

维生素 E 拮抗氯化汞致小鼠微核作用的研究

周纯先 王帮霞 肖 棣 王允滋
蚌埠医学院卫生学教研室 蚌埠 233003

摘要 本文采用微核试验方法对维生素 E (V it E) 拮抗氯化汞 (HgCl₂) 致小鼠胸骨骨髓多染红细胞微核作用进行了研究。其主要结果有: (1) 给小鼠 V it E 5mg/kg 体重及以上剂量时, 可显著地降低 HgCl₂ 1. 0mg/kg 体重的致小鼠微核作用 ($P < 0. 001$); (2) 在 HgCl₂ (1. 0mg/kg) 给小鼠染毒前 4h 和染毒后 2h 内补充 V it E 20mg/kg 体重时, 均显示明显地拮抗致微核作用 ($P < 0. 001 \sim P < 0. 01$); (3) 隔日给小鼠 V it E 2. 5mg/kg 体重一个月后也可显著地减少 HgCl₂ (1. 0mg/kg) 的致微核作用 ($P < 0. 001$)。

关键词 维生素 E; 氯化汞; 微核试验; 小鼠

ANTAGONISTIC EFFECTS OF VITAMIN E ON MICRONUCLEI INDUCED BY MERCURIC CHLORIDE IN MICE

表 2 茯苓对 AFB₁ 诱发 MN 的影响

组别	动物数	PCE 数	MN 数	MN% $\bar{x} \pm s$
DM SO 组	8	8 000	17	2. 125 \pm 0. 640
A FB 1 组	8	8 000	70	8. 75 \pm 0. 707
茯苓组				
2. 5g/kg	8	8 000	66	8. 25 \pm 0. 886
5g/kg	8	8 000	62	7. 75 \pm 0. 707*
10g/kg	8	8 000	56	7. 00 \pm 0. 756**
20g/kg	8	8 000	45	5. 625 \pm 0. 744**
40g/kg	8	8 000	43	5. 375 \pm 0. 517**

注: 与 A FB 1 组比较 * $P < 0. 05$, ** $P < 0. 001$

茯苓在动物活体内抗 A FB 1 致突变作用的发现, 对于人类防癌抗癌、开发中药资源、应用茯苓防病治病有着十分重要的意义。对于茯苓抗 A FB 1 致突变的作用机理有必要进行深入的研究。

参考文献

1. 陈定南, 樊亦军, 周军等. 茯苓多糖抗肿瘤及其有关药理作用. 中药通报, 1987; 12(9): 41.
2. 陈春霞. 茯苓多糖体的药理药化研究及其临床应用初探. 中草药, 1985; 16(4): 40.
3. 阮萃才, 梁远, 刘锦玲, 等. 10 种中药对霉变食物致突变作用的抑制. 癌变·畸变·突变, 1991; 3(3): 39.
4. 黄幸纾, 陈星若. 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985.
5. 洪振丰, 叶挺兴, 陈少华, 等. 茵陈蒿对 A FB 1 诱发的遗传损伤的影响. 中医杂志, 1992; 33(8): 44.
6. 沈关平. 微核与染色体畸变的相关性. 遗传, 1985; 7(1): 15.

本研究为安徽省教委自然科学基金资助

Abstract In this paper, antagonistic effects of vitamin E (Vit E) on the rate of micronuclei in the mouse bone marrow polychromatic erythrocyte induced by mercuric chloride (HgCl₂) was studied. The micronucleus test method was used. The results are as follows: (1) The rate of micronuclei induced by the combining Vit E 5mg/kg body weight or more plus HgCl₂ 1.0mg/kg body weight was much lower than that of HgCl₂ control group ($P < 0.001$); (2) When the experimental group mice received Vit E 20mg/kg body weight four hours before with HgCl₂ 1.0mg/kg body weight, the rate of micronuclei was lower than that of HgCl₂ control group ($P < 0.001 \sim P < 0.002$); (3) The antagonistic effect of Vit E on HgCl₂-induced micronuclei was observed two hours after the mice treatment with HgCl₂ 1.0mg/kg body weight ($P < 0.001 \sim P < 0.01$); and (4) The antagonistic effect of micronuclei caused by HgCl₂ 1.0mg/kg body weight was also obviously after the mice were given Vit E 2.5mg/kg body weight every two days for a month ($P < 0.001$).

Key words Vitamin E; Mercuric chloride; Micronucleus test; Mice

维生素 E (Vit E) 是人体必需微量营养素, 具有抗氧化剂作用。研究表明^(1,2) Vit E 可预防许多化学物质对肝脏的损害和致(诱)癌作用。但是有关 Vit E 抗诱(突)变作用的研究则报道较少。本研究用微核试验方法对 Vit E 拮抗氯化汞 (HgCl₂) 致小鼠胸骨骨髓多染红细胞微核作用进行了实验观察。

材料和方法

1. 动物选择 实验动物为本院实验动物中心提供的昆明种小鼠, 体重 18~25g, 根据试验设计随机分成若干组, 每组 6 只, 雌雄各半。

2. 试剂配制 HgCl₂ 由上海试剂四厂生产, 纯度为 99.5%, 用蒸馏水配制成浓度为 0.1mg/ml 的 HgCl₂ 溶液供试验用 (小鼠灌胃量按 0.1ml/10g 体重计算, 即剂量为 1.0mg/kg 体重); Vit E 为 MERCK 产品, 先用少量植物油配成母液, 然后再用 25% 的面粉溶液分别配成浓度为 4.0、2.0、1.0 和 0.5mg/ml 的试验用液, 即剂量为 40、20、10 和 5mg/kg 体重 (其灌胃用量均按 0.1ml/10g 体重计算)。

3. 实验方法 本研究共进行四项试验, 即不同剂量 Vit E 拮抗 HgCl₂ 致小鼠微核作用、HgCl₂ 小鼠染毒前不同时间内给 Vit E 拮抗致微核作用、HgCl₂ 小鼠染毒后不同时间内给 Vit E 拮抗致微核作用和低剂量 Vit E 给予小鼠一个月后拮抗 HgCl₂ 致微核作用。其具体实验设计同我们早先研究⁽³⁾。

4. 微核测定和资料分析⁽⁴⁾ 微核测定按常规试验方法进行, 每只小鼠取胸骨骨髓涂玻片 2 张, 计数 1000 个多染红细胞和有微核细胞数, 并计算各组小鼠的平均微核率(‰)。本试验结果按 Poisson 分布, 选用 u 检验法作各组微核率间的假设检验 ($\alpha = 0.05$)。

结果

1. 不同剂量 Vit E 拮抗 HgCl₂ 致小鼠微核作用 结果 (见表 1) 显示, I 组~IV 组小鼠的微核率均明显地低于单纯 HgCl₂ 组 ($P < 0.001$), 但 Vit E 各剂量组间微核率的差异无显著性 ($P > 0.05$)。阴性对照组小鼠的微核率也较 HgCl₂ 组为低 ($P < 0.001$), 与 Vit E 各组间差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

表 1. 不同剂量 Vit E 拮抗 HgCl₂ 致微核作用

分组	Vit E 剂量 (mg/kg)	HgCl ₂ 剂量 (mg/kg)	观察 细胞数	有微核 细胞数	微核率 (%)	<i>u</i>	<i>P</i> *
I	5	1.0	6 000	28	4.67	3.84	< 0.001
II	10	1.0	6 000	23	3.83	4.48	< 0.001
III	20	1.0	6 000	24	4.00	4.35	< 0.001
IV	40	1.0	6 000	24	4.00	4.35	< 0.001
V	-	1.0	6 000	65	10.83	-	-
VI	阳性对照组	-	6 000	236	39.33	9.86	< 0.001
VII	阴性对照组	-	6 000	17	2.83	5.30	< 0.001

* 均与 V 组(单纯 HgCl₂)比较

2 HgCl₂ 染毒前不同时间内给小鼠 Vit E 拮抗致微核作用 结果(见表 2)表明, 在给小鼠 HgCl₂ (1.0mg/kg 体重) 染毒前不同时间补充 Vit E 20mg/kg 体重后, 其各组微核率均较 I 组(单纯 HgCl₂ 组)为低($P < 0.001$)

~ $P < 0.002$); 另外, 除 III 组与 V 组、VI 组微核率间差异有显著性外($P < 0.05$ 和 $P < 0.001$), 其余各组间差异均无显著性($P > 0.05$)。

表 2 HgCl₂ 染毒前不同时间内给 Vit E 拮抗致微核作用

分组	给 Vit E 时间 (min)	观察 细胞数	有微核 细胞数	微核率 (%)	<i>u</i>	<i>P</i> *
I	-	6 000	65	10.83	-	-
II	0	6 000	24	4.00	4.35	< 0.001
III	30	6 000	15	2.50	5.59	< 0.001
IV	60	6 000	22	3.67	4.61	< 0.001
V	120	6 000	28	4.67	3.84	< 0.001
VI	240	6 000	33	5.50	3.32	< 0.002

* 均与 I 组(单纯 HgCl₂)比较

3 HgCl₂ 染毒后不同时间内给小鼠 Vit E 拮抗致微核作用 研究结果(见表 3)发现, 在 HgCl₂ 染毒后不同时间内给小鼠 Vit E

20mg/kg 体重后, 各组微核率均明显低于 HgCl₂ 组(1.0mg/kg 体重) ($P < 0.01 \sim P < 0.001$), 但各组间差异无显著性($P > 0.05$)。

表 3 HgCl₂ 染毒后不同时间内给 Vit E 拮抗致微核作用

分组	给 Vit E 时间 (min)	观察 细胞数	有微核 细胞数	微核率 (%)	<i>u</i>	<i>P</i> *
I	-	6 000	65	10.83	-	-
II	0	6 000	24	4.00	4.35	< 0.001
III	15	6 000	27	4.50	3.96	< 0.001
IV	30	6 000	24	4.00	4.35	< 0.001
V	60	6 000	32	5.33	3.35	< 0.001
VI	120	6 000	37	6.17	2.77	< 0.01

* 均与 I 组(单纯 HgCl₂)比较

4 给小鼠低剂量 Vit E 一个月后拮抗致微核作用 结果(见表 4)显示, Vit E+ HgCl₂ 组小鼠的微核率明显低于 HgCl₂ 组 ($P < 0$

001), 但与阴性对照组间差异无显著性 ($P > 0.05$)。

表 4 低剂量 Vit E 拮抗 HgCl₂ 致微核作用

分组	观察 细胞数	有微核 细胞数	微核率 (%)	<i>u</i>	<i>P</i> *
Vit E+ HgCl ₂	6 000	29	4.83	3.54	< 0.001
HgCl ₂	6 000	63	10.50	-	-
阳性对照组	6 000	215	35.83	9.12	< 0.001
阴性对照组	6 000	20	3.33	4.72	< 0.001

* 均与 HgCl₂ 组比较

讨 论

研究^(5,6)发现,在人们的正常膳食组成中,各种保护性营养素与各种致(诱)变物或致(诱)癌物往往并存,而营养素与癌的相关性研究也表明,许多营养素在肿瘤的发生、发展或防癌、抗癌等方面都具有一定的作用。因此,开展这一领域内的研究是预防医学面临的重要课题之一。我们的研究^(3,7)也表明,给小鼠补充 β -胡萝卜素和维生素 A 等营养素后均可显著地降低 HgCl₂ 致微核作用。本次研究再次显示,给小鼠 Vit E 5mg/kg 体重及以上剂量处理后,均可有效地降低 HgCl₂ 的致微核作用;在 HgCl₂ 染毒前 4h 内和染毒后 2h 内给小鼠补充 Vit E 时同样也具有减少 HgCl₂ 的致微核作用,但随着给 Vit E 时间的提前和延迟其微核率有逐渐增高趋势。一个月的试验结果也表明,隔日给小鼠 Vit E 2.5mg/kg 体重后也可使 HgCl₂ 致微核作用明显减弱。

有研究⁽⁸⁾证明, Vit E 能抑制亚硝酸胺等致食管癌作用。其机理可能与它抗氧化作用有关,即能清除自由基,保护 DNA 免受氧化损害;另外, Vit E 对机体的免疫监视机制也可能有保护作用。相关研究⁽⁹⁾也表明,人群血中的 Vit E 等营养素的水平与食管癌和胃癌的患癌风险呈负相关,而补充 Vit E 后患食管癌和口腔癌的风险可降低 50% 左右,具有保护作用,并能使口腔癌前病变(口腔白斑)向正常逆转。但有关 Vit E 抗 HgCl₂ 致微核作

用的机制尚不清楚,有待深入研究。

本研究采用灌胃法给小鼠 Vit E 后均显示明显地拮抗 HgCl₂ 致微核作用,并较之经腹腔注射营养素时有利于其吸收和发挥其抗突(诱)变作用。本研究方法简便、易行,而且给营养素的途径符合人类的摄食方式,其结果对于筛检具有抗突(诱)变的营养素,或在接触环境致(诱)变物的人群中进行营养干预性研究都具有一定的实用价值。

参考文献

- Birt DF. Update on the effects of vitamin A, C, E and selenium on carcinogenesis *Proc Soc Exper Biol Med*, 1986; 183: 311.
- 刘晓芳, 仲来福, 夏元洵. 氯丁二烯致大鼠肝脏损害机理及维生素 E 的预防作用 *卫生毒理学杂志*, 1992; 6(2): 128.
- 周纯先, 王帮霞, 肖棣, 等. β -胡萝卜素拮抗 HgCl₂ 致小鼠微核作用的研究 *蚌埠医学院学报*, 1994; 19(1): 15.
- 李寿祺. *卫生毒理学基本原理和方法* 第一版 成都: 四川科学技术出版社, 1987: 457~ 460.
- 罗贤懋. 肺癌高风险人群的维生素营养状况 *中华肿瘤杂志*, 1991; 13(4): 257.
- 沈善康. 致突变抑制剂及其与致癌作用的关系 *国外医学卫生学分册*, 1987; 14(2): 91.
- 周纯先, 肖棣, 王帮霞, 等. 维生素 A 拮抗 HgCl₂ 致小鼠微核作用的研究 *蚌埠医学院学报*, 1994; 19(2): 101.
- Odeleye OE, Eskelson CD, Watson RR, et al. Vitamin E protection against nitrosamine-induced esophageal tumor incidence in mice immunocompromised by retroviral infection *Carcinogenesis*, 1992; 13: 1811.
- 黎均耀, 布洛特, 李冰, 等. 中国林县居民癌症和其它常见病营养预防试验效果初步报告 *中华肿瘤杂志*, 1993; 15(3): 165.