

(SP)、神经原纤维缠结(NFT)及神经元丢失。目前AD的确切发病机制尚不清楚,其病因可能是多源性的,包括基因异常、代谢失调、脑血管因素、环境因素等。近年研究表明,胆固醇与 β 淀粉样蛋白(amyloid beta-protein, A β)相互作用,在AD的发病机制中起着重要作用^[2]。本实验采用长期喂饲高胆固醇饲料的方法建立了高胆固醇血症大鼠,发现大鼠长期喂饲高胆固醇饲料后,可出现高胆固醇血症和学习记忆障碍,表现为在Morris水迷宫的定位航行试验中,模型组的逃避潜伏期和游出距离较正常组明显延长,空间探索试验中,模型组大鼠在平台象限游泳路径长度占总路径长度的百分比也较正常组明显缩短,血清TC和LDL-C升高,表明高胆固醇血症可引起动物的学习记忆障碍。

本实验表明,TSG可明显改善模型大鼠的学习记忆能力,降低血清TC、LDL-C水平,说明TSG可改善高胆固醇血症引起的学习记忆障碍,其作用机制与降低血清TC、改善脂质代谢等作用有关。本研究为TSG临床治疗AD提供了实验依据。

References:

- [1] Michikawa M. The role of cholesterol in pathogenesis of Alzheimer's disease: dual metabolic interaction between amyloid beta-protein and cholesterol [J]. *Mol Neurobiol*, 2003, 27(1): 1-12.
- [2] Refolo LM, Malester B, La Francois J, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model [J]. *Neurobiol Dis*, 2000, 7(4): 321-331.
- [3] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning on the rat [J]. *J Neurosci Methods*, 1984, 11: 47-60.

染料木素对大鼠生殖毒性的实验研究(III) 围产期毒性

许建宁¹, 王全凯¹, 崔涛¹, 罗玉姝¹, 王四旺^{2*}

(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,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^[1,2]。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,本实验对其进行了大鼠的围产期毒性试验。

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%。用蒸馏水将其配成混悬液。

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%;喂饲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 试验方法^[1,2]: 健康Wistar雄、雌性大鼠各84只,体重分别为280~300g和185~205g。大鼠按1:1合笼,合笼时间不超过5d,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4组,溶剂对照组和3个给药组,分别ig 5mL/kg蒸馏水和16、160、480mg/kg染料木素。从妊娠第15天至哺乳第28天,每日1次,连续ig给药。仔鼠断乳后,处死母鼠(F0代)。仔鼠(F1代)生长至28d断乳时,处死部分动物,且各组均保留19窝,每窝保留F1代雌、雄仔鼠各2只(2对)。

1.4 观察指标^[1-3]

1.4.1 观察母鼠每天的饮水、摄食等一般状况,记录母鼠妊娠期、哺乳期的体重变化、受孕率、死亡率、妊娠分娩时间、产仔数、胎仔性别比例、胎仔的外观畸形等。记录母鼠主要脏器(心、肺、脾、肝、肾、子宫)的质量并检查内脏畸形。

1.4.2 观察仔鼠一般生活状况。记录仔鼠出生存活率、哺乳存活率;28d断乳时部分动物主要脏器(心、肺、脾、肝、肾、睾丸/子宫)的质量并检查内脏

* 收稿日期: 2004-01-08

作者简介: 许建宁(1968—),女,硕士,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。Tel: (010) 83132918 E-mail: Xujianning@yahoo.com

畸形。每日上午记录仔鼠生理发育(耳廓分离、张耳、出毛、切牙萌出、睁眼、睾丸下降、阴道张开)、反射发育(平面翻正、运动状况、负趋地性、悬崖回避、触须定位、空中翻正、视觉定位)各项指标出现和达标的时间,试验于安静的房间内进行。

1.4.3 对各组每窝的 1 对仔鼠进行行为指标的测试;各组每窝的 1 对仔鼠继续饲养至 10 周龄以上检查生殖功能,不同窝仔鼠按 1:1 配对,交配期限为 5 d,观察记录其交配率、受孕率、胚胎发育情况等。

1.5 数据统计:各项数据用 Office 2000 的 Excel 和 SAS 软件进行统计分析,计数资料用 χ^2 检验;计量资料用 t 检验。仔鼠断乳前以窝为单位统计,断乳后以个体为单位统计。

2 结果

2.1 动物交配情况:雌、雄性各 84 只大鼠按 1:1 配对同笼,5 d 内均查到阴栓,确定为交配成功,交配率为 100%。

2.2 染料木素对母鼠(F0 代)体重的影响:母鼠

(F0 代)在围产期和哺乳期摄食、饮水等状况良好;围产期、妊娠期各给药组孕鼠体重与溶剂对照组比较差异不显著($P > 0.05$);哺乳期各给药组动物体重增长低于溶剂对照组,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 染料木素对母鼠脏器系数的影响:各组母鼠的心脏系数与溶剂对照组比较存在明显差异($P < 0.05$),并呈剂量-反应关系,提示受检样品可能对母鼠的心脏有一定的影响。肉眼对主要脏器进行观察,发现 160 mg/kg 剂量组有 2 例动物子宫明显增大,结果见表 1。

2.4 染料木素对 F1 代仔鼠存活和生长的影响:F1 代仔鼠出生时,溶剂对照组、160、480 mg/kg 染料木素组各有 1 窝中的 1 只 F1 代仔鼠有外观畸形,分别表现为唇角瘀血、无尾、头部异常;16 mg/kg 剂量组出生胎仔数比溶剂对照组增多。各给药组围产期胎仔存活率、死亡率与溶剂对照组比较差异不显著($P > 0.05$),哺乳期,480 mg/kg 剂量组胎仔死亡率与溶剂对照组比较差异显著($P < 0.05$),结果见表 2。

表 1 母鼠脏器系数 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Organ coefficients of female rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	心	肺	肝	脾	肾	子宫
对照	-	0.338 ± 0.034	0.490 ± 0.065	5.562 ± 0.433	0.279 ± 0.034	0.839 ± 0.050	0.231 ± 0.053
染料木素	16	0.367 ± 0.010*	0.533 ± 0.044	5.275 ± 0.626	0.274 ± 0.028	0.877 ± 0.069	0.259 ± 0.046
	160	0.398 ± 0.036**	0.551 ± 0.080	5.197 ± 0.627	0.280 ± 0.049	0.860 ± 0.067	0.292 ± 0.046*
	480	0.408 ± 0.090*	0.531 ± 0.056	5.202 ± 0.400	0.263 ± 0.040	0.860 ± 0.048	0.274 ± 0.106

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

表 2 围产期和哺乳期 F1 代存活情况

Table 2 Living offspring of F1 at perinatal and lactation period

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	母鼠数 /只	受孕率 /%	出生仔鼠		围产期仔鼠存活		围产期仔鼠死亡		哺乳期仔鼠存活		哺乳期仔鼠死亡		仔鼠性比 (♂/♀)
				总数/只	$\bar{x} \pm s$	/%	活仔数/总仔数	/%	死仔数/总仔数	/%	活仔数/总仔数	/%	死仔数/总仔数	
对照	-	21	95.24	244	12.2 ± 1.7	98.36	240/244	1.64	4/244	99.58	239/240	0.42	1/240	1 0.78 (134/105)
染料木素	16	21	90.48	256*	13.5 ± 1.6	98.44	252/256	1.56	4/256	98.41	248/252	1.59	4/252	1 0.76 (141/107)
	160	21	100	266	12.6 ± 1.8	98.50	262/266	1.50	4/266	99.24	260/262	0.76	2/262	1 0.94 (134/126)
	480	21	100	264	12.5 ± 3.2	98.86	261/264	1.14	3/264	96.18	251/261	3.83*	10/261	1 1.02 (128/130)

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

各给药组胎仔平均体重与溶剂对照组比较无明显差异($P > 0.05$);断乳时处死部分仔鼠,肉眼检查发现,溶剂对照组和 16 mg/kg 剂量组各有 1 只雄性仔鼠的肾脏积尿,这些变化均为低频率,无剂量相关性;各给药组 F1 代雌性动物主要脏器系数与溶剂对照组比较差异无显著性($P > 0.05$);F1 代雄性动物 16 mg/kg 剂量组心脏、肺、睾丸系数,480 mg/kg 剂量组肺系数与溶剂对照组比较差异显著($P < 0.05$),见表 3,无剂量-反应关系,考虑到将各

窝体重较大的雄性动物留于检查生殖功能,而动物体重偏小影响脏器系数,使之偏大,因此不能确定是染料木素的影响。

断乳后前两周各给药组 F1 代体重增长均低于溶剂对照组,差异显著($P < 0.05$),见表 4 和 5;断乳两周后,各给药组 F1 代体重逐步增长,至交配前与溶剂对照组比较差异无显著性($P > 0.05$),见表 4 和 5,但 480 mg/kg 剂量组雄性 F1 代体重至交配前仍低于其他各组,见表 5。

表 3 断乳时雄性 F1 代脏器系数 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Organ coefficients of F1 male rats at weaning period ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /(mg · kg ⁻¹)	动物 /只	心	肺	肝	脾	肾	睾丸
对照	-	33	0.437 ± 0.027	0.784 ± 0.102	5.115 ± 0.425	0.480 ± 0.085	1.157 ± 0.112	0.663 ± 0.068
染料木素	16	38	0.477 ± 0.056 [*]	0.915 ± 0.159 ^{**}	5.009 ± 0.879	0.509 ± 0.079	1.216 ± 0.160	0.726 ± 0.093 [*]
	160	29	0.452 ± 0.051	0.807 ± 0.131	4.857 ± 0.669	0.446 ± 0.064	1.209 ± 0.133	0.692 ± 0.074
	480	33	0.452 ± 0.054	0.919 ± 0.202 ^{**}	4.866 ± 0.581	0.516 ± 0.144	1.156 ± 0.152	0.681 ± 0.081

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group表 4 断乳后雌性 F1 代体重变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 38$)Table 4 Change of body weight of F1 female rats after weaning ($\bar{x} \pm s$, $n = 38$)

组别	剂量 /(mg · kg ⁻¹)	出生天数/d					
		28	35	42	49	56	63
对照	-	68.58 ± 5.99	104.74 ± 8.55	134.58 ± 10.40	157.61 ± 11.71	180.34 ± 11.34	197.00 ± 12.89
染料木素	16	62.99 ± 6.87 ^{**}	100.76 ± 7.78 [*]	133.61 ± 9.90	159.45 ± 10.87	178.61 ± 12.66	198.39 ± 14.05
	160	64.96 ± 6.95 [*]	101.00 ± 7.48 [*]	138.05 ± 8.72	162.55 ± 9.45 [*]	180.39 ± 11.19	200.74 ± 10.44
	480	62.99 ± 7.30 ^{**}	99.05 ± 10.89 [*]	134.37 ± 9.73	161.63 ± 9.62	180.00 ± 11.32	201.92 ± 12.11

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group表 5 断乳后雄性 F1 代体重变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 38$)Table 5 Change of body weight in F1 male rats after weaning ($\bar{x} \pm s$, $n = 38$)

组别	剂量 /(mg · kg ⁻¹)	出生天数/d					
		28	35	42	49	56	63
对照	-	73.07 ± 6.31	115.87 ± 8.15	167.84 ± 10.71	219.26 ± 12.34	267.21 ± 13.02	297.45 ± 16.05
染料木素	16	67.51 ± 7.27 ^{**}	114.63 ± 8.81	168.82 ± 13.30	220.08 ± 14.47	260.66 ± 18.20	297.76 ± 20.06
	160	70.36 ± 5.69	115.76 ± 8.08	170.61 ± 8.95	225.79 ± 9.85 [*]	263.66 ± 13.58	306.76 ± 14.28
	480	66.46 ± 9.14 [*]	110.08 ± 14.99 [*]	163.32 ± 16.68	214.24 ± 19.28 ^{**}	250.37 ± 27.54 ^{**}	290.97 ± 26.20

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group

2.5 染料木素对 F1 代仔鼠生理发育、行为和生殖功能的影响: 480 mg/kg 剂量组动物耳廓分离和阴道张开时间晚于溶剂对照组, 有剂量-反应趋势, 差异显著 ($P < 0.05$), 见表 6; 160 mg/kg 剂量组动物出毛时间早于溶剂对照组, 动物出牙时间晚于溶剂对照组, 差异显著 ($P < 0.05$), 见表 6。

给药组断乳前行为发育指标平面翻正、负趋地性、空中翻正、视觉定位, 与溶剂对照组比较差异显著 ($P < 0.05$), 见表 7。

对断乳后仔鼠进行光电笼测试和转棒试验, 未

见给药组与溶剂对照组存在差异。

F1 代每组各 19 只动物避免同窝交配, 各给药组孕鼠体重、交配率、受孕率、着床率、活胎数、死胎数、平均窝重与对照组比较差异不显著 ($P > 0.05$)。160、480 mg/kg 剂量组 F1 代孕鼠的黄体数与溶剂对照组比较差异显著 ($P < 0.05$), 见表 8, 存在剂量反应关系。16、160 mg/kg 剂量组 F1 代孕鼠的吸收胎率与溶剂对照组比较差异显著 ($P < 0.05$), 见表 8, 但这两个剂量组的吸收胎率均低于溶剂对照组。解剖时, 肉眼观察未见孕鼠和胎鼠有明显异常。

表 6 F1 代生理发育指标

Table 6 Index of physiological development of F1 rats

组别	剂量 /(mg · kg ⁻¹)	动物 /只	耳廓分离/d	出毛/d	出牙/d	张耳/d	睁眼/d	第 25 天睾丸下降	阴道张开/d
对照	-	20	2.29 ± 0.10	14.44 ± 0.11	7.45 ± 0.09	11.25 ± 0.09	14.37 ± 0.22	20/20	35.98 ± 0.98
染料木素	16	19	2.24 ± 0.11	14.40 ± 0.10	7.46 ± 0.08	11.26 ± 0.06	14.35 ± 0.10	19/19	35.87 ± 0.96
	160	21	2.27 ± 0.08	14.35 ± 0.10 ^{**}	7.53 ± 0.11 [*]	11.27 ± 0.08	14.32 ± 0.09	21/21	36.45 ± 1.00
	480	21	2.57 ± 0.11 ^{**}	14.43 ± 0.10	7.50 ± 0.12	11.27 ± 0.07	14.31 ± 0.08	21/21	36.69 ± 0.97 [*]

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group

表 7 F1 代反射发育指标

Table 7 Index of reflex development of F1 rats

组 别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	动物 /只	平面翻正/d	负趋地性/d	断崖回避/d	第 13 天触须定位	空中翻正/d	视觉定位/d
对照	-	20	2.78±0.15	9.28±0.08	8.44±0.14	20/20	13.84±0.10	16.20±0.08
染料木素	16	19	2.63±0.16 [*]	9.24±0.08	8.44±0.11	19/19	13.94±0.10 [*]	16.23±0.09
	160	21	2.67±0.14 [*]	9.23±0.07	8.44±0.10	21/21	13.84±0.08	16.26±0.09 [*]
	480	21	2.65±0.14 [*]	9.20±0.09 [*]	8.44±0.10	21/21	13.82±0.15	16.25±0.06 [*]

与对照组比较: ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01

^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01 vs control group

表 8 F1 代生殖功能

Table 8 Reproductive ability of F1 rats

组 别	剂 量 (mg·kg ⁻¹)	孕鼠体重/g	交配成功 /%	交配数/动物总数	受孕 /%	受孕数/孕鼠数	黄体数 (x±s)	着床数 (x±s)	活胎 总数 (x±s)	吸收胎 总数 /%	死胎 总数 /%	窝均重/g
对照	-	318.28±25.32	94.74	18/19	100	18/18	12.3±2.9	15.8±1.9	247 13.7±3.8	29 10.43	2 0.72	27.25±6.85
染料木素	16	326.94±17.24	84.21	16/19	100	16/16	13.5±2.5	16.1±1.4	247 15.4±1.6	9 ^{**} 3.49	2 0.78	30.18±3.06
	160	323.42±18.56	100	19/19	100	19/19	14.4±2.3 [*]	16.3±1.8	297 15.6±1.8	12 ^{**} 3.88	0 0	29.58±3.80
	480	329.07±17.34	78.95	15/19	100	15/15	14.7±2.0 [*]	16.9±1.8	228 15.2±2.4	24 9.45	2 0.79	29.26±5.00

与对照组比较: ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01

^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01 vs control group

3 讨论

本实验给药时间在雌性动物围产期和哺乳期,目的是评价药物对雌性动物生殖功能以及胚胎发育和子代生长发育、生理功能、行为能力、生殖功能等的影响和程度。结果表明染料木素各组母鼠的心脏系数与溶剂对照组比较存在明显差异(P<0.05),存在剂量-反应关系,提示围产期、哺乳期给予受检样品引起动物心脏增大;受检样品剂量高于160 mg/kg 子宫系数较溶剂对照组增大;孕鼠在围产期和哺乳期给予高剂量即480 mg/kg 的受检样品,引起子代死亡率明显增高,生理发育滞后,但对子代行

为、生殖功能无明显影响。本实验结果表明母鼠围产期、哺乳期服用染料木素引起心脏增大;染料木素对母鼠生殖和子代生长发育的无作用剂量为160 mg/kg。此结果为染料木素临床应用提供了依据。

References:

[1] 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): 830-831.
[2] Xu J N, Wang Q K, Li Z S, *et al*. Study on reproductive toxicity of genistein II. Teratogenicity toxicity [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(8): 914-915.
[3] Vogel H G, Vogel W H. *Drug Discovery and Evaluation-Pharmacological Assays* (药理学实验指南——新药发现和药理学评价) [M]. Beijing: Science Press, 2001.

川芎嗪及冰片对蛙黏膜纤毛转运能力的影响

潘 嘉^{*}

(四川省中药研究所 药理室, 四川 成都 610041)

川芎具有活血行气、祛风止痛的功效,是中医用于治疗头痛及偏头痛的常用药物,在中医鼻疗法中的应用频率极高,其有效成分川芎嗪能扩张小动脉、抗血小板聚集、改善微循环、对抗血栓形成等,主要用于心、脑血管系统疾病。冰片则是开窍醒神的重要

药物,且常作为佐使之剂与当归、川芎合用以增强其疗效。蛙黏膜纤毛转运能力实验常作为研究药物对黏膜清除作用的实验方法之一,本实验研究川芎嗪及冰片对蛙黏膜纤毛转运能力的影响,探讨黏膜纤毛转运能力实验方法在中药研究中的运用及药物的

^{*} 收稿日期: 2004-02-13
基金项目: 国家中医药管理局资助项目 (02—03ZQ 04)
作者简介: 潘 嘉 (1970—), 女, 四川达县人, 助理研究员, 硕士, 主要从事中药药理学及毒理学研究。
Tel: (028) 85237056 E-mail: panjia028@163.com