

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.01021

• 短篇论著 •

内分泌干扰物双酚 A 和邻苯二甲酸二乙酯与婴幼儿女童乳房早发育的相关性

曾燕¹, 胡红²

1. 重庆医科大学附属儿童医院内分泌科, 重庆 400014

2. 解放军后勤工程学院院务部门门诊部, 重庆 401311

[摘要] **目的** 探讨内分泌干扰物(endocrine disrupting compounds, EDCs)与0~3岁婴幼儿女童乳房早发育(premature thelarche, PT)的相关关系。**方法** 采用病例-对照研究收集2013年8月至2014年6月于重庆医科大学附属儿童医院儿科就诊并诊断为单纯乳房发育的女童60例为病例组,正常健康女童60例为对照组。分别由家长填写调查问卷并对其进行B超检查。由专业实验人员采集女童血清,测定其雌二醇(estradiol, E2)、促卵泡激素(follicle stimulating hormone, FSH)、促黄体激素(luteinizing hormone, LH)、双酚A(bisphenol A, BPA)和邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)等水平并进行比较。**结果** 病例组较对照组的年龄、FSH和LH差异均无统计学意义(P 值分别为0.745、0.721、0.195),而病例组的E2分泌高于对照组,两组间差异有统计学意义($t=5.765, P=0.017$);病例组的BPA以及DEP的含量均远远高于对照组 [$(272.9 \pm 101.3) \mu\text{g/L}$ vs $(21.8 \pm 18.4) \mu\text{g/L}$; $(0.8 \pm 0.3) \text{mg/L}$ vs $(0.3 \pm 0.1) \text{mg/L}$],差异均有统计学意义($P=0.000, P=0.000$)。病例组的BPA与DEP存在正相关性($r=0.601, P=0.002$),而对照组患者血清中的两种物质无相关性($r=0.302, P=0.102$);各组性激素与两种内分泌干扰物间的数据相关系数均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 体内雌激素水平以及BPA和DEP等与0~3岁女童的乳房早发育具有重要关联,且遗传因素与环境因素之间无明显相关关系。

[关键词] 乳房早发育;双酚A;邻苯二甲酸二乙酯;内分泌干扰物

[中图分类号] R 725.85

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2015)09-1021-04

Relationship of endocrine disruptors (bisphenol A and diethyl phthalate) with premature thelarche in infant girls

ZENG Yan¹, HU Hong²

1. Department of Endocrinology, Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

2. Department of Outpatient, Section of Managing Affairs, Logistics Engineering University of PLA, Chongqing 401311, China

[Abstract] **Objective** To study the relationship of endocrine disruptors (EDCs) with premature thelarche in the 0-3 years old baby girls. **Methods** A total of 60 infant girls diagnosed with premature thelarche were selected as the case group in Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University between August 2013 and June 2014, and another 60 healthy girls were included into a control group. Their parents were asked to finish questionnaires and each participants underwent B ultrasonic examination. The serum samples were obtained from both groups by professional doctors to examine the levels of estradiol, follicle stimulation hormone, luteinizing hormone, bisphenol A and diethyl phthalate. **Results** There were no significant differences in the age, FSH or LH levels between the case group and the control group ($P=0.745, 0.721$ and 0.195 , respectively); the level of E2 in the case group was significantly higher than that in the control group ($P=0.017$); bisphenol A and diethyl phthalate levels in the case group were significantly higher than those in the control group [$(272.9 \pm 101.3) \mu\text{g/L}$ vs $(21.8 \pm 18.4) \mu\text{g/L}$, $P=0.000$; $(0.8 \pm 0.3) \text{mg/L}$ vs $(0.3 \pm 0.1) \text{mg/L}$, $P=0.000$]. There was a positive correlation between the bisphenol A and diethyl phthalate in the case group ($r=0.601, P=0.002$), but not in the control group ($r=0.302, P=0.102$). There was no significant correlation between the sex hormone and the two EDCs (bisphenol A or diethyl phthalate) ($P>0.05$). **Conclusion** Premature thelarche in the infant girls between 0 and 3 years old is associated with serum estrogen level, bisphenol A and ethyl phthalate levels, and there is no relationship between genetic factors and environmental factors.

[收稿日期] 2014-11-19

[接受日期] 2015-01-07

[作者简介] 曾燕, 硕士, 主治医师. E-mail: drzengy@163.com

[Key words] premature thelarche; bisphenol A; diethyl phthalate; endocrine disrupting compounds

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(9): 1021-1024]

性早熟(precocious puberty)是指男童在9岁前、女童在8岁前出现第二性征^[1]。婴幼儿性早熟常表现为单纯乳房发育(premature thelarche, PT),指8岁前女童出现乳房发育,经典型的以3岁以下发病为主^[2-4]。性早熟对婴幼儿的成长带来极大危害,但其病理生理机制仍未明确,目前主要集中于雌激素对其影响的研究。而近来研究发现,内分泌干扰物(endocrine disrupting compounds, EDCs)等化学物质同样可通过食物链等对体内环境产生影响^[5]。一般主要包括杀虫剂、化学催化剂以及塑料污染物等,双酚A(bisphenol A, BPA)和邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)就是其中有代表性的两种。BPA是重要的有机化工原料,被用来制造食品和饮料,而DEP作为喷雾杀虫剂的一种主要成分,同样易使婴幼儿暴露其中。研究已证明BPA和DEP可干扰小鼠内分泌,缩短发情周期^[6]。在人类研究上多集中于3岁以上年长儿^[7-8],而对0~3岁婴幼儿女童乳房发育情况研究不明,因此,本研究通过检测0~3岁性早熟女童乳房早发时血清中相关物质,初步讨论BPA和DEP对女童乳房早发育的影响。

1 资料和方法

1.1 资料来源 选取2013年8月至2014年6月于重庆医科大学附属儿童医院儿科就诊并诊断为单纯乳房发育(乳房大小按Tanner分期处于B2及B3期)^[9]的0~3岁女童共60例为病例组,平均年龄为(1.09±0.61)岁。选取同期就诊检查无第二性征发育的0~3岁女童共60例作为对照组,平均年龄为(1.20±0.57)岁。病例组要求患者仅有乳房提前发育,排除甲状腺功能低下、肾上腺皮质增生等患者,排除有其他性征发育和加速生长者。本研究经重庆医科大学附属儿童医院医学伦理委员会批准,与患儿法定监护人签定知情同意书。

1.2 调查问卷 两组儿童的家长均必须完成由专科医生设计的调查问卷,内容包括患儿年龄、出生情况、既往史、喂养史、家族史以及发病时间等,由专业人员进行提取分析。

1.3 直接化学发光法测定血清性激素水平 抽取

患儿清晨空腹血,静置4h,5 000×g离心10 min将血清分离后置于-20℃冰箱备用。采用ADVIA Centaur XP全自动化学发光免疫分析仪(上海西门子医疗器械有限公司),参照说明书检测血清中雌二醇(estradiol, E2)、促卵泡激素(follicle stimulating hormone, FSH)和促黄体激素(luteinizing hormone, LH)水平。

1.4 高效液相色谱法测定BPA及DEP 使用乙醚处理样本,以19 830×g离心取上清液提取血清样本,参考使用BPA纯度标准品(化学合成, >95%)以及DEP标准溶液(5 mg/mL, 中国计量科学研究院)对样品进行色谱分离。选择226 nm作为检测波长,使用Waters 1525型高效液相色谱仪对样品进行定性及定量分析测定。反相色谱柱C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(60:40);流速:1.0 mL/min;检测波长:226 nm;柱温:30℃;色谱过程10 min,进样量20 μL,外标法定量;理论塔板数>1 500,分离度>1.5。以出峰时间定性,以峰面积定量,以峰面积(Y)对标准品浓度(X)进行回归拟合,得出工作曲线。

1.5 数据处理 由专业实验人员对病例组以及对对照组的儿童血清中E2、FSH和LH、BPA、DEP等进行检测记录,并提取调查问卷中的数据以备分析。使用B超对患儿乳房体积进行估算,测量乳核的长、宽,子宫的长、宽、厚径(单位均为mm),乳房体积按 $(\pi/6 \times \text{长} \times \text{厚})$ 公式计算,子宫体积按 $(\pi/6 \times \text{长} \times \text{宽} \times \text{厚})$ 公式计算。

1.6 统计学处理 所有数据均采用SPSS 20.0软件进行处理,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用 t 检验或使用单因素方差分析(ANOVA检验)。偏态分布资料采用非参数分析,相关分析采用Pearson相关分析法。所有统计学检验均为双侧概率检验,检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 血清性激素以及乳房体积比较 病例组和对照组间年龄、FSH和LH差异均无统计学意义($P > 0.05$),而病例组的E2水平高于对照组,差异有统计学意义($t = 5.765, P = 0.017$)。见表1。

表1 两组女童血清性激素以及乳房体积比较

n=60, $\bar{x}\pm s$

组别	年龄(岁)	E2 ρ_B /(pg·mL ⁻¹)	FSH ρ_B /(mIU·mL ⁻¹)	LH ρ_B /(mIU·mL ⁻¹)	左乳体积V/cm ³	右乳体积V/cm ³
病例组	1.09±0.61	15.4±6.4	6.0±2.5	0.4±0.2	59.2±21.5	52.8±27.2
对照组	1.20±0.57	4.3±2.7	5.9±2.7	0.3±0.2	-	-
t值	0.342	5.765	0.398	1.746	-	-
P值	0.745	0.017	0.721	0.195	-	-

E2: 雌二醇;FSH: 促卵泡激素;LH: 促黄体激素

2.2 血清中BPA、DEP的含量比较 对两组患者的血清BPA、DEP进行比较发现,病例组的BPA以及DEP的含量均远远高于对照组[(272.9±101.3) $\mu\text{g/L}$ vs (21.8±18.4) $\mu\text{g/L}$; (0.8±0.3) mg/L vs (0.3±0.1) mg/L],差异均有统计学意义($t=12.357, P=0.000$; $t=5.554, P=0.000$)。病例组的BPA与DEP存在正相关性($r=0.601, P=0.002$),而对照组患者血清中的两种物质无相关性($r=0.302, P=0.102$)。

2.3 病例组女童的BPA、DEP的含量与性激素的相关性分析 采用Pearson相关分析法分别对性激素与BPA、DEP干扰物间的关系进行统计分析,发现各组数据间的相关系数均无统计学意义($P>0.05$),这说明病例组中内分泌干扰物与性激素的水平无关联性。见表2。

活中最常用的塑料增塑剂和杀虫剂成分,婴幼儿可通过玩具、生活用具、书籍以及食物等途径接触这两种物质,从而可能干扰婴幼儿内分泌环境,促使婴幼儿早熟。

对两组患者的年龄、性激素情况以及左右乳体积进行比较后发现:病例组与对照组在年龄上无统计学意义;健康女童组乳房未曾发育,无法用超声进行体积测算,而病例组女童乳房均增大;在性激素方面,乳房早发育女童组的E2水平远远高于健康女童组,说明乳房早期发育与患儿体内的雌激素水平密切相关。雌激素分泌增多促使患儿第二性征过早表现,但FSH以及LH水平在两组女童中差异无统计学意义,提示两者的分泌可能与乳房的发育无关。此现象提示专科医生在早期乳房发育的诊断和治疗上,应严密监测患儿体内雌激素的含量,可通过降低其分泌而暂时阻碍发育过程以达到治疗目的。

在本研究中,病例组女童血清的BPA含量远远高于对照组,此结果提示血清BPA的含量可能与女童早期乳房发育有关。病例组的DEP血清浓度同样高于健康女童,健康女童血清中几乎不含有DEP。DEP在体内吸收和分布较快而清除相对缓慢,对婴幼儿的内分泌系统具有较强的干扰作用,且两种物质在病例组中具有协同上升的作用。总之,BPA和DEP均在乳房早发育女童组中明显升高,说明两者与乳房早发育具有相关关系。儿童代谢、解毒等能力在3岁前尚不成熟,在其发育过程中很容易受到外来污染物的干扰^[15-20]。因此,家长应尽量减少儿童暴露于环境毒物中的时间,购买环保玩具及健康奶粉,使用杀虫剂时应尽量减少儿童在场时间,避免儿童撕咬书籍等。

采用Pearson相关分析法分别对性激素与BPA和DEP内分泌干扰物间的关系进行统计分析,结果并无明显相关关系。此现象说明并非BPA等内分

表2 病例组女童的双酚A、邻苯二甲酸二乙酯的含量与性激素的相关性分析

n=60

指标	双酚A		邻苯二甲酸二乙酯	
	r值	P值	r值	P值
E2	0.117	0.287	0.118	0.557
FSH	-0.229	0.187	-0.287	0.287
LH	-0.063	0.701	-0.198	0.458

E2: 雌激素;FSH: 促卵泡激素;LH: 促黄体激素

3 讨论

由于经济的发展和人们物质生活水平的提高,性早熟在女童中的发病率呈逐年上升趋势。以早期乳房发育为代表的性早熟现象不仅会影响儿童青春期的生长发育,还带来一系列的心理及社会问题^[10-12]。有研究已经证明,早期乳房发育与患儿自身的遗传有关,而随着社会的进步,环境因素也逐渐得到学者们的认可^[13-14]。BPA、DEP是我们日常生

泌干扰物改变体内遗传环境,而是遗传因素与环境因素共同对0~3岁女童的乳房早发育起作用。

综上所述,本实验通过对婴幼儿乳房早发育与内分泌干扰物相关性的研究,证实BPA和DEP等可促进0~3岁女童的乳房早发育,为临床进一步研究其机制提供了理论依据。以乳房早期发育为代表的性早熟现象可能还与患儿的家庭经济条件、居住地区等有关,需要进一步观察。

[参考文献]

- [1] Wooten K J, Smith P N. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: quantitation of chemicals in leachate and *in vitro* screening for endocrine activity [J]. *Chemosphere*, 2013, 93: 2245-2253.
- [2] 杨利. 环境内分泌干扰物与儿童性早熟[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27: 1551-1553.
- [3] 顾威, 沈卫星. 玉米赤霉烯酮污染与儿童性早熟发病相关性研究进展[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29: 637-639.
- [4] Sun Y, Guo Z, Iku S, Saito T, Kurasaki M. Diethyl phthalate enhances expression of SIRT1 and DNMT3a during apoptosis in PC12 cells[J]. *J Appl Toxicol*, 2013, 33: 1484-1492.
- [5] Balabanić D, Hermosilla D, Merayo N, Klemenčič A K, Blanco A. Comparison of different wastewater treatments for removal of selected endocrine-disruptors from paper mill wastewaters[J]. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2012, 47: 1350-1363.
- [6] 李婷婷, 许智良, 陈永亨, 邓红梅, 梁春营, 刘颖, 等. 8种环境内分泌干扰物对多囊卵巢综合征胰岛素抵抗的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31: 1753-1756, 1777.
- [7] Taxvig C, Olesen P T, Nellemann C. Use of external metabolizing systems when testing for endocrine disruption in the T-screen assay[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 250: 263-269.
- [8] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组. 对中枢性(真性)性早熟诊断和治疗的建议[J]. *中华儿科杂志*, 2003, 41: 272-273.
- [9] Pan I L, Daniels J L, Herring A H, Rogan W J, Siega-Riz A M, Goldman B D, et al. Lactational exposure to polychlorinated biphenyls, dichlorodiphenyl-trichloroethane, and dichlorodiphenyldichloroethylene and infant growth: an analysis of the Pregnancy, Infection and Nutrition Babies Study [J]. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2010, 24: 262-271.
- [10] Witorsch R J, Thomas J A. Personal care products and endocrine disruption: a critical review of the literature [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2010, 40(Suppl 3):1-30.
- [11] Ohnishi T, Yoshida T, Igarashi A, Muroi M, Tanamoto K. Effects of possible endocrine disruptors on MyD88-independent TLR4 signaling [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2008, 52: 293-295.
- [12] 孙燕, 崔朝晖. ≤5岁女孩性早熟85例病因分析[J]. *山东医药*, 2011, 51: 90-91.
- [13] 王月影, 崔丽娟, 邱辉. 电化学发光法测定女童血清雌二醇在性早熟诊断中的应用[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2010, 44: 394-395.
- [14] Igarashi A, Ohtsu S, Muroi M, Tanamoto K. Effects of possible endocrine disrupting chemicals on bacterial component-induced activation of NF- κ B [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29: 2120-2122.
- [15] 乔丽丽, 郑力行, 蔡德培. 上海市女童血清中邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸-2-乙基己酯水平与性早熟关系研究[J]. *卫生研究*, 2007, 36: 93-95.
- [16] 李豫川, 巩纯秀, 吴迪, 谷奕, 曹冰燕. 以女童同性早熟起病的青春期多囊卵巢综合征诊疗分析[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29: 595-598.
- [17] 张薇, 杨琍琦. 性早熟女童抑郁情绪与E2、FSH、LH水平的关系[J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 5: 687-688.
- [18] 卫海燕, 王会贞, 刘晓景. 性早熟女童性激素、瘦素水平及其影响因素[J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29: 1133-1135.
- [19] Fujii S, Yabe K, Furukawa M, Hirata M, Kiguchi M, Ikka T. A two-generation reproductive toxicity study of diethyl phthalate (DEP) in rats[J]. *J Toxicol Sci*, 2005, 30: 97-116.
- [20] Mitani K, Narimatsu S, Izushi F, Kataoka H. Simple and rapid analysis of endocrine disruptors in liquid medicines and intravenous injection solutions by automated in-tube solid-phase microextraction/high performance liquid chromatography [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 32: 469-478.