

论著·临床研究

不同对氧磷酶 1 基因型孕妇有机磷农药暴露与氧化应激水平的相关性

季 麟¹, 茹鲜古丽·艾姆孜^{1,2}, 张 妍¹, 施 蓉¹, 周义军¹, 成晓蒙³, 王雪梅³, 田 英¹, 高 宇¹

1. 上海交通大学 公共卫生学院, 上海 200025; 2. 上海交通大学 医学院附属新华医院环境与儿童健康重点实验室, 上海 200092; 3. 山东省潍坊市滨海经济技术开发区大家洼街道社区卫生服务中心, 潍坊 262737

[摘要] 目的·结合对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, *PON1*) 基因型探讨孕妇有机磷农药 (organophosphate pesticides, OPs) 暴露水平与体内氧化应激水平之间的关系。**方法**·以山东省某医院的 204 名孕晚期妇女为研究对象, 检测尿液中 4 种 OPs 非特异性二烷基磷酸酯代谢产物水平, 测定血清中的氧化应激标志物 [总自由巯基 (-SH)、丙二醛 (MDA)] 水平, 并提取全血中的 DNA 检测 *PON1*₁₀₈、*PON1*₁₉₂、*PON1*₅₅ 位点的基因型。采用多元线性回归模型分析全人群及不同 *PON1* 基因型的个体中 OPs 暴露水平与氧化应激标志物水平之间的关联。**结果**·未见 OPs 暴露与氧化应激之间存在显著关联。但根据 *PON1* 基因型分层后发现在 *PON1*_{192RR} 基因型的孕妇中, 总磷酸二甲酯类水平 [β (95% *CI*): -104.10 (-191.31, -16.88)] 及总二烷基磷酸酯类水平 [β (95% *CI*): -111.78 (-221.84, -1.72)] 与 -SH 水平呈负相关, 而在其他基因型的个体中未发现这一关联。**结论**·OPs 暴露可能与 *PON1*_{192RR} 基因型的孕妇体内氧化应激水平升高有关。

[关键词] 氧化应激; 有机磷农药; 对氧磷酶 1; 孕妇**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.02.011 **[中图分类号]** R126 **[文献标志码]** A

Association between exposure to organophosphate pesticides and levels of oxidative stress in pregnant women with different paraoxonase 1 genotypes

Ji Lin¹, RUXIANGULI Aimuzi^{1,2}, ZHANG Yan¹, SHI Rong¹, ZHOU Yi-jun¹, CHENG Xiao-meng³, WANG Xue-mei³, TIAN Ying¹, GAO Yu¹

1. School of Public Health, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China; 2. MOE and Shanghai Key Laboratory of Children's Environmental Health, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; 3. Community Health Service Center of Dajiaawa Lane, Binhai Economic and Technical Development District, Weifang, Shandong Province, Weifang 262737, China

[Abstract] Objective·To investigate whether paraoxonase 1 (*PON1*) genotypes were effect modifiers in the relationship between exposure to organophosphate pesticides (OPs) and oxidative stress level in pregnant women. **Methods**·A total of 204 pregnant women recruited from a hospital in Shandong Province were included in the study. Four nonspecific dialkyl phosphate (DAP) metabolites of OPs were measured in each urine sample. Levels of two oxidative stress biomarkers [total free sulphhydryl (-SH) and malondialdehyde (MDA)] were measured in serum samples. Blood samples were also analyzed for detecting *PON1* genotypes (*PON1*₁₀₈, *PON1*₁₉₂ and *PON1*₅₅). Separate linear regression models were conducted to explore the relationship between DAP metabolite levels and oxidative stress levels in all 204 pregnant women or women within each *PON1* genotype. **Results**·There was no significant association between DAP metabolite levels and oxidative stress levels in all 204 women. Levels of dimethyl phosphates [β (95% *CI*): -104.10 (-191.31, -16.88)] and dialkyl phosphates [β (95% *CI*): -111.78 (-221.84, -1.72)] were negatively associated with -SH level among pregnant women with *PON1*_{192RR} genotype, but this association was not found among women with other genotypes. **Conclusion**·OP exposure may be associated with a higher oxidative stress level among pregnant women with *PON1*_{192RR} genotype.

[Key words] oxidative stress; organophosphate pesticides; paraoxonase 1; pregnant women

中国是农药的生产及使用大国。杀虫剂在全国农药产量中约占 70%, 而有机磷农药 (organophosphate pesticides, OPs) 在杀虫剂的产量中占 70%^[1]。流行病学研究^[2-6]提示中国孕期妇女 OPs 暴露风险较高, 尿 OPs 代谢产物水平远高于欧美发达国家。已有研究^[7-9]发现 OPs 暴露可在体内引起活性氧 (reactive oxygen species, ROS)

生成增加, 从而造成氧化应激。氧化应激可在机体内造成 DNA、脂质及蛋白质等生物分子的损伤, 参与众多的病理过程。不同个体具有不同的 OPs 敏感性。目前 OPs 个体易感性的相关研究大多聚焦于对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, *PON1*) 的基因多态性。*PON1* 可催化 OPs 的磷酸酯键水解从而降低体内 OPs 水平, 减少 OPs 对个体的损伤^[10]。

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金 (81602823); 上海市卫生和计划生育委员会面上项目 (201640174); 上海交通大学医学院附属新华医院“千天计划” (15QT08); 上海卫生计生系统重要薄弱学科建设计划 (2016ZB0103) (National Natural Science Foundation of China, 81602823; Scientific Research Program of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, 201640174; Early Life Plan of Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, 15QT08; Developing Plan of Important Weak Disciplines from Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, 2016ZB0103)。

[作者简介] 季 麟 (1991—), 女, 硕士生; 电子信箱: wushixian204@sjtu.edu.cn。**[通信作者]** 高 宇, 电子信箱: gaoyu_ciel@sjtu.edu.cn。

人群中不同个体的 PON1 酶活性差异可高达 10 ~ 40 倍, *PON1* 的基因多态性在其中起到了重要的作用^[11]。在 *PON1* 的 200 多处基因多态性位点中, 位于启动子区域的 -108 位点及位于编码区的 192 位点和 55 位点受到了较多的关注^[12]。孕妇是氧化应激损伤的敏感人群, 体内氧化应激水平会随着孕程推进不断升高^[13], 因此可能会对 OPs 的暴露更为敏感。鉴于此, 本研究依托建立于山东省潍坊市滨海开发区的出生队列, 以孕妇为研究人群, 结合 *PON1* 基因型探讨个体 OPs 暴露水平与氧化应激之间的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

以 2010 年 9 月—2013 年 12 月在山东省潍坊市某医院待产的 204 名孕晚期妇女为研究对象。纳入标准: ①年龄 ≥ 18 岁。②在调查地区连续居住时间 ≥ 3 年。③孕妇及配偶无重大疾病史。④无人工受精或吸毒史。本研究获得上海交通大学医学院附属新华医院伦理委员会的批准, 所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 问卷调查 采用问卷调查方式收集研究对象的基本信息, 内容包括人口学信息 (年龄、教育水平、家庭收入等)、吸烟及饮酒状况、孕前身高及体质量、职业暴露史、饮食状况、生活环境。

1.2.2 样本收集 孕妇入院后采集静脉血 15 mL, 10 mL 用于分离血清, 余下 5 mL 保存全血 (EDTA 抗凝)。使用玻璃瓶收集孕晚期妇女随机中段尿。样本收集后分装, 于 -80°C 保存于样本库。

1.2.3 OPs 暴露水平检测 由上海临床研究中心对尿液进行 OPs 暴露水平的检测。采用气相色谱质谱联用法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 检测尿液中 4 种 OPs 非特异性二烷基磷酸酯 (dialkyl phosphate, DAP) 代谢产物水平。这 4 种 DAP 代谢产物包括磷酸二甲酯 (dimethylphosphate, DMP)、二甲基硫代磷酸酯 (dimethylthiophosphate, DMTP)、磷酸二乙酯 (diethylphosphate, DEP)、二乙基硫代磷酸酯 (diethylthiophosphate, DETP)。使用 2 mL 尿样, 以二丁基磷酸酯 (dibutyl phosphate, DBP) 为内标, 经液液萃取 (乙醚/乙腈)、五氟溴苄苯 (pentafluorobenzylbromide, PFBBR) 衍生化、正己烷萃取净化后上机 (美国 PE 公司, Clarus600s/MSD) 检测。批内变异系数为 0.5% ~ 6.3%, 批间变异系数为 3.0% ~ 17.8%。各 DAP 代谢物的检出限 (limit of detection,

LOD) 分别为 DMP 0.18 $\mu\text{g/L}$, DMTP 0.3 $\mu\text{g/L}$, DEP 0.06 $\mu\text{g/L}$, DETP 0.06 $\mu\text{g/L}$ 。低于 LOD 的检测值使用 $\text{LOD}/\sqrt{2}$ 进行替代^[14-17]。将每种 DAP 代谢物的检出浓度 ($\mu\text{g/L}$) 换算为摩尔浓度 (nmol/L)。累加 DEP、DETP 的摩尔浓度以获得总磷酸二乙酯类 (diethyl phosphates, DEs) 水平, 累加磷酸甲酯类代谢物 (DMP、DMTP) 的摩尔浓度以获得总磷酸二甲酯类 (dimethyl phosphates, DMs) 水平, 累加 4 种代谢物 (DEP、DETP、DMP、DMTP) 的摩尔浓度以获得总二烷基磷酸酯类 (dialkyl phosphates, DAPs) 水平。为降低随机尿浓缩程度差异造成的影响, 将 DAP 代谢产物 (DMs、DEs、DAPs) 的摩尔浓度除以尿肌酐浓度 (g/L) 进行校正。肌酐浓度使用自动化学分析仪 (日本日立公司 7100 Hitachi) 进行检测。

1.2.4 氧化应激水平检测 检测孕妇血清中总自由巯基 (total free sulfhydryl, -SH) 及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的浓度以反映个体氧化应激水平。使用微量总巯基测试盒 (南京建成), 按照试剂盒说明书步骤检测血清中 -SH 水平 ($\mu\text{mol/L}$)。使用丙二醛测定试剂盒 (碧云天), 按照试剂盒说明书步骤检测血清中 MDA 水平 ($\mu\text{mol/L}$)。MDA 试剂盒的检出范围为 1 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$, 共有 6 例检测值低于 1 $\mu\text{mol/L}$, 使用 $1/\sqrt{2}$ 替代。

1.2.5 *PON1* 基因型检测 使用 FlexiGene DNA Kit (250) 试剂盒 (德国 QIAGEN 公司), 按照试剂盒说明书步骤对孕妇全血进行 DNA 抽提。由生工生物工程 (上海) 股份有限公司对 DNA 样本进行 PCR 扩增及纯化, 然后采用直接测序法对 *PON1*₋₁₀₈、*PON1*₁₉₂、*PON1*₅₅ 位点进行单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 检测。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。对研究人群的人口学信息、*PON1* 基因型分布、DAP 代谢物水平及氧化应激水平进行描述性分析。以尿液中 DAP 代谢物水平为自变量, 氧化应激标志物水平 (MDA、-SH) 为因变量, 分析两者之间的关联。MDA 及 DAP 代谢物水平 (DMs、DEs、DAPs, nmol/g) 呈偏态分布, 因而对其进行对数转换以满足正态分布, -SH 水平呈正态分布故不进行转化。分别按照孕妇 *PON1* 的 3 个关键性位点的单核苷酸多态性 (SNP) 基因型 (*PON1*₋₁₀₈、*PON1*₁₉₂、*PON1*₅₅) 对人群进行分层, 使用多元线性模型分析不同基因型的个体中 DAP 代谢物水平与氧化应激标志物水平之间的关联。根据既往相关文献报道选取潜在协变量, 并将潜在协变量与氧化应激标志物进行单因素回归分析 ($P < 0.2$), 最终将年龄、家庭收入、孕前体质量指数 (BMI)、教育水平、吸烟情况作为协变量纳入多元线性回归模型。

2 结果

2.1 人口学信息及 *PON1* 基因型分布描述

孕晚期妇女年龄范围为 19 ~ 41 岁, 平均年龄 (28.67±4.19) 岁; 71.6% 的女性的 BMI 在正常范围 18.5 ~ 24.0 kg/m²; 45.6% 女性受教育程度为初中及以下, 32.4% 为高中, 22.1% 为大专及以上; 53.9% 的家庭月收入普遍低于 3 000 元; 65.7% 的女性无主动吸烟及被动吸烟; 所有女性均不饮酒。在本研究人群的 3 个 *PON1* SNP 位点上, *PON1*₋₁₀₈、*PON1*₁₉₂ 的杂合子属优势基因型 (*PON1*₋₁₀₈: CT, 60.3%。*PON1*₁₉₂: QR, 59.3%); 而在 *PON1*₅₅ 位点上, 研究人群中仅发现 2 种基因型, 其中 MM 基因型占 86.8% (表 1)。

表 1 人口学信息及 *PON1* 基因型分布
Tab 1 Demographic characteristics and *PON1* genotypes of study participates

变量	数值
BMI/ <i>n</i> (%)	
<18.5 kg/m ²	14 (6.9)
18.5 ~ 24.0 kg/m ²	146 (71.6)
>24.0 kg/m ²	44 (21.6)
学历 / <i>n</i> (%)	
初中及以下	93 (45.6)
高中	66 (32.4)
大专及以上	45 (22.1)
家庭月收入 / <i>n</i> (%)	
<3 000 元 / 月	110 (53.9)
3 000 ~ 5 000 元 / 月	74 (36.3)
>5 000 元 / 月	20 (9.8)
吸烟 / <i>n</i> (%)	
不吸烟	134 (65.7)
被动吸烟	69 (33.8)
主动吸烟	1 (0.5)
饮酒 / <i>n</i> (%)	
否	204 (100.0)
是	0 (0)
<i>PON1</i> ₋₁₀₈ / <i>n</i> (%)	
TT	43 (21.1)
CT	123 (60.3)
CC	38 (18.6)
<i>PON1</i> ₁₉₂ / <i>n</i> (%)	
QQ	21 (10.3)
QR	121 (59.3)
RR	62 (30.4)
<i>PON1</i> ₅₅ / <i>n</i> (%)	
MM	177 (86.8)
LM	27 (13.2)

注: 被动吸烟指同住者中有吸烟者。

2.2 孕妇 OPs 暴露水平及氧化应激水平

研究对象 OPs 暴露水平及氧化应激水平见表 2。孕妇尿液中 4 种 DAP 代谢物检出率均高于 80%, 其肌酐校正后的浓度中位数从高到低排列依次为 DMP 23.87 μg/g、DEP 9.59 μg/g、DMTP 2.11 μg/g、DETP 1.67 μg/g。血浆中 MDA 和 -SH 浓度分别为 (2.18±0.92) μmol/L 及 (539.79±195.20) μmol/L。

表 2 研究对象 DAP 代谢物及氧化应激指标水平
Tab 2 Levels of DAP metabolites and oxidative stress markers

变量	检出率/%	均数	百分位数			
			25th	50th	75th	95th
非肌酐校正尿 DAP 代谢物水平 / (μg/L)						
DMP	95.6	16.60	4.67	10.35	18.08	52.54
DMTP	83.3	2.19	0.37	0.67	1.41	10.64
DEP	97.5	8.58	2.04	4.23	8.89	38.57
DETP	97.1	2.20	0.28	0.66	1.93	8.92
肌酐校正尿 DAP 代谢物水平 / (μg/g)						
DMP	—	43.81	11.62	23.87	47.28	162.65
DMTP	—	4.81	1.09	2.11	4.55	17.93
DEP	—	20.31	5.06	9.59	21.24	71.54
DETP	—	4.39	0.98	1.67	4.97	14.87
氧化应激标志物水平 / (μmol/L)						
MDA	97.1	2.18	1.65	2.07	2.48	3.62
-SH	—	539.79	389.24	526.90	673.26	826.74

2.3 孕妇 OPs 暴露水平与氧化应激水平的关联性分析

使用多元线性回归模型分别分析 DAP 代谢物浓度与 MDA、-SH 浓度之间的关联, 未发现 OPs 暴露与氧化应激水平之间存在显著关联 (表 3)。

表 3 DAP 代谢物水平与氧化应激水平之间的关联 (N=204)
Tab 3 Association between levels of DAP metabolites and levels of oxidative stress (N=204)

代谢物	lgMDA		-SH	
	β (95% CI)	P 值	β (95% CI)	P 值
DMs	0.03 (-0.02, 0.07)	0.221	-16.78 (-70.82, 37.26)	0.541
DEs	-0.01 (-0.06, 0.04)	0.665	17.28 (-41.64, 76.21)	0.564
DAPs	0.02 (-0.03, 0.07)	0.363	-9.74 (-71.96, 52.48)	0.758

注: 协变量为年龄、孕前 BMI、学历、家庭月收入、吸烟。

2.4 *PON1* 基因型、OPs 暴露及氧化应激的关联

按照孕妇 *PON1* 的 3 个关键性位点的 SNP 基因型 (*PON1*₋₁₀₈、*PON1*₁₉₂、*PON1*₅₅) 对人群进行分层, 分别分析不同基因型的个体中 OPs 暴露水平与氧化应激水平之间

的关联。多元线性回归模型显示, 使用 $PON1_{192}$ 基因型对人群进行分层后, 在 $PON1_{192RR}$ 基因型的孕妇中, DMs 水平 [β (95% CI): -104.10 (-191.31, -16.88)] 及 DAPs 水平 [β (95% CI): -111.78 (-221.84, -1.72)] 与 -SH 水平呈负相关, 但在 $PON1_{192QQ}$ 及 $PON1_{192QR}$ 基因型的个体中未发现这一关联; 而在不同 $PON1_{-108}$ 及 $PON1_{55}$ 基因型的个体中, 均未发现 OPs 暴露水平与氧化应激水平之间存在关联 (表 4)。

表 4 不同 $PON1$ 基因型个体 DAP 代谢物水平与氧化应激水平之间的关联 ($N=204$)
Tab 4 Association between levels of DAP metabolites and levels of oxidative stress stratified by $PON1$ genotypes ($N=204$)

基因型	lgMDA		-SH	
	β (95% CI)	P 值	β (95% CI)	P 值
$PON1_{-108}$				
TT ($n=43$)				
DMs	0.01 (-0.08, 0.09)	0.899	-4.27 (-105.33, 96.79)	0.932
DEs	0 (-0.09, 0.09)	0.951	-7.30 (-117.12, 102.53)	0.894
DAPs	-0.01 (-0.11, 0.09)	0.870	-26.16 (-146.81, 94.49)	0.664
CT ($n=123$)				
DMs	0.03 (-0.03, 0.09)	0.328	-37.17 (-111.99, 37.65)	0.327
DEs	-0.02 (-0.09, 0.04)	0.456	9.04 (-70.16, 88.23)	0.822
DAPs	0.02 (-0.04, 0.09)	0.497	-26.62 (-111.06, 57.82)	0.534
CC ($n=38$)				
DMs	0.03 (-0.07, 0.13)	0.572	31.91 (-84.31, 148.12)	0.581
DEs	0.03 (-0.10, 0.15)	0.670	76.94 (-64.82, 218.70)	0.278
DAPs	0.04 (-0.08, 0.16)	0.507	57.34 (-80.97, 195.64)	0.406
$PON1_{192}$				
QQ ($n=21$)				
DMs	0.01 (-0.08, 0.11)	0.794	26.20 (-137.56, 189.97)	0.741
DEs	-0.05 (-0.21, 0.11)	0.516	50.03 (-228.19, 328.26)	0.711
DAPs	0.01 (-0.11, 0.13)	0.843	31.01 (-168.33, 230.35)	0.748
QR ($n=121$)				
DMs	0.04 (-0.03, 0.11)	0.261	36.87 (-40.48, 114.22)	0.347
DEs	0 (-0.07, 0.07)	0.965	57.53 (-17.75, 132.82)	0.133
DAPs	0.04 (-0.04, 0.11)	0.338	39.57 (-44.40, 123.54)	0.353
RR ($n=62$)				
DMs	0.01 (-0.06, 0.07)	0.848	-104.10 (-191.31, -16.88)	0.020
DEs	-0.03 (-0.11, 0.05)	0.428	-63.87 (-170.09, 42.35)	0.234
DAPs	-0.00 (-0.09, 0.08)	0.920	-111.78 (-221.84, -1.72)	0.047
$PON1_{55}$				
MM ($n=177$)				
DMs	0.04 (-0.01, 0.09)	0.096	-34.82 (-91.79, 22.15)	0.229
DEs	0 (-0.05, 0.06)	0.858	-8.56 (-69.94, 52.82)	0.783
DAPs	0.04 (-0.02, 0.09)	0.170	-34.05 (-99.86, 31.76)	0.309
LM ($n=27$)				
DMs	-0.01 (-0.13, 0.11)	0.824	80.02 (-91.09, 251.13)	0.345
DEs	-0.08 (-0.22, 0.06)	0.244	191.65 (-2.32, 385.62)	0.053
DAPs	-0.01 (-0.15, 0.12)	0.834	115.95 (-76.32, 308.21)	0.226

注: 协变量为年龄、孕前 BMI、学历、家庭月收入、吸烟。

3 讨论

本研究以山东省潍坊市的孕晚期妇女为研究对象,定量分析了不同 *PON1* 基因型的个体中 OPs 暴露水平与氧化应激水平之间的关联。研究发现在总人群中个体 OPs 暴露水平与氧化应激水平未呈现显著关联,但按照 *PON1*₁₉₂ 基因型对人群进行分层后,在 *PON1*_{192RR} 基因型的个体中尿 DAP 代谢物水平与 -SH 水平呈显著负相关,而在 *PON1*_{192QQ} 及 *PON1*_{192QR} 基因型的个体中未发现这一关联,提示 *PON1*_{192RR} 基因型的个体在 OPs 暴露后发生氧化应激的风险可能会增加。

总体来说,本研究人群中 DAP 代谢物检出率较高,DAP 代谢物浓度远高于法国^[3]、美国^[2]的相关报道,提示我国孕妇有较高的 OPs 暴露风险。

脂质是对自由基效应较为敏感的生物分子。MDA 是氧自由基攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸产生的脂质过氧化产物,被认为是反映脂质过氧化水平的最佳生物标志物,因而得到广泛应用^[18-21];体内 -SH 水平的降低提示氧化应激水平的增高。-SH 在生物体内参与了自由基清除及细胞氧化产物还原,是重要的抗氧化损伤活性基团,对体内活性较强的羟自由基有明显的清除作用,因而在防止自由基氧化损伤中具有重要意义,且其能较好地体现个体氧化应激水平^[21-22]。目前,同时关注 *PON1* 基因型、个体 OPs 暴露及氧化应激水平的研究极少。仅有意大利的一项研究^[23]以在 55 名长期暴露于农药的农业从事人员为研究对象,发现相较于 *PON1*_{192QQ} 及 *PON1*_{192QR} 基因型的个体,*PON1*_{192RR} 基因型的个体体内晚期氧化蛋白产物及晚期糖基化终末产物的水平显著降低,提示 *PON1*_{192RR} 基因型的个体在农药暴露后发生氧化损伤的风险较低,与本研究的结论相反。然而,该研究的样本量较小,且未对个体的 OPs 暴露水平进行评估,可能无法准确说明 OPs 暴露、个体 *PON1* 基因型与氧化应激之间的关联。

PON1 酶可水解 OPs,从而减少 OPs 对个体的损伤^[10]。已有研究^[24]发现在 *PON1*₁₉₂ 位点上,具有最高酶活性的为 *PON1*_{192QQ} 基因型的个体,*PON1*_{192QR} 基因型的个体次之,*PON1*_{192RR} 基因型最低,因此具有 *PON1*_{192R} 等位基因的个体可能会对 OPs 暴露伤害易感性更强。Cherry 等^[25]对英国长期接触羊用有机磷浸液的农民进行了调查,发现相对于 *PON1*_{192QQ} 基因型的个体,RR 及 QR 基因型的个体更容易产生长期不良健康效应。Jørgensen 等^[26]调查了 136 名职业为花房女工的孕妇,按照问卷填写信息分为孕期无农药暴露组、中暴露组和高暴露组,并在其后代 6 ~ 10 岁时进行随访,结果显示携带 *PON1*_{192R} 等位基因的儿童瘦素、胰高血糖素、纤溶酶原激活物抑制剂-1 水平与胎儿期农药暴露呈正相关,而 *PON1*_{192QQ} 基因型的儿

童所有的肥胖相关代谢物指标都与产前农药暴露无相关性,提示携带 *PON1*_{192R} 等位基因的个体在生命早期农药暴露后发生肥胖的风险可能更高。源自同一个出生队列的另一项研究^[27]在 *PON1*_{192RR} 及 QR 基因型的儿童中发现,产前农药暴露组学龄期心血管危险因素水平高于非暴露组,但在 QQ 基因型的儿童中心血管危险因素水平不受产前农药暴露影响。墨西哥的一项病例对照研究^[28]对 264 名女性园艺师或园艺师妻子进行了调查。该研究未发现孕期从事园艺工作与子代低出生体质量之间存在显著性关联,但发现孕期从事园艺工作且基因型为 *PON1*_{192RR} 的个体后代发生低出生体质量的风险是孕期未从事园艺工作且基因型为 *PON1*_{192QQ} 的女性的 6 倍。氧化应激与肥胖、心血管疾病风险密切相关^[29-30];同时,亦有研究^[31]认为氧化应激水平的升高可引起脂代谢改变,导致胎盘动脉血栓形成风险增高,从而引起胎盘血流灌注减少,胎盘功能不全,因而可能会对胎儿发育造成不良影响。因此,在不同 *PON1*₁₉₂ 基因型的个体中,胎儿期农药暴露水平与出生结局、肥胖、心血管疾病风险的关联不同,也可能从侧面印证了不同基因型的个体在 OPs 暴露后发生氧化应激的风险不同。

本研究存在一些不足。首先,研究例数较少,而在基因型分层后每一层基因型内样本量进一步减小,对检验效能造成了一定的影响。其次,尽管本研究通过检测尿液中 DAP 代谢物水平定量评估了个体 OPs 暴露水平,但仅检测了单次尿样中 DAP 代谢物水平,不能精确代表整个孕期的 OPs 暴露水平。然而,有研究表明非职业暴露人群的 OPs 主要暴露途径为瓜果蔬菜及室内空气中的农药残留;因此若饮食习惯和居住环境没有大的改变,个体的 OPs 暴露水平可能较为稳定^[32-33]。第三,本研究人群中 *PON1* 192 位点的基因型频率不符合 Hardy-Weinberg 平衡,可能与研究样本量较小,且选取的研究对象皆为育龄期妇女,年龄、性别过于集中有关^[34]。在未来的研究中还需进一步扩大样本量以验证本研究结果。第四,本研究选取的人群年龄差异较大(19 ~ 41 岁)。为检验结果的可靠性,剔除了年龄最小(5%, <23 岁)及最大(5%, >35 岁)的研究对象,对剩余的研究对象(23 ~ 35 岁)按照 *PON1* 基因型进行分层,重新分析了不同 *PON1* 基因型的个体中尿 DAP 代谢物水平与氧化应激指标水平(MDA、-SH)的关联,结果未发生较大改变。因此,本研究人群的年龄差异可能不会对研究结果产生较大干扰。

本研究以孕妇为研究人群,首次在不同 *PON1* 基因型的个体中定量分析了 OPs 暴露水平与氧化应激水平之间的关联。提示 OPs 暴露更容易对 *PON1*_{192RR} 基因型的孕妇造成氧化应激损伤,可为妇女和儿童健康制定早期预防和干预措施提供参考。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] 贺红武. 有机磷农药产业的现状与发展趋势 [J]. 世界农药, 2008, 30(6): 29-33.
- [2] Bradman A, Eskenazi B, Barr DB, et al. Organophosphate urinary metabolite levels during pregnancy and after delivery in women living in an agricultural community[J]. Environ Health Perspect, 2000, 113(12): 1802-1807.
- [3] Debost-Legrand A, Warembourg C, Massart C, et al. Prenatal exposure to persistent organic pollutants and organophosphate pesticides, and markers of glucose metabolism at birth[J]. Environ Res, 2016, 146: 207-217.
- [4] Barr DB, Bravo R, Weerasekera G, et al. Concentrations of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in the U.S. population[J]. Environ Health Perspect, 2004, 112(2): 186-200.
- [5] Wang P, Tian Y, Wang XJ, et al. Organophosphate pesticide exposure and perinatal outcomes in Shanghai, China[J]. Environ Int, 2012, 42: 100-104.
- [6] Zhang Y, Han S, Liang D, et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and neurobehavioral development of neonates: a birth cohort study in Shenyang, China[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e88491.
- [7] Crumpton TL, Seidler FJ, Slotkin TA. Is oxidative stress involved in the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos? [J]. Brain Res Dev Brain Res, 2000, 121(2): 189-195.
- [8] Boussabbeh M, Salem IB, Hamdi M, et al. Diazinon, an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2016, 23(3): 2882-2889.
- [9] Argentin G, Divizia M, Cicchetti R. Oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity induced by methyl parathion in human gingival fibroblasts: protective role of epigallocatechin-3-Gallate[J]. J Toxicol Environ Health A, 2015, 78(19): 1227-1240.
- [10] 郭阳, 江新梅. PON 的研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(5): 518-519.
- [11] Humbert R, Adler DA, Distech CM, et al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism[J]. Nat Genet, 1993, 3(1): 73-76.
- [12] Holland N, Lizarraga D, Huen K. Recent progress in the genetics and epigenetics of paraoxonase: why it is relevant to children's environmental health[J]. Curr Opin Pediatr, 2015, 27(2): 240-247.
- [13] Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, et al. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure[J]. Am J Pathol, 2000, 157(6): 2111-2122.
- [14] Engel SM, Wetmur J, Chen J, et al. Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood[J]. Environ Health Perspect, 2011, 119(8): 1182-1188.
- [15] Eskenazi B, Huen K, Marks A, et al. *PON1* and neurodevelopment in children from the CHAMACOS study exposed to organophosphate pesticides *in utero*[J]. Environ Health Perspect, 2010, 118(12): 1775-1781.
- [16] Guodong D, Pei W, Ying T, et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Shanghai children[J]. Environ Sci Technol, 2012, 46(5): 2911-2917.
- [17] Ding G, Han S, Wang P, et al. Increased levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine are attributable to organophosphate pesticide exposure among young children[J]. Environ Pollut, 2012, 167: 110-114.
- [18] 刘忠慧, 郝翠芳. 氧化应激标记物及其在女性生殖中的应用 [J]. 国际妇产科学杂志, 2015, 42(3): 311-314.
- [19] Silva DM, Marreiro Ddo N, Moita Neto JM, et al. Oxidative stress and immunological alteration in women with preeclampsia[J]. Hypertens Pregnancy, 2013, 32(3): 304-311.
- [20] Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges[J]. Anal Biochem, 2017, 524: 13-30.
- [21] Korkmaz H, Tabur S, Özkaya M, et al. Paraoxonase and arylesterase activities in patients with papillary thyroid cancer[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2015, 75(3): 259-264.
- [22] 魏倩萍, 李眉. 儿科疾病患儿血清中巯基水平的变化及临床意义探讨 [J]. 重庆医科大学学报, 2000, 25(2): 192-193.
- [23] Costa C, Gangemi S, Giambò F, et al. Oxidative stress biomarkers and paraoxonase 1 polymorphism frequency in farmers occupationally exposed to pesticides[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(4): 6353-6357.
- [24] Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, et al. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (*PON1*) expression[J]. Am J Hum Genet, 2001, 68(6): 1428-1436.
- [25] Cherry N, Mackness M, Durrington P, et al. Paraoxonase (*PON1*) polymorphisms in farmers attributing ill health to sheep dip[J]. Lancet, 2002, 359(9308): 763-764.
- [26] Jørgensen A, Nellemann C, Wohlfahrt-veje C, et al. Interaction between paraoxonase 1 polymorphism and prenatal pesticide exposure on metabolic markers in children using a multiplex approach[J]. Reprod Toxicol, 2015, 51: 22-30.
- [27] Andersen HR, Wohlfahrt-veje C, Dalgård C, et al. Paraoxonase 1 polymorphism and prenatal pesticide exposure associated with adverse cardiovascular risk profiles at school age[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e36830.
- [28] Moreno-Banda G, Blanco-muñoz J, Lacasaña M, et al. Maternal exposure to floricultural work during pregnancy, *PON1* Q192R polymorphisms and the risk of low birth weight[J]. Sci Total Environ, 2009, 407(21): 5478-5485.
- [29] 刘颀轩, 宋梭, 王芸, 等. 氧化应激在肥胖及胰岛素抵抗中的作用研究进展 [J]. 解放军医药杂志, 2014, 26(1): 99-101.
- [30] 郝志敏, 赵洁, 巨名飞. 氧化应激在心血管疾病中的作用 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(8): 959-960.
- [31] Blanco-Muñoz J, Aguilar-garduño C, Gamboa-avila R, et al. Association between *PON1* genetic polymorphisms and miscarriage in Mexican women exposed to pesticides[J]. Sci Total Environ, 2013, 449: 302-308.
- [32] Buck RJ, Ozkaynak H, Xue J, et al. Modeled estimates of chlorpyrifos exposure and dose for the Minnesota and Arizona NHEXAS populations[J]. J Expo Anal Environ Epidemiol, 2001, 11(3): 253-268.
- [33] Pang Y, Macintosh DL, Camann DE, et al. Analysis of aggregate exposure to chlorpyrifos in the NHEXAS-Maryland investigation[J]. Environ Health Perspect, 2002, 110(3): 235-240.
- [34] Kimura A. Departure from the Hardy-Weinberg equilibrium[J]. Gene, 2014, 537(2): 357.

[收稿日期] 2017-11-01

[本文编辑] 吴 洋

