

染料木素对大鼠生殖毒性的实验研究() 致畸敏感期毒性

许建宁¹,王全凯¹,李忠生¹,崔 涛¹,罗玉姝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)

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,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,了解其有无潜在的致畸作用,本实验对其进行大鼠的致畸敏感期毒性试验研究。

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 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,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。

1.3 实验方法^[4]:健康 Wistar 雄、雌性大鼠各 104 只,体重分别为 260~280 g 和 190~210 g。大鼠按 1:1 合笼,合笼时间不超过 5 d,以查到阴栓确定为交配成功,计为妊娠第 0 天。将孕鼠随机分为 5 组,溶剂和阳性对照组,每组 18 只孕鼠,高、中、低 3 个

剂量给药组每组 19 只孕鼠。各组分别 ig 5 mL/kg 蒸馏水、15 000 U/kg 维生素 A (V_A) 和 480、160、16 mg/kg 染料木素。溶剂对照组和 3 个给药组于妊娠第 7~14 天,每天 ig 1 次,连续给药 8 d,阳性对照组于妊娠第 8~13 天,每天 ig 1 次,连续给药 6 d。每天观察孕鼠的饮水、摄食、生长等一般状况。每隔 3 d 称量孕鼠体重,妊娠第 20 天处死孕鼠。肉眼观察孕鼠脏器后,取出子宫,记录黄体数、着床数、死胎数(吸收胎、早期死胎、晚期死胎)、活胎数、活胎重、胎仔性别、活胎仔外观异常观察等。各窝 1/2 胎仔固定于 Bouin 氏液,作内脏检查;另 1/2 固定于 95% 酒精作骨骼畸形检查。各项实验数据用 Office 2000 的 Excel 和 SAS 软件进行统计分析,以窝为单位统计。孕鼠的体重、摄食量、饮水量、黄体数、着床数、活胎仔数、胎仔体重等计量资料,用 Office 2000 软件 Excel 进行 *t* 检验统计分析;妊娠率、交配率、受孕率、活胎率等用 χ^2 检验;其他用 Wilcoxon 秩和检验。

2 结 果

2.1 动物一般状况观察:雌、雄各 104 只大鼠按 1:1 配对同笼,93 只雌鼠于 5 d 内检查到阴栓,交配率为 89.4%。各组孕鼠在试验期内进食饮水和日常行为未见异常。整个妊娠期内,3 个给药组孕鼠的体重和增重与对照组比较差异无显著性 (*P* > 0.05),见表 1。结果表明染料木素对孕鼠的生长未

表 1 孕鼠体重变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Body weight change of pregnant rats ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量 (mg kg ⁻¹)	不同妊娠天数的孕鼠体重/g							孕鼠增重 /g
		0 d	4 d	7 d	10 d	13 d	16 d	20 d	
溶剂对照	-	221.78 ± 9.42	234.44 ± 11.05	240.83 ± 10.53	252.44 ± 11.86	264.67 ± 12.70	292.89 ± 12.51	324.56 ± 12.05	38.74 ± 7.53
阳性对照 V _A	15 000 U kg ⁻¹	227.69 ± 11.15	239.75 ± 10.79	250.19 ± 9.09 **	259.63 ± 12.94	263.81 ± 11.98	290.63 ± 21.63	317.63 ± 21.22	29.49 ± 9.83 **
染料木素	16	218.71 ± 9.52	230.00 ± 16.12	240.12 ± 12.22	253.00 ± 10.21	265.76 ± 11.46	294.00 ± 12.16	330.00 ± 15.53	40.41 ± 7.08
	160	218.81 ± 10.91	232.94 ± 12.90	242.44 ± 11.15	254.19 ± 10.56	266.88 ± 13.38	295.19 ± 14.35	330.88 ± 17.42	40.69 ± 6.93
	480	217.41 ± 13.60	232.06 ± 11.91	240.65 ± 11.75	250.18 ± 13.69	261.00 ± 11.66	291.06 ± 13.97	325.41 ± 15.93	37.76 ± 5.88

与溶剂对照组比较: ** *P* < 0.01

** *P* < 0.01 vs solution control group

收稿日期:2003-11-09

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,曾获得 1997 年卫生部医药卫生科技进步三等奖,1998 年中国预防医学科学院青年科技工作者奖,发表学术论文 30 余篇,参与 2 部著作编写。

产生明显的影响。

2.2 染料木素对胚胎形成的影响:各给药组孕鼠的平均黄体数、着床数、活胎数、死胎数和吸收胎数与溶剂对照组比较差异不明显 ($P > 0.05$),见表 2。

2.3 染料木素对胎鼠生长发育的影响:各给药组胎鼠的平均体重、身长、尾长以及平均胎重、窝重与溶剂对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$),见表 3。

2.4 染料木素对胎鼠外观、内脏和骨骼畸形的影响:各给药组胎鼠外观和内脏畸形率与溶剂对照组

比较差异无显著性 ($P > 0.05$),见表 4。由于溶剂对照组有 13 只胎鼠存在第 4 胸骨缺失现象,而各给药组第 4 胸骨缺失的胎鼠数较少,虽然统计分析表明各给药组胎鼠骨骼畸形率与溶剂对照组比较存在明显差异 ($P < 0.01$),见表 4,但各给药组胎鼠骨骼畸形率均低于溶剂对照组,且不存在随剂量改变而变化的趋势,说明造成胎鼠的第 4 胸骨缺失现象与药品无关。

3 讨论

表 2 染料木素对胚胎形成的影响

Table 2 Effect of genistein on embryogenesis

组别	剂量 (mg kg ⁻¹)	假孕鼠数 /只	孕鼠数 /只	黄体数 (x ± s)	着床数 (x ± s)	活胎		吸收胎		死胎	
						总数/只	x ± s	总数/只	/ %	总数/只	/ %
溶剂对照	-	0	18	15.6 ± 1.8	14.4 ± 1.4	236	13.1 ± 1.3	21	8.11	2	0.77
染料木素	16	2	17	17.0 ± 2.5	15.1 ± 1.5	242	14.2 ± 2.0	13	5.06	3	1.17
	160	3	16	16.6 ± 3.1	13.8 ± 2.1	207	12.9 ± 2.5	12	5.43	2	0.90
	480	2	17	17.2 ± 2.8	14.1 ± 1.5	223	13.1 ± 1.6	15	6.25	2	0.83
V _A	15 000 U kg ⁻¹	2	16	15.9 ± 1.5	14.2 ± 2.3	185	11.6 ± 2.7	20	8.81	22	9.69 **

与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs solution control group

表 3 染料木素对胎鼠生长发育的影响 (x ± s)

Table 3 Effect of genistein on growth and development of rat fetuses (x ± s)

组别	剂量/(mg kg ⁻¹)	胎鼠/个	胎鼠均重/g	身长/cm	尾长/cm	胎盘均重/g	窝均重/g
溶剂对照	-	236	2.97 ± 0.21	3.13 ± 0.10	1.01 ± 0.03	6.25 ± 0.68	38.73 ± 3.31
染料木素	16	242	2.99 ± 0.19	3.11 ± 0.11	1.02 ± 0.04	6.87 ± 1.38	42.60 ± 6.57 *
	160	207	3.08 ± 0.24	3.08 ± 0.10	1.02 ± 0.04	7.12 ± 1.75	39.63 ± 7.36
	480	223	3.11 ± 0.20	3.08 ± 0.10	0.01 ± 0.02	6.41 ± 1.08	40.60 ± 4.43 **
V _A	15 000 U kg ⁻¹	185	2.76 ± 0.95	3.21 ± 0.10	1.03 ± 0.04	6.57 ± 1.32	32.13 ± 13.61

与溶剂对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

表 4 染料木素对胎鼠畸形的影响

Table 4 Effect of genistein on deformity of rat fetuses

组别	剂量 (mg kg ⁻¹)	活胎数 /只	外观畸形率		内脏畸形率		骨骼畸形率	
			畸形数/检查数	/ %	畸形数/检查数	/ %	畸形数/检查数	/ %
溶剂对照	-	236	0/236	0	2/118	1.69	13/118	11.02
染料木素	16	242	0/242	0	0/121	0	10/121	8.26
	160	207	0/207	0	0/103	0	1/104	0.96 **
	480	223	0/223	0	0/111	0	1/112	0.89 **
V _A	15 000 U kg ⁻¹	185	58/185	31.35 **	0/111	0	41/93	44.09 **

与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs solution control group

本实验溶剂对照组(蒸馏水)对孕鼠和胎鼠的各项毒效应观察指标均无影响,而阳性对照组不但对孕鼠有母体毒性,而且对胎鼠也有明显的致畸性效应,表明本实验系统是可靠的。本实验给药时间覆盖了整个致畸敏感期,结果表明染料木素不影响受精卵着床和着床后胚胎存活和发育,对胎鼠也无致畸性。因此,在本实验条件下,染料木素对孕鼠无母体毒性、对胎鼠无胚胎毒性及致畸作用。

References:

- [1] Chen H, Ni A M. The preventive effects of isoflavone on osteoporosis [J]. *Foreign Med Sci—Geriatrics* (国外医学·老年病学), 2000, 21(1): 12-14.
- [2] Blair H C. Variable effect of tyrosine kinase inhibitor on avian osteoclastic activity and reduction of bone loss in ovariectomized rats [J]. *J Cell Biochem*, 1996, 126: 161-167.
- [3] Onoe Y. Expression of estrogen receptor in rat bone [J]. *Endocrinology*, 1997, 138: 4509-4512.
- [4] Xu J N, Wang Q K, Cui T, et al. Study on reproductive toxicity of genistein I. General reproductive toxicity [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(9): 830-832.