.33 \pm 0.42
150	10	25.25 \pm 6.63	7.51 \pm 0.94 ^a	2.97 \pm 0.30 ^a	13.1 \pm 1.56 ^a	5.19 \pm 0.75 ^a	10	239.18 \pm 52.41	11.69 \pm 3.00	4.89 \pm 0.89
200	10	26.30 \pm 3.51	7.49 \pm 0.95 ^a	2.85 \pm 0.21 ^a	14.3 \pm 1.45 ^a	5.44 \pm 0.67 ^a	10	261.30 \pm 19.88	12.21 \pm 1.49	4.67 \pm 0.68

注:与对照组比较;a: $P < 0.05$ 。

表5 婴儿期暴露大豆异黄酮对雌性大鼠出生后21 d和出生后70 d卵巢和子宫重量的影响($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg BW)	出生后21 d						出生后70 d					
	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)	子宫 ($\times 10^{-2}$ g)	子宫/体重 ($\times 10^{-4}$)	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)	子宫 ($\times 10^{-2}$ g)	子宫/体重 ($\times 10^{-4}$)
0	8	49.57 \pm 6.92	2.11 \pm 0.16	4.25 \pm 0.69	26.1 \pm 1.5	5.26 \pm 0.63	8	228.19 \pm 16.92	10.04 \pm 1.03	4.40 \pm 0.34	47.24 \pm 9.94	20.70 \pm 2.14
10	11	47.91 \pm 8.38	2.41 \pm 0.58	5.03 \pm 0.45	25.3 \pm 3.0	5.28 \pm 0.52	10	200.15 \pm 57.34	8.15 \pm 0.87	4.07 \pm 0.47	42.67 \pm 3.23	21.32 \pm 1.89
50	10	44.66 \pm 8.92	2.09 \pm 0.49	4.68 \pm 0.72	25.6 \pm 3.8	5.73 \pm 0.67	10	199.10 \pm 22.95	9.12 \pm 0.89	4.58 \pm 0.25	37.33 \pm 9.27	18.75 \pm 3.21
100	9	52.89 \pm 6.03	2.70 \pm 0.26	5.10 \pm 0.89	24.4 \pm 2.5	4.61 \pm 0.64	10	222.85 \pm 46.19	10.56 \pm 0.95	4.74 \pm 0.62	35.63 \pm 8.01	15.99 \pm 2.33
150	9	55.02 \pm 7.43	2.46 \pm 0.34	4.47 \pm 0.63	25.9 \pm 3.9	4.71 \pm 0.43	10	224.95 \pm 34.81	10.22 \pm 2.17	4.54 \pm 0.54	32.69 \pm 6.30	14.53 \pm 2.82
200	10	57.55 \pm 8.20	2.51 \pm 0.42	4.36 \pm 0.58	29.4 \pm 3.7	5.11 \pm 0.51	10	232.30 \pm 38.25	10.74 \pm 1.88	4.62 \pm 0.51	46.78 \pm 7.56	20.14 \pm 3.40

表7 青春前期暴露大豆异黄酮对雌性大鼠出生后31 d和出生后70 d卵巢和子宫重量的影响($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg BW)	出生后31 d						出生后70 d					
	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)	子宫 ($\times 10^{-2}$ g)	子宫/体重 ($\times 10^{-4}$)	例数	体重 (g)	卵巢 ($\times 10^{-2}$ g)	卵巢/体重 ($\times 10^{-4}$)	子宫 ($\times 10^{-2}$ g)	子宫/体重 ($\times 10^{-4}$)
0	10	100.64 \pm 10.47	4.14 \pm 0.91	4.11 \pm 0.49	12.49 \pm 3.95	12.41 \pm 4.05	10	236.60 \pm 29.22	10.98 \pm 1.73	4.64 \pm 0.49	42.07 \pm 4.94	17.78 \pm 2.02
10	10	96.27 \pm 8.57	4.24 \pm 0.42	4.40 \pm 0.52	14.98 \pm 5.99	15.56 \pm 5.65	10	228.00 \pm 24.07	10.50 \pm 1.84	4.61 \pm 0.51	44.00 \pm 8.23	19.30 \pm 3.30
50	10	92.26 \pm 7.40	4.85 \pm 1.05	5.26 \pm 0.56	15.25 \pm 6.12	16.53 \pm 6.02	10	252.70 \pm 30.44	11.80 \pm 2.49	4.67 \pm 0.56	41.50 \pm 8.93	16.42 \pm 4.05
100	10	94.82 \pm 9.92	4.18 \pm 0.81	4.41 \pm 0.47	10.97 \pm 3.63	11.57 \pm 3.32	10	243.90 \pm 21.85	11.50 \pm 2.37	4.72 \pm 0.47	46.90 \pm 7.54	19.23 \pm 2.24
150	10	97.62 \pm 8.67	5.57 \pm 0.66	5.71 \pm 0.52	13.59 \pm 4.81	13.92 \pm 4.13	10	244.10 \pm 12.98	11.80 \pm 1.81	4.83 \pm 0.55	43.00 \pm 8.92	17.62 \pm 2.19
200	10	98.78 \pm 8.07	4.89 \pm 1.03	4.95 \pm 0.53	13.65 \pm 4.25	13.82 \pm 4.03	10	228.00 \pm 25.35	11.00 \pm 1.15	4.83 \pm 0.45	49.50 \pm 9.62	21.71 \pm 3.93

表 6 婴儿期暴露大豆异黄酮对雌性仔鼠 VO 和

动情周期的影响 ($\bar{x} \pm s$)			
剂量 (mg/kg BW)	组别	VO (d)	动情周期 (d)
0	8	36.1 \pm 2.4	3.88 \pm 0.44
10	10	35.8 \pm 2.3	3.75 \pm 0.27
50	10	38.0 \pm 1.5	3.95 \pm 0.37
100	10	36.9 \pm 2.4	3.94 \pm 0.56
150	10	36.4 \pm 2.3	3.89 \pm 0.33
200	10	36.2 \pm 1.8	4.15 \pm 0.67

2.4.2 SIF 对雌性仔鼠 VO 和动情周期的影响 各剂量组雌性仔鼠 VO 和动情周期与对照组比较差异无统计学意义,只有 SIF 200 mg/kg BW 组雌性仔鼠有 1 只大鼠出现持续动情间期,见表 8。

表 8 青春前期暴露大豆异黄酮对雌性仔鼠 VO 和

动情周期的影响 ($\bar{x} \pm s$)			
剂量 (mg/kg BW)	组别	VO (d)	动情周期 (d)
0	10	32.6 \pm 1.8	4.30 \pm 0.48
10	10	34.0 \pm 2.0	4.15 \pm 0.53
50	10	33.1 \pm 1.4	4.35 \pm 0.41
100	10	32.5 \pm 1.1	4.25 \pm 0.35
150	10	32.9 \pm 1.8	4.30 \pm 0.35
200	10	32.3 \pm 1.5	4.22 \pm 0.44

3 讨论

大鼠肛殖距 (AGD, 肛门前缘与生殖结节后缘之间的距离) 是反映性分化最敏感的指标之一。Casanova M.^[3] 等研究发现 GEN 在低至不能影响子宫/体重和 VO 等生长发育指标的剂量下就能够改变 AGD。本研究结果发现,在胎儿期暴露于 SIF, 50、100、150 和 200 mg/kg BW 剂量组的 AGD 显著高于对照组 ($P < 0.05$),并具有剂量 - 反应关系,提示 SIF 可影响胎儿期暴露的雌性仔鼠的性别分化。

阴门开张 (VO) 是青春期开始的标志,体内雌激素水平会影响阴门开张时间。Nikaido Y^[4] 发现 GEN 可使大鼠 VO 提前,延长动情周期和动情间期。本研究发现只有胎儿期 SIF 200 mg/kg BW 剂量组仔鼠的 VO 时间显著提前 ($P < 0.05$),而其他各期各剂量组 VO 时间未出现明显变化。而且胎儿期 200 mg/kg BW 剂量组的卵巢重量大于其他所有实验组,推测是卵巢的提前发育使体内雌激素水平升高导致阴门开张时间提前,该结果暗示了胎儿期暴露于 SIF 可能会促进卵巢的提前发育。

有研究发现雌性大鼠围产期暴露于 1 250 mg/kg 饲料剂量的 GEN,其雌性子代的动情周期受到影响,并在出生后第 11 周或第 20 周时出现持续的动情间期或持续的动情期^[5]。Lewis R W^[6] 也发现大鼠在出生至断乳期间接触 40 mg/kg BW GEN 可使子宫重量增加、VO 时间提前、动情周期出现紊乱。本研究也发现,胎儿期和新生儿期都有动情周期随大豆异黄酮暴露剂量的增加而延长的趋势,且新生

儿期 SIF 150 mg/kg BW、婴儿期 SIF 100、150、200 mg/kg BW 和青春前期 200 mg/kg BW 剂量组均有个别大鼠出现持续动情间期。说明大豆异黄酮对生命早期的生殖系统具有雌激素样作用,使雌性大鼠青春开始时间提前并干扰成年后雌性大鼠的动情周期。

本研究发现,大豆异黄酮对不同发育期雌性仔鼠卵巢/体重比和子宫/体重比的影响不同,以胎儿期和新生儿期最为明显。胎儿期出生后 14 d SIF 150 和 200 mg/kg BW 剂量组雌性仔鼠卵巢/体重比、新生儿期出生后 11 d SIF 100、150、200 mg/kg BW 剂量组雌性仔鼠卵巢/体重比和 SIF 150、200 mg/kg BW 剂量组雌性仔鼠子宫/体重比显著增加。表明大豆异黄酮可刺激胎儿期和新生儿期雌性大鼠的卵巢和子宫的发育,表现为类雌激素样作用。Hughes CL^[7] 等也发现,母鼠在妊娠 14 d 至分娩 21 d 暴露 10~31 mg/kg BW 大豆异黄酮,雌性仔鼠断乳时体重和卵巢重量显著增加。婴儿期出生后 21 d、青春前期出生后 31 d 和各期出生后 70 d 各剂量组雌性仔鼠的卵巢、子宫与体重的比值差异无统计学意义,可能是因为随着仔鼠的成长,体内的雌激素水平不断升高,SIF 的雌激素活性被内源性雌激素掩盖。从现有指标来看,SIF 暴露虽然影响雌性仔鼠生殖系统的早期发育,却并未影响后期的发展。本研究所使用指标都在器官水平,受体及基因水平是否出现变化尚未涉及。

本研究发现,孕鼠或母鼠暴露于 150 mg/kg BW 的 SIF,可对雌性仔鼠表现出明显的不良作用,胎儿期和新生儿期是对大豆异黄酮生殖毒性的两个敏感期。为了进一步了解 SIF 对生殖系统的毒性特点及其可能的作用机制,需要对胎儿期和新生儿期的激素水平、受体表达以及病理改变等指标进行更深入的研究。

参考文献

[1] Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ, et al. Soy isoflavones: a safety review[J]. Nutr Rev, 2003, 61: 1-33.

[2] Hughes CL, Liu G, Beall S, et al. Effects of genistein or soy milk during late gestation and lactation on adult uterine organization in the rat[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2004, 229: 108-17.

[3] Casanova M, You L, Gaido KW, et al. Developmental effects of dietary phytoestrogens in Sprague-dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat estrogen receptors and in vitro[J]. Toxicological Sciences, 1999, 51: 236-244.

[4] Nikaido Y, Yoshizawa K, Danbara N, et al. Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring[J]. Reproductive Toxicology, 2004, 18: 803-811.

北京市春季蔬菜硝酸盐含量测定及居民暴露量评估

封锦芳¹ 施致雄¹ 吴永宁² 吴惠慧¹ 赵云峰²
(1. 首都医科大学公共卫生与家庭医学学院,北京 100069;
2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要:为了解北京市春季蔬菜中硝酸盐污染及居民硝酸盐暴露情况,于2006年3-5月从北京市16个菜市场采集应季蔬菜7大类26个品种341份样品,用国标法(GB/T 5009.33—2003)分析蔬菜中的硝酸盐含量。随机抽取北京市15岁以上常住居民152户428人,以记账法对居民日常蔬菜摄入量进行调查,结合蔬菜硝酸盐含量的检测结果,进行居民蔬菜硝酸盐暴露量评估。叶菜类硝酸盐含量最高(3156.94±1425.62 mg/kg),茄果类的含量最低(172.36±148.08 mg/kg),硝酸盐含量依次为叶菜类>根茎类>葱蒜类>瓜类>豆类>花菜类>茄果类,但同一类蔬菜不同品种的硝酸盐的含量差别较大,同一品种的蔬菜中硝酸盐含量差别也很大。居民每日通过蔬菜摄入的硝酸盐量为328.21 mg(以中位数计),比WHO/FAO的ADI值(300 mg/d)高9.4%。北京市春季蔬菜的硝酸盐污染较严重,居民仅由蔬菜摄入的硝酸盐量已经高于ADI值,因此需要加强监督管理,以保护居民健康。
关键词:北京;蔬菜;硝酸盐类;食品污染;危险性评估

Assessment of Nitrate Exposure in Beijing Residents via Consumption of Vegetables
FENGJin-fang, SHI Zhi-xiong, WU Yong-ning, WU Hui-hui, ZHAO Yun-feng
(School of Public Health and Family Medicine, Capital University of Medical Science, Beijing)

Abstract: To know the nitrate contents in vegetables and nitrate exposure in Beijing residents, 341 samples of various vegetables in season were collected and analyzed during Mar. -May, 2006. Nitrate contents were analyzed according to GB/T 5009.33—2003. Daily consumption of vegetables was calculated by the method of food accountant and then daily intake of nitrate was calculated. The content of nitrate in vegetables was arranged in the following descendent order: leafy vegetables > root and stem vegetables > onions and garlic > melons > legumes > flower vegetables > egg plants. The contents of nitrate in different species differed greatly, which implied that they were cultivated in different places under different conditions. According to the results of the assessment, the median daily intake of nitrate via vegetables was 328.21 mg (median) among Beijing residents. The results indicate that the exposure of nitrate, only via vegetables, exceeds the ADI established by JECFA, and development of measures to monitor and control it is urgently needed.
Key word: BEIJING;Vegetables; Nitrates; Food Contamination; Risk Assessment

近年来,为了提高蔬菜产量,菜农大量施用化学肥料,特别是氮肥,使得蔬菜的硝酸盐残留污染问题越来越引起人们的关注。然而,人体通过蔬菜摄入的硝酸盐量的定量暴露评估数据比较缺乏。鉴于

[5] Takagi H, Shibutani M, Lee K Y, et al. Lack of modifying effects of genistein on disruption of the reproductive system by perinatal dietary exposure to ethinylestradiol in rats [J]. Reproductive Toxicology, 2004, 18: 687-700.
[6] Lewis R W, Brooks N, Milburn G M, et al. The effects of the phytoestrogen genistein on the postnatal development of the rat[J]. Toxicological Sciences, 2003, 71: 74-83.
[7] Hughes C L, Liu G, Beall S, et al. Effects of genistein or soy milk during late gestation and lactation on adult uterine organization in the rat[J]. Exp Biol Med, 2004, 229: 108-117.

[收稿日期:2006-09-17]

中图分类号:R15;Q56;R994.4;TS216 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2006)06-0508-07

基金项目:国家“十五”重大科技专项(2001BA804A32)
作者简介:封锦芳 女 副教授
通讯作者:吴永宁 男 研究员 博士生导师