

·论著·

放射增敏剂尼可胺对 Wistar 大鼠致畸作用的研究

刘晓秋 周则卫 沈秀 吴红英 王德芝 王芹

【摘要】目的 探讨放射增敏剂尼可胺对 Wistar 大鼠的致畸毒性。**方法** 将 Wistar 受孕大鼠随机分为尼可胺高、中、低 3 个剂量(300、200、100 mg/kg)的给药组以及空白对照组(0.9%氯化钠注射液)。大鼠于孕期第 10 天按 1.0 ml/100 g 体质量连续尾静脉注射给药 10 d。受孕 20 d 处死孕鼠, 检查母体妊娠与胚胎畸形情况。**结果** 尼可胺各剂量组孕鼠的体质量与空白对照组比较, 差异无统计学意义; 尼可胺各剂量组均未观察到胎鼠明显的脏器及骨骼的畸形; 尼可胺各剂量组雌性和雄性胎鼠活胎体质量、尾长及体长均较空白对照组明显减少和降低。**结论** 尼可胺在受试剂量下存在一定的胎儿毒性, 但无明显的致畸作用。

【关键词】 辐射增敏药; 烟酰胺; 大鼠, Wistar; 致畸剂

Study on teratogenicity of Nikean in Wistar rats LIU Xiao-qiu, ZHOU Ze-wei, SHEN Xiu, WU Hong-Ying, WANG De-zhi, WANG Qin. Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China
Corresponding author: WANG Qin, Email: wangqin_1005@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To investigate the teratogenicity of Nikean in Wistar rats. **Methods** Pregnant rats were divided into 4 groups, three Nikean dosage groups (300, 200, 100 mg/kg) and one negative control group. Nikean or normal saline was given via caudal vein injection for 10 days from the 10th day of gestation. Pregnant rats were killed at the 20th day of gestation, and parents and their fetuses were examined. **Results** Compared to the control group, there was no difference in weight of pregnant rats in three Nikean dosage groups. No abnormality was observed in skeleton and internal organs of fetuses in three Nikean dosage groups. There were significant differences between three Nikean dosage groups and control group in fetal weight, trunk length and tail length in female and male rats. **Conclusion** NiKeAn at the dose of 300, 200, 100 mg/kg showed a certain fetotoxicity but had no apparent teratogenesis in rats.

【Key words】 Radiation-sensitizing agents; Niacinamide; Rats, Wistar; Teratogens

尼可胺是以烟酰胺为母体化合物合成的烟酰氨基类化合物, 该化合物的肿瘤放射增敏作用显著, 且毒性低^[1-3], 是目前很有希望成为肿瘤放疗高效、低毒且有实用前景的放射增敏剂。为了提高临床用药的安全性, 了解尼可胺是否具有胚胎毒性、胎儿毒性和致畸性, 本文对尼可胺进行了 Wistar 大鼠致畸毒性的研究。

1 材料与方法

1.1 药品

尼可胺纯度为 98%, 白色粉末状, 熔点为 184~

194 ℃, 由中国医学科学院放射医学研究所药物室提供。

1.2 实验动物

Wistar 大鼠为无特定病原体级, 雄性体质量为 300~350 g, 雌性为 200~250 g, 由山东鲁抗医药股份有限公司提供。饲养环境: 屏障环境, 温度 21~24 ℃, 湿度 40%~52%, 换气次数 10~15 次/h, 照明时间: 12 h(8:00 至 20:00 开灯)。

1.3 实验方法

取健康、成年、未育雌性和雄性大鼠各 100 只, 以 1:1 的比例合笼交配, 于次日晨作阴道涂片检查, 发现精子日视为妊娠第 0 天。将受孕大鼠随机分为尼可胺高剂量组(300 mg/kg)、中剂量组(200 mg/kg)、低剂量组(100 mg/kg)和空白对照组(0.9%氯化钠注射液), 每组 20 只孕鼠。于妊娠第

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2013.02.005

基金项目: 天津市科技支撑计划重点项目(09ZCKFSH01500)

作者单位: 300196 天津, 北京协和医学院中国医学科学院放射医学研究所, 天津市分子核医学重点实验室

通信作者: 王芹(Email: wangqin_1005@yahoo.com.cn)

10天始每天尾静脉注射给药1次,连续给药10d,给药体积为1.0 ml/100 g,空白对照组给予等体积0.9%氯化钠注射液^[4-5]。妊娠期间每天观察孕鼠的一般状况;妊娠第0、3、6、9、12、15和20天各称重1次;妊娠第20天对所有孕鼠进行剖宫产检查,并观察记录孕鼠的体质量、黄体数、着床数、活胎数、活胎率、死胎率、吸收胎率;逐一检查活胎并记录胎鼠的性别、体质量、体长、尾长及外观有无畸形。每窝取1/2活胎鼠用Bouin液固定2周后,按照Wilson's切片法观察有无内脏畸形^[6-7];另外1/2活胎鼠经固定、透明和茜素红染色后在解剖镜下检查有无骨骼畸形。

1.4 统计学方法

孕鼠体质量、黄体数、着床数、活胎数、胎鼠体质量、体长、尾长等计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 尼可胺对孕鼠体质量的影响

尼可胺各剂量组孕鼠体质量匀速增长,在第9、12、15、20天时尼可胺各剂量组体质量均低于空白对照组,但差异无统计学意义(表1)。

2.2 尼可胺对孕鼠黄体数、着床数和窝平均活胎数的影响

尼可胺各剂量组孕鼠的黄体数、着床数、窝平均活胎数与空白对照组相比,差异均无统计学意义(表2)。

2.3 尼可胺对胚胎的活胎率、吸收胎率和死胎率的影响

尼可胺各剂量组孕鼠有部分死胎及吸收胎出现,各剂量组活胎率、死胎率、吸收胎率见表3。

表2 尼可胺各剂量组对Wistar受孕大鼠黄体数、着床数和窝平均活胎数的影响($\bar{x} \pm s$)个

组别	只数	黄体数	着床数	窝平均活胎数
尼可胺高剂量组	20	14.56 \pm 1.86 (0.705)	13.25 \pm 1.73 (0.461)	12.63 \pm 2.36 (0.994)
尼可胺中剂量组	20	14.29 \pm 2.66 (0.978)	12.17 \pm 3.71 (0.683)	12.44 \pm 3.67 (0.450)
尼可胺低剂量组	20	15.22 \pm 2.44 (0.218)	11.22 \pm 3.66 (0.202)	10.89 \pm 3.69 (0.119)
空白对照组	20	14.32 \pm 1.95	12.63 \pm 2.91	12.63 \pm 2.91

注:括号内为尼可胺不同剂量组与空白对照组比较所得 t 值, P 均 >0.05 。

表3 尼可胺各剂量组对Wistar受孕大鼠胚胎的活胎率、吸收胎率和死胎率的影响(%)

组别	只数	活胎率	吸收胎率	死胎率
尼可胺高剂量组	20	95.3	3.77	0.94
尼可胺中剂量组	20	95.7	4.35	0
尼可胺低剂量组	20	97.0	2.48	0
空白对照组	20	100	0	0

2.4 尼可胺对胎鼠体质量、尾长和体长的影响

尼可胺各剂量组雄性和雌性活胎体质量、尾长及体长均明显小于空白对照组(表4、表5)。

2.5 胎鼠外观、骨骼和内脏检查结果

空白对照组胎鼠外观未见明显异常,尼可胺高、中剂量组个别胎鼠出现不同程度的后肢皮下淤血斑点,其余胎鼠均未见明显的头部、腹部、背部及四肢等部位外观的异常及畸形。

尼可胺各剂量组及空白对照组胎鼠的枕骨、椎骨、胸骨、肋骨、四肢骨、骨盆骨等骨骼均无数目及形状异常。尼可胺各剂量组及空白对照组胎鼠的头部、胸部、腹部等主要脏器检查均未见明显异常及畸形。

表1 尼可胺各剂量组Wistar受孕大鼠在受孕后不同时间点体质量的变化($\bar{x} \pm s$)g

组别	只数	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	20 d
尼可胺高剂量组	20	274.7 \pm 12.7 (0.230)	287.2 \pm 16.9 (0.876)	298.7 \pm 18.5 (0.372)	307.7 \pm 22.5 (0.410)	323.1 \pm 25.0 (0.124)	358.3 \pm 42.4 (0.099)
尼可胺中剂量组	20	271.5 \pm 19.1 (0.120)	289.1 \pm 17.5 (0.890)	295.0 \pm 21.4 (0.186)	303.8 \pm 22.9 (0.205)	318.3 \pm 26.0 (0.051)	366.3 \pm 43.8 (0.221)
尼可胺低剂量组	20	284.7 \pm 17.6 (0.554)	289.0 \pm 19.9 (0.909)	295.6 \pm 22.2 (0.208)	311.9 \pm 21.7 (0.712)	322.5 \pm 28.6 (0.108)	357.8 \pm 46.5 (0.091)
空白对照组	20	281.2 \pm 17.7	288.2 \pm 20.9	305.7 \pm 25.5	315.0 \pm 28.4	341.6 \pm 40.5	387.6 \pm 57.1

注:括号内为尼可胺不同剂量组在不同时间点与空白对照组比较所得 t 值, P 均 >0.05 。

表4 尼可胺各剂量组对雄性胎鼠体质量、尾长和体长的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	体质量(g)	体长(cm)	尾长(cm)
尼可胺高剂量组	108	3.87±0.97 (10.7)	51.80±4.34 (7.6)	13.98±1.31 (7.4)
尼可胺中剂量组	98	4.33±0.88 (7.1)	53.44±2.95 (5.2)	14.54±1.05 (4.3)
尼可胺低剂量组	96	4.29±0.72 (7.9)	53.11±2.60 (6.0)	14.46±1.17 (4.6)
空白对照组	119	5.19±0.93	55.98±4.16	15.20±1.23

注: 括号内为尼可胺不同剂量组与空白对照组比较所得 t 值, P 均 <0.01 。

表5 尼可胺各剂量组对雌性胎鼠体质量、尾长和体长的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	体质量(g)	体长(cm)	尾长(cm)
尼可胺高剂量组	94	3.57±0.90 ^a (11.4)	50.74±3.65 ^a (6.5)	14.21±1.07 ^a (7.6)
尼可胺中剂量组	99	4.10±0.84 ^a (7.4)	52.63±2.87 ^a (4.0)	14.44±0.98 ^a (6.3)
尼可胺低剂量组	100	4.05±0.93 ^a (7.5)	52.64±3.58 ^a (3.8)	14.75±1.43 ^b (3.5)
空白对照组	120	4.96±0.87	55.21±5.84	15.35±1.11

注: 括号内为尼可胺不同剂量组与空白对照组比较所得 t 值, a 为 $P<0.01$, b 为 $P<0.05$ 。

3 讨论

尼可胺各剂量组孕鼠给药后体质量匀速增长, 与空白对照组相比差异无统计学意义; 摄食量略有下降, 但无明显剂量-效应关系, 表明尼可胺在由胚胎着床直至硬腭闭合阶段给药, 对孕鼠早期无母体毒性。尼可胺各剂量组孕鼠有部分死胎及吸收胎出现, 多数发生在子宫角的卵巢侧端, 这种由着床部位引起的死亡可能是由于子宫角血液供应量不足所致。尼可胺高、中剂量组胎鼠出现不同程度的后肢及尾部淤血, 推测尼可胺能够通过胎盘屏障作用于胎鼠, 影响其末梢血管或微血管的形成; 内脏检查(特别是心脏及大血管检查)及骨骼检查均未发现明显异常。尼可

胺各剂量组胎鼠体质量、体长、尾长均明显低于空白对照组, 推测尼可胺能够通过胎盘屏障作用于胎鼠, 延缓胎鼠的生长发育, 给予大剂量的尼可胺对受精卵着床后的胚胎发育有一定影响, 可能是因孕鼠后期母体毒性引起胎鼠营养不足, 影响其生长发育。胎鼠除以上外观异常外, 头部、躯干、四肢无明显畸形, 死胎率、吸收胎率、窝平均活胎数、内脏、骨骼等各项指标均在正常范围, 表明尼可胺不影响受精卵着床后的胚胎存活, 对胎鼠也无致畸性。

4 结论

尼可胺由胚胎着床直至硬腭闭合阶段给药, 对孕鼠妊娠后期有轻微母体毒性; 大剂量的尼可胺给药后可延缓胎鼠的生长发育; 受试剂量下的尼可胺对胎鼠无明显的致畸作用。

参 考 文 献

- [1] Fentono BM, Lord EM, Paoni SF, et al. Enhancement of tumor perfusion and oxygenation by carbogen and nicotinamide during single- and multifraction irradiation. *Radiat Res*, 2000, 153(1): 75-83.
- [2] 顾菲, 刘晓秋, 韩英, 等. 肿瘤放疗增敏药 9401 号的细胞毒性和体外放射增敏作用. *中国辐射卫生*, 2006, 15(4): 392-393.
- [3] 刘晓秋, 王荣先, 李美佳, 等. 放射增敏剂 9402 号对小鼠小肠隐窝上皮细胞增敏作用的研究. *中国辐射卫生*, 2007, 16(1): 10-11.
- [4] 袁伯俊, 王治乔. 新药临床前安全性评价与实践. 北京: 军事医学科学出版社, 1997: 117-151.
- [5] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学、药理学、毒理学). 北京: 人民卫生出版社, 1993: 216-217.
- [6] Yin ZL, Dahlstrom JE, Le Couteur DG, et al. Immunohistochemistry of omega class glutathione S-transferase in human tissues. *J Histochem Cytochem*, 2001, 49(8): 983-987.
- [7] Schmuck EM, Board PG, Whitbread AK, et al. Characterization of the monomethylarsonate reductase and dehydroascorbate reductase activities of Omega class glutathione transferase variants: implications for arsenic metabolism and the age-at-onset of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Pharmacogenet Genomics*, 2005, 15(7): 493-501.

(收稿日期: 2012-08-20)