

· 药 理 ·

氯霉素对着床前大鼠胚泡的遗传毒性^①

徐庆 楼宜嘉 张丽进

(浙江医科大学药理学系药理教研室, 杭州 310006)

摘要 为评价氯霉素对着床前胚泡的遗传毒性作用, Wistar 大鼠在妊娠 d3 ip 氯霉素 65mg/kg, 165mg/kg, 330mg/kg。孕鼠于妊娠 d4 处死取胚泡, 观察微核率, 具微核胚泡率及有关丝分裂指数等。结果表明氯霉素各剂量组的微核率呈剂量依赖性增加, 与对照组相比较均有极显著差异; 具微核胚泡率与对照组相比无显著差异, 但呈一定量效相关性; ip 氯霉素 330mg/kg 时, 平均细胞数显著减少, 有丝分裂指数与对照相比较无显著差异。提示氯霉素对整体大鼠着床有胚泡具遗传毒性。

关键词 氯霉素 遗传毒性 胚泡 微核

氯霉素(chloramphenicol)现在仍用于伤寒, 付伤寒和其它沙门氏菌, 脆弱拟杆菌感染等^[1,2]。近年来氯霉素被列为《国家基本药物》, 使其在临床的治疗地位再次受到重视。然而, 氯霉素是硝基芳香族化合物, 被 IARC 认为具有诱变和癌变的可能^[3]对其遗传毒性的评价因受时代背景的限制迄今无较完整的资料^[3,4], 所以有必要对其遗传毒性作进一步研究, 本文以整体大鼠着床前胚泡为生物测试系统, 通过对胚泡的细胞学分析及细胞遗传学分析, 评价氯霉素对哺乳动物细胞的遗传毒性。

1 材料与方法

1.1 动物处理

Wistar 种♂和♀大鼠, 体重 $200 \pm 20(\bar{x} \pm s)$ g, 性成熟, 由浙江医科大学动物中心提供。室温 $21 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 $55 \pm 5\%$, 大鼠饮食自由, 环境适应 2wk 后, ♂♀动物以 1:4 于 17:00 合笼交配, 次日 8:00 检查阴道涂片, 以查得精子为妊娠 d0, 孕鼠分笼饲养供应。孕鼠随机分组, 于妊娠 d3 9:00 ip 氯霉素(浙江新昌制药厂产品, 生理盐水配制) 65mg/kg, 165mg/kg, 330mg/kg, 溶剂对照组 ip 生理盐水, 阳性对照组 ip 环磷酰胺(SIGMA 产品, 生理盐水配制) 40mg/kg。

1.2 胚泡细胞学与细胞遗传学观察

孕鼠于妊娠 d4 13:00—15:00 处死, 取子宫, 用 1ml 生理盐水冲洗每侧子宫, 收集胚泡于微形表

面皿中, 在低倍显微镜下($\times 40$)观察胚泡外形。用直径 10 μm 的毛细管将胚泡移至 0.7% 枸橼酸钾低渗溶液的凹形玻片上, 破坏其整体结构。10min 后再将其移至于玻片上, 用冰醋酸:乙醇(1:3)溶液固定, 空气吹干, Giemsa 染液(pH6.8)染色后用中性树脂封片, 在油镜下($\times 1000$), 观察胚泡核象, 计数每个胚泡中的细胞数, 有丝分裂细胞数和微核数^[5]。以胚泡微核率及其具微核胚泡显著增加作为遗传毒性指标^[6], 其中胚泡微核率为每组胚泡细胞总数中所含微核数, 表示氯霉素对胚泡遗传物质的损伤程度, 而每个胚泡不论其含微核多少, 均计为一个具微核胚泡, 表示氯霉素对胚泡遗传物质损伤的广泛性。

本实验引用的评价指标中, 有丝分裂指数、微核率及其微核胚泡率用 X^2 检验、平均细胞数用 t 检验。

2 结果

表 1 结果表明, 孕鼠 ip 氯霉素 65mg/kg, 各项指标与对照组相比均无显著影响($P > 0.05$)。当氯霉素为 165mg/kg 及 330mg/kg 时, 胚泡微核率与对照组相比有极显著差异($P < 0.01$, $p < 0.001$), 其它各项指标也程度不同的受到影响。其中胚泡平均细胞数的减少及具胚泡微核率的增高呈一定的剂量依赖关系($r = -0.804$, $r = 0.88$), 但与对照组相比无显著意义, 当 ip 氯霉素为 330mg/kg 时, 胚泡平均细胞数与对照组比有极显著差异, 各剂量组有丝分裂

① 国家自然科学基金资助课题, No 39470836

指数与阴性组比均无显著差异。

表 1 氯霉素对大鼠着床前胚泡的细胞学与细胞遗传学影响

药 物	剂量 (mg/kg)	胚泡数		细胞总数	胚泡细胞数 (X±S)	微核率 (%)	具微核胚泡率 (%)	有丝分裂指数 (%)
		收集	观察					
对 照	—	104	92	3450	40.4±4.1	3.47	7.61	3.77
环磷酰胺	40	96	80	2425	30.3±8.3***	34.63***	50.00***	5.40**
氯霉素	65	103	79	3210	40.6±3.3	4.2	9.4	3.3
	165	108	82	3505	41.8±6.7	9.05**	13.41	2.94
	330	107	77	2813	37.2±6.9***	10.55***	14.29	3.44

微核率:微核数/总细胞核数×1000;具微核胚泡率:具微核胚泡数/观察胚泡数×100;有丝分裂指数:有丝分裂细胞数/总细胞数×100;收集的胚泡数与观察的胚泡数之差是用于操作中的丢失;n=10-12 与对照组比较 **P≤0.01

***P≤0.001

3 讨论:

整体动物在胚泡着床前染毒,对胚泡毒性效应的评估终点可分为显微形态学分析与细胞学分析两部分^[6],本文采用细胞学与细胞遗传学分析方法,它可反映着床前胚胎的遗传毒性、细胞毒性及细胞周期^[6,7]。

氯霉素为硝基芳香族化合物,被IARC认为具有诱变和癌变的可能^[3]。给妊娠d13的大鼠ip氯霉素,胎肝细胞的微核率呈剂量依赖性增加^[8],说明氯霉素可经胎盘诱导着床后胚胎遗传毒性。为了研究氯霉素对着床前胚泡的遗传毒性效应,本实验采用灵敏的胚泡微核法^[7],在大鼠妊娠d3给药,因为大鼠妊娠d3胚泡对药物最敏感^[9],结果显示氯霉素对着床前胚泡也具有诱导产生微核作用,并微核呈剂量依赖性增加,提示氯霉素对大鼠经胎盘诱导胚胎的遗传毒性效应同样存在于对大鼠着床前胚胎上。

本研究结果显示氯霉素对具微核胚泡率的差异与对照组相比无统计学意义,即在胚泡微核率提高同时,并不伴有具微核胚泡率的平行提高,提示氯霉素对遗传物质损伤的毒性作用未累及较多的胚泡,不具广泛性。本研究结果还显示,胚泡有丝分裂指数与对照组比无显著差异,但平均细胞数在330mg/kg时显著减少,提示氯霉素在大剂量时细胞数减少并非由于它干扰细胞有丝分裂而使细胞周期停止在有丝分裂期所致,更有可能为氯霉素对细胞有丝分裂的抑制作用发生在细胞分裂间期。与文献报道^[9]氯霉素能在细胞分裂时通过诱导优先合成和质粒积累而抑制染色体DNA合成相符。本研究结果为硝基芳香族化合物的致突变致癌可能性提供了实验依

据。

从本文结果可见,与环磷酰胺比较氯霉素对细胞总数、胚泡细胞数、微核率、具微核胚泡率影响均较小。说明氯霉素的遗传毒性比环磷酰胺小。

另鉴于药源性哺乳动物着床前胚泡异常可在胚胎着床后或出生后呈现长期毒性效应^[11],故氯霉素对大鼠着床前胚泡的这种遗传物质损伤极可能对胚胎着床后发育的远期效应有潜在危害,应对其引起高度重视。

参 考 文 献

- 1 Acharya G Butler T Ho M et al; Treatment of typhoid fever: randomized trial of a three-day course of ceftriaxone versus a fourteen-day course of chloramphenicol. Am J Trop Med Hyg. 1995;52(2):162
- 2 Norris AH; Reilly JP; Edelstein PH; et al; Chloram phenicol for The treatment of vancomycin-resistant enterococcal infections. Clin Infect Dis 1995; 20(5): 1137
- 3 Martelli A Mattioli F Pastorino G et al. Genotoxicity testing of chloramphenicol in rodent and human cells. Mutation Reseach 1991;260:65
- 4 Rosenkranz HS Chloramphenicol:magic bullet or doubleedge sword? Mutation Reseach 1988;196.1
- 5 Ornaghi F and Giavini E; Induction of mi-

- cronuclei in perimplantation rat embryos in vivo. *Mutat Res* 1989,225;7174.
- 6 Spielmann H. Analysis of embryotoxic effects in preim lantation embryo. New York: Plenum Publishing Corporation, 1987:309—31.
- 7 楼宜嘉,应羸,吴飞文等.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—300
- 8 王爱平,袁妙葆.用胎肝多染红细胞微核试检测氯霉素对胎鼠的影响.中国药理学与毒理学杂志.1988,2(4):308.
- 9 应羸,楼宜嘉.大鼠在胚泡着床前应用阿司匹林与醋氨酚对胚泡及胎仔发育的影响,中国药理学报,1993,14(4):369—372.
- 10 Williams PH Blair DG and Helinski DR : Synthesis and Repair of RNA — containing Supercolied Plasmid Cole DNA in Escherichia coli. *Plasmic*,1982 7,180—191
- 11 楼宜嘉,丁光生,屠曾宏,大鼠胚泡植入前期给亲代阿司匹林致移植胚胎的毒性.中国药理学报,1996,17(1):52—54

收稿日期:1996—11—01

ABSTRACTS IN BRIEF

Genetic Toxicity of Chloramphenicol to Rat Preimplant Blastocysts *in vivo*

Xu Qing, Lou Yija, Zhang Lijin

(Dept. of Pharmacology, School of Pharmacy, Zhejiang Medical University, HangZhou310031)

Abstract To evaluate the genetic toxicity of chloramphenicol on preimplanted blastocysts. Wistar rats were treated with chloramphenicol (ip, 65mg, 165mg and 330mg/kg) on d3 of gestation in rats. Blastocysts were collected on d4 and evaluated for micronuclei, blastocysts with micronuclei and embryo mitosis index. The results showed that, compared with the control, the micronucleus frequency has a dose-related increase with significant difference. If treated with chloramphenicol (ip, 330mg/kg), the mean cell number per blastocyst decreased with significant difference. No marked difference in the frequency of blastocysts with micronuclei was observed, but there was an increasing trend depending on dose. The embryo mitosis index had no significant difference between the treated and control groups. Results suggest that there may be the effect of genetic toxicity of chloramphenicol on rat preimplanted blastocysts *in vivo*.

Key words chloramphenicol genetic toxicity. blastocyst micronucleus