

邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯染毒对雄性大鼠胰岛素抵抗及氧化应激的影响

李奕明¹, 贾福怀², 秦晋¹, 吴珉¹, 厉曙光¹, 陈波¹

1. 复旦大学公共卫生学院营养与食品卫生教研室, 上海 200032
2. 宁波御坊堂生物科技有限公司, 浙江 宁波 315012

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.18646

摘要:

[目的] 胰岛素抵抗是2型糖尿病和多种慢性代谢性疾病的发病基础, 其发生发展与环境因素密切相关。邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)作为常见的增塑剂近年来随着塑料制品的广泛应用而在环境中广泛存在, 流行病学研究表明DEHP暴露与2型糖尿病及肥胖等慢性疾病相关。本研究观察DEHP染毒对健康雄性大鼠糖脂代谢、胰岛素抵抗及氧化应激水平的影响。

[方法] 将24只SPF级健康雄性Wistar大鼠按体重随机分为4组, 分别为对照组(玉米油)、DEHP 10 mg/kg组、DEHP 100 mg/kg组、DEHP 1000 mg/kg组, 染毒方式为经口灌胃(5 mL/kg), 每日一次, 连续染毒30 d。分别于染毒第0、14、28天尾尖采血检测随机血糖, 染毒第29天通过口服葡萄糖耐量试验观察大鼠糖耐量变化。末次染毒次日测空腹血糖(FPG), 麻醉并处死大鼠后取肝组织称重并计算肝脏脏器系数。全自动生化仪测定血清谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、白蛋白(ALB)、三酰甘油(TG)水平, 放射免疫法测定血清胰岛素(FINS), 比色法测定血清游离脂肪酸(FFA)、丙二醛(MDA)、过氧化氢(H₂O₂)水平。

[结果] DEHP染毒对大鼠体重变化及膳食摄入的影响无统计学意义($P>0.05$)。染毒第14天和第28天, DEHP 1000 mg/kg染毒组与对照组相比随机血糖值升高($P<0.05$)。随DEHP染毒剂量增加, 染毒组大鼠葡萄糖耐量曲线血糖峰值升高, 各染毒组葡萄糖曲线下面积差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组[(3.03±0.33)%]相比, 低、中、高染毒组大鼠肝脏脏器系数[(3.16±0.18)%、(3.68±0.29)%、(5.02±0.46)%]均升高($P<0.05$)。与对照组相比, DEHP 100 mg/kg、DEHP 1000 mg/kg组大鼠血清ALB水平升高($P<0.05$); 各DEHP染毒剂量组大鼠TG水平均升高($P<0.05$); DEHP 1000 mg/kg染毒组大鼠血清ALP、ALT水平升高($P<0.05$); 各DEHP染毒组大鼠血清AST相较于对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。各DEHP染毒组大鼠FPG、FINS、胰岛素抵抗的稳态模型评估指数相较于对照组大鼠差异无统计学意义($P>0.05$)。DEHP 1000 mg/kg染毒组大鼠血清FFA、H₂O₂水平较对照组升高($P<0.05$), 各染毒组血清MDA水平与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

[结论] 100~1000 mg/kg的DEHP染毒可导致雄性Wistar大鼠肝脏损伤, 葡萄糖耐量改变, 糖脂代谢异常, 氧化应激水平升高。

关键词: 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯; 肝脏损伤; 糖脂代谢; 胰岛素抵抗; 氧化应激

Effects of di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on insulin resistance and oxidative stress in male rats LI Yi-ming¹, JIA Fu-huai², QIN Jin¹, WU Min¹, LI Shu-guang¹, CHEN Bo¹ (1. Department of Nutrition and Food Safety, School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Ningbo Yofoto Biotechnology Co., Ltd., Ningbo, Zhejiang 315012, China)

Abstract:

[Objective] Insulin resistance is fundamental to the development of diabetes mellitus type 2 and multiple chronic metabolic diseases, and is closely linked to environmental factors. Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) as a common plasticizer has been widely applied in plastic products and thus widely present in environment, while epidemiological studies have shown that DEHP exposure is associated with chronic diseases such as diabetes mellitus type 2 and obesity. This experiment is conducted to observe the toxic effects of DEHP on glycolipid metabolism, insulin resistance, and oxidative stress in healthy male rats.

[Methods] Twenty-four healthy SPF male Wistar rats were randomly divided into four groups

组稿专家

张蕴晖(复旦大学公共卫生学院),
E-mail: yhzhang@shmu.edu.cn
厉曙光(复旦大学公共卫生学院),
E-mail: leeshuguang@fudan.edu.cn

基金项目

十三五国家重点研发计划(2016YFD0400602)

作者简介

李奕明(1993—), 女, 硕士生;
E-mail: 16211020058@fudan.edu.cn

通信作者

厉曙光, E-mail: leeshuguang@fudan.edu.cn

利益冲突 无申报

收稿日期 2018-10-08

录用日期 2019-02-25

文章编号 2095-9982(2019)04-0313-07

中图分类号 R114

文献标志码 A

引用

李奕明, 贾福怀, 秦晋, 等. 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯染毒对雄性大鼠胰岛素抵抗及氧化应激的影响[J]. 环境与职业医学, 2019, 36(4): 313-319.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18646

Funding

This study was funded.

Correspondence to

LI Shu-guang, E-mail: leeshuguang@fudan.edu.cn

Competing interests None declared

Received 2018-10-08

Accepted 2019-02-15

To cite

LI Yi-ming, JIA Fu-huai, QIN Jin, et al. Effects of di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on insulin resistance and oxidative stress in male rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(4): 313-319.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18646

by weight, including one control group (corn oil) and three experimental groups treated with 10 mg/kg, 100 mg/kg, and 1 000 mg/kg DEHP by gavage (5 mL/kg), once a day, for 30 consecutive days. Tail venous blood was collected to measure random blood glucose on the 1st, 14th, and 28th days, and the changes of glucose tolerance of rats were observed by oral glucose tolerance test on the 29th day. All rats were detected for fasting plasma glucose (FPG) on the next day of last exposure, and then anesthetized and sacrificed to weigh liver and calculate liver coefficient. The serum levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), albumin (ALB), and triglyceride (TG) were determined with auto-biochemical analyzer; the fasting insulin (FINS) was measured by radio-immunological method; the serum levels of free fatty acids (FFA), malondialdehyde (MDA), and hydrogen peroxide (H₂O₂) were determined by colorimetry.

[Results] The designed DEHP exposure had no significant effect on body weight and food intake of rats ($P > 0.05$). On the 14th and 28th days, the 1 000 mg/kg DEHP group showed increased random blood glucose compared with the control group ($P < 0.05$). With the increase of DEHP dose, the peak of glucose tolerance curve was heightened, but no difference in the area under curve of glucose among the groups were observed ($P > 0.05$). Compared with the control group [(3.03±0.33)%], the liver coefficients increased significantly in the three DEHP exposure groups [(3.16±0.18)%, (3.68±0.29)%, and (5.02±0.46)%, respectively] ($P < 0.05$). The serum levels of ALB in the 100 mg/kg and 1 000 mg/kg DEHP groups were higher than that in the control group ($P < 0.05$); the serum levels of TG in the groups treated with various doses of DEHP were increased ($P < 0.05$); the serum levels of ALP and ALT in the 1 000 mg/kg DEHP group were higher ($P < 0.05$); no difference in serum AST was observed ($P > 0.05$). There were no significant changes in FPG, FINS, and index of homeostasis model assessment of insulin resistance after designed DEHP exposures compared with the control group ($P > 0.05$). The serum levels of FFA and H₂O₂ of the 1 000 mg/kg DEHP group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$), but there was no significant difference in serum MDA ($P > 0.05$).

[Conclusion] DEHP exposure at 100-1 000 mg/kg could lead to liver damage, altered glucose tolerance, glycolipid metabolism disorder, and increased oxidative stress in male Wistar rats.

Keywords: di(2-ethylhexyl) phthalate; liver damage; glycolipid metabolism; insulin resistance; oxidative stress

邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 [di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP], 作为一种高相对分子质量的邻苯二甲酸酯, 主要作为增塑剂被广泛应用于消费类产品、食品包装、乙烯基墙纸、玩具、化妆品和医疗器械(如医用管材和血液储存容器)等^[1]。2017年10月WHO国际癌症研究机构公布, DEHP被列为2B类致癌物^[2]。研究表明, DEHP具有一般毒性、三致毒性和明显的生殖毒性及发育毒性^[3-5], 长期低剂量DEHP暴露还可诱发机体脂质过氧化, 导致体内过氧化物堆积而引起损伤^[6-8]。近年研究发现DEHP具有干扰内分泌系统的环境雌激素样效应, 流行病学研究表明长期DEHP暴露与2型糖尿病、肥胖、过敏及哮喘等慢性疾病的发生发展存在相关性^[9-10]。近年来, 经济快速发展与生活水平提高使得人们的生活环境、生活方式和膳食模式发生改变, 糖尿病的患病率也快速上升, 成为继肿瘤、心血管疾病之后第三种严重危害人类健康的慢性病^[11-12], 其中2型糖尿病占糖尿病总发病的90%以上^[13]。胰岛素抵抗是2型糖尿病的发病基础, 与多种代谢相关疾病有密切联系^[14-15]。胰岛素抵抗和糖尿病的危险因素有很多, 目前被普遍接受的包括遗传因素、肥胖或超重、体力活动不足、膳食因素如高能饮食、生命早期营养不良、吸烟与饮酒、高血压、社会经济因素等。而现代生活中人们持续受到一些外源性化学物的刺激, 也可能与包括糖尿病在内的内分泌系统慢性疾病的发生有高度的相关性^[16-17]。DEHP作为邻苯二甲酸酯类的主要成员之一, 是一种常见的

环境内分泌干扰物, 目前已有多项流行病学研究阐述邻苯二甲酸酯类化合物与胰岛素抵抗和糖尿病发病风险的相关性^[18-23], 但其作用途径及机制尚不清楚, DEHP对糖脂代谢的影响也尚未被研究。因此, 本研究观察DEHP染毒对健康大鼠糖脂代谢、胰岛素抵抗及氧化应激水平的影响, 并分析其剂量-效应关系, 为进一步研究DEHP暴露对2型糖尿病的作用及其机制提供毒理学资料, 也为对2型糖尿病的干预研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 动物 SPF级健康雄性Wistar大鼠24只, 体重180~200g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号SCXK2016-0006, 合格证号11400700264186, 饲养于上海市疾病预防控制中心实验动物管理中心SPF级动物环境室, 室温19~26℃, 相对湿度40%~70%, 光暗周期12h/12h, 每周更换2次饲料及垫料, 自由饮水及摄食。

1.1.2 试剂及耗材 DEHP (>99.5%, Sigma, 美国), 玉米油、一水葡萄糖(药用级, 阿拉丁试剂有限公司, 中国), 4%多聚甲醛(上海生工生物工程股份有限公司, 中国), 真空采血管(BD, 美国), 血糖试纸(罗氏公司, 德国), 血清胰岛素放射免疫试剂盒(北京福瑞润泽生物技术有限公司, 中国), 游离脂肪酸(nonesterified fatty acid, NEFA)测试盒、丙二醛(malondialdehyde,

MDA) 测试盒、过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 测试盒 (南京建成生物工程研究所, 中国)。

1.1.3 主要仪器 L550 台式离心机 (湘仪公司, 中国), AU680 全自动生化仪 (Beckman Coulter, 美国), 酶标仪 (Bio-Rad, 美国), 2000 可见光分光光度计 (Unico, 美国), 2470 放免仪 (PekinElmer, 美国), 微量血糖仪 (罗氏公司, 德国)。

1.2 动物分组及染毒方法

大鼠适应性喂养一周后, 按体重随机分为 4 组, 每组 6 只。参考欧盟 DEHP 风险评估报告^[24], 将实验组分为对照组 (玉米油)、低剂量染毒组 (DEHP 10 mg/kg)、中剂量染毒组 (DEHP 100 mg/kg)、高剂量染毒组 (DEHP 1000 mg/kg)。染毒方式为 DEHP 溶于玉米油后, 每日一次经口灌胃, 染毒剂量为 5 mL/kg (以体重计), 连续染毒 30 d。

1.3 观察指标及测定方法

1.3.1 一般情况及随机血糖 大鼠染毒期间, 密切观察其一般情况变化, 自染毒第 1 天起每隔 7 d 于上午 9 时称量一次体重并记录每周膳食摄入情况, 计算每周每只大鼠平均膳食摄入量, 并分别于第 0、14、28 天于大鼠尾尖采血, 用微量血糖仪测定大鼠随机血糖。

1.3.2 口服葡萄糖耐量试验 第 29 天大鼠过夜禁食 16 h 后, 40% 葡萄糖 2 g/kg (以体重计) 灌胃, 分别于葡萄糖溶液灌胃后 0、15、30、60、120 min 于大鼠尾尖采血并测定其血糖值。实际操作中准确记录每只大鼠的采血时间点, 并用 GraphPad 拟合时间-葡萄糖浓度曲线并计算葡萄糖曲线下面积 (area under the curve, AUC)。

1.3.3 解剖及指标测定 大鼠末次染毒后过夜禁食 16 h, 次日称量并记录动物体重, 尾尖取血测量空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG), 戊巴比妥钠 (60 mg/kg, 以体重计) 腹腔注射麻醉 (注射量 0.5 mL/100 g, 以体重计), 腹主动脉取血处死后, 立即取肝脏称重并计算脏器系数。

1.3.4 血生化指标测定 采用非抗凝血, 3 000 r/min (离心半径为 10 cm) 离心 15 min 后取上清液测定谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、白蛋白 (albumin, ALB)、三酰甘油 (triglyceride, TG)。

1.3.5 氧化应激指标测定 采用 NEFA 测试盒、MDA 测试盒、H₂O₂ 测试盒对大鼠血清中游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和 H₂O₂ 含量进行检测, 实验方法按说明书进行操作。

1.3.6 血清胰岛素测定 采用放射免疫试剂盒测定, 标准品及样本加标记物抗体后 37°C 温育 2 h, 加分离剂混匀放置 15 min 后, 3 800 r/min (离心半径为 10 cm) 离心 15 min, 取上清液检测空腹血清胰岛素 (fasting insulin, FINS)。

1.3.7 胰岛素抵抗的稳态模型评估 (homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR) 指数的计算公式 稳态模型评估已被广泛应用于糖尿病人胰岛素敏感性、胰岛素抵抗水平与胰岛 β 细胞功能的评价^[25], 计算公式为: HOMA-IR=FPG×FINS/22.5。式中: HOMA-IR 为胰岛素抵抗的稳态模型评估指数; FPG 为空腹血糖水平, mmol/L; FINS 为空腹胰岛素水平, mIU/L。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 进行统计分析, 数据均符合正态分布, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间差异比较采用单因素方差分析, 组间差异比较采用 LSD-t 检验。随机血糖值采用协方差分析。采用 Graphpad Prism 7 做统计图。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 体重及膳食摄入量

不同水平的 DEHP 染毒后各组雄性 Wistar 大鼠体重及膳食摄入量变化无差异, 见表 1。

表 1 DEHP 染毒对雄性大鼠体重及膳食摄入量的影响 (g, n=6)
Table 1 Effects of DEHP on body weight and diet intake of male rats

染毒时间 Exposure time	对照 (Control)		10 mg/kg DEHP		100 mg/kg DEHP		1 000 mg/kg DEHP	
	体重 ($\bar{x} \pm s$) Weight	膳食摄入 (\bar{x}) Diet intake	体重 ($\bar{x} \pm s$) Weight	膳食摄入 (\bar{x}) Diet intake	体重 ($\bar{x} \pm s$) Weight	膳食摄入 (\bar{x}) Diet intake	体重 ($\bar{x} \pm s$) Weight	膳食摄入 (\bar{x}) Diet intake
染毒前 (Baseline)	250.33±11.69	—	252.00±10.70	—	251.17±10.61	—	251.33±11.43	—
第 1 周 (Week 1)	300.83±20.55	146.83	307.83±17.07	159.67	305.33±18.57	159.71	304.67±25.29	151.43
第 2 周 (Week 2)	347.83±24.80	154.67	356.33±20.22	163.17	346.00±24.45	129.57	351.67±33.16	140.29
第 3 周 (Week 3)	384.17±33.44	149.67	393.17±23.75	163.17	378.17±32.48	120.71	392.50±41.26	155.43
第 4 周 (Week 4)	394.50±37.17	127.83	403.67±27.96	139.50	385.17±28.82	155.43	387.67±43.83	123.57

2.2 随机血糖

如表2所示, 染毒第0天各组大鼠随机血糖值差异无统计学意义, 染毒14天和染毒28天, 随染毒浓度升高, 各组间大鼠随机血糖均值出现波动但无统计学意义 ($P>0.05$)。由于随机血糖值具有时间波动性和

个体差异性, 将染毒第0天的随机血糖值作为协变量, 对染毒第14天和第28天的随机血糖值分别进行协方差分析, 校正第0天随机血糖值的影响后, 染毒第14天和染毒第28天, DEHP 1000 mg/kg 染毒组与对照组相比随机血糖值升高 ($P<0.05$)。

表2 随机血糖值校正前后 DEHP 染毒对雄性大鼠随机血糖的影响 ($n=6, \bar{x}\pm s, \text{mmol/L}$)

Table 2 Effects of DEHP exposure on random glucose of male rats with or without adjustment for the value before exposure

分组 (Group)	校正前 (Before adjustment)			校正后 (After adjustment)	
	第1天 (Day 1)	第14天 (Day 14)	第28天 (Day 28)	第14天 (Day 14)	第28天 (Day 28)
对照 (Control)	7.30 ± 0.53	6.50 ± 0.54	6.73 ± 0.48	6.41 ± 0.17	6.74 ± 0.21
10mg/kg DEHP	7.22 ± 0.69	6.93 ± 0.38	6.68 ± 0.32	6.88 ± 0.17	6.70 ± 0.21
100mg/kg DEHP	6.80 ± 0.46	6.95 ± 0.54	7.03 ± 0.48	7.07 ± 0.17	7.02 ± 0.22
1000mg/kg DEHP	7.03 ± 0.29	7.20 ± 0.29	7.65 ± 0.63	7.22 ± 0.17*	7.65 ± 0.21*
F	1.129	2.518	2.922	4.084	4.465
P	0.361	0.087	0.059	0.021	0.016

[注] *: 与对照组相比, $P<0.05$ 。

[Note] *: Compared with the control group, $P<0.05$.

2.3 口服葡萄糖耐量试验曲线

葡萄糖溶液灌胃后, 对照组大鼠血糖值上升较快, 在15 min后进入相对较缓的平台期。而随着DEHP染毒浓度增加, 实验组大鼠几乎无平台期, 葡萄糖耐量曲线血糖峰值升高, 且到达峰值所需时间变短, 各染毒组葡萄糖AUC差异无统计学意义 ($P>0.05$) (图1)。

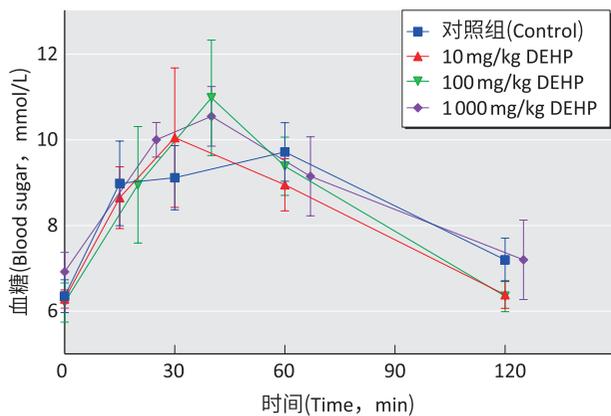
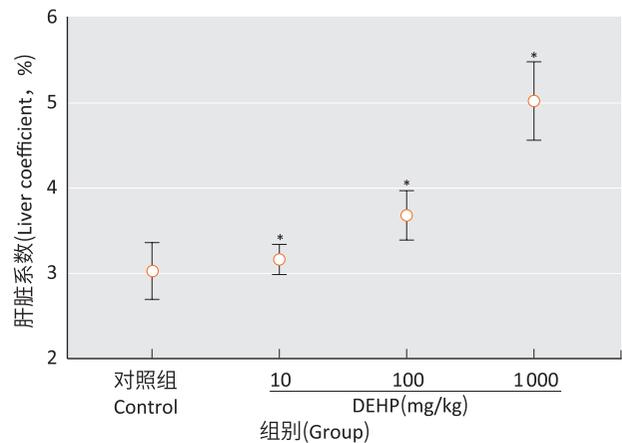


图1 DEHP 染毒后雄性大鼠葡萄糖耐量曲线

Figure 1 Glucose tolerance curve of male rats with DEHP exposure

2.4 肝脏脏器系数

如图2所示, 各组大鼠肝脏器系数分别为对照组 (3.03±0.33) %、DEHP 10 mg/kg 组 (3.16±0.18) %、DEHP 100 mg/kg 组 (3.68±0.29) %、DEHP 1000 mg/kg 组 (5.02±0.46) %, 差异有统计学意义 ($P<0.005$) ; 与对照组相比, 低、中、高染毒组肝脏器系数均升高 ($P<0.05$)。



[注] *: 与对照组相比, $P<0.05$ 。

[Note] *: Compared with the control group, $P<0.05$.

图2 DEHP 染毒对雄性大鼠肝脏系数的影响

Figure 2 Effects of DEHP on liver coefficient of male rats

2.5 ALB、TG、AST、ALT、ALP

图3 (A) 显示, DEHP 100 mg/kg、1000 mg/kg 染毒组大鼠血清ALB质量浓度分别为 (29.43±1.23) g/L、(31.18±1.62) g/L, 相比对照组 [(27.43±0.57) g/L] 升高 ($P<0.05$)。

图3 (B) 显示, 各组大鼠TG质量浓度分别为对照组 (0.35±0.10) mmol/L、DEHP 10 mg/kg 组 (0.42±0.14) mmol/L、DEHP 100 mg/kg 组 (0.61±0.07) mmol/L、DEHP 1000 mg/kg 组 (0.79±0.29) mmol/L, DEHP 染毒组血清TG质量浓度相比对照组均升高 ($P<0.001$)。

图3 (C)、图3 (D) 显示, 与对照组相比, 10mg/kg、100 mg/kg DEHP 染毒对雄性大鼠血清ALP、ALT水平

的影响无统计学意义 ($P>0.05$), 而 DEHP 1000 mg/kg 染毒组大鼠血清 ALP 水平 [(241.17±37.84) U/L]、ALT 水平 [(37.98±8.18) μmol/L] 较对照组 [ALP : (126.67±18.41) U/L ; ALT : (26.42±2.50) μmol/L] 升高 ($P<0.001$)。

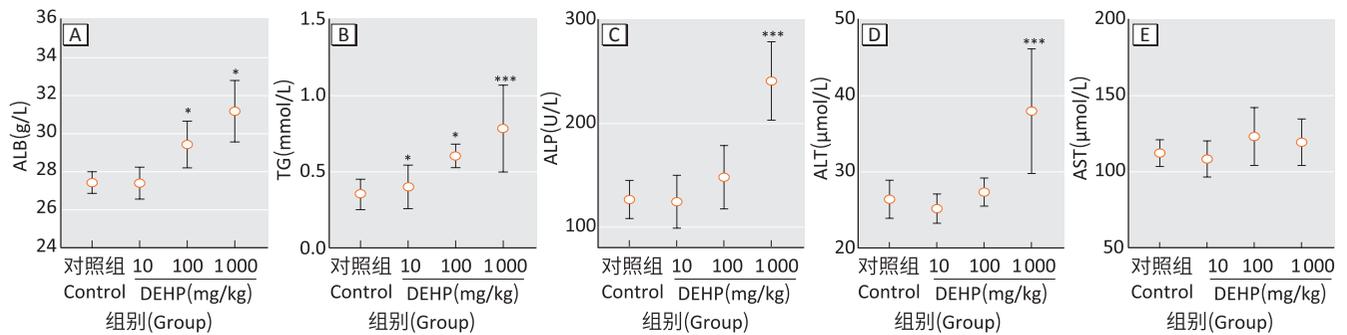
图 3 (E) 显示各 DEHP 染毒组大鼠血清 AST 相较于对照组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.6 FPG、FINS、HOMA-IR

如图 4 所示, 各 DEHP 染毒组大鼠 FPG、FINS、HOMA-IR 相较于对照组大鼠的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.7 氧化应激

图 5 (A) 显示, DEHP 10 mg/kg、100 mg/kg 染毒组大鼠血清 FFA 浓度与对照组相比差异无统计学意义 ($P>0.05$), 而 DEHP 1000 mg/kg 染毒组大鼠血清 FFA 浓度 [(1031.00±148.50) μmol/L] 比对照组 [(360.10±96.25) μmol/L] 升高 ($P<0.05$)。图 5 (B) 显示, DEHP 1000 mg/kg 染毒组大鼠血清 H₂O₂ 浓度 [(80.77±22.57) mmol/L] 与对照组 [(26.03±7.21) mmol/L] 相比大幅升高 ($P<0.05$)。图 5 (C) 显示, 各剂量的 DEHP 染毒组大鼠血清 MDA 浓度差异无统计学意义 ($P>0.05$)。



[注] 与对照组相比, * : $P<0.05$; *** : $P<0.001$ 。

[Note] Compared with the control group, * : $P<0.05$; *** : $P<0.001$.

图 3 DEHP 染毒对雄性大鼠血清 ALB (A)、TG (B)、ALP (C)、ALT (D)、AST (E) 的影响
Figure 3 Effects of DEHP on ALB (A), TG (B), ALP (C), ALT (D), and AST (E) of male rats

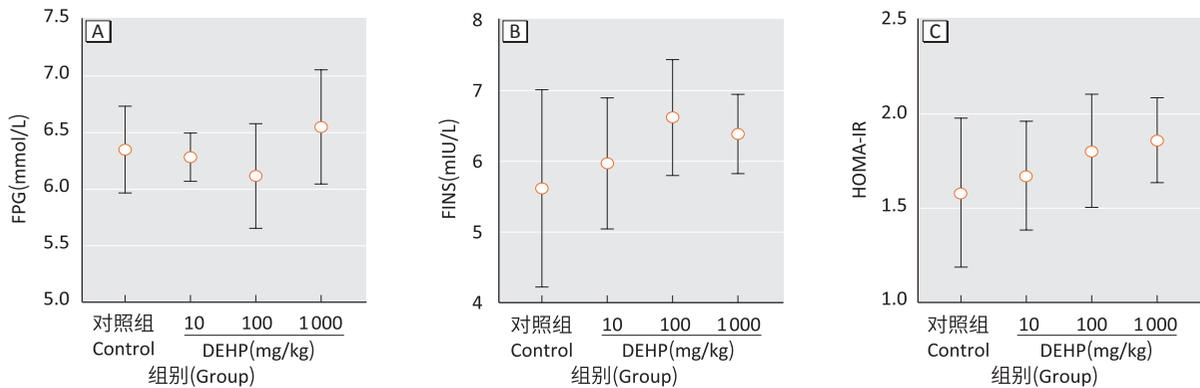
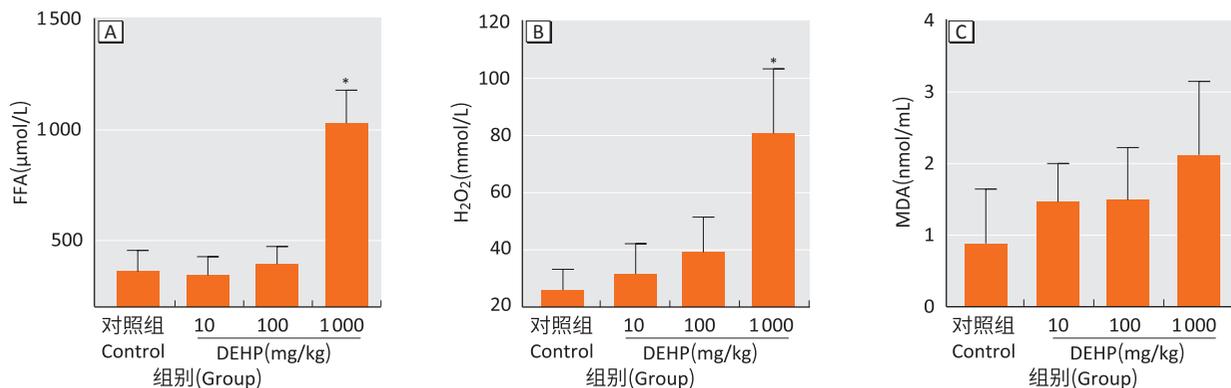


图 4 DEHP 染毒对雄性大鼠 FPG (A)、FINS (B) 和 HOMA-IR 指数 (C) 的影响
Figure 4 Effects of DEHP on FPG (A), FINS (B), and HOMA-IR (C) of male rats



[注] * : 与对照组相比, $P<0.05$ 。 [Note] * : Compared with the control group, $P<0.05$ 。

图 5 DEHP 染毒对雄性大鼠血清 FFA (A)、H₂O₂ (B)、MDA (C) 浓度的影响
Figure 5 Effects of DEHP on FFA (A), H₂O₂ (B), and MDA (C) of male rats

3 讨论

本实验结果表明, DEHP 染毒对雄性大鼠的体重增长及膳食摄入没有影响, 提示在本次染毒剂量下和观察期内 DEHP 染毒对雄性大鼠生长发育无明显毒作用。通过检测大鼠染毒第 0、14、28 天随机血糖发现, DEHP 1 000 mg/kg 染毒组与对照组相比随机血糖值升高, 提示高浓度 DEHP 染毒对正常血糖调节和基础胰岛素分泌功能有所影响。

正常人在葡萄糖耐量试验时, 胰岛素分泌为两个时相^[26]: 第一时相是快速胰岛素分泌相, 仅持续数分钟, 主要反映胰腺 β 细胞的储备功能; 第二时相是持续胰岛素分泌相, 一般为数分钟至数小时, 主要反映葡萄糖刺激下胰腺 β 细胞合成和分泌胰岛素的功能。由于第一时相胰岛素的分泌使机体血糖水平明显降低, 故正常人胰岛素分泌第二时相曲线较为低平^[27]。本实验结果显示 DEHP 染毒组大鼠第二时相曲线呈峰形, 且随染毒浓度升高, 葡萄糖耐量曲线血糖峰值升高, 到达峰值所需时间变短。由此可以推断 DEHP 染毒引起的血糖调节紊乱或与损伤胰腺内分泌功能有关。

肝脏在机体糖代谢中起重要调节作用。肝脏器系数的变化可反映毒物对肝脏毒性的综合作用情况。本次实验表明, DEHP 染毒大鼠肝脏脏器系数增加, 提示 DEHP 染毒对雄性大鼠肝脏的生长发育和功能有影响。ALP、ALT、AST 是反映肝功能的重要指标, 本次实验发现, DEHP 1 000 mg/kg 染毒组大鼠血清 ALP、ALT 浓度较对照组升高, AST 则无明显变化。血清 TG、ALB 可反映肝脏对脂肪、蛋白质代谢的调节作用。实验结果显示, 大鼠血清 TG 浓度随 DEHP 染毒浓度增加而上升, 最高浓度染毒组 ALB 浓度高于对照组。实验结果提示, DEHP 染毒可导致脂肪代谢异常, 血脂堆积过剩而引起肝脏脂肪变性, 导致肝功能受损。

本实验通过测定 FPG 和 FINS, 计算 HOMA-IR 指数, 结果显示 DEHP 染毒浓度增加对 HOMA-IR 指数的影响无统计学意义, 这或与大鼠个体差异较大有关, 也或因本模型假设葡萄糖转化保持不变, 且未考虑血脂影响^[28]。

近年来, 有研究表明 DEHP 在体内代谢产生的氧化应激产物与抗氧化物的稳态失衡可能是产生胰岛素抵抗、诱发 2 型糖尿病的机制之一^[29-31]。本实验结果显示 DEHP 1 000 mg/kg 染毒组大鼠血清 FFA、 H_2O_2 水平较对照组升高, 但血清 MDA 浓度无统计学差异, 还需进一步实验确证是否为个体差异导致或其他机

制所致。本实验提示 DEHP 染毒可导致机体脂质过氧化反应增强, 氧化应激水平升高。

综上所述, DEHP 染毒可导致雄性 Wistar 大鼠肝脏损伤, 葡萄糖耐量改变, 糖脂代谢异常, 氧化应激水平升高, 在胰岛素抵抗和糖尿病的发生发展中起到了一定促进作用, 但其具体的作用机制, 还需进一步开展分子水平的相关实验, 从而为糖尿病的防治提供科学依据。

参考文献

- [1] WANG W, LEUNG A O, CHU L H, et al. Phthalates contamination in China: status, trends and human exposure-with an emphasis on oral intake [J]. *Environ Pollut*, 2018, 238: 771-782.
- [2] 世界卫生组织国际癌症研究机构致癌物清单 [EB/OL]. [2018-10-30]. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1991/215896.html>.
- [3] RADKE E G, BRAUN J M, MEEKER J D, et al. Phthalate exposure and male reproductive outcomes: a systematic review of the human epidemiological evidence [J]. *Environ Int*, 2018, 121: 764-793.
- [4] ROWDHWAL S S, CHEN J. Toxic effects of Di-2-ethylhexyl phthalate: an overview [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 1750368.
- [5] LEE D W, KIM M S, LIM Y H, et al. Prenatal and postnatal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate and neurodevelopmental outcomes: a systematic review and meta-analysis [J]. *Environ Res*, 2018, 167: 558-566.
- [6] RUSYN I, PETERS J M, CUNNINGHAM M L. Modes of action and species-specific effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate in the liver [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2006, 36 (5): 459-479.
- [7] DONG R, CHEN J, ZHENG J, et al. The role of oxidative stress in cardiometabolic risk related to phthalate exposure in elderly diabetic patients from Shanghai [J]. *Environ Int*, 2018, 121: 340-348.
- [8] SHE Y, JIANG L, ZHENG L, et al. The role of oxidative stress in DNA damage in pancreatic β cells induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 265: 8-15.
- [9] LE MAGUERESSE-BATTISTONI B, LABARONNE E, VIDAL H, et al. Endocrine disrupting chemicals in mixture and obesity, diabetes and related metabolic disorders [J]. *World J Biol*

- Chem, 2017, 8 (2) : 108-119.
- [10] BENJAMIN S, MASAI E, KAMIMURA N, et al. Phthalates impact human health : epidemiological evidences and plausible mechanism of action [J] . J Hazard Mater, 2017, 340 : 360-383.
- [11] WILD S, ROGLIC G, GREEN A, et al. Global prevalence of diabetes : estimates for the year 2000 and projections for 2030 [J] . Diabetes Care, 2004, 27 (5) : 1047-1053.
- [12] LAM DW, LEROITH D. The worldwide diabetes epidemic [J] . Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2012, 19 (2) : 93-96.
- [13] ZIMMET P, ALBERTI KG, SHAW J. Global and societal implications of the diabetes epidemic [J] . Nature, 2001, 414 (6865) : 782-787.
- [14] CZECH MP. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes [J] . Nat Med, 2017, 23 (7) : 804-814.
- [15] KAHN SE, HULL RL, UTZSCHNEIDER KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes [J] . Nature, 2006, 444 (7121) : 840-846.
- [16] 李枝萍, 刘军, 徐婷婷, 等. 我国2型糖尿病的流行病学及危险因素研究现状 [J] . 西南军医, 2010, 12 (4) : 754-756.
- [17] DONG RH, ZHANG H, ZHANG MR, et al. Association between phthalate exposure and the use of plastic containers in Shanghai adults [J] . Biomed Environ Sci, 2017, 30 (10) : 727-736.
- [18] 邱东茹, 吴振斌, 贺锋. 内分泌扰乱化学品对动物的影响和作用机制 [J] . 环境科学研究, 2000, 13 (6) : 52-55.
- [19] JAMES-TODD T, STAHLHUT R, MEEKER JD, et al. Urinary phthalate metabolite concentrations and diabetes among women in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008 [J] . Environ Health Perspect, 2012, 120 (9) : 1307-1313.
- [20] STAHLHUT RW, VAN WIJNGAARDEN E, DYE TD, et al. Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult U.S. males [J] . Environ Health Perspect, 2007, 115 (6) : 876-882.
- [21] SUN Q, CORNELIS MC, TOWNSEND MK, et al. Association of urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites with risk of type 2 diabetes : a prospective investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII cohorts [J] . Environ Health Perspect, 2014, 122 (6) : 616-623.
- [22] CHEN SY, HWANG JS, SUNG FC, et al. Mono-2-ethylhexyl phthalate associated with insulin resistance and lower testosterone levels in a young population [J] . Environ Pollut, 2017, 225 : 112-117.
- [23] KATARIA A, LEVINE D, WERTENTEIL S, et al. Exposure to bisphenols and phthalates and association with oxidant stress, insulin resistance, and endothelial dysfunction in children [J] . Pediatr Res, 2017, 81 (6) : 857-864.
- [24] EU risk assessment [EB/OL] . [2018-10-08] . <https://www.plasticisers.org/regulation/eu-risk-assessments/>.
- [25] TANG Q, LI X, SONG P, et al. Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening : developments in research and prospects for the future [J] . Drug Discov Ther, 2015, 9 (6) : 380-385.
- [26] DEL PRATO S. 胰岛素早期分泌时相的丧失与餐后高血糖 [J] . 国外医学内分泌学分册, 2003, 23 (3) : 153-154.
- [27] TORNHEIM K. Are metabolic oscillations responsible for normal oscillatory insulin secretion? [J] . Diabetes, 1997, 46 (9) : 1375-1380.
- [28] 张家庆. 新的HOMA-IR——从空腹血糖、空腹胰岛素测胰岛素抵抗 [J] . 中华糖尿病杂志, 2005, 13 (4) : 245-246.
- [29] SUN X, LIN Y, HUANG Q, et al. Di (2-ethylhexyl) phthalate-induced apoptosis in rat INS-1 cells is dependent on activation of endoplasmic reticulum stress and suppression of antioxidant protection [J] . J Cell Mol Med, 2015, 19 (3) : 581-594.
- [30] KIM JH, PARK HY, BAE S, et al. Diethylhexyl phthalates is associated with insulin resistance via oxidative stress in the elderly : a panel study [J] . PLoS One, 2013, 8 (8) : e71392.
- [31] RAJESH P, SATHISH S, SRINIVASAN C, et al. Phthalate is associated with insulin resistance in adipose tissue of male rat : role of antioxidant vitamins [J] . J Cell Biochem, 2013, 114 (3) : 558-569.

(英文编辑 : 汪源 ; 编辑 : 汪源 ; 校对 : 王晓宇)