

双酚 S 干预对妊娠小鼠行为学观察

刘慧伶 胡洁如 李文欣 阿迪亚尔·阿不都艾尼张辉 (通讯作者)

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要: 目的 探讨在双酚 S 干预下妊娠小鼠行为学观察。方法 选择健康清洁、大小等量的 C37 雌性小鼠, 共 50 只, 随机选取 10 只做为正常空白对照组 (A 组) 其余 40 只则干预处理, 从 GD2 开始给予孕鼠含有 BPS 的药物喂养, 至幼鼠出生后 21 d 结束。经过干预处理的母鼠随机分为四组, 每组 10 只, 即阴性对照组 (B 组)、30mg/mL BPS 组 (C 组)、3mg/mL BPS 组 (D 组)、0.3mg/mL BPS 组 (E 组), 检测小鼠一般情况及形态学指标。结果 各组妊娠小鼠水迷宫实验显示, 与 A 组相比, B、C、D、E 组妊娠小鼠搜索平台的时间显著延长, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中 E 组差异最具有统计学意义 ($P < 0.01$); C、D、E 组妊娠小鼠穿越象限的次数和停留的时间明显低于对照组, 且随 BPS 浓度升高过目的象限的次数和停留的时间呈下降趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各组妊娠小鼠旷场实验结果显示, 与 A 组相比, B、C、D、E 组妊娠小鼠的扶壁站立次数显著减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而与 A 组相比, B、C、D、E 组妊娠小鼠的距中央区距离和中央区加速度显著升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 BPS 可致妊娠小鼠神经行为改变, 可能与浓度依赖性相关, 甚至 BPS 可能导致的神经元过早发育。

关键词: 双酚 S; 妊娠小鼠; 水迷宫实验; 旷场实验

双酚 S (bisphenol S, BPS), 化学名 4,4'-二磺酞基二苯酚, 是双酚 A (bisphenol A, BPA) 的结构类似物, 是一种新应用的化学物, 其相关毒性报道表明, BPS 可能具有心脏毒性、致癌性、胚胎发育毒性、神经毒性等^[1]。既往研究表明^[2], 将胚胎斑马鱼暴露于低剂量的 BPS, 会导致斑马鱼幼虫出现过度活跃行为(运动增加)。因此本文从怀孕 2d 开始给予孕鼠含有 BPS 的药物喂养, 探讨妊娠小鼠行为学观察, 了解双酚 S 在神经行为方面存在的影响, 为今后预防双酚 S 提供相应的实验依据。

1. 动物与方法

1.1 实验动物及主要材料

选择健康清洁、大小等量的 C37 雌性小鼠, 共 50 只, 所有小鼠饲养于长沙医学院动物房, 环境温度 22~26℃, 湿度 40%~70%, 实验前小鼠可以自由进食、饮水, 适应环境至少一周后开始实验, 目的是为了稳定正常指标及代谢状况。主要材料: 双酚 S, 聚苯乙烯, 二甲亚砜等。

1.2 方法

1.2.1 小鼠模型的建立

随机选取 10 只做为正常空白对照组 (A 组) 其余 40 只则作为实验组, 按雌雄比例 2 : 1 合笼, 第 2 d 8:00 检查雌鼠阴栓, 发现有阴栓当天定为怀孕 1 d (GD1), 从 GD2 开始给予孕鼠含有 BPS 的药物喂养, 至幼鼠出生后 21 d 结束。为了尽量减少实验处理之外的 BPA 暴露, 我们使用聚苯乙烯鼠笼饲养动物, 根据剂量采用药物饲养。

1.2.2 动物分组级处理

将造模成功的母鼠随机分为四组, 每组 10 只, 即阴性对照组 (B 组)、30mg/mL BPS 组 (C 组)、3mg/mL BPS 组 (D 组)、0.3mg/mL BPS 组 (E 组), 随机抽取 10 只为阴性对照组, 将玉米油注入母鼠饲料中喂养。将 BPS 溶于二甲亚砜, 配置成母液 30mL, 将母液定容至 10mL (1.5mg/mL), 再用稀释, 最终配置成 0.3mg/mL 的应用液, 将应用液注入小鼠饲料中。

1.3 形态学检测指标

1.3.1 水迷宫实验

将小鼠头朝池壁放入水中, 记录母鼠找到水下平台的时间 (s); 若小鼠找到水下平台的时间超过 60s, 则引导小鼠找到水下平台。让动物在平台上逗留 10s, 每只小鼠每天训练 4 次。记录小鼠找到平台时间和穿越象限数及停留时间。

1.3.2 旷场实验

安静环境下, 将一组小鼠放入箱内底面中心, 同时进行摄像和计时。观察 3~5min 后, 清洗方箱内壁及底面, 重复以上实

验三次。换另一组小鼠进行以上实验, 记录小鼠在箱内行为的扶壁站立次数、距中央区距离和中央区加速度等数据。

1.4 数据处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析。

2 结果

2.1 小鼠一般情况

妊娠小鼠生长发育状况良好, 毛色正常, 实验阶段均无疾病、感染和死亡现象。且 C、D、E 组与 B 组相比, 体重、摄食量和饮水量差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

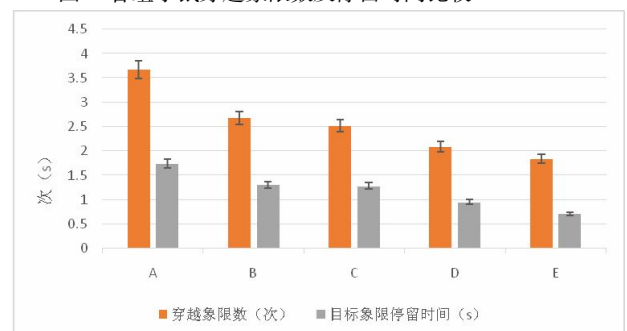
2.2 各组妊娠小鼠水迷宫实验情况

结果显示, 与 A 组相比, B、C、D、E 组妊娠小鼠搜索平台的时间显著延长, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中 E 组差异最具有统计学意义 ($P < 0.01$); C、D、E 组妊娠小鼠穿越象限的次数和停留的时间明显低于对照组, 且随 BPS 浓度升高过目的象限的次数和停留的时间呈下降趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 具体见表 1 图 1。

表 1 各组妊娠小鼠水迷宫实验比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (只)	找到平台时间 (s)	穿越象限数 (次)	目标象限停留时间 (s)
A	10	13.25 ± 4.12	3.67 ± 0.12	1.74 ± 0.05
B	10	30.15 ± 4.22	2.68 ± 0.15	1.30 ± 0.03
C	10	29.33 ± 4.37	2.52 ± 0.11	1.28 ± 0.03
D	10	33.54 ± 4.61	2.09 ± 0.17	0.95 ± 0.04
E	10	37.64 ± 4.29	1.84 ± 0.09	0.71 ± 0.06

图 1 各组小鼠穿越象限数及停留时间比较



2.3 各组妊娠小鼠旷场实验结果情况

结果显示, 与 A 组相比, B、C、D、E 组妊娠小鼠的扶壁站立次数显著减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而与 A 组相比, B、C、D、E 组妊娠小鼠的距中央区距离和中央区加速

度显著升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 C、D、E 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。具体见表 2。

表 2 各组妊娠小鼠旷场实验比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(只)	扶壁站立数 (次)	距中央区距离 (cm)	中央区加速度 (cm/s^2)
A	10	18.46 ± 6.21	51.23 ± 10.27	246.15 ± 42.60
B	10	12.78 ± 6.56	54.97 ± 10.32	712.03 ± 64.52
C	10	12.63 ± 6.34	54.85 ± 11.19	705.38 ± 66.37
D	10	11.44 ± 6.18	56.05 ± 10.40	812.55 ± 65.33
E	10	10.31 ± 6.25	58.16 ± 10.35	883.12 ± 69.72

3 讨论

双酚 S(BPS)是双酚类化合物的一种, 是生产聚碳酸酯塑料和环氧树脂的主要成分, 生产量大且用途广泛, 目前在河流、沉积物、土壤等环境介质和人体内均能检出^[1]。已有研究表明^[2], 双酚 S 具有急性毒性、内分泌干扰效应、神经毒性、生殖与发育毒性、心血管毒性、细胞与基因毒性与潜在的致癌性等。相关研究表明^[3], BPS 可下调斑马鱼幼鱼早期神经发育相关基因的表达和诱导氧化损伤, 最终导致斑马鱼脑部神经细胞的凋亡。Kim B^[4]在研究指出, 对处于妊娠期的 CD1 雌性小鼠注射 0.2mg/kg/d BPS, 可观察到雄性后代焦虑行为增加。其机理可能与 BPS 处理的 FO 在中央内侧视前区(MPOA)的尾部亚区, 水坝具有剂量依赖性的 ESR1 表达增加。目前, BPS 的机制研究虽然仍在探索阶段, 但是以上证据足以表明, BPS 也能造成许多负面影响。因此更加关注在神经发育方面存在的影响, 经过本文研究表明, BPS 在一定程度上可致妊娠小鼠神经行为改变,

可能与浓度依赖性相关, 甚至 BPS 可能导致的神经元过早发育。

参考文献:

[1]李明,高文晖,余建龙等.双酚类化合物促进乳腺癌细胞增殖活性的研究[J].毒理学杂志,2021,35(03):179-183+192.

[2]王英红,徐虹,孔庆鑫等.双酚 S 急性暴露对斑马鱼胚胎及子代胚胎发育的毒性效应[J].中国卫生检验杂志,2019,29(01):32-36.

[3]Liao C,Liu F,Kannan K.Bisphenol S, a new bisphenol analogue,in paper products and currency bills and its association with bisphenol a residues[J].Environmental Science & Technology,2012,46 (12): 6515-6522

[4]Naderi M, Wong M Y, Gholami F. Developmental exposure of zebrafish (Danio rerio) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults [J] . Aquat Toxicol, 2014, 148 : 195-203.

[5]Kim B, Colon E, Chawla S, et al. Endocrine disruptors alter social behaviors and indirectly influence social hierarchies via changes in body weight[J].Environmental health: a global access science source, 2015,14:64.

第一作者: 刘慧伶, 女, 汉族, 本科在读, 临床医学专业
通讯作者: 张辉, 男, 汉族, 博士, 助教, 研究方向: 脑卒中

项目基金: 2022 年湖南省大学生创新训练计划项目, 湘教通 (2022) 174 号-4591