

母鼠金雀异黄素干预对雄性子代大鼠肥胖的影响

郭纪鹏, 张云波, 董晋, 张啸, 董新文, 那晓琳

摘要:

[目的] 研究母鼠金雀异黄素干预对雄性子代大鼠肥胖的影响。

[方法] 选用性成熟雌性大鼠, 受孕后在孕期及哺乳期均给予不同剂量的金雀异黄素干预, 并设立对照组。干预组母鼠采用添加金雀异黄素的饲料喂饲, 剂量分别为 3 600、1 200、400 mg/kg。子鼠断乳后采用未添加金雀异黄素的饲料喂饲, 直至 8 周末。实验期间每周观察雄性子鼠的体重; 实验结束后测定大鼠身长计算 Lee's 指数, 留取脂肪组织, 计算脂肪脏器系数, 分离血清进行血脂、血糖、胰岛素和炎症因子的检测。

[结果] 实验 8 周末, 与对照组相比: 3 600 mg/kg 组子鼠体重降低 ($P=0.028$)、高密度脂蛋白升高 ($P=0.038$), 3 600 mg/kg 组和 1 200 mg/kg 子鼠组 Lee's 指数、总脂肪湿重、血糖水平降低 ($P=0.031$, $P=0.049$; $P=0.009$, $P=0.016$; $P=0.033$, $P=0.026$)。实验组子鼠胰岛素、炎症因子未发生明显变化。

[结论] 孕期及哺乳期金雀异黄素干预, 可以降低雄性子鼠肥胖的发生。

关键词: 金雀异黄素; 子代; 雄性; 体重

引用: 郭纪鹏, 张云波, 董晋, 等. 母鼠金雀异黄素干预对雄性子代大鼠肥胖的影响[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(5): 441-444.
DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16629

Effect of maternal genistein intervention on obesity of male offspring rats GUO Ji-peng, ZHANG Yun-bo, DONG Jin, ZHANG Xiao, DONG Xin-wen, NA Xiao-lin (Environmental Health Department, School of Public Health, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150081, China). Address correspondence to NA Xiao-lin, E-mail: naxiaolin1495@sohu.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To examine the potential effect of maternal genistein intervention on obesity of male offspring rats.

[Methods] Mature female rats were given different doses of genistein (3 600, 1 200, and 400 mg/kg feed, respectively) during pregnancy and lactation. A control group fed without genistein was set up. Offspring rats after weaning were fed no-genistein diet for eight weeks. The body weight of male offspring rats was observed once a week during the experiment. Lee's index and ratio of fat/body weight were calculated after the experiment. Blood lipid, blood glucose, insulin, and inflammatory factors in serum samples were detected.

[Results] After eight weeks, compared with the control group, the male offspring rats following maternal 3 600 mg/kg genistein treatment showed reduced body weight ($P=0.028$) and increased high-density lipoprotein cholesterol ($P=0.038$); those following maternal 3 600 mg/kg and 1 200 mg/kg genistein treatment showed decreased Lee's index, total wet weight of fat, and blood glucose ($P=0.031$, $P=0.049$; $P=0.009$, $P=0.016$; $P=0.033$, $P=0.026$). No obvious changes in insulin and cytokines were found in the offspring rats with maternal genistein treatment.

[Conclusion] Maternal genistein intake during pregnancy and lactation could reduce the occurrence of offspring obesity.

Keywords: genistein; offspring; male; weight

• 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号: 81202190); 黑龙江省卫生厅课题(编号: 2012-768); 哈尔滨医科大学创新科学研究基金项目(编号: 2016JCZX21)

[作者简介] 郭纪鹏(1990—), 男, 硕士生; 研究方向: 环境内分泌干扰物; E-mail: guojipeng90@163.com

[通信作者] 那晓琳, E-mail: naxiaolin1495@sohu.com

[作者单位] 哈尔滨医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081

Citation: GUO Ji-peng, ZHANG Yun-bo, DONG Jin, et al. Effect of maternal genistein intervention on obesity of male offspring rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(5): 441-444. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16629

随着经济水平的迅猛发展,高脂血症及肥胖的患病率日益增加。肥胖是糖尿病、高血压等疾病的重要危险因素,所以预防和干预肥胖的发生一直是关注的热点。以往的研究多关注成年期饮食因素对肥胖发生的影响,然而近年来国内外大量的研究发现生命早期膳食干预与成年肥胖的发生存在明显的联系。如李方芳等^[1]研究发现,生命早期肠道微生物生态学的变化可以导致儿童及成人肥胖的发生。赵文华等^[2]也发现,生命早期食物供应不足及营养不良可能会使成年后患超重和肥胖的危险性增加。Zheng等^[3]发现,生命早期果糖的摄入与成年后的肥胖和代谢综合症的发生存在必然的联系。

金雀异黄酮作为一种环境内分泌干扰物,存在于大豆的活性成分异黄酮中。近年来,许多研究表明金雀异黄酮具有抗氧化、抗癌、预防骨质疏松症、预防心血管疾病、改善妇女更年期症状等诸多生理功能。动物实验和流行病学调查发现,金雀异黄酮可以预防和治疗成年或老年肥胖,而生命早期金雀异黄酮干预对子代肥胖发生的影响资料比较缺乏。研究表明外源性雌激素的补充可能会对雄性激素的合成分泌产生抑制,并且会加剧脂肪堆积,从而引起肥胖的发生。

本研究以孕鼠为研究对象,在其孕期及哺乳期喂饲不同剂量的金雀异黄酮,观察对雄性子鼠肥胖发生的影响,为金雀异黄酮的新功能研究提供实验室依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

金雀异黄酮,纯度=98.34%(西安奥泽,中国); 7100型全自动生化分析仪(日立,日本);血糖试纸(台湾泰博,中国);胰岛素、白细胞介素-6(IL-6)和C反应蛋白(CRP)检测试剂盒(北京北方,中国)。饲料(北京科澳协力饲料,中国),不含豆粕,高脂,其配方如下(以1kg饲料计):玉米淀粉470g,酪蛋白140g,蔗糖100g,玉米油40g,猪油150g,纤维素50g,混合矿物质35g,混合维生素10g,L-胱氨酸1.8g,猪胆盐2.5g。

1.2 实验动物及分组

SPF级SD大鼠,雌性体重为180~220g,雄性体重为250~300g。购自北京维通利华实验动物中心[许可证号SCXK(京)2012-0001],饲养于哈尔滨医科大学动物实验中心,清洁级动物房饲养,温度为 $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。实验室适应1周后随机分为4组(每组雌鼠8只,雄鼠4只)按雌雄比例为2:1合笼。每日早晨给予更换纯净水、托盘和垫料。通过观察阴栓来判断雌鼠受孕情况。母鼠自由摄食含不同剂量金雀异黄酮的饲料直至断乳后,子鼠自由摄食不含金雀异黄酮的饲料直至8周龄。各剂量组饲料的配制如下:低剂量组(G400),中剂量组(G1200),高剂量组(G3600),分别在每千克饲料中混入金雀异黄酮400,1200,3600mg。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 雄性子鼠体重、体长、Lee's指数、脂肪湿重的测定 实验期间每周称量雄性子鼠体重;实验结束后取雄性子鼠睾丸周围、肾周及腹膜后脂肪进行称重,计算脂肪系数。公式为:Lee's指数= $\sqrt[3]{\text{体重(g)} \times 1000 / \text{体长(cm)}}$ 。脂肪脏器系数=(脂肪总湿重/体重)×100%。

1.3.2 血清学指标检测 采集动脉血,644×g离心10min分离血清,全自动生化分析仪分析血液中血糖、总胆固醇(TC)、总三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的水平,放免法进行血液中胰岛素和炎症因子(IL-6、CRP)的检测。

1.4 统计学分析

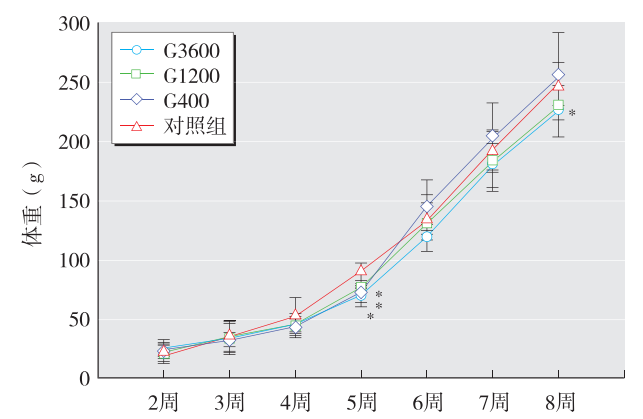
本研究采用随机区组设计,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用SPSS 13.0软件处理,多组间的比较采用方差分析(one-way ANOVA),与对照组比较采用Dunnett-t法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 体重

前4周龄的雄性子鼠体重无明显差异。从第5周开始,与对照组相比,G3600与G1200金雀异黄酮组子鼠体重均有所降低($P=0.035$, $P=0.046$)。随着时间的推移,与对照组相比,G400组子鼠体重有升高的趋

势,而G3600与G1200组子鼠体重仍然保持降低的趋势。实验8周末,与对照组相比,G3600组雄性子鼠的体重明显降低($P=0.028$)。见图1。



[注]*: 与对照组比较, $P<0.05$ 。

图1 母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠体重的影响

2.2 内脏脂肪

实验8周末,与对照组相比,G3600和G1200组雄性子鼠Lee's指数($P=0.031$, $P=0.049$)和总脂肪湿重($P=0.009$, $P=0.016$)明显降低,脂肪脏器系数无明显变化。见表1。

表1 母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠内脏脂肪积累的影响 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)						
组别	Lee's指数	脂肪湿重(g)			脂肪脏器系数(%)	
		睾周	肾周	合计		
G3600	259.93 $\pm$ 9.08*	4.35 $\pm$ 0.83	3.94 $\pm$ 1.28	8.29 $\pm$ 1.12*	2.15 $\pm$ 0.37	
G1200	267.45 $\pm$ 9.36*	4.59 $\pm$ 1.24	3.99 $\pm$ 0.92	8.58 $\pm$ 1.04*	2.15 $\pm$ 0.51	
G400	285.16 $\pm$ 14.71	6.28 $\pm$ 1.19	5.13 $\pm$ 1.26	11.41 $\pm$ 1.53	2.17 $\pm$ 0.46	
对照组	276.23 $\pm$ 12.35	5.46 $\pm$ 1.08	4.79 $\pm$ 1.34	10.25 $\pm$ 1.28	2.23 $\pm$ 0.39	

[注]*: 与对照组比较, $P<0.05$ 。

2.3 血脂

实验8周末,与对照组相比,G3600组雄性子鼠血液中HDL-C水平明显升高($P=0.038$),其他血脂指标如TC、TG和LDL-C结果均无统计学意义。见表2。

表2 母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠血脂水平的影响 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$, mmol/L)				
组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
G3600	1.45 $\pm$ 0.56	0.48 $\pm$ 0.13	0.32 $\pm$ 0.05*	0.68 $\pm$ 0.25
G1200	1.70 $\pm$ 0.40	0.56 $\pm$ 0.15	0.31 $\pm$ 0.06	0.67 $\pm$ 0.18
G400	1.66 $\pm$ 0.59	0.45 $\pm$ 0.09	0.28 $\pm$ 0.06	0.61 $\pm$ 0.24
对照组	1.58 $\pm$ 0.44	0.43 $\pm$ 0.11	0.26 $\pm$ 0.05	0.61 $\pm$ 0.26

[注]*: 与对照组比较, $P<0.05$ 。

2.4 血糖、胰岛素和炎症因子

实验8周末,与对照组相比,G3600和G1200组雄性大鼠血糖水平明显降低($P=0.033$, $P=0.026$),血液中胰岛素、IL-6和CRP水平并没有明显变化。见表3。

表3 母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠血糖、胰岛素及炎症因子的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)				
组别	血糖(mmol/L)	胰岛素(mIU/L)	IL-6(ng/L)	CRP(mg/L)
G3600	7.95 $\pm$ 2.57*	56.77 $\pm$ 14.61	56.24 $\pm$ 29.38	0.08 $\pm$ 0.04
G1200	7.48 $\pm$ 0.96*	57.28 $\pm$ 12.22	54.07 $\pm$ 14.58	0.10 $\pm$ 0.08
G400	9.70 $\pm$ 2.20	52.81 $\pm$ 20.63	73.56 $\pm$ 23.27	0.08 $\pm$ 0.03
对照组	10.05 $\pm$ 1.89	64.43 $\pm$ 16.46	66.80 $\pm$ 30.59	0.08 $\pm$ 0.04

[注]*: 与对照组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

本研究拟探讨母鼠在高剂量金雀异黄素干预下,其雌激素效应对雄性子鼠肥胖的影响,因此选用的干预剂量较高。研究采用混入饲料喂饲的方式进行干预,更加接近人类的接触方式。

研究发现,从第5周开始,高剂量和中剂量的金雀异黄素干预可以降低雄性子鼠体重。到第8周,高剂量的金雀异黄素仍然有降低雄性子鼠体重的作用,同时可以降低Lee'指数。国内外很多学者都研究过金雀异黄素对体重的影响,其中受试对象包括成年大鼠、肥胖大鼠、去势大鼠以及其他动物模型。孙晓溪等^[4]研究发现,高剂量金雀异黄素摄入可明显降低雌鼠与雄鼠体重,且随着剂量增加体重明显下降。Su等^[5]发现,使用分离大豆蛋白喂养的雌性大鼠后代体内含有较高水平的金雀异黄素,且体重和腹部脂肪重量降低。Simperova等^[6]研究也发现,ob/ob雌性大鼠喂食含金雀异黄素600mg/kg饲料干预4周后,体重增长速度明显低于对照组。而关于母体金雀异黄素干预对子代大鼠肥胖的影响的研究却很少。Strakovsky等^[7]研究发现,SD大鼠孕期喂食金雀异黄素剂量为50mg/kg饲料的混合饲料,可增加雌性子鼠的脂肪瘦肉质量比,降低雌性子鼠的脂肪纤维周长,对于雄性子鼠无明显影响。本研究结果与其不同的原因可能是:(1)干预剂量不同。本研究选取的干预剂量较高。(2)干预的方式不同。本研究采用混入饲料喂饲的方式,而Strakovsky等研究采用的是灌胃方法进行干预。

高密度脂蛋白作为一种冠心病的保护因子,可以预防动脉粥样硬化。本研究发现高剂量组雄性子鼠血液中HDL-C水平升高,提示高剂量的金雀异黄素可以调节血脂水平,改善血脂代谢。刘楠梅等^[8]研究

发现金雀异黄素可改善糖尿病大鼠的糖脂代谢紊乱。Goodman-Gruens^[9]研究发现金雀异黄素可以降低胰岛素对口服葡萄糖负荷反应,改善胰岛素敏感性。这与我们所得实验结果基本一致。高剂量和中剂量金雀异黄素干预可降低雄性子鼠血糖水平,提示金雀异黄素在一定程度上可以调节血糖水平。

肥胖被公认为是一种慢性低度炎症状态,脂肪组织中的巨噬细胞被认为是炎症的重要来源。巨噬细胞可以通过分泌促炎因子如CRP, IL-6等促进炎症反应的发生,从而引发肥胖^[10]。本研究发现,各剂量组雄性子鼠的炎症因子水平无改变,提示此剂量的母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠的肥胖的影响并非通过炎性反应引发。

本研究针对母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠肥胖的影响进行了初步探讨,发现高剂量的金雀异黄素可以明显影响雄性子鼠肥胖的发生,包括降低雄性子鼠的体重、Lee's指数、总脂肪湿重,同时改善血糖水平和血脂水平,但其对肥胖影响的机制并未阐明。生命早期膳食干预可以程序性地影响成年肥胖的发生,表观遗传学是近年来比较热门的研究肥胖相关疾病的方法。因此,进一步阐明母鼠金雀异黄素干预对雄性子鼠肥胖发生的机制,对于人类肥胖干预研究有指导意义。

参考文献

- [1] 李方芳, 张琳. 婴儿生命早期肠道微生态学变化与远期肥胖发生风险[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(7): 506-509.
- [2] 赵文华, 杨正雄, 翟屹, 等. 生命早期营养不良对成年后超重和肥胖患病危险影响的研究[J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(8): 647-650.
- [3] Zheng J, Feng Q, Zhang Q, et al. Early Life Fructose Exposure and Its Implications for Long-Term Cardiometabolic Health in Offspring[J]. *Nutrients*, 2016, 8(11): pii: E685.
- [4] 孙晓溪, 张云波, 郭纪鹏, 等. 生育期金雀异黄素干预大鼠生育能力的影响[J]. 中国医药导报, 2016, 13(3): 4-7.
- [5] Su Y, Shankar K, Simmen RC. Early soy exposure via maternal diet regulates rat mammary epithelial differentiation by paracrine signaling from stromal adipocytes[J]. *J Nutr*, 2009, 139(5): 945-951.
- [6] Simperova A, AL-Nakkash L, Faust JJ, et al. Genistein supplementation prevents weight gain but promotes oxidative stress and inflammation in the vasculature of female obese ob/ob mice[J]. *nutr Res*, 2016, 36(8): 789-797.
- [7] Strakovsky RS, Lezmi S, Flaws JA, et al. Genistein exposure during the early postnatal period favors the development of obesity in female, but not male rats[J]. *Toxicol Sci*, 2014, 138(1): 161-174.
- [8] 刘楠梅, 袁伟杰, 张小瑛, 等. 金雀异黄素对糖尿病大鼠糖脂代谢及肾脏影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2006, 14(1): 64-65.
- [9] Goodman-Gruens D, Kri-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiovascular risk factors in postmenopausal women[J]. *J Nutr*, 2001, 131(4): 1201-1206.
- [10] Sun CH, Li Y, Zhang YB, et al. The effect of vitamin-mineral supplementation on CRP and IL-6: a systemic review and meta-analysis of randomised controlled trials[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2011, 21(8): 576-583.

(收稿日期: 2016-09-21; 录用日期: 2017-01-23)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 陶黎纳)