

茶多酚对醋氨酚致大鼠胚泡 微核诱导作用的影响

浙江医科大学药学系药理教研室 楼宜嘉 周张东

摘要 作者采用细胞生物学与细胞遗传学方法,评价茶多酚(TP)对醋氨酚(Ace)致大鼠着床前胚泡遗传物质损伤的预防作用。结果表明,大鼠孕第3天 ig Ace 0.5 g/kg(阳性阴道涂片为孕第0天),呈明显的胚泡微核诱导作用,胚泡微核率为12.2%,具微核胚泡率为33.3%,而孕第0~3天每天 ig TP 0.1、0.2和0.4 g/kg后再给同剂量Ace,则胚泡微核率和具微核胚泡率均显著降低,分别为6.2%、4.1%、3.7%和18.3%、14.3%、12.5%,并呈良好的剂量依赖关系。提示TP对Ace致大鼠胚泡遗传物质损伤有预防作用,其机制可能与抑制细胞色素P₄₅₀的活性,降低Ace在体内代谢有关。

关键词 茶多酚/药物作用;醋氨酚/毒性;诱变试验;胚泡;大鼠

醋氨酚(acetaminophen Ace)在未引起大鼠着床前胚泡细胞毒性时,可诱导其产生微核,造成大鼠早期胚胎遗传物质损伤^[1]。该微核诱导作用可被酶诱导剂苯巴比妥增强,而被酶抑制剂西米替丁减弱^[2],提示Ace经由酶转化的代谢产物与大鼠早期胚胎遗传物质损伤有相关性。茶多酚(tea polyphenols, TP)具有抗肿瘤、抗诱变^[3,4]及抑制细胞色素P₄₅₀同功酶的表达调节与活性诱导作用^[5~7]。本研究给孕鼠 ig 不同剂量TP后,再给以Ace,拟论证TP对Ace所致的胚胎遗传物质损伤是否有预防作用,并探索其可能的机制。

1 材料与方 法

1.1 药品与动物 Ace为江苏苏州制药厂产品,用前以羧甲基纤维素钠(CMC)胶浆制成混悬液。TP为浙江德清生物化工公司产品,用前制成水溶液。Sprague-Dawley大鼠,

♀,体重186~222 g,10周龄;♂,由浙江医科大学动物中心提供,饮食自由,明暗周期12 h/12 h,室温21±1℃。相对湿度55±5%。环境适应2周后,♂♀动物以1:4于下午17时合笼,次日上午8时查阴道涂片,以查得精子为妊娠第0天,孕鼠供用。

1.2 孕鼠处理 随机分组,分别作以下处理:于孕后第0、1、2天上午9时及第3天下午15时 ig TP 0.1、0.2和0.4 g/kg(0.4 g/kg约为1/20 LD₅₀,相当于成人的一天用量)。于孕第3天上午9时 ig Ace 0.5 g/kg(该剂量对大鼠胚泡有微核诱导作用,而无细胞毒性^[1]),以探索TP对Ace致大鼠胚泡遗传毒性是否有预防作用,及其是否呈一定的量效关系。同时设单给TP 0.4 g/kg,以观察TP本身对胚泡的影响; ig CMC 5 ml/kg作溶剂对照,及Ace 0.5 g/kg作阳性对照。

1.3 胚泡标本制备 各组动物于孕第4天

下午 13:00~15:00 处死,取子宫,每侧子宫以生理盐水冲洗,收集胚泡于微型表面皿上。在低倍显微镜下($\times 40$),以直径 $10\ \mu\text{m}$ 的毛细玻管将胚泡移至 0.7% 枸橼酸钠溶液中低渗处理 10 min,并以乙醇:乙酸(3:1, v:v)溶液数滴将胚泡固定在玻片上 10 min,空气吹干,Giemsa(pH 7.4)染色 15 min 供用。

1.4 胚泡细胞数及微核观察 胚泡经低渗处理破坏整体结构后,仅剩细胞核。光镜下($\times 1000$)进行细胞生物学与细胞遗传学分析。以每个胚泡的细胞核总数计为该胚泡的细胞数,并将颜色与主核相同,大小约为主核 $1/5\sim 1/20$,边缘光滑,在光镜下与主核焦距一致的核粒,计为该胚泡的微核数,不列入该胚泡细胞总数,计算每组胚泡微核数占该组胚泡细胞总数的千分率,以此评价药物对胚泡遗传物质损伤的程度。此外,每个胚泡不论其微核数多少,均计为 1 个具微核胚泡,以此

评价药物对胚泡遗传物质损伤的广泛性。

1.5 统计处理 胚泡细胞数以 t 检验,胚泡微核率及具微核胚泡率以 χ^2 进行显著性检验。

2 结果

单给 Ace 组胚泡的上述各项细胞生物学和细胞遗传学指标结果均与文献报道^[1,2]相符。单给 TP 0.4 g/kg 组各项观察指标均与 CMC 组无显著差异。TP 合用 Ace 组,当 TP 为 0.1 g/kg 时,胚泡微核率显著少于单给 Ace 组($P < 0.05$),具微核胚泡率则无显著差异;当 TP 为 0.2 g/kg 和 0.4 g/kg 时,胚泡微核率与单给 Ace 组相比呈极显著减少($P < 0.01$),具微核胚泡率也呈显著减少($P < 0.05$)(附表)。TP 合用 Ace 各剂量组胚泡微核率和具微核胚泡率的减少呈剂量依赖性($r = -0.986, r = -0.972, P < 0.05, P < 0.01$)(附表)。

附表 茶多酚对大鼠孕第 3 天给醋氨酚致胚泡微核诱导作用的影响

药物(g/kg)	胚泡数 Δ		细胞数		发生率	
	收集到	制片用	总数	每个胚泡($\bar{x} \pm s$)	微核(‰)	具微核胚泡(%)
CMC	84	67	2747	41 \pm 4	3.0	11.6
Ace 0.5	68	59	2193	40 \pm 6	12.2**	33.3*
Ace 0.5+TP 0.1	73	61	2189	39 \pm 4	6.2+	18.3
0.2	85	72	2751	40 \pm 5	4.1++	14.3+
0.4	81	66	2338	40 \pm 5	3.7++	12.5+
TP 0.4	74	65	2296	40 \pm 4	2.6	10.2

Δ 收集到与制片用胚泡数之间的差异,系操作中丢失所致; $n=7\sim 9$;与 CMC 组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与单用同剂量 Ace 相比,+ $P < 0.05$,++ $P < 0.01$

3 讨论

前文报道^[1],Ace 在未引起大鼠早期胚胎胚泡化作用受阻和胚泡细胞数明显减少时,即可使胚泡微核率显著增高,Ace 对大鼠胚泡的这种遗传毒性与发育毒性及细胞毒性相分离现象,提示其对遗传物质的损伤作用可能在染色体水平上。Ace 对胚泡的微核诱导作用可被酶诱导剂苯巴比妥增强,而被酶抑制剂西米替丁减弱^[2],提示 Ace 经由酶代谢的产物与大鼠早期胚胎遗传物质损伤有相

关性。本研究结果表明,TP 能影响 Ace 对大鼠胚泡的微核诱导作用,使胚泡微核率和具微核胚泡率均显著降低,且该种作用呈较好的剂量依赖关系。由于胚泡微核率主要反映着床前胚泡遗传物质损伤程度,而具微核胚泡率则主要反映着床前胚泡遗传物质损伤累及个体的广泛性^[1],故本文结果提示,TP 对 Ace 所致的大鼠胚泡遗传物质损伤有一定的预防作用^[8]。但鉴于 Ace 对大鼠胚泡的遗传毒性与酶诱导剂苯巴比妥的剂量呈正相关性^[2],且因 TP 能抑制 β 萘黄酮对 FL 细胞色

素P₄₅₀同功酶的表达调节及活性,从而减少B(a)P-DNA加成物形成,并增加氟霉素的细胞毒性^[5~7]。故本实验结果中TP的作用靶位可能在细胞色素P₄₅₀,使其表达调节及活性受到抑制,而使Ace的代谢产物减少,呈现抗Ace诱变活性作用,使大鼠胚泡遗传物质免受Ace代谢产物的损伤。TP对Ace致大鼠胚泡遗传物质损伤的预防作用的深入机制,有待进一步探讨。

参 考 文 献

1. 楼宜嘉,等. 阿司匹林,对乙酰氨基酚和布洛芬对整体大鼠着床前胚泡的微核诱导作用. 中国药理学与毒理学杂志,1993,7(4): 297
2. 楼宜嘉,等. 苯巴比妥,西米替丁对醋氨酚致整体大鼠着床前胚泡毒性的影响. 癌变·畸变·突变,1996,8(3): 150
3. 曹明富,等. 绿茶多酚类化合物抗肿瘤作用研究. 科技通报,1992,8(4): 204
4. 杨贤强,等. 茶多酚生物活性的研究. 茶叶科学,1993,13(1): 51
5. 冯 磊,等. 茶多酚对人羊膜上皮细胞形成B(a)P-DNA加成物的影响. 癌变·畸变·突变,1995,7(2): 65
6. 冯 磊,等. 茶多酚对人羊膜上皮细胞FL系EROD活性的影响. 中国病理生理杂志,1996,12(5): 467
7. 冯 磊,等. 茶多酚对氟霉素毒性作用的影响. 癌变·畸变·突变,1996,9(16): 326
8. 余应年. 肿瘤的化学预防. 见:江希明,郑树,丁仁瑞. 肿瘤生物学. 杭州:浙江科学技术出版社,1995: 156
(1996年10月23日收稿,同年12月20日修回)

EFFECTS OF TEA POLYPHENOLS ON ACETAMINOPHEN-INDUCED MICRONUCLEI OF RAT BLASTOCYST *IN VIVO*

Lou Yijia and Zhou Zhangdong

Department of Pharmacy, Zhejiang Medical University

Chemical prevention with effects of tea polyphenols (TP) on acetaminophen-induced micronuclei of rat blastocyst *in vivo* were evaluated by cytological and cytogenetic toxicity analysis. Female rats were treated with acetaminophen (Ace) 0.5 g/kg ig on day 3 of pregnancy (positive vaginal smear=day 0) or Ace 0.5 g/kg ig on day 3 after treating with TP 0.1, 0.2, and 0.4 g/kg ig on day 0, 1, 2 and 3 of pregnancy, respectively. Blastocysts were collected on day 4, and evaluated for cell number and micronucleus. The frequency of micronuclei was 12.2% and the frequency of blastocysts with micronuclei was 33.3%, while in the Ace group exposed to Ace 0.5 g/kg both of them markedly higher than those in control group. But in TP-pretreated groups, the frequency of micronuclei was 6.2%, 4.1%, and 3.7%; the frequency of blastocysts with micronuclei was 18.3%, 14.3%, and 12.5%; both of them were reduced in a dose dependent manner. The results demonstrated that TP could chemically protect rat blastocysts from acetaminophen-induced micronuclei *in vivo*.

KEY WORDS Tea polyphenols/drug eff; Acetaminophen/tox;
Mutagenicity tests; Blastocyst; Rat