

# 姜黄素对双酚 A 致小鼠卵巢氧化损伤的保护

李倩 张润驰 张锦松 王伟 孙国秀

烟台大学生命科学学院 烟台 264025

**摘要:** 本文旨在研究姜黄素 (CRC) 对双酚 A (BPA) 诱导的小鼠卵巢氧化损伤的保护作用。将 28 日龄雌性小鼠分为对照组、姜黄素组、双酚 A 组和双酚 A 加姜黄素组, 连续灌胃 6 周。收集卵巢, 通过活性氧 (ROS) 水平的检测、卵巢闭锁卵泡的观察以及 3 种关键抗氧化酶表达和活性的测定, 研究姜黄素对双酚 A 诱发的卵巢氧化损伤的保护作用及机制。结果显示, 与对照组相比, 双酚 A 暴露后明显增加了卵巢的活性氧水平, 造成氧化应激, 提高了卵巢中有腔卵泡闭锁比例。与双酚 A 组相比, 双酚 A 和姜黄素共同处理组降低了卵巢的活性氧水平和卵巢中有腔卵泡闭锁比例。双酚 A 暴露降低了卵巢超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 以及过氧化氢酶 (CAT) 的表达和活性, 姜黄素逆转了双酚 A 诱导的 3 种抗氧化酶表达和活性的下降。结果表明, 姜黄素可逆转双酚 A 通过氧化应激造成的卵巢损伤。

**关键词:** 双酚 A; 姜黄素; 氧化应激; 卵巢

**中图分类号:** Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2019) 06-875-08

## Protective Effect of Curcumin against Ovarian Oxidative Damage Induced by Bisphenol A in Mice

LI Qian ZHANG Run-Chi ZHANG Jin-Song WANG Wei SUN Guo-Xiu

*College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264025, China*

**Abstract:** This work is aimed to investigate the protective effect of curcumin (CRC) against ovarian oxidative stress induced by bisphenol A (BPA) in mice. Firstly, in order to explore the appropriate protective concentration of curcumin, 28-day-old female mice were divided into six groups: control group, curcumin (200 mg/kg) group, bisphenol A (10 mg/kg) group, bisphenol A (10 mg/kg) + curcumin (50 mg/kg) group, bisphenol A (10 mg/kg) + curcumin (100 mg/kg) group, and bisphenol A (10 mg/kg) + curcumin (200 mg/kg) group. Then, 28-day-old female mice were divided into four groups: control group, curcumin (100 mg/kg) group, bisphenol A (10 mg/kg) group, and bisphenol A (10 mg/kg) + curcumin (100 mg/kg) group to explore the protective mechanism of curcumin. Corn oil, bisphenol A and/or curcumin were orally administered for six weeks. After treatment, some ovaries were collected to measure reactive oxygen species (ROS) levels and to observe follicular atresia by histological evaluation after hematoxylin-eosin staining. The mRNA

**基金项目** 山东省高等学校科技计划项目 (No. J17KA257);

**第一作者简介** 李倩, 女, 博士研究生; 研究方向: 生殖毒理学; E-mail: ydskysyx@163.com。

收稿日期: 2019-07-04, 修回日期: 2019-09-30 DOI: 10.13859/j.cjz.201906014

expression and activities of antioxidants such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) were also tested. The experimental data were statistically analyzed with variance analysis. The results showed that Bisphenol A exposure increased reactive oxygen species levels and induced ovarian oxidative stress, while co-treatment with curcumin could reverse bisphenol A-induced up-regulation of reactive oxygen species (Table 2). Bisphenol A exposure increased the percentage of atretic antral follicles and co-treatment with curcumin decreased antral follicle atresia (Table 2). Bisphenol A decreased the expression and activities of three key antioxidants, SOD, GPx and CAT. Co-treatment with curcumin could reverse bisphenol A-induced down-regulation of expression and activities of SOD, GPx and CAT (Fig. 2, 3). Therefore, it is possible that bisphenol A induces damage to the ovaries by oxidative stress pathway, and curcumin can reverse the ovary toxicity of bisphenol A to some degree.

**Key words:** Bisphenol A; Curcumin; Oxidative stress; Ovary

双酚 A (bisphenol A, BPA) 为 2, 2-双(4-羟基苯基)丙烷, 是生产多聚碳酸酯和环氧树脂的重要原料, 广泛应用于食品和饮料容器、水管、水杯、牙科密封剂和许多其他家用电器。双酚 A 能从食品和饮料容器、牙科密封剂等浸出而产生毒性。人类在日常生活中经常接触双酚 A, 这使得双酚 A 的安全性问题成为近年来人类健康研究和讨论的焦点。

研究显示, 双酚 A 具有雌激素样作用 (Sohoni 1998)。双酚 A 可损害睾丸的功能, 造成成年雄性动物不育 (El-Beshbishy et al. 2013, Chouhan et al. 2015), 能诱导卵泡闭锁 (Signorile et al. 2012)。双酚 A 结合和激活雌激素受体  $\alpha$  及  $\beta$  是其发挥作用最常涉及的分子机制之一 (Marino et al. 2012)。近年来的研究证明, 双酚 A 的毒性与其诱导产生的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 有关 (Seachrist et al. 2016)。活性氧包括超氧阴离子 ( $O_2^-$ )、羟自由基 ( $OH^\cdot$ ) 和过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 等。在细胞中, 抗氧化防御系统包括三种主要的酶性抗氧化剂: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT), 以及许多非酶性抗氧化剂, 如还原型谷胱甘肽。氧化应激是指机体内活性氧的产生与抗氧化系统之间的平衡失调。过多的活性氧会损害脂质、脂肪酸、蛋白质和氧化脱氧核糖核

酸, 导致细胞膜结构和功能破坏, 酶失活与细胞死亡 (Valko et al. 2007)。

目前关于双酚 A 对人类生殖健康危害的研究主要集中在雄性生殖系统发育、卵母细胞减数分裂等方面, 双酚 A 对卵巢等雌性生殖器官的影响也有报道。Zhang 等 (2012) 证明怀孕小鼠 (*Mus musculus*) 暴露双酚 A 会造成仔鼠卵巢中原始卵泡形成失败。雌性新生羔羊或者小鼠接触双酚 A 后, 两者原始卵泡的募集、卵泡发育的进程以及成年后卵巢功能和发育能力均受到影响 (Rivera et al. 2011, Chao et al. 2012)。双酚 A 不仅可作用于原始卵泡, 也会造成有腔卵泡的闭锁。Peretz 等 (2012) 发现, 双酚 A 通过改变有腔卵泡中的相关细胞周期蛋白, 以及凋亡相关蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白 (bcl-2 associated X protein, Bax) 和 B 淋巴细胞瘤-2 (b-cell lymphoma-2, Bcl-2) 基因的表达而造成细胞周期紊乱, 促进有腔卵泡的闭锁。双酚 A 暴露可引起多囊卵巢综合征和不育 (Fernández et al. 2010)。环境中的双酚 A 暴露降低了多囊卵巢综合征女性的卵巢储备功能 (Zhou et al. 2016)。安全剂量范围内的双酚 A 暴露也降低了刚进入性成熟期小鼠卵巢的储备功能 (曹羽明等 2017)。据报道, 孕期大鼠 (*Rattus norvegicus*) 双酚 A 暴露不仅影响了子代雌性大鼠的生殖功能, 还可影响卵巢中类固醇合成酶的表达, 进而改变卵巢性激素的正常

分泌以及下丘脑-垂体-卵巢轴的正常调节机制(马明月等 2015)。张石磊等(2019)研究表明,双酚 A 处理孕期小鼠后,造成了母鼠产后子宫内膜脱落和卵巢炎性细胞浸润等结构损伤,而菟丝子黄酮对双酚 A 诱导的损伤具有一定的保护作用。

尽管有学者已表明双酚 A 通过雌激素途径造成卵巢毒性(谭艳芳等 2011, 邓政道等 2013, 李昱辰等 2013),而双酚 A 通过氧化应激造成卵巢毒性的研究鲜有报道。虽然 Avci 等(2016)证明双酚 A 能导致卵巢组织氧化应激损伤,但研究仅检测了双酚 A 暴露后脂质氧化损伤后的产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)和一氧化氮(NO)的水平。目前双酚 A 造成卵巢损伤的作用机制尚未充分阐明。

姜黄素(curcumin, CRC)属于天然存在的植物化学物质,是姜黄根状茎的活性成分。作为一种天然的抗氧化剂,姜黄素能否保护卵巢免受双酚 A 诱导的氧化损伤,需要进一步验证。因此,本文进一步深入研究了双酚 A 通过氧化应激造成的卵巢损伤,并探讨了姜黄素对双酚 A 诱导的卵巢氧化损伤的保护作用。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料

21 日龄雌性 SPF 级昆明白小鼠购于烟台绿叶制药有限公司。在烟台大学生命科学学院小鼠房适应性饲养一周。小鼠房室温控制在(20±2)℃,人工光照设置为 14 h 光照和 10 h 黑暗,相对湿度为 60%~70%,自由饮食。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 实验分组** 之前的研究(Li et al. 2014, Zaid et al. 2014)表明,10 mg/kg 剂量的双酚 A (SIGMA 公司)影响了生殖系统的形态结构和生化参数,因此本研究选择双酚 A 的暴露剂量为 10 mg/kg。根据前期实验和参考文献(Wang et al. 2017, Yan et al. 2018)设定姜黄素(SIGMA 公司)的使用剂量为 50 mg/kg、100 mg/kg 和 200 mg/kg。双酚 A 和姜黄素(溶剂

为玉米油)剂量均以小鼠体重计。本实验分为两部分。实验一:探索姜黄素的最适使用剂量。28 日龄雌性小鼠按照每组 8 只分为 6 组:对照组、姜黄素组(200 mg/kg)、双酚 A 组(10 mg/kg)、双酚 A(10 mg/kg)+50 mg/kg 姜黄素组、双酚 A(10 mg/kg)+100 mg/kg 姜黄素以及双酚 A(10 mg/kg)+200 mg/kg 姜黄素组。实验二:研究姜黄素的保护机制。把 28 日龄雌性小鼠按每组 8 只分为 4 组:对照组、姜黄素组(100 mg/kg)、双酚 A 组(10 mg/kg)、双酚 A(10 mg/kg)与姜黄素(100 mg/kg)联合处理组。对照组用玉米油进行灌胃(10 ml/kg);姜黄素组在用玉米油灌胃前 1 h 用姜黄素进行灌胃;双酚 A 组以小鼠体重按 10 mg/kg 剂量进行灌胃;双酚 A 与姜黄素联合处理组在双酚 A(10 mg/kg)灌胃前 1 h 用姜黄素进行灌胃。各组在上午 9:00~10:00 时灌胃一次,每次灌胃前称量体重,并按 10 ml/kg 溶液连续灌胃 6 周。最后一次灌胃后 24 h,通过颈椎脱臼法处死所有小鼠。收集实验一中各组小鼠的左侧卵巢,用中性福尔马林溶液固定后用于切片,以苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, H.E)(南京建成生物工程研究所)染色;收集实验一中各组小鼠的右侧卵巢及实验二中各组小鼠的卵巢,立即用液氮冷冻,然后储存在-80℃冰箱中。

**1.2.2 蛋白质浓度测定** 将保存于-80℃的卵巢组织按 1:9(质量/体积)比例加入预冷的生理盐水,匀浆后离心 10 min(3 500 r/min),取上清液,再用生理盐水按 1:9 稀释成 1%的组织匀浆,用 BCA 试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定蛋白质浓度。

**1.2.3 活性氧检测** 各组每 2 只小鼠的右侧卵巢混合作为一个重复样,利用荧光探针 DCFH-DA 法检测卵巢的活性氧水平。根据活性氧检测试剂盒(碧云天生物科技有限公司)说明进行操作,用酶标仪(Synergy 2)在激发波长 485 nm、发射波长 535 nm 下测定荧光值。

**1.2.4 有腔卵泡闭锁检测** 卵巢用中性福尔

马林溶液固定后, 通过系列酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋, 用切片机 (Leica RM 2235) 连续切片 (5 μm 厚), 每间隔 10 片贴片到载玻片上, 用 H.E 染色, 于光学显微镜 (Leica) 下观察。根据形态学特征确定闭锁卵泡。有腔卵泡包含 5 层或更多层颗粒细胞, 并有明确界线的腔。闭锁有腔卵泡显示超过 10% 的颗粒细胞凋亡, 颗粒细胞排列紊乱, 或者卵母细胞分裂或退化 (Paulose et al. 2012)。

**1.2.5 实时定量 PCR 检测** 各组每 2 只小鼠的左侧卵巢混合作为一个重复样, 用于检测抗氧化酶的表达。利用 Trizol 法提取卵巢总 RNA, 用反转录试剂盒 (TaKaRa 公司) 与寡脱氧胸苷酸引物 (青岛派森诺生物科技股份有限公司) 合成第一链 cDNA, 引物序列见表 1。反转录后, 根据荧光定量试剂盒 (TaKaRa 公司) 说明进行 mRNA 定量测定。用相对荧光值表示 mRNA 相对表达量。各个样本的 mRNA 含量根据各自的 β-肌动蛋白含量进行标准化, 然后以实验组与对照组的 mRNA 含量比值作为相对倍数比。

**1.2.6 抗氧化酶活性测定** 各组每 2 只小鼠的右侧卵巢混合作为一个重复样, 用于检测抗氧化酶的活性。用黄嘌呤氧化酶法测定总超氧化物歧化酶活性, 在 550 nm 处测量吸光度。用 5'-双硫代对硝基苯甲酸 (5, 5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, DTNB) 法测定谷胱甘肽过氧化物酶活性, 在 412 nm 处测量吸光度。利用可见光法测定过氧化氢酶活性, 在 405 nm 处测定吸光度。根据超氧化物歧化酶测定试剂

盒、谷胱甘肽过氧化物酶测定试剂盒以及过氧化氢酶测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 说明进行实验操作。各个样本的抗氧化酶活性用卵巢蛋白质浓度进行标准化, 然后以实验组与对照组的抗氧化酶活性比值作为相对倍数比。

**1.2.7 数据处理** 所有实验至少重复 3 次。数据用平均值 ± 标准误表示。利用 SPSS 16.0 统计软件对各实验组数据进行单因素方差分析。以  $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果

### 2.1 双酚 A 和姜黄素共处理对卵巢活性氧水平的影响

与对照组卵巢相比, 双酚 A 暴露后明显增加了卵巢中的活性氧水平 (表 2)。与双酚 A 单独处理组相比, 双酚 A 和 50、100 以及 200 mg/kg 姜黄素共同处理组的卵巢活性氧水平明显降低, 其中双酚 A 和 100 以及 200 mg/kg 姜黄素共同处理组的卵巢活性氧水平降低到对照组水平 (表 2)。

### 2.2 双酚 A 和姜黄素共处理对卵巢有腔卵泡闭锁的影响

观察卵巢有腔卵泡是否发生颗粒细胞排列紊乱或卵母细胞退化、消失等形态变化 (图 1)。统计分析了各处理组卵巢中闭锁有腔卵泡的总数目。与双酚 A 单独处理组相比, 双酚 A 和 50、100、200 mg/kg 姜黄素共同处理组的卵巢中有腔卵泡闭锁比例明显降低, 其中双酚 A 和 100 或 200 mg/kg 姜黄素共同处理组的卵巢中有腔卵泡闭锁比例降低到对照组水平 (表 2)。

表 1 基因的引物序列

Table 1 Primer sequences of genes

基因 Gene	正引物 (5' - 3') Forward primer	反引物 (5' - 3') Reverse primer
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase, <i>Sod</i>	AAAGCGGTGGCGTGCTGAA	CAGGTCTCCAACATGCCTCT
谷胱甘肽过氧化物酶 Glutathione peroxidase, <i>Gpx</i>	CCTCAAGTACGTCCGACCTG	CAATGTCGTTGCGGCACAC
过氧化氢酶 Catalase, <i>Cat</i>	GCAGATACCTGTGAACTGTC	GTAGAATGTCCGCACCTGA
β-肌动蛋白 Beta actin, <i>β-actin</i>	GGGCACAGTGTGGGTGAC	CTGGCACCACACCTTCTAC

表 2 双酚 A 和姜黄素共处理对卵巢活性氧水平和有腔卵泡闭锁的影响

Table 2 Effects of bisphenol A and curcumin cotreatment on reactive oxygen species levels and atretic antral follicle rate in mouse ovaries

组别 Groups	活性氧水平 Reactive oxygen species levels	闭锁有腔卵泡比率 Atretic antral follicle rate (%)
对照组 Control group	59.73 ± 3.48 <sup>a</sup>	20.99 ± 1.97 <sup>a</sup>
200 mg/kg 姜黄素组 200 mg/kg curcumin group	56.00 ± 4.03 <sup>a</sup>	19.37 ± 1.2 <sup>a</sup>
双酚 A 组 Bisphenol A group	114.44 ± 8.26 <sup>b</sup>	37.58 ± 2.36 <sup>b</sup>
双酚 A + 50 mg/kg 姜黄素组 Bisphenol A + 50 mg/kg curcumin group	73.18 ± 4.23 <sup>c</sup>	31.30 ± 1.63 <sup>c</sup>
双酚 A + 100 mg/kg 姜黄素组 Bisphenol A + 100 mg/kg curcumin group	61.49 ± 3.12 <sup>a</sup>	23.06 ± 2.16 <sup>a</sup>
双酚 A + 200 mg/kg 姜黄素组 Bisphenol A + 200 mg/kg curcumin group	60.95 ± 4.50 <sup>a</sup>	22.19 ± 2.55 <sup>a</sup>

同列标注字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

Different superscripts in the same column mean significant difference ( $P < 0.05$ ), while the same letters indicate no significant difference ( $P > 0.05$ ).

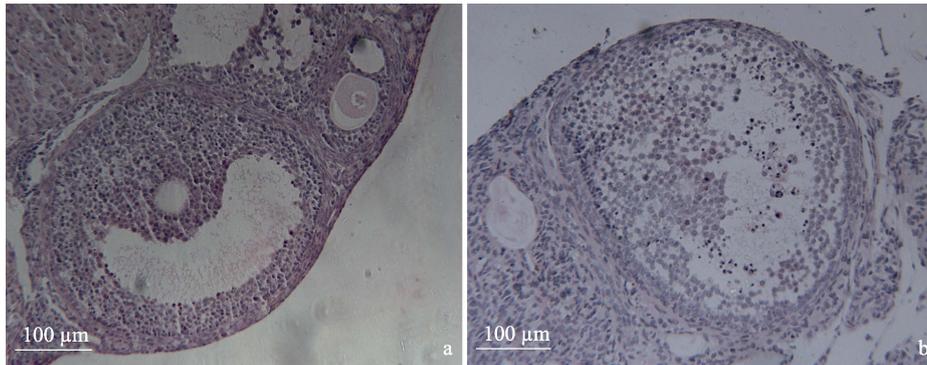


图 1 小鼠正常有腔卵泡 (a) 和闭锁有腔卵泡 (b) (400 ×)

Fig. 1 Normal antral follicles (a) and atretic antral follicles (b) in mice (400 ×)

与双酚 A 单独处理组相比, 在双酚 A 与姜黄素共同作用组中, 当姜黄素的使用剂量为 100 mg/kg 时, 可以明显降低卵巢的活性氧水平和闭锁有腔卵泡比例, 因此在后续实验中, 选择 100 mg/kg 姜黄素, 进一步研究姜黄素对双酚 A 诱导的卵巢氧化损伤的保护作用机制。

### 2.3 双酚 A 和姜黄素共处理对抗氧化酶基因表达的影响

双酚 A 处理组的超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶的 mRNA 水平明显低于对照组 ( $P < 0.05$ )。与双酚 A 单独处理组相比, 双酚 A 和姜黄素共同处理提高了超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢

酶的 mRNA 水平 (图 2)。

### 2.4 双酚 A 和姜黄素共处理对抗氧化酶活性的影响

与对照组相比, 双酚 A 处理组的超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶活性明显降低。而双酚 A 和姜黄素共同处理组中, 三种抗氧化酶的活性明显高于双酚 A 单独处理组 (图 3)。

## 3 讨论

双酚 A 因可增加塑料制品性能, 被广泛应用。在日常生活中, 人们可通过呼吸、饮食和皮肤接触摄入双酚 A。研究发现, 双酚 A 对职

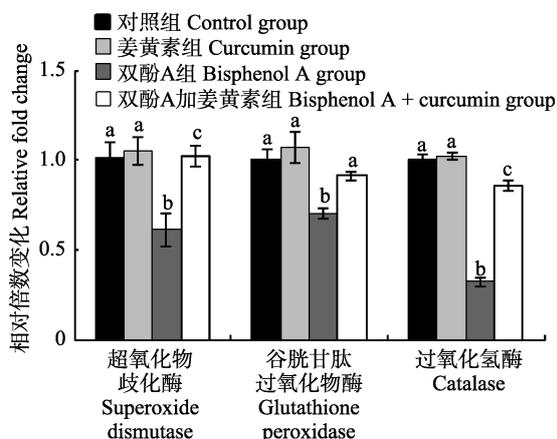


图2 双酚A和姜黄素共处理对卵巢抗氧化酶表达的影响

Fig. 2 Effects of Bisphenol A and curcumin cotreatment on antioxidant enzyme expression in mouse ovaries

柱上标注字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母代表差异不显著 ( $P > 0.05$ ).

Different letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ), while the same superscripts denote no significant difference ( $P > 0.05$ ).

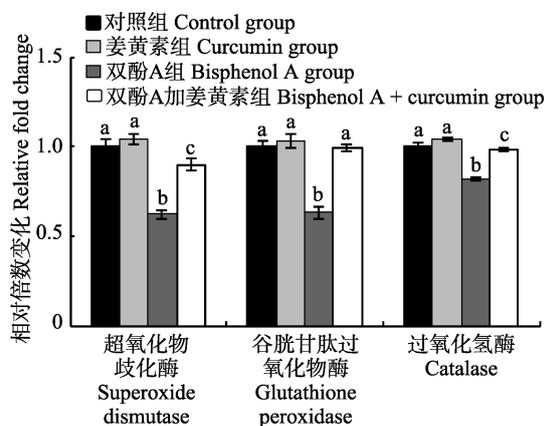


图3 双酚A和姜黄素共处理对卵巢抗氧化酶活性的影响

Fig. 3 Effects of Bisphenol A and curcumin cotreatment on antioxidant enzyme activity in mouse ovaries

柱上标注字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母代表差异不显著 ( $P > 0.05$ ).

Different letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ), while the same superscripts denote no significant difference ( $P > 0.05$ ).

业或非职业暴露人群具有明显毒害作用 (Wang et al. 2012)。由于双酚A是一种烷基酚类雌激素,能够直接与激素受体作用而干扰激素合成,被称为“内分泌干扰物”(Vandenberg et al. 2007)。除了内分泌干扰效应外,双酚A的毒性还与其诱导产生的活性氧有关 (Seachrist et al. 2016)。虽然Avci等(2016)已报道双酚A能导致卵巢组织氧化应激损伤,但双酚A造成卵巢损伤的具体作用机制尚未充分阐明。因此,本研究进一步分析了双酚A对卵巢的氧化损伤,双酚A提高了卵巢的活性氧水平,降低了卵巢超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶 mRNA 的表达和活性,增加了卵巢有腔卵泡闭锁程度。

当氧化剂的产生超过了细胞内抗氧化系统的抗氧化能力时就会产生氧化应激,从而造成活性氧水平增加。任何对抗氧化防御系统的破坏都会导致活性氧的累积,造成氧化应激 (Agarwal et al. 2008)。氧化应激在内分泌干扰物介导的生殖功能失调中起着重要作用,活性氧可作为环境污染物对生物毒性评价的早期标志物 (Valko et al. 2007)。在人和动物模型中,活性氧和抗氧化剂与卵泡发育及卵母细胞成熟的调节有关 (Agarwal et al. 2005)。在本研究中,双酚A处理后小鼠卵巢内活性氧水平升高,说明小鼠卵巢过量生成氧化剂。氧化应激是破坏正常细胞增殖和促进凋亡的一个重要因素,氧化应激可诱导颗粒细胞凋亡,进而引起卵泡闭锁,从而损害卵母细胞质量 (Jewgenow et al. 1999, Corn et al. 2005)。本研究结果也表明,双酚A暴露诱导小鼠卵巢发生氧化应激,进而造成卵泡闭锁数目增加。

超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶在氧化应激过程中起关键作用。超氧化物歧化酶负责把  $O_2^-$  分解为  $H_2O_2$  和  $O_2$ , 然后,过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶将  $H_2O_2$  还原为  $H_2O$  和  $O_2$ 。在本研究中,与对照组相比,双酚A处理组明显降低了超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶 mRNA 的

表达和活性, 并导致活性氧水平升高。目前结果表明, 双酚 A 主要是通过抑制超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶的活性而诱发氧化应激。

姜黄素是中药中广泛使用的一种植物多酚化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗凋亡和抗菌等作用 (Haanpaa et al. 2012)。Wang 等 (2017) 证明, 姜黄素对亚硝酸盐诱导的卵巢氧化损伤具有保护作用。本研究探索了姜黄素对双酚 A 诱导的卵巢损伤的保护作用。研究结果显示, 与双酚 A 单独处理组相比, 姜黄素和双酚 A 共同处理后降低了卵巢的活性氧水平和卵泡闭锁比例, 提高了卵巢超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶 mRNA 的表达和活性。姜黄素降低卵泡闭锁的原因可能是姜黄素通过抗氧化作用, 降低了卵巢的氧化应激, 从而抑制了小鼠卵巢细胞的凋亡 (Voznesens'ka et al. 2010, Aktas et al. 2012)。

总之, 本研究证实了双酚 A 通过降低超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶的表达和活性, 诱发氧化应激, 造成卵巢氧化损伤。而姜黄素降低了双酚 A 诱发的卵巢损伤, 表明姜黄素可能在卵巢氧化应激治疗中具有应用前景。

## 参 考 文 献

- Agarwal A, Gupta S, Sekhon L, et al. 2008. Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10(8): 1375–1403.
- Agarwal A, Gupta S, Sharma R K. 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3: 28.
- Aktas C, Kanter M, Kocak Z. 2012. Antiapoptotic and proliferative activity of curcumin on ovarian follicles in mice exposed to whole body ionizing radiation. *Toxicology and Industrial Health*, 28(9): 852–863.
- Avcı B, Bahadır A, Tuncel O K, et al. 2016. Influence of alpha-tocopherol and alpha-lipoic acid on bisphenol-A-induced oxidative damage in liver and ovarian tissue of rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32(8): 1381–1390.
- Chao H H, Zhang X F, Chen B, et al. 2012. Bisphenol A exposure modifies methylation of imprinted genes in mouse oocytes via the estrogen receptor signaling pathway. *Histochemistry and Cell Biology*, 137(2): 249–259.
- Chouhan S, Yadav S K, Prakash J, et al. 2015. Increase in the expression of inducible nitric oxide synthase on exposure to bisphenol A: a possible cause for decline in steroidogenesis in male mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(1): 405–416.
- Corn C M, Hauser-Kronberger C, Moser M. et al. 2005. Predictive value of cumulus cell apoptosis with regard to blastocyst development of corresponding gametes. *Fertility and Sterility*, 84(3): 627–633.
- El-Beshbishy H A, Aly H A, El-Shafey M. 2013. Lipoic acid mitigates bisphenol A-induced testicular mitochondrial toxicity in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 29(10): 875–887.
- Fernández M, Bourguignon N, Lux-Lantos V, et al. 2010. Neonatal exposure to bisphenol a and reproductive and endocrine alterations resembling the polycystic ovarian syndrome in adult rats. *Environmental Health Perspectives*, 118(9): 1217–1222.
- Haanpaa M, Treede R D. 2012. Capsaicin for neuropathic pain: linking traditional medicine and molecular biology. *European Neurology*, 68(5): 264–275.
- Jewgenow K, Heerdegen B, Muller K. 1999. *In vitro* development of individually matured bovine oocytes in relation to follicular wall atresia. *Theriogenology*, 51(4): 745–756.
- Li Y, Zhang W, Liu J, et al. 2014. Prepubertal bisphenol A exposure interferes with ovarian follicle development and its relevant gene expression. *Reproductive Toxicology*, 44: 33–40.
- Marino M, Pellegrini M, La Rosa P, et al. 2012. Susceptibility of estrogen receptor rapid responses to xenoestrogens: Physiological outcomes. *Steroids*, 77(10): 910–917.
- Paulose T, Tannenbaum L V, Borgeest C, et al. 2012. Methoxychlor-induced ovarian follicle toxicity in mice: dose and exposure duration-dependent effects. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 95(3): 219–224.

- Peretz J, Craig Z R, Flaws J A. 2012. Bisphenol A inhibits follicle growth and induces atresia in cultured mouse antral follicles independently of the genomic estrogenic pathway. *Biology of Reproduction*, 87(3): 63.
- Rivera O E, Varayoud J, Rodriguez H A, et al. 2011. Neonatal exposure to bisphenol A or diethylstilbestrol alters the ovarian follicular dynamics in the lamb. *Reproductive Toxicology*, 32(3): 304–312.
- Seachrist D D, Bonk K W, Ho S M, et al. 2016. A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. *Reproductive Toxicology*, 59: 167–182.
- Signorile P G, Spugnini E P, Citro G, et al. 2012. Endocrine disruptors in utero cause ovarian damages linked to endometriosis. *Frontiers in Bioscience-ladmark (Elite Edition)*, 4: 1724–1730.
- Sohoni P. 1998. Several environmental oestrogens are also anti androgens. *Journal of Endocrinology*, 158(1): 327–339.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1): 44–84.
- Vandenberg L N, Hauser R, Marcus M, et al. 2007. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, 24(2): 139–177.
- Voznesens'ka T, Bryzhina T M, Sukhina V S, et al. 2010. Effect of NF-kappaB activation inhibitor curcumin on the oogenesis and follicular cell death in immune ovarian failure in mice. *Fiziologichnyi Zhurnal*, 56(4): 96–101.
- Wang F, Hua J, Chen M, et al. 2012. High urinary bisphenol A concentrations in workers and possible laboratory abnormalities. *Occupational and Environmental Medicine*, 69(9): 679–684.
- Wang X N, Zhang C J, Diao H L, et al. 2017. Protective Effects of Curcumin against sodium arsenite-induced ovarian oxidative injury in a mouse model. *Chinese Medical Journal*, 130(9): 1026–1032.
- Yan Z, Dai Y, Fu H, et al. 2018. Curcumin exerts a protective effect against premature ovarian failure in mice. *Molecular Endocrinology*, 60(3): 261–271.
- Zaid S S, Othman S, Kassim N M. 2014. Potential protective effect of Tualang honey on BPA-induced ovarian toxicity in prepubertal rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14: 509.
- Zhang H Q, Zhang X F, Zhang L J, et al. 2012. Fetal exposure to bisphenol A affects the primordial follicle formation by inhibiting the meiotic progression of oocytes. *Molecular Biology Reports*, 39(5): 5651–5657.
- Zhou W, Fang F, Zhu W, et al. 2016. Bisphenol A and ovarian reserve among infertile women with polycystic ovarian syndrome. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1): E18.
- 曹羽明, 翟鑫兰, 张铭, 等. 2017. 双酚 A 亚慢性暴露对雌性小鼠储备功能的影响. *中国生殖健康杂志*, 29(3): 212–216.
- 邓政道, 陈汉, 田素雯, 等. 2013. 双酚 A 经口亚急性染毒对雌性小鼠卵巢结构和功能的影响. *环境与职业医学*, 30(8): 619–622.
- 李昱辰, 张文昌, 汪靖. 2013. 未成年大鼠双酚 A 暴露对卵巢发育影响. *中国公共卫生*, 29(1): 84–86.
- 马明月, 张玉敏, 裴秀从, 等. 2015. 孕期暴露双酚 A 对子代雌性大鼠卵巢类固醇激素合成的影响. *工业卫生与职业病*, 41(1): 7–10.
- 谭艳芳, 陈锋, 曾鸣, 等. 2011. 双酚 A 对 SD 大鼠卵巢毒性作用实验研究. *实用预防医学*, 18(4): 606–608.
- 张石磊, 马双, 史万玉, 等. 2019. 双酚 A 对孕鼠子宫、卵巢相关因子的影响及菟丝子黄酮的缓解作用. *中国兽医学报*, 39(2): 337–348.