•研究论文•

DOI: 10.16801/j.issn.1008-7303.2019.0027

高效氯氰菊酯对小鼠卵巢生殖功能的影响及 维生素 E 的干预作用

吴亚琳, 王欧婷, 徐玉薇, 张莎莎, 安秀秀, 魏学良*

(西南大学 动物科技学院,重庆 400715)

摘 要:为探究高效氯氰菊酯 (beta-cypermethrin, β-CP) 对雌性小鼠卵巢生殖功能的影响及维生 素 E (vitamin E, VE) 的干预作用,将雌性昆白小鼠随机分为 6 组: 空白对照组 (花生油处理)、 β-CP 不同剂量 (10、20、40 mg/kg) 处理组、VE 保护组 (20 mg/kg β-CP+20 mg/kg VE) 和 VE 组 (20 mg/kg VE), 连续灌胃 10 d。灌胃结束后取小鼠卵巢组织, 观察组织结构的病理变化, 采用 免疫组化法、蛋白免疫印迹试验及 RT-PCR 方法检测卵巢中 StAR 蛋白含量及 casp-3、casp-8、 *INH*α和*INH*βB基因mRNA表达的变化。结果显示:与对照相比,10、20和40mg/kg的β-CP处理均使小鼠卵巢组织结构发生了损伤,使组织中 StAR 蛋白的浓度分别降低了 18.8%、 36.3% 和 40.3%, casp-3 基因的表达分别升高了 16.0%、26.7% 和 52.9%, INHα 基因的表达分 别升高了 34.5%、83.6% 和 228.7%, INHBB 基因的表达分别升高了 7.5%、39.2% 和 52.7%; 20 和 40 mg/kg 的 β-CP 处理使得 casp-8 基因的表达分别升高了 27.1% 和 36.7%。上述处理组与 对照组的差异均达显著水平 (P < 0.05)。与 20 mg/kg β-CP 处理组相比,VE 保护组的 StAR 蛋白 含量也显著增多 (P<0.05)。研究表明,β-CP 对小鼠卵巢具有毒性作用,这与β-CP 抑制 StAR 蛋白的合成,上调 casp-3、 casp-8、 $INH\alpha$ 及 $INH\beta B$ 基因的表达有关;添加 VE 对小鼠卵 巢有一定的保护作用,这与 VE 可减弱 β-CP 对 StAR 蛋白合成的抑制作用有关。 关键词:高效氯氰菊酯;小鼠;卵巢;生殖损伤;维生素 E; StAR 蛋白;细胞凋亡基因;抑制素 中图分类号: S481.1; S482.2 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2019)02-0196-08

Influence of *beta*-cypermethrin and intervention effects of vitamin E on reproductive function of mice ovary

WU Yalin, WANG Outing, XU Yuwei, ZHANG Shasha, AN Xiuxiu, WEI Xueliang* (College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: The study was conducted to investigate the influence of *beta*-cypermethrin (β -CP) on ovary reproductive function and the intervention of vitamin E (VE) in mice. Blank control (peanut oil treatment), three different doses of β -CP (10, 20 and 40 mg/kg), protection (20 mg/kg β -CP+20 mg/kg vitamin E) and vitamin E (20 mg/kg) were applied to 6 groups of mice for 10 d continuously. After the treatment, the ovarian tissue was obsoleted to observe the pathological changes of ovarian tissue structure. The changes of StAR protein content, *casp*-3, *casp*-8, *INH* α and *INH* β B gene expression were

收稿日期: 2018-09-01; 录用日期: 2019-01-02.

作者简介:吴亚琳,女,硕士研究生, E-mail: linpu@foxmail.com; *魏学良,通信作者 (Author for correspondence),男,硕士,副研究员,研究方向为生殖调控与环境公害, E-mail: weixueliang2006@163.com

determined by immunocytochemistry, Western blotting and RT-PCR. The results showed that, compared with the control group, the treatment of β -CP at 10, 20 and 40 mg/kg damaged the ovarian tissue in mice, the concentration of StAR protein was reduced by 18.8%, 36.3% and 40.3%, the expression of *casp*-3 was increased by 16.0%, 26.7% and 52.9%, the expression of *INHa* was increased by 34.5%, 83.6% and 228.7%, the expression of *INH\betaB* was increased by 7.5%, 39.2% and 52.7%; the treatment of β -CP at 20 and 40 mg/kg increased the expression of *casp*-8 by 27.1% and 36.7%. There are significant differences between the above treatment groups and control groups (P < 0.05). The concentrarion of StAR protein increased in the protection group compared with the 20 mg/kg β -CP treatment group (P < 0.05). Those results demonstrated that β -CP had a toxic effect on the ovarian tissue of mice, which was caused by the inhibition of StAR protein synthesis by β -CP and the increase in the expression of *casp*-3, *casp*-8, *INHa* and *INH\betaB*. Vitamin E had a protection effect on mice ovarian tissue after, which resulted from the decrease of the inhibit effect of β -CP on StAR protein by vitamin E. **Keywords:** beta-cypermethrin; mice; ovary; reproductive damage; vitamin E; StAR protein; cell apoptosis; inhibin

高效氯氰菊酯 (*beta*-cypermethrin, β-CP, 图式 1) 是人工合成的第二代拟除虫菊酯类杀虫 剂,其活性比氯氰菊酯高 1 倍,具有作用迅速、 杀虫谱广、持效期长、光热稳定以及对眼睛和皮 肤无刺激等优点^[1],已被广泛用于农林业棉铃虫、 菜蚜等害虫的控制^[2-4],也常作为卫生杀虫剂应用 于人类生活环境中^[5-6]。

已有研究表明,氯氰菊酯等拟除虫菊酯类杀 虫剂可导致哺乳动物大脑、肝脏、肾脏和睾丸等 组织和细胞的脂质过氧化,抑制组织和细胞抗氧 化酶的活性^[7-8],影响神经、免疫及生殖等系统的 发育,促使认知障碍的发生等^[9-11],即其同时具有 神经毒性、肝脏毒性、免疫毒性、生殖毒性和基 因毒性^[12-14]。β-CP可在动物的脂肪、皮肤、肝脏、 肾脏、肾上腺、卵巢和脑等组织中蓄积^[15]。Hughes 等研究证明其具有类雌激素作用,广泛使用及其 残留会对动物及人类健康造成危害^[8,16-17]。目前对 于β-CP 毒性的研究多集中在肝肾组织、免疫系统 和雄性生殖系统方面。研究表明,β-CP 可导致多 种水生无脊椎动物和爬行类动物发生氧化应激, 引发肝脏损伤^[18-20]。Wang 等^[7]及 Huang 等^[21]发 现, β-CP 能够引起小鼠巨噬细胞的氧化应激,降 低其生存和吞噬能力,促进细胞的凋亡。Wang 等 发现,灌胃 20 mg/kg 的 β-CP 可明显影响雄性大 鼠睾丸、精囊及副性腺的发育,以及影响生精细 胞和精子的生成^[22]。Hocine 等发现,氯氰菊酯也 可引起妊娠期母鼠及新生仔鼠发生氧化应激^[23]。 维生素 E (vitamin E, VE,图式 1)是一种常见的抗 氧化剂,已明确其可有效缓解氯氰菊酯对大鼠大 脑和肝脏造成的损伤^[24]。本研究拟通过探讨 β-CP 对小鼠卵巢的影响,进而探明 β-CP 对雌性动 物生殖系统的毒性作用,并以 VE 为保护剂,探 究 VE 能否干预 β-CP 对小鼠卵巢的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 小鼠分组及处理 共用 80 只 40 日龄的雌 性昆白小鼠,平均体重约 30 g,由重庆中药研究 所提供。小鼠经适应性饲养 7 d 后随机分为 6 组: 空白对照组 (花生油处理, Control),3 个 β-CP 处 理组 (剂量分别为 10、20 及 40 mg/kg), VE 保护 组 (20 mg/kg β-CP + 20 mg/kg VE) 以及 VE 组



图式 1 β -CP 和 VE 的结构式 Scheme 1 The structural formula of β -CP and VE

(20 mg/kg VE)。每组 10~15 只小鼠, VE 保护组用 VE 灌胃后 1.0 h 再用 β-CP 灌胃,其他组用生理盐 水灌胃后 1.0 h 再用 β-CP 灌胃。连续灌胃处理 10 d 后,采用颈椎脱臼法处死各组小鼠,无菌条件下 采集卵巢。

1.1.2 主要试剂和仪器 高效氯氰菊酯 (betacypermethrin, β -CP) 原药 (南京盼丰生化有限公 司, 纯度 > 99%); 维生素 E (VE)、多聚甲醛及染 色剂伊红 (成都市科龙化工试剂厂,分析纯);市 售金龙鱼牌花生油 (用于溶解β-CP); 冰乙酸 (成 都市科龙化工试剂厂,分析纯);苏木精染液(南 昌雨露实验器材有限公司);磷酸盐缓冲液 (PBS) (中国鼎国生物公司, BF-0011); 二氨基联苯胺 (DAB, 纯度 > 97%)(梯希爱上海化成工业发展有 限公司); RIPA 裂解液 (P0013C)、苯甲磺酰氟 (PMSF, 纯度 > 99%)、5 × SDS-PAGE 蛋白上样缓 冲液 (P0015)、cDNA 第一链合成试剂盒 (D7166) (碧云天生物技术有限公司); Lowry 法蛋白浓度 测定试剂盒 (PC0030)、乙二胺四乙酸 (EDTA,纯 度 > 99.5%) (北京索莱宝科技有限公司); TRNzol 总 RNA 提取试剂 (天根生化科技有限公司, DP405); 0.45 µm 聚偏二氟乙烯膜 (PVDF) (Immobilon-P, 美国密理博公司)。

MDF-382ECN 超低温冰箱 (日本 SANYO 公司); CT15RE 冷冻离心机 (日本日立公司); Direct-Q[™] 5 超纯水制作系统 (美国密理博公司); LDZX-40BI 立式自动电热压力蒸汽灭菌器 (上海申安医疗器械厂); 1/1 000 RS-232II 精密电子天平 (上海精天电子仪器厂, JT201N); XSZ-4GR 电子光学 生物显微镜 (重庆光电仪器有限公司); RM2235B 轮转组织切片机 (德国莱卡公司); PowerPac[™]电泳 及转移设备 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 小鼠卵巢组织结构观察 将小鼠卵巢组 织放入体积分数为10%的中性福尔马林中固定, 冲洗后在70%、80%和90%的乙醇中分别脱水 1.0 h,再经无水乙醇脱水2.0 h;置于二甲苯中进 行透明化处理,最后将组织块浸蜡、包埋、切片 后进行 HE 染色。用显微镜 (200 倍) 观察卵巢组织 结构的变化。

1.2.2 免疫组化法 石蜡切片经常规脱蜡及抗原 热修复(1mmoL/L的EDTA, pH=8.0, 95℃, 15min) 后,用冷水迅速冷却至室温,正常山羊血清封 闭;加入抗 StAR 蛋白抗体 (按体积比 1:500 加入 PBS 稀释后使用),于4℃ 孵育过夜;加入生物素二抗工作液,于37℃ 孵育30 min;用 DAB 显色,经苏木精复染后脱水、透明化和封片,进行显微镜观察。

1.2.3 蛋白免疫印迹试验 取约1g卵巢组织,加入3mL RIPA 裂解液及30 μL PMSF 并充分匀浆,提取组织总蛋白,用 Lowry法^[25]测定蛋白浓度并定量。取约100 μg总蛋白样品,加入SDS-PAGE 凝胶中电泳,分别用5%的SDS-PAGE浓缩胶及12%的SDS-PAGE分离胶进行蛋白的分离;切取所需部分凝胶,将凝胶上的蛋白恒流转至 PVDF 膜,用5%脱脂牛奶封闭后经 PBST 洗膜;抗孵育(抗 StAR 抗体按体积比1:1000稀释)4℃过夜, 37℃ 孵育二抗(按体积比1:1000稀释)1h;常规 PBST 洗膜后用10 mL 0.5%的DAB 溶液染色,拍照记录结果。

1.2.4 RT-PCR 扩增 按照 TRNzol 总 RNA 提取试剂 (TIANGEN) 说明书提取卵巢的总 RNA, 测定其浓度及 A260 nm/A280 nm 值,保存于 -80 ℃。按照反转录试剂盒步骤合成 cDNA,使 用 Taq 酶对内参基因和目的基因进行比对分析。 反应体系为: 10 × Taq Buffer 5 µL,DNA 模板 1 µL,dNTPs (10 mmol/L) 1 µL,上下游引物各 0.5 µL,Taq 酶 1 µL,以 ddH₂O 补齐至 50 µL。扩 增条件为: 95 ℃ 3 min;95 ℃ 30 s,65~67 ℃ 45 s, 72 ℃ 10 s,30 个循环;72 ℃ 5 min。所得产物直 接用于聚丙烯酰胺凝胶电泳分辨 RT-PCR 扩增片 段。引物由上海生工生物技术服务公司合成,序列见表 1。

1.3 统计方法

采用 SPSS 22.0 软件分析数据间差异的显著性 (*P* < 0.05);并采用 Global one-way ANOVAS 分析 各组处理间的相关性,经由 LSD法分析不同组间 的差异。试验数据均为*X*(平均数) ± SE(标准误) (*n* = 10)。

2 结果与分析

2.1 小鼠 β-CP 中毒临床症状

灌胃1d后,3个剂量β-CP处理组小鼠均出现精神沉郁,采食量、活动量下降,少数出现神经症状;3d后症状有所减轻;7d后症状再次出现,小鼠表现出精神萎靡、活动减少、共济失调、震颤、嗜睡及消瘦等症状,尤以40mg/kg处理组最为明显。

| Table 1 RT-PCR primers | | | |
|------------------------|--|--------------------------|-----------------------|
| 基因 Gene | 引物序列 Primer sequence | 产物大小 Product sizes/bp | 参考序列号 Refer number |
| casp-3 | F: 5'-AATCTGACGGTCCTCCTG-3' R: 5'-TCGCCAAATCTTGCTAAT-3' | 198 | NM_009810.3 |
| casp-8 | F: 5'-TGCTTGGACTACATCCCACAC-3' R: 5'-TGCAGTCTAGGAAGTTGACCA-3' | 169 | NM_009812.2 |
| ΙΝΗα | F: 5'-GGTGGGGATCCTGGAATAAG-3' R: 5'-GCACCTGTAGCTGGGAAAAG-3' | 122 | NM_010564.5 |
| ΙΝΗβΒ | F: 5'-TACGTGTGTCCAGAAGTGGC-3' R: 5'-TTCGCCTAGTGTGGGTCAAC-3' | 110 | NM_002193.3 |
| β -actin | F: 5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3' R: 5'-CCAGTTGGTAACAATGCCATGT-3' | 154 | NM_007393.5 |

表 1 RT-PCR 引物

40 mg/kg β-CP 处理组小鼠在灌胃 1 h 后出现 明显中毒症状,主要表现为对外界刺激反应过 敏、流涎、竖毛、乱窜乱抓,进一步出现侧卧扭 曲翻滚、呼吸困难及四肢抽搐等症状,中毒严重 者出现死亡,死亡一般发生在灌胃24h内。随处 理剂量的降低,中毒症状出现时间延长,程度减轻。

2.2 不同浓度 β-CP 对小鼠卵巢结构的影响

取小鼠卵巢制作石蜡切片后进行 HE 染色, 显微镜观察结果见图1。与对照组相比,不同剂 量 β-CP 处理组卵巢细胞胞浆嗜酸性均增强,卵巢 空泡状结构明显,其中尤以 40 mg/kg 处理组最为 明显。



A. 空白对照 (Control); B. 10 mg/kg β-CP; C. 20 mg/kg β-CP; D. 40 mg/kg β-CP; E. 20 mg/kg β-CP + 20 mg/kg VE; F. 20 mg/kg VE; 图 1 高效氯氰菊酯处理后小鼠卵巢组织结构的变化 Fig. 1 Changes of the ovaries histologic structure in mice after β -CP treatment

2.3 不同浓度 β-CP 对 StAR 蛋白合成的影响

StAR 蛋白免疫组化 StAR 蛋白免疫组化 2.3.1 切片的显微观察结果见图 2。在空白对照及各处理 组的卵泡和黄体细胞中都可看到染色颗粒的存 在,且与对照组相比,40 mg/kg β -CP 处理组中含 有染色颗粒的细胞较少,并且颗粒较小,颜色 较浅。

StAR 蛋白浓度 采用蛋白免疫印迹法测 2.3.2 定。以 β -actin 蛋白为内参,使用 Image J 软件分 析蛋白的灰度值,以灰度值的大小代表蛋白的相 对表达水平。测得空白对照组, 10、20 和 40 mg/kg β-CP 处理组, VE 保护组和 VE 组的 StAR 蛋白灰 度值分别为 0.650 7 ± 0.025 7、 0.528 2 ± 0.012 3、 $0.414.8 \pm 0.019.8$, $0.388.5 \pm 0.011.8$, $0.535.3 \pm$



A. 空白对照 (Control); B. 10 mg/kg β-CP; C. 20 mg/kg β-CP; D. 40 mg/kg β-CP; E. 20 mg/kg β-CP + 20 mg/kg VE; F. 20 mg/kg VE.
 图 2 高效氯氰菊酯处理后小鼠卵巢中 StAR 蛋白含量的变化

Fig. 2 Changes of StAR protein content in mice ovaries after β -CP treatment

0.024 9 和 0.681 1 ± 0.024 6。如图 3 所示: 10、 20 和 40 mg/kg β-CP 处理组的 StAR 蛋白浓度均显 著低于空白对照组 (*P* < 0.05),分别降低了 18.8%、 36.3% 和 40.3%; VE 组和对照组差异不显著 (*P* > 0.05),VE 保护组则显著高于 20 mg/kg β-CP 处理 组 (*P* < 0.05)。



2.4 β-CP 对小鼠细胞凋亡基因转录的影响

2.4.1 对 *casp*-3 转录的影响 空白对照组、3 个 剂量 β-CP 处理组、VE 保护组和 VE 组的 *casp*-3 PCR 电泳条带见图 4A, mRNA 表达量灰度值分 别是 1.259 0 ± 0.107 0、1.460 0 ± 0.224 0、1.595 1 ± 0.154 7、1.924 4 ± 0.178 4、1.553 3 ± 0.232 4 和 1.339 3 ± 0.107 4。如图 4C 所示: 随 β-CP 剂量增 加, *casp*-3 mRNA 的表达显著升高 (P < 0.05), 10、20 和 40 mg/kg 处理组分别升高了 16.0%、26.7% 和 52.9%; VE 组和对照组差异不显著 (P > 0.05), VE 保护组和 20 mg/kg β-CP 处理组差异不显著 (P > 0.05)。

2.4.2 对 *casp*-8 转录的影响 空白对照组、3 个 剂量 β-CP 处理组、VE 保护组及 VE 组的 *casp*-8 PCR 电泳条带见图 4A, mRNA 表达量灰度值分别 为 0.919 1 ± 0.003 1、0.947 1 ± 0.001 3、1.168 5 ± 0.001 9、1.256 8 ± 0.002 3、1.084 0 ± 0.000 9 和 0.912 3 ± 0.003 7。如图 4D 所示:随 β-CP 剂量升高, *casp*-8 mRNA 的表达升高,除 10 mg/kg 组与对照组差异不显著外 (P > 0.05),其余 2 组均 显著高于对照 (P < 0.05),分别升高了 27.1% 和 36.7%; VE 组和对照组差异不显著 (P > 0.05), VE 保护组和 20 mg/kg β-CP 处理组差异不显著 (P > 0.05)。

2.5 β-CP 对小鼠抑制素基因转录的影响

2.5.1 对小鼠 INHα mRNA 转录的影响 空白对



A. casp-3、casp-8 及内参 β-actin PCR 电泳条带; B. INHa、INHβB 及内参 β-actin PCR 电泳条带; C. casp-3 mRNA 表达量变化; D. casp-8 mRNA 表达量变化; E. INHa mRNA 表达量变化; F. INHβB mRNA 表达量变化。

A. PCR electrophoretic strips of *casp-3*, *casp-8* and β-actin (reference gene); B. PCR electrophoretic strips of *INHa*, *INHβB* and β-actin (reference gene); C. Changes of *casp-3* mRNA expression; D. Changes of *casp-8* mRNA expression; E. Changes of *INHa* mRNA expression; F. Changes of *INHβB* mRNA expression.

注: 柱上字母不同者表示差异显著 (P < 0.05)。

Note: The different labels indicate that the differences are significant (P < 0.05).

图 4 高效氯氰菊酯处理后小鼠卵巢组织中 casp-3、casp-8、INHα及 INHβB mRNA 表达的变化

Fig. 4 Changes of the expression of *casp-3*, *casp-8*, *INH*α and *INH*βB mRNA in mice ovaries after β-CP treatment

照组、3 个剂量 β-CP 处理组、VE 保护组及 VE 组 的 *INHa* PCR 电泳条带见图 4B, mRNA 表达量灰 度值分别为 0.209 0 ± 0.001 9、0.281 1 ± 0.002 3、 0.383 8 ± 0.004 1、0.687 0 ± 0.000 4、0.636 4 ± 0.003 3 和 0.228 4 ± 0.003 8。如图 4E 所示: 随 β-CP 剂量增加, *INHa* mRNA 的表达显著升高 (*P* < 0.05), 10、20和40 mg/kg处理组分别升高了 34.5%、83.6%和228.7%; VE组和对照组差异不 显著 (*P* > 0.05), VE保护组显著高于 20 mg/kg β-CP处理组 (*P* < 0.05)。

2.5.2 对小鼠 *INHβB* mRNA 转录的影响 空白对 照组、3 个剂量 β-CP 处理组、VE 保护组及 VE 组 的 *INHβB* PCR 电泳条带见图 4B, mRNA 表达 量灰度值分别为 0.934 3±0.006 3、1.004 2±0.003 4、 1.300 2±0.001 8、1.426 6±0.004 2、1.117 8± 0.006 0和 0.976 6±0.003 3。如图 4F 所示:随β-CP 剂量升高, *INHBB* mRNA 的表达显著升高 (*P* < 0.05), 10、20 和 40 mg/kg 处理组分别升高了 7.5%、39.2% 和 52.7%; VE 组和对照组差异不显 著 (*P* > 0.05), VE 保护组显著低于 20 mg/kg β-CP 处理组 (*P* < 0.05)。

3 讨论与结论

由于 β-CP 微溶于水而易溶于油,因此本研究 以花生油作为其溶剂对小鼠进行灌胃处理。结果 表明,经不同剂量的 β-CP 处理后小鼠均表现出了 一定的中毒症状,其中 20 mg/kg 的 β-CP 即可使 小鼠产生明显的毒性反应,而 40 mg/kg 组甚至能 够引起小鼠的死亡,因此本研究所设 VE 保护组 为 20 mg/kg β-CP + 20 mg/kg VE,以期通过对可 造成小鼠明显毒性损伤的中等剂量 β-CP 的干预, 探究 VE 对 β-CP 造成的机体损伤是否具有预防保 护作用。

Zhou 等的研究表明, β-CP 可影响小鼠卵巢的 质量^[26],但本研究发现,各剂量 β-CP 处理组小鼠 卵巢质量与对照组并无显著差异,这可能与本研 究采用的急性毒性试验方法处理周期短有关。通 过制作石蜡切片和 HE 染色,在显微镜下观察小 鼠卵巢组织结构的变化,发现不同剂量处理组与 对照相比,卵巢细胞胞浆嗜酸性均增强,卵巢空 泡状结构明显,其中 40 mg/kg β-CP 处理组尤为明 显,说明 β-CP 对小鼠卵巢组织结构造成了损伤, 即 β-CP 对雌性小鼠生殖系统具有毒性作用。

为探究 β-CP 对雌性生殖系统的影响机制及 VE 的干预作用,本研究进一步从分子水平检测 了β-CP 对与生殖相关的 StAR 蛋白、细胞凋亡相 关基因和抑制素基因表达的影响。有研究表明, β-CP 能够干扰雌性小鼠雌激素与孕激素的平衡, 干扰妊娠周期、胚胎着床率以及子代的发育^[26-27]。 甾体类前体物转移至线粒体是性激素等类固醇激 素合成过程中的限速步骤,而 StAR 蛋白是这一步 骤中的关键调节因子^[28],对类固醇激素的生成速 率具有重要影响^[29]。通过免疫组化和蛋白免疫印 迹试验发现,β-CP 可抑制卵巢组织中 StAR 蛋白 的合成,而 VE 可减弱此抑制作用,表明β-CP 可

能通过抑制 StAR 蛋白的合成,进而影响类固醇激 素的合成,最终影响卵巢的生殖功能,而 VE 可 通过减弱 β-CP 对 StAR 蛋白的影响,从而对卵巢 的生殖功能起到一定的保护作用。卵巢颗粒细胞 的周亡是卵泡闭锁的基本机制, Marettove 的研究 表明, 拟除虫菊酯类农药可影响雌性小鼠的正常 排卵,导致卵泡闭锁,减少卵泡细胞、卵母细胞 和黄体的数量[30]。通过对小鼠卵巢中细胞凋亡基 因 *casp*-3 和 *casp*-8 表达的检测,发现 β-CP 可促 进 *casp-3* 和 *casp-8* 的表达,表明 β-CP 可能通过 对细胞凋亡相关基因的上调,影响卵巢卵泡的正 常发育,促进卵泡发生闭锁,从而对卵巢的生殖 功能造成影响;而添加 VE 对 casp-3 和 casp-8 的 表达无明显影响。抑制素由卵巢颗粒细胞合成并 分泌,直接影响优势卵泡的发育和数量,与卵泡 发育和继续成熟密切相关[31]。通过对抑制素相关 基因 $INH\alpha$ 和 $INH\beta B$ 表达的检测,发现 β -CP 可促 进 $INH\alpha$ 和 $INH\beta B$ 的表达,表明 β -CP 可能还会通 过对抑制素基因的上调,限制优势卵泡的发育和 数量,进而影响卵巢的生殖功能。

综上可见, β-CP 对雌性小鼠的生殖系统具有 毒性作用,可对小鼠卵巢组织结构造成损伤,这 与经 β-CP 处理后小鼠卵巢组织中 StAR 蛋白的合 成减少,以及 casp-3、casp-8、INHa 和 INHβB 基 因表达的上调有关;而 VE 可通过减弱 β-CP 对 StAR 蛋白的影响,从而对卵巢起到一定的保护作用。

参考文献 (Reference):

- YAN Y L, FAN J, LAI Y C, et al. Efficient preparative separation of β-cypermethrin stereoisomers by supercritical fluid chromatography with a two-step combined strategy[J]. J Sep Sci, 2018, 41(6): 1442-1449.
- JIN T, LIN Y Y, JIN Q A, et al. Population susceptibility to insecticides and the development of resistance in *Bactrocera cucurbitae* (Diptera:Tephritidae) [J]. J Econ Entomol, 2016, 109(2): 837-846.
- [3] FRANCO A A, ZANARDI O Z, JACOB C R O, et al. Susceptibility of *Euseius concordis* (Mesostigmata: Phytoseiidae) to pesticides used in citrus production systems[J]. Exp Appl Acarol, 2017, 73(1): 61-77.
- [4] QU Y Y, XIAO D, LIU J J, et al. Sublethal and hormesis effects of *beta*-cypermethrin on the biology, life table parameters and reproductive potential of soybean aphid *Aphis glycines*[J].
 Ecotoxicology, 2017, 26(7): 1002-1009.
- [5] LENG G, BERGER-PREIβ E, LEVSEN K, et al. Pyrethroids used indoor-ambient monitoring of pyrethroids following a pest control operation[J]. Int J Hyg Environ Health, 2005, 208(3): 193-199.
- [6] SCOTT J G, YOSHIMIZU M H, KASAI S. Pyrethroid resistance in

Culex pipiens mosquitoes[J]. Pestic Biochem Physiol, 2015, 120: 68-76.

- [7] WANG X, HE B N, KONG B D, et al. β-Cypermethrin and its metabolite 3-phenoxybenzoic acid exhibit immunotoxicity in murine macrophages[J]. Acta Biochimica Biophysica Sinica (Shanghai), 2017, 49(12): 1083-1091.
- [8] HUGHES M F, ROSS D G, STARR J M, et al. Environmentally relevant pyrethroid mixtures: a study on the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat[J]. Toxicology, 2016, 359-360: 19-28.
- [9] MAURYA S K, MISHRA J, ABBAS S, et al. Cypermethrin stimulates $GSK_3\beta$ -dependent $A\beta$ and p-tau proteins and cognitive loss in young rats: reduced HB-EGF signaling and downstream neuroinflammation as critical regulators[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(2): 968-982.
- [10] BASKAR M K, MURTHY P B. Acute *in vitro* neurotoxicity of some pyrethroids using microelectrode arrays[J]. ToXicology in Vitro, 2018, 47: 165-177.
- [11] AL-HAMDANI N M H, NARASINHACHARY Y H. Endocrine disruptive action of cypermethrin in male mice[J]. Toxicol Environ Health Sci, 2011, 3(2): 69-79.
- [12] CALDERÓN-SEGURA M E, GÓMEZ-ARROYO S, CORTÉS-ESLAVA J, et al. *In vitro* cytotoxicity and genotoxicity of Furia^{*}180 SC (*zeta*-cypermethrin) and Bulldock 125^{*}SC (β-cyfluthrin) pyrethroid insecticides in human peripheral blood lymphocytes[J]. Toxicol Mech Methods, 2018, 28(4): 268-278.
- [13] HUSSIEN H M, ABDOU H M, YOUSEF M I. Cypermethrin induced damage in genomic DNA and histopathological changes in brain and haematotoxicity in rats: the protective effect of sesame oil[J]. Brain Res Bull, 2013, 92: 76-83.
- [14] SEIFERTOVÁ M, ČECHOVÁ E, LLANSOLA M, et al. Determination of selected neurotoxic insecticides in small amounts of animal tissue utilizing a newly constructed mini-extractor[J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(25): 6015-6026.
- [15] YUN X M, HUANG Q C, RAO W B, et al. A comparative assessment of cytotoxicity of commonly used agricultural insecticides to human and insect cells[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2017, 137: 179-185.
- [16] WANG Q, XU L F, ZHOU J L, et al. Antagonism effects of cypermethrin on interleukin-6-induced androgen receptor activation[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2015, 40(1): 172-174.
- [17] MANNA S, BHATTACHARYYA D, MANDAL T K, et al. Repeated dose toxicity of *alfa*-cypermethrin in rats[J]. J Vet Sci, 2004, 5(3):

```
241-245.
```

- [18] WEI K Q, YANG J X. Oxidative damage induced by copper and beta-cypermethrin in gill of the freshwater crayfish *Procambarus* clarkii[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2015, 113: 446-453.
- [19] ZHANG J Y, LIU L L, REN L, et al. The single and joint toxicity effects of chlorpyrifos and *beta*-cypermethrin in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages[J]. J Hazard Mater, 2017, 334: 121-131.
- [20] CHEN L, XU P, DIAO J L, et al. Distribution, metabolism and toxic effects of *beta*-cypermethrin in lizards (*Eremias argus*) following oral administration[J]. J Hazard Mater, 2016, 306: 87-94.
- [21] HUANG F, LIU Q Y, XIE S J, et al. Cypermethrin induces macrophages death through cell cycle arrest and oxidative stressmediated JNK/ERK signaling regulated apoptosis[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6): 885.
- [22] WANG X Z, LIU S S, SUN Y, et al. *Beta*-Cypermethrin impairs reproductive function in male mice by inducing oxidative stress[J]. Theriogenology, 2009, 72(5): 599-611.
- [23] HOCINE L, MERZOUK H, MERZOUK S A, et al. The effects of alpha-cypermethrin exposure on biochemical and redox parameters in pregnant rats and their newborns[J]. Pestic Biochem Physiol, 2016, 134: 49-54.
- [24] GIRAY B, GÜRBAY A, HINCAL F. Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol[J]. Toxicol Lett, 2001, 118(3): 139-146.
- [25] PETERSON G L. A simplification of the protein assay method of Lowry, et al which is more generally applicable[J]. Anal Biochem, 1977, 83(2): 346-356.
- [26] ZHOU Y J, WANG X D, XIAO S, et al. Exposure to *beta*cypermethrin impairs the reproductive function of female mice[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2018, 95: 385-394.
- [27] ZHOU Y J, WANG J H, WANG L Q, et al. Effect of *beta*cypermethrin exposure on embryo implantation in mice[J]. Reprod Toxicol, 2018, 76: 1-11.
- [28] SOCCIO R E, BRESLOW J L. Intracellular cholesterol transport[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(7): 1150-1160.
- [29] TSUCHIYA M, INOUE K, MATSUDA H, et al. Expression of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) and LH receptor in MA-10 cells[J]. Life Sci, 2003, 73(22): 2855-2863.
- [30] MARETTOVA E, MARETTA M, LEGÁTH J. Effect of pyrethroids on female genital system[J]. Anim Reprod Sci, 2017, 184: 132-138.
- [31] DE JONG F H. Inhibin[J]. Physiol Rev, 1988, 68(2): 555-607.