

槲皮素对大鼠卵巢发育和卵巢寿命的影响**

庄小兰¹, 傅玉才², 许锦阶², 孔晓霞¹, 陈振国², 罗丽莉¹

Effects of quercetin on ovarian follicular development and ovarian life span in rats

Zhuang Xiao-lan¹, Fu Yu-cai², Xu Jin-jie², Kong Xiao-xia¹, Chen Zhen-guo², Luo Li-li¹

Abstract

BACKGROUND: Research demonstrated that some phytoestrogens can change the reproductive system development and may affect the age of reproductive senescence ultimately. Quercetin is a plant-derived flavonoid, which possess weak estrogen effect, however, there is limited evidence that quercetin may have effect on ovarian follicular development or ovarian consenscence.

OBJECTIVE: To explore the effects of quercetin on ovarian follicular development and ovarian life span in rats.

METHOD: A total of 30 SD rats were caged together with male and female ratio of 2:1, and the neonatal female rates were divided into three groups. ①Intragastric perfusion group, pregnant rats were intragastric administrated quercetin (40 mg/kg.d) on day 10.5 after pregnancy till delivery, and the female rats with 1 d, 2 d and 4 d were selected; ②Intraperitoneal injection group, female neonatal rats were intraperitoneally injected with quercetin within 12 hours after birth, once per day, and 2 d and 4 d female rats were selected; ③Blank control group, 2 d and 4 d female rats were selected without intervention. The ovarian development of rats was observed. Additional 22 female rats were divided into the experimental and control groups according to the number table method. Rats in the experimental group were gastrogavage administered 40 mg/kg quercetin once per day for 4 consecutive months, and rats in the control group were fed with normal saline of same volume instead. Early aged rats were killed after completing administration, uterus and ovaries were weighed to calculate their coefficients and ovarian morphology were observed; In addition, vaginal smears were used to observe estrous cycles patterns.

RESULTS AND CONCLUSION: The percentage of unassembled follicles was decreased and primordial follicles increased in the 1/2-day-old rat's ovaries of intragastric administration group. The rats oestrus cycles were became irregular before intragastric administration, which exhibited similar oestrus cycles in the experimental and control groups after medication. At month 4 after intragastric administration, the ovaries of rats in the experimental group comprised atretic follicle, primordial follicle, developed follicles, as well as atretic follicles and corpus luteum, and the number was greater than that of the control group ($P < 0.05$), however, the coefficients of ovarian and uterine and increased body mass had no significant difference between the experimental and control groups. The results demonstrated that quercetin may promote ovarian follicular development and maturity, but no effect on the ovarian life span.

¹Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Medical College of Shantou University, Shantou 515041, Guangdong Province, China; ²Laboratory of Cell Senescence, Medical College of Shantou University, Shantou 515041, Guangdong Province, China

Zhuang Xiao-lan★, Studying for master's degree, Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Medical College of Shantou University, Shantou 515041, Guangdong Province, China
zx13511161@163.com

Correspondence to: Luo Li-li, Professor, Chief physician, Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Medical College of Shantou University, Shantou 515041, Guangdong Province, China
ljxu@stu.edu.cn

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30772318*

Received: 2009-09-30
Accepted: 2009-10-31

Zhuang XL, Fu YC, Xu JJ, Kong XX, Chen ZG, Luo LL. Effects of quercetin on ovarian follicular development and ovarian life span in rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(15): 2727-2730.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 研究发现一些植物雌激素可改变生殖系统发育, 并可能最终影响生殖衰老的年龄。槲皮素是一种黄酮类物质, 具有微弱的雌激素效应, 但对卵巢卵泡发育和卵巢衰老进程究竟有无影响还不清楚。

目的: 观察槲皮素对大鼠卵巢卵泡发育和卵巢寿命的影响。

方法: 健康成年 SD 大鼠 30 只雌雄按 2:1 合笼所生的新生雌鼠, 分为 3 组: 母鼠灌胃组, 对孕 10.5 d 母鼠槲皮素灌胃, 1 次/d, 直至分娩, 取 1, 2, 4 d 新生雌鼠; 腹腔注射组, 对正常出生后 12 h 内新生雌鼠槲皮素腹腔注射, 1 次/d, 取 2, 4 d 新生雌鼠; 空白对照组: 不进行任何干预的 1, 2, 4 d 新生雌鼠; 观察新生鼠卵巢发育情况。另取 12 月龄雌性大鼠 22 只, 以数字表法随机分为实验组和对照组: 实验组用槲皮素灌胃 4 个月, 1 次/d; 对照组灌胃给予生理盐水。对灌胃前和灌胃期间 12 月龄雌性大鼠行阴道涂片, 观察大鼠动情周期模式; 灌胃结束后, 计算卵巢和子宫系数, 苏木精-伊红染色观察各期卵泡发育情况和卵泡总数变化。

结果与结论: 用槲皮素干预 1, 2 d 龄新生大鼠未装配的卵泡均减少, 而发育更晚期阶段的卵泡即原始卵泡或发育卵泡有所增加。灌胃前大部分大鼠动情周期已经不规则, 用药后, 随着大鼠年龄的增长, 实验组与对照组显示了相似的动情周期变化: 规则的动情逐渐消失, 周期变得延长或不规则, 灌胃结束时均以不规则动情为主。灌胃 4 个月后, 实验组大鼠卵巢大部分由闭锁卵泡组成, 另外可见少许原始卵泡、发育卵泡以及窦状卵泡和黄体, 实验组窦状卵泡较对照组增加($P < 0.05$), 两组卵巢和子宫系数及体质量增加无差异。提示槲皮素可能具有一定促进卵巢卵泡发育和成熟的作用, 但不影响卵巢寿命。

关键词: 槲皮素; 卵泡发育; 卵巢寿命; 大鼠; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.15.016

庄小兰, 傅玉才, 许锦阶, 孔晓霞, 陈振国, 罗丽莉. 槲皮素对大鼠卵巢发育和卵巢寿命的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(15):2727-2730. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

人类原生殖细胞发育为卵母细胞后, 便失去了干细胞功能, 此后卵母细胞数量逐渐减少。

大部分(70%~90%)卵母细胞在妊娠中期发生凋亡, 此后存活的卵母细胞在妊娠晚期或出生前(啮齿类于生后 4 d 内)形成原始卵泡池^[1]。原始卵泡池形成后, 卵泡数量继续不断下降, 到出生时卵巢内卵泡数量仅为最大卵泡池卵泡量的 50%,

¹ 汕头大学医学院第一附属医院妇科, 广东省汕头市 515041; ² 汕头大学医学院细胞衰老实验室, 广东省汕头市 515041

庄小兰★, 女, 1980年生, 江西省吉水县人, 汉族, 汕头大学医学院在读硕士, 主要从事卵巢衰老调控研究。
zxl3511161@163.com

通讯作者: 罗丽莉, 教授, 主任医师, 汕头大学医学院第一附属医院妇科, 广东省汕头市 515041
jjxu@stu.edu.cn

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)15-02727-04

收稿日期: 2009-09-30
修回日期: 2009-10-31
(20090906008/GW Z)

接着卵泡闭锁减慢直至40岁左右, 这时卵巢内卵泡达到一个关键性的临界状态, 卵泡闭锁再次加速, 经历绝经过渡期直至卵巢内卵泡完全耗竭, 卵巢迅速衰老, 绝经来临^[2-4]。可见, 原始卵泡池形成前后以及绝经前是卵巢衰老进程的关键时期。目前, 卵巢衰老调控机制还不清楚, 但越来越多的证据表明卵巢衰老可能环境和饮食因素有关, 研究还发现一些植物雌激素改变卵巢卵泡发育, 并可能影响卵巢内卵泡储备, 进而影响雌性生殖衰老的年龄^[8-12]。

槲皮素是黄酮类家族的一个重要成员, 具有微弱的雌激素效应, 广泛分布于蔬菜, 水果, 茶, 葡萄酒以及食品添加剂中^[13-14]。研究发现槲皮素具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎和心血管保护等作用^[15-17]。文献报道槲皮素还可以减少细胞凋亡, 增加细胞存活, 延长秀丽隐杆线虫寿命^[18-19]。目前主要研究槲素对大鼠卵巢卵泡发育和卵巢寿命的影响。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验, 组织学观察。

时间及地点: 于2008-09/2009-04在汕头大学医学院细胞衰老实验室完成。

材料: 纯度> 98%槲皮素购于陕西嘉禾植物化工有限责任公司。用生理盐水溶解按40 mg/(kg·d)进行灌胃或新生鼠腹腔注射, 临用前配制^[20-21]。汕头大学医学院实验动物中心提供SPF级SD大鼠, 其中成年大鼠30只, 12月龄大鼠22只。

实验方法: 健康成年SD大鼠30只雌雄按2:1合笼所生的新生雌鼠。分组: ①母鼠灌胃组: 母鼠灌药, 用于观察槲皮素对胎儿卵巢形成和发育的影响。正常怀孕母鼠在孕10.5 d (行阴道涂片显微镜下检测发现大量精子定为怀孕0.5 d) 开始进行槲皮素40 mg/(kg·d) 灌胃, 1次/d, 直至分娩, 取1, 2, 4 d新生雌鼠。②腹腔注射组: 正常出生后12 h内开始腹腔注射槲皮素40 mg/(kg·d), 1次/d, 取2, 4 d新生雌鼠。③空白对照组: 不进行任何干预的1, 2, 4 d新生雌鼠。以上各个天数新生雌鼠每组取7只。将新生雌鼠脱颈椎处死, 立刻取出双侧卵巢, 在40 g/L多聚甲醛中固定1.5 h, 乙醇梯度脱水后石蜡包埋, 切成4 μm厚的组织片备用。

早期老年鼠分组及处理: 对另11月龄雌性大鼠22只, 药物干预前先进行1个月阴道涂片, 观察动情周期情况。结果显示大部分大鼠动情

周期已经变得延长和不规则, 说明此时大部分大鼠卵巢功能已经开始下降, 相当于人类的绝经前或围绝经期。将大鼠以数字表法随机分为实验组(n=12)和对照组(n=10)。从12月龄开始实验组用槲皮素40 mg/(kg·d), 1次/d连续灌胃4个月。对照组用同体积生理盐水灌胃。用药期间, 密切观察动物活动情况, 进食, 大便和毛发色泽, 每周称体质量一次。同时, 对所有大鼠进行阴道涂片, 观察用药期间动情周期改变。在最后一次灌胃24 h后用20 g/L戊二醛液腹腔注射麻醉大鼠, 取出双侧卵巢, 子宫进行称质量, 将卵巢放入40 g/L多聚甲醛中固定4 h, 乙醇梯度脱水后石蜡包埋, 切成6 μm厚的组织片备用。

动情周期分期: 大鼠动情周期通常为4.0~5.0 d/周期, 按照阴道细胞学分为动情间期, 白细胞为主; 动情前期, 有核上皮细胞为主; 动情期, 主要见无核的角化上皮; 动情后期, 有核上皮、角化细胞和白细胞3种细胞均可见, 比例相当^[22]。由于早期老年鼠规则的动情周期逐渐消失, 变得延长或不规则, 将每个月动情变化规定为3种: RC, 动情周期规则, 循环长度为四五天, 并出现2次以上; IC, 动情周期延长或不规则, 循环长度大于5 d或小于3 d, 至少出现一次; NC, 循环停止, 动情期消失至少达20 d以上。

苏木精-伊红染色: 所有卵巢组织切片分别脱蜡, 梯度乙醇水化, 苏木精染色2 min, 伊红复染色20 s, 脱水、透明、封固。用Olympus BX-51型显微镜拍照, 进行卵泡分类, 计算不同分化阶段卵泡比例。计算方法: 计数每张卵巢组织切片上所有的各级卵泡数, 每个卵巢取5张代表性组织切片, 新生鼠计算各级卵泡占总卵泡数的百分比, 早期老年鼠只计算各级卵泡总数(由于存活卵泡数量已经不是很多)。

卵泡分类:

卵泡类型	特点
未装配卵泡	卵母细胞无任何颗粒细胞包围, 多个未装配卵泡聚在一起形成卵母细胞巢;
早期原始卵泡	卵母细胞由扁平前颗粒细胞包围但不完整, 卵母细胞巢未破裂;
原始卵泡	卵母细胞由一层扁平的前颗粒细胞完整的包围, 此时卵母细胞巢已经破裂;
早期初级卵泡	卵母细胞由一些立方及扁平颗粒细胞共同包围; 初级卵泡, 卵母细胞由单层完整的立方颗粒细胞包围;
次级卵泡	卵母细胞由两层或两层以上立方颗粒细胞包围, 没有卵泡腔出现; 窦状卵泡, 含有卵泡腔的卵泡。

由于原始卵泡一旦启动发育是不可逆的过程, 所以称早期初级卵泡到窦卵泡之间的发育阶段为发育卵泡。闭锁卵泡: 退化的卵母细胞、浓缩的卵泡液、浓密的颗粒细胞层或被结缔组织填充的卵泡腔等异常结果的卵泡; 黄体: 排卵后卵泡由黄体细胞填充而成的内分泌细胞团。

计算子宫、卵巢指数: 子宫指数=子宫质量/大鼠体质量 $\times 100$ 。卵巢指数=卵巢质量/大鼠体质量 $\times 100$ 。

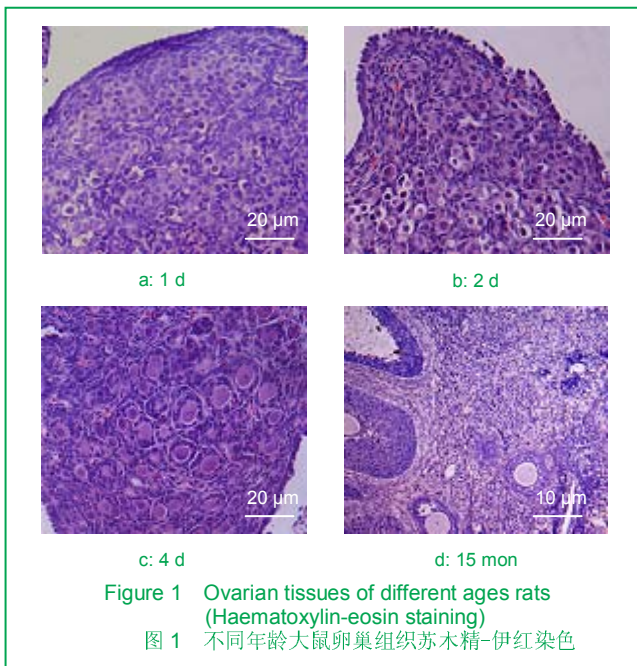
主要观察指标: 各组新生鼠卵巢发育情况。对灌胃前和灌胃期间12月龄雌性大鼠进行阴道涂片, 观察大鼠动情周期模式; 灌胃结束后, 计算卵巢和子宫系数, 各期卵泡发育情况和卵泡总数变化。

设计、实施、评估者: 设计由第一、二、五作者完成, 由第一、四作者实施, 第二、三、四、五作者评估。以上人员均受过专业培训。

统计学分析: 将卵巢组织全部切片, 选出中间最大切面处一张, 再从两边对应性选择2张有代表性的组织切片, 新生鼠组每张切片间隔大于20 μm , 早期老年鼠组间隔大于80 μm 。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 由第一、二位作者采用统计软件SPSS13.0进行t检验分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 新生鼠卵巢卵泡发育 苏木精-伊红染色结果显示, 1 d龄大鼠主要由未装配、早期原始和原始卵泡组成; 2 d龄大鼠原始细胞增多, 未装配卵泡减少。并包含少许发育卵泡; 4 d龄大鼠卵母细胞巢全部破裂形成原始卵泡池, 未装配卵泡消失, 发育卵泡增加, 见图1。



与各自的对照组相比, 母鼠灌胃组1d龄大鼠卵巢内未装配卵泡比例减少, 而原始卵泡比例增加

[(26.16 $\pm$ 5.18)%, (26.08 $\pm$ 6.30)%; (17.18 $\pm$ 3.83)%, (41.09 $\pm$ 8.16)%, P 均 < 0.05]; 母鼠灌胃组2 d大鼠卵巢内未装配卵泡比例减少, 但发育卵泡增加[(21.06 $\pm$ 5.00)%, (0.99 $\pm$ 1.34)%; (7.01 $\pm$ 3.68)%, (4.07 $\pm$ 2.27)%, P 均 < 0.05]; 腹腔注射组2 d大鼠未装配卵泡比例也减少, 但原始卵泡比例增加[(21.06 $\pm$ 5.00)%, (0.99 $\pm$ 1.34)%; (7.39 $\pm$ 5.68)%, (49.34 $\pm$ 12.64)%, P 均 < 0.05]; 4 d龄各级卵泡比例差异无显著性意义。

卵泡总数检验结果显示, 除4 d龄灌胃组较对照组增多(620.57 $\pm$ 177.15, 839.43 $\pm$ 176.04, $P < 0.05$)以外, 其余各天数新生鼠用药组与对照组比较差异均无显著性意义。

2.2 子宫系数和卵巢系数 实验组与对照组比较两系数差别均无统计学差异。经4个月的灌胃后, 两组灌胃后子宫、卵巢系数及体质量增加差异无显著性意义, 见表1。

表1 早期老年大鼠子宫、卵巢系数以及灌胃后体质量增加值 Table 1 Coefficients of uterus and ovaries in early aged rats, and the increased weight after gavage ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)			
Group	Uterus coefficient	Ovary coefficient	Increased weight (g)
Control	0.196 $\pm$ 0.055	0.016 $\pm$ 0.007	34.70 $\pm$ 25.35
Experimental	0.163 $\pm$ 0.065	0.016 $\pm$ 0.004	27.08 $\pm$ 28.12

2.3 卵巢组织学改变 15月龄大鼠卵巢大部分由闭锁卵泡组成, 另外可见少许原始卵泡、发育卵泡以及窦状卵泡和黄体。与对照组比较, 实验组中窦状卵泡增加($P < 0.05$); 但是, 其余各阶段的卵泡数量以及存活卵泡总数在两组间差异无显著性意义。

2.4 动情周期改变 在11月龄(即灌胃前), 大部分大鼠动情周期已经不规则, 对照组仅4只仍然保持规则的动情, 在实验组有5只。用药后, 随着大鼠年龄的增长, 两组显示了相似的动情周期变化: 规则的动情逐渐消失, 周期变得延长或不规则, 到15个月时(灌胃结束时), 两组均以不规则动情为主, 只有一只或两只动情消失, 见表2。

表2 早期老年鼠动情周期变化(不同动情周期模式的大鼠只数) Table 2 Estrous cycle changes in early aged rats (the numbers of different estrous cycle patterns in each group)															
Group	11 mon			12 mon			13 mon			14 mon			15 mon		
	RC	IC	NC	RC	IC	NC	RC	IC	NC	RC	IC	NC	RC	IC	NC
Control	4	6	0	2	8	0	0	9	1	0	8	2	0	8	2
Experimental	5	7	0	4	8	0	2	10	0	1	11	0	0	11	1

RC: Regular estrous cycle; IC: irregular estrous cycle; NC: no estrous cycle

3 讨论

卵巢的发育和衰老是一个受内外环境严密调控的

生物学过程,任何阶段的改变都可能引起卵巢发育异常甚至提前衰老^[3, 6]。本实验使用槲皮素作用于大鼠的卵母细胞或卵泡下降最快的几个阶段,即妊娠期,出生后原始卵泡池形成前后以及动情周期停止前(相当于人类绝经前或围绝经期),探讨槲皮素对卵巢发育和衰老的影响。实验结果显示,母鼠灌胃组1 d龄新生大鼠未装配卵泡比例下降,而原始卵泡比例增加;母鼠灌胃组2 d龄大鼠未装配卵泡比例也下降,而发育卵泡比例增加;腹腔注射组2 d龄大鼠未装配卵泡比例下降,原始卵泡比例增加。这些结果显示了在1 d和2 d龄新生大鼠,用槲皮素干预的大鼠未装配的卵泡均减少,而发育更晚期阶段的卵泡即原始卵泡或发育卵泡有所增加,提示槲皮素可能促进新生大鼠早期卵母细胞巢破裂,加速原始卵泡池的形成;另外,在15月龄早期老年鼠,槲皮素灌胃组窦状卵泡比例增加,说明槲皮素可能具有促进卵泡发育成熟的作用。综合上述的结果,作者认为槲皮素可能具有一定的促进卵泡发育的作用;但是,在4 d龄新生大鼠,槲皮素干预的大鼠与对照组比较各阶段卵泡比例并没有统计学差异。考虑大鼠原始卵泡池在生后4 d内形成^[1],槲皮素使原始卵泡池提前建立,但原始卵泡池形成以后,由于卵泡发育减慢,可能导致槲皮素对各级卵泡比例变化不明显所致。另外,动物个体差异太大以及人工计数卵泡时造成的实验误差也可能导致4 d龄卵泡比例变化不明显。在生殖衰老的进程中,生殖器官和形态也发生相应的改变,卵巢和子宫逐渐萎缩变小,质量减轻,卵巢内卵泡数量也逐渐减少。实验结果显示,早期老年鼠在槲皮素灌胃4个月以后,与对照组相比其子宫系数和卵巢系数均无统计学差异。在卵母细胞或存活卵泡总数方面,1, 2 d新生大鼠以及早期老年大鼠干预组的卵母细胞或总的存活卵泡均没有明显改变,说明槲皮素可能没有影响大鼠卵巢总的卵泡储备,由于卵巢寿命是由卵巢内卵泡的数量和质量决定,这直接反映了槲皮素可能没有改变卵巢寿命。

动情周期反映了卵巢功能变化,成为监测生殖衰老的一个方便而有效的指标。在大鼠,首次动情出现在出生后34 d左右,之后保持规则的四五天的动情周期直至10~12个月,此后周期变的延长或不规则,最后动情停止。实验显示实验组和对照组具有相似的变化过程。实验中动情周期的改变反映了大鼠卵巢逐渐衰老的过程,但两组的动情改变相似,表明槲皮素可能并不影响卵巢功能性衰老。

女性在不同的年龄阶段都不可避免地摄入一些含槲皮素的食物,因此,槲皮素对卵巢发育和衰老的影响的研究具有重要的意义。本实验第一次探讨了槲皮素对大鼠卵巢发育和衰老的影响,结果显示槲皮素可能具有一定的促进卵巢卵泡发育和成熟的作用,可是,卵巢卵泡储备不受影响。因此,槲皮素可能不改变卵巢寿命。槲皮素对卵巢发育的作用可能有益于女性生殖,但槲皮

素对人类卵巢的作用需要进一步证实。另外,槲皮素对大鼠卵巢发育和衰老的作用机制需要进一步研究。

4 参考文献

- [1] Kezele P, Skinner MK. Regulation of ovarian primordial follicle assembly and development by estrogen and progesterone: endocrine model of follicle assembly. *Endocrinology*. 2003;144(8): 3329-3337.
- [2] Santoro N. The menopausal transition. *Am J Med*. 2005;118 Suppl 12B:8-13.
- [3] Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update*. 2005;11(4):391-410.
- [4] De Felici M, Klinger FG, Farini D, et al. Establishment of oocyte population in the fetal ovary: primordial germ cell proliferation and oocyte programmed cell death. *Reprod Biomed Online*. 2005; 10(2):182-191.
- [5] Hunt PA, Hassold TJ. Human female meiosis: what makes a good egg go bad? *Trends Genet*. 2008;24(2):86-93.
- [6] Jurisicova A, Taniuchi A, Li H, et al. Maternal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons diminishes murine ovarian reserve via induction of Harakiri. *J Clin Invest*. 2007;117(12):3971-3978.
- [7] Wu JM, Zelinski MB, Ingram DK, et al. Ovarian aging and menopause: current theories, hypotheses, and research models. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2005;230(11):818-828.
- [8] Henry LA, Witt DM. Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior. *Dev Neurosci*. 2006;28(3):186-195.
- [9] Jefferson WN, Padilla-Banks E, Goulding EH, et al. Neonatal exposure to genistein disrupts ability of female mouse reproductive tract to support preimplantation embryo development and implantation. *Biol Reprod*. 2009;80(3):425-431.
- [10] Rice S, Mason HD, Whitehead SA. Phytoestrogens and their low dose combinations inhibit mRNA expression and activity of aromatase in human granulosa-luteal cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006;101(4-5):216-225.
- [11] Zhang LF, Luo LL, Fu YC, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(19):3764.
张丽芳, 罗莉莉, 傅玉才, 等. 大鼠卵巢组织中早期卵泡发育及卵母细胞凋亡与白藜芦醇的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(19):3764.
- [12] Miao SH, Fu YC, Xu JJ, et al. Zhongguo Xiandai Yixue Zazhi. 2009; 19(1):59-63.
苗淑红, 傅玉才, 许锦阶, 等. 染料木素对成年及老年大鼠卵巢发育的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(1):59-63.
- [13] van Meeuwen JA, van den Berg M, Sanderson JT, et al. Estrogenic effects of mixtures of phyto- and synthetic chemicals on uterine growth of prepubertal rats. *Toxicol Lett*. 2007;170(2):165-176.
- [14] Miodini P, Fioravanti L, Di Fronzo G, et al. The two phyto-oestrogens genistein and quercetin exert different effects on oestrogen receptor function. *Br J Cancer*. 1999; 80(8): 1150-1155.
- [15] Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol*. 2008;585(2-3): 325-337.
- [16] Utesch D, Feige K, Dasenbrock J, et al. Evaluation of the potential in vivo genotoxicity of quercetin. *Mutat Res*. 2008;654(1):38-44.
- [17] Ramos S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem*. 2007; 18(7): 427-442.
- [18] Ternaux JP, Portalier P. Effect of quercetin on survival and morphological properties of cultured embryonic rat spinal motoneurons. *Neurosci Lett*. 2002;332(1):33-36.
- [19] Kampkötter A, Timpel C, Zurawski RF, et al. Increase of stress resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2008;149(2):314-323.
- [20] Kumar A, Sehgal N, Kumar P, et al. Protective effect of quercetin against ICV colchicine-induced cognitive dysfunctions and oxidative damage in rats. *Phytother Res*. 2008;22(12):1563-1569.
- [21] Kumar A, Goyal R. Quercetin protects against acute immobilization stress-induced behaviors and biochemical alterations in mice. *J Med Food*. 2008;11(3):469-473.
- [22] Goldman JM, Murr AS, Cooper RL. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2007;80(2): 84-97.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 国家自然科学基金(30772318)。

利益冲突: 无利益冲突。