

FFA, LA 升高,心肌细胞发生一定程度损伤。以 PQTS 预先灌注能够缓解上述变化,减轻氧自由基对心肌的损伤和心律失常的发生,降低心肌 CPK, LDH,提高冠脉流量,纠正 FFA 的代谢紊乱,减少乳酸堆积。表明 PQTS 对缺血再灌注心肌的保护机制是多方面的,与 PQTS 负性肌力作用减少心肌耗氧,增加冠脉流量改善心肌供血,减少乳酸堆积,纠正心肌脂肪酸代谢及抗脂质过氧化反应有关。

References

[1] Wang B X. *Modern Pharmacology of Traditional Chinese Drugs* (现代中药药理学) [M]. Tianjin: Tianjin Science and

Technology Publishing House, 1997.

- [2] Ralenkotter L, Dales C, Delcamp T J, *et al.* Cytosolic $[Ca^{2+}]$, $[Na^{+}]$, and pH in guinea pig ventricular myocytes exposed to anoxia and reoxygenation [J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(6 Pt 2): H2679-2685.
- [3] Meszaros L G, Minarovic I, Zahradnikova A. Inhibition of the skeletal muscle ryanodine receptor calcium release channel by nitric oxide [J]. *FEBS Lett*, 1996, 380(1-2): 49-52.
- [4] Minor T, Isselhard W. Related articles: role of the hepatoculature in free radical mediated reperfusion damage of the liver [J]. *Eur Surg Res*, 1993, 25(5): 287-293.
- [5] Priori S G, Mantica M, Napolitano C, *et al.* Early after depolarizations induced *in vivo* by reperfusion of ischemic myocardium. A possible mechanism for reperfusion arrhythmias [J]. *Circulation*, 1990, 81(6): 1911-1920.

染料木素对大鼠生殖毒性的实验研究

(I) 一般生殖毒性

许建宁¹,王全凯¹,崔涛¹,罗玉妹¹,王四旺²,郑玉新¹

(1. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所,北京 100050; 2. 第四军医大学药物研究所,陕西 西安 710032)

摘要:目的 为保证染料木素临床用药的安全,评价其生殖毒性。方法 16, 160, 480 mg/(kg·d) 染料木素分别连续 ig 雄、雌性大鼠 60 d, 14 d 后合笼,雄性大鼠给药至交配结束,雌性大鼠给药至妊娠第 17 天,观察染料木素对大鼠的受胎能力、生殖系统及子代的影响。结果 染料木素 480 mg/(kg·d) 引起亲代雄性大鼠精子活动度下降,但未发现睾丸病变,也未影响雄鼠生殖能力;同时使雌鼠妊娠期体重增长明显低于其他组 ($P < 0.01$),但未影响胚胎形成、仔鼠生长发育。160 mg/(kg·d) 剂量对亲代和子代未引起明显的异常。结论 染料木素 160 mg/(kg·d) 对雌、雄性大鼠无一般生殖毒性作用。

关键词: 染料木素; 生殖毒性; 胚胎

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)09-0830-03

Study on reproductive toxicity of genistein I. General reproductive toxicity

XU Jian-ning¹, WANG Quan-kai¹, CUI Tao¹, LUO Yu-shu¹, WANG Si-wang², Zheng Yu-xin¹

(1. Institute for Occupational Health and Poisoning Control, Chinese Centre for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China; 2. Institute of Materia Medica, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Key words genistein; reproductive toxicity; embryo

染料木素系从豆科植物槐角 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实中提取的异黄酮单体成分,是具有弱雌激素样作用又非雌激素类化合物,称之为植物雌激素。流行病学调查、动物实验和临床观察均发现,异黄酮通过抑制骨吸收和促进骨形成过程,维持骨代谢的动态平衡,有效地预防骨质疏松^[1-3]。鉴于染料木素是治疗骨质疏松症的有效药物,为了保证其安全使用,对其一般生殖毒性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 药物:染料木素由第四军医大学药物研究所提

供,纯度 > 98%。用蒸馏水将其配成不同浓度的混悬液进行实验。

1.2 实验动物:三级健康 Wistar 大鼠,由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供,动物合格证号为京动许字(2000)第 017 号。动物饲养于中国预防医学科学院二级动物室(医动字第 01-4018 号),室内温度为 24℃~26℃,相对湿度为 40%~60%,喂食军事医学科学院实验动物中心提供的清洁级繁殖鼠料[京许字(2000)013 号],动物进入动物室后适应环境 1 周。

收稿日期: 2002-11-15

作者简介:许建宁(1968-),女,副研究员,硕士生导师,主要从事化学物致突变致癌机制和化学物安全性评价方面的研究及检测工作,专长为遗传毒理学。

1.3 试验方法^[4-6]: 健康 Wistar 雄 雌大鼠各 79 只, 体重分别为 90~ 110 g 和 190~ 210 g 随机分为低、中、高 3 个剂量给药组 (每组各 20 只) 和 1 个溶剂对照组 (各 19 只)。每天分别 ig 16, 160 和 480 mg/kg 剂量的染料木素和 5 mL/kg 的蒸馏水。雄性大鼠连续给药 60 d 后与给药 14 d 的雌性大鼠按 1: 1 合笼, 合笼时间不超过 5 d; 雄性大鼠给药至交配结束, 雌性大鼠给药至妊娠第 17 天。记录给药期间雄、雌性大鼠一般状况和体重、动物合笼和交配情况; 雄性大鼠给药结束后断颈处死, 作大体检查, 称睾丸、附睾的重量, 计算重量系数, 并检查精子活动能力 (按 I ~ IV 级计) 和精子数量。雌性大鼠记录孕鼠妊娠、哺乳期间给药和体重变化情况, 各组 1/2 的孕鼠于妊娠第 14 天处死, 观察妊娠情况; 另 1/2 孕鼠自然分娩和哺乳。按公式计算活胎平均值、吸收胎百分率及死胎百分率。每窝于仔鼠出生第 4 日剔除多余留 8 只仔鼠, 仔鼠于 28 d 断乳时, 35 d 各处死 1/2 剖检, 观察有无畸形。各项实验数据采用

OFFICE2000 的 EXCEL 和 SAS 软件进行统计分析。
 活胎数 ($\bar{x} \pm s$) = 活胎总数 / 母鼠总数
 吸收胎% = 吸收胎总数 / (活胎总数 + 吸收胎总数 + 死胎总数) × 100%
 死胎% = 死胎总数 / (活胎总数 + 吸收胎总数 + 死胎总数) × 100%

2 实验结果

2.1 染料木素对亲代雄性大鼠一般状态及生殖的影响: 雄性大鼠在交配前给药期间, 摄食、饮水等一般状况良好。雄性高剂量组动物在给药 47 d 时 1 只动物死亡, 但尸检未见异常。各给药组动物体重与溶剂对照组比较差异不显著 ($P > 0.05$, 表 1)。高剂量组动物 I ~ II 级精子活动度与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$, 表 2), 且随剂量增加有精子活动度下降的趋势; 各给药组雄鼠的交配率均低于对照组, 高剂量组交配率与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 2); 各给药组动物的精子数量与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 2); 中剂量组睾丸

表 1 交配前雄性大鼠用染料木素后体重变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Change of body weight of male rats treated with genistein before mating ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /(mg·kg ⁻¹)	不同给药天数体重 /g									
		0	7	14	21	28	35	42	49	56	60
对照	-	101.58±6.62	153.32±8.65	209.89±10.30	258.37±11.22	298.37±12.24	329.11±11.94	362.26±13.69	378.79±14.96	389.47±22.64	411.89±22.37
染料木素	16	103.20±6.20	156.25±8.83	210.75±11.57	259.30±12.70	301.45±14.16	333.60±16.07	361.65±19.27	382.35±21.41	399.30±24.09	417.30±26.29
	160	101.20±7.07	153.85±9.62	204.80±11.15	252.50±13.38	294.35±14.74	325.45±17.89	353.10±18.20	374.15±20.15	392.20±24.17	411.90±25.46
	480	105.05±8.29	155.85±10.10	203.30±12.98	246.00±16.60*	291.10±17.36	324.25±18.71	352.05±19.13	372.05±20.72	388.58±20.35	401.89±19.87

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

表 2 染料木素对雄性大鼠生殖功能的影响

Table 2 Effect of genistein on reproductive function of male rats

组别	剂量 /(mg·kg ⁻¹)	动物 /只	精子计数 /(10 ⁵ 个·mL ⁻¹)	精子活动度 %			交配率 %
				I 和 II	III	IV	
对照	-	19	85.3±20.1	28.8	30.25	41.67	100
染料木素	16	20	76.8±69.2	23.33	27.25	48.58	80
	160	20	109.5±84.6	19.75	26.42	53.83	75
	480	19	90.3±68.3	12.17*	24.50	63.33	84.21

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

表 3 亲代雄性大鼠睾丸、附睾重量系数 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Indexes of testicle and epididymis weight of parental male rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /(mg·kg ⁻¹)	重量系数	
		睾丸	附睾
对照	-	0.73±0.079	0.258±0.022
染料木素	16	0.70±0.055	0.265±0.029
	160	0.657±0.018*	0.259±0.033
	480	0.703±0.078	0.264±0.040

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

重量系数与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.01$, 表 3), 其他各组动物的睾丸、附睾重量系数与对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 3), 病理检查也未见病变。

2.2 染料木素对亲代雌性大鼠一般状态及生殖的影响: 雌性大鼠在交配前、妊娠期、哺乳期, 摄食、饮水状况良好; 雌性大鼠交配前、哺乳期各给药组动物体重与溶剂对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 4); 妊娠期高剂量组动物体重与溶剂对照组比较

差异有显著性 ($P < 0.05$, 表 4); 各给药组孕鼠的受孕率、平均黄体数、着床数、活胎数、死胎率和吸收胎率与溶剂对照组比较差异无显著性 (表 5)。

2.3 染料木素对子代生长发育的影响: 各给药组的出生仔鼠体重、存活率、死亡率、性比, 第 35 天哺乳

存活率与对照组比较差异无显著性 (表 6); 高剂量组有一窝仔鼠体重明显低于其他仔鼠, 仔鼠生长情况良好, 也未观察到仔鼠畸形; 各组第 28, 35 d 处死的仔鼠均发现少数雄性仔鼠存在肾脏积水, 雌性仔鼠有子宫充血或水肿的现象, 但差异无显著性。

表 4 雌鼠体重变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Change of body weight of female rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	交配前			妊娠期				
		0	7	14	0	3	6	12	14
对照	-	214.55 ± 7.56	223.75 ± 9.52	238.30 ± 11.53	242.37 ± 10.45	251.95 ± 10.81	262.32 ± 11.83	283.68 ± 11.85	294.32 ± 14.99
染料木素	16	216.10 ± 8.43	223.20 ± 7.58	237.55 ± 10.00	243.15 ± 10.47	253.50 ± 16.56	265.15 ± 13.26	284.70 ± 19.03	294.95 ± 17.45
	160	216.00 ± 9.84	224.60 ± 10.75	237.85 ± 11.18	241.42 ± 14.98	249.68 ± 14.64	257.16 ± 14.66	278.37 ± 16.51	283.32 ± 15.36 ^e
	480	213.85 ± 10.35	223.95 ± 10.96	232.80 ± 9.08	234.95 ± 11.03 [*]	243.42 ± 11.86 ^g	250.42 ± 12.09 [*]	271.26 ± 12.75 [*]	279.79 ± 16.71 [*]

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	妊娠期			哺乳期				
		17	20	0	4	7	14	21	28
对照	-	323.33 ± 13.09	365.89 ± 15.22	279.56 ± 12.86	300.44 ± 18.32	305.22 ± 14.27	313.89 ± 15.30	293.44 ± 12.81	285.22 ± 14.75
染料木素	16	318.70 ± 16.08	357.10 ± 16.64	280.78 ± 17.75	293.89 ± 18.01	307.89 ± 18.74	322.78 ± 15.12	291.78 ± 15.34	284.00 ± 13.33
	160	321.67 ± 8.63	355.44 ± 17.69	289.44 ± 38.12	298.79 ± 15.27	310.33 ± 19.02	318.78 ± 14.96	300.44 ± 12.02	283.89 ± 8.78
	480	306.67 ± 19.18 ^e	348.22 ± 18.59 ^f	272.78 ± 14.58	287.00 ± 14.75	298.67 ± 16.85	315.44 ± 20.40	287.89 ± 18.13	269.89 ± 36.55

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

表 5 染料木素对胚胎形成的影响

Table 5 Effect of genistein on development of embryo

组别	剂量 ($mg \cdot kg^{-1}$)	母鼠 只	黄体数 ($\bar{x} \pm s$)	着床数 ($\bar{x} \pm s$)	活胎		吸收胎		死胎	
					总数/只	$\bar{x} \pm s$	总数/只	%	总数/只	%
对照	-	10	15.3 ± 3.0	15.2 ± 2.1	139	13.9 ± 2.9	0	0	12	7.95
染料木素	16	10	16.7 ± 3.1	16.2 ± 1.8	149	14.9 ± 2.2	1	0.62	12	7.41
	160	9	13.6 ± 1.8	13.0 ± 3.4	111	12.3 ± 3.1	0	0	6	5.13
	480	10	13.3 ± 2.2	13.6 ± 3.5	125	12.5 ± 4.2	1	0.74	10	7.35

表 6 染料木素对胎鼠存活能力的影响

Table 6 Effect of genistein on survival ability of fetuses

组别	剂量 ($mg \cdot kg^{-1}$)	母鼠只	仔鼠		仔鼠体重 /g	仔鼠存活		死仔		仔鼠性比		哺乳存活	
			总数	平均		只	%	只	%	♂:♀	只	%	
对照	-	9	114	12.7 ± 1.3	5.94 ± 0.63	109	95.62	5	4.38	1: 1.48	106	97.25	
染料木素	16	10	131	13.2 ± 1.4	5.85 ± 0.40	129	98.47	2	1.53	1: 1.08	127	98.45	
	160	9	124	13.8 ± 2.7	5.84 ± 0.60	122	98.39	2	1.61	1: 1.09	121	99.18	
	480	9	119	13.2 ± 1.6	5.74 ± 0.43	114	95.80	5	4.20	1: 0.80	113	99.12	

3 讨论

本研究从动物交配前开始给药, 目的是评价生殖细胞接触受试物后对受胎能力、生殖系统以及子代有无影响, 结果表明染料木素 480 mg/kg 剂量引起亲代雄性大鼠精子活动下降, 但未发现睾丸病变, 也未影响雄鼠生殖能力, 同时使雌鼠妊娠期体重增长明显低于其他组, 但未影响胚胎形成。仔鼠的生长发育; 160 mg/kg 剂量未见对亲代和子代有明显的异常影响。本实验结果表明, 染料木素 160 mg/kg 剂量对雌、雄性大鼠无一般生殖毒性作用。

References

[1] Xu J N, Wang Q K, Wang S W, et al. Study on mutagenici-

ty of genistein [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(4): 353-355.

[2] Blarir H C, Jordon S E, Peterson T G, et al. Variable effects of tyrosine kinase inhibitor on avian osteocalcin activity and reduction of bone loss in ovariectomized rats [J]. *J Cell Biochem*, 1996, 126: 161-167.

[3] Onoe Y, Miyaura C, Ohta H, et al. Expression of estrogen receptor β in rat bone [J]. *Endocrinology*, 1997, 138: 4509-4512.

[4] *Guideline on the Studies of the Traditional Chinese Medicine* (中药新药研究指南) [S]. 1993.

[5] Yuan B J, Wang Z Q. *Preclinical Safety Evaluation and Practice of Pharmaceuticals* (新药临床前安全性评价与实践) [M]. Beijing: Military Medical Sciences Press, 1997.

[6] Li Y, Zhang T B. *The Method of Study and the Technology of Experiment of Developmental Toxicology* (发育毒理学研究方法和实验技术) [M]. Beijing: Beijing Medical University Press, 2000.