

$^3\text{H}-\text{TdR}$ 体内滞留诱发生殖毒性研究

朱寿彭 伦明跃

苏州医学院放射毒理教研室 苏州 215007

摘要 研究了摄入氚标记胸腺嘧啶核苷($^3\text{H}-\text{TdR}$)在机体滞留过程诱发的生殖毒性效应。拟合了 $^3\text{H}-\text{TdR}$ 在睾丸、肝、脾、肾、股骨和血液中的滞留方程通式为: $R(t) = Ae^{-\lambda_1 t} + Be^{-\lambda_2 t}$ 。比较了在不同组织的快组份和慢组份的有效半减期,估算了在不同脏器部位的累积吸收剂量。 $^3\text{H}-\text{TdR}$ 可诱发雄性生殖细胞的生殖毒性,表现为显性致死突变和显性骨骼畸形。关于显性致死突变与摄入了 $^3\text{H}-\text{TdR}$ 放射性活度之间呈正相关。 $Y = 80.20I + 74.13$;而显性骨骼畸形率与摄入 $^3\text{H}-\text{TdR}$ 放射性活度间的关系式为: $B = 0.079I + 0.16$ 。

关键词 $^3\text{H}-\text{胸腺嘧啶核苷}$;滞留;生殖毒性;显性致死突变;显性骨骼畸形

THE METABOLIC CHARACTERISTICS OF $^3\text{H}-\text{TdR}$ IN ORGANISM ON INDUCTION OF REPRODUCTION TOXICITY

Zhu Shoupeng, Lun Minyue

Suzhou Medical College, Suzhou 215007

Abstract This paper reports the accumulation of $^3\text{H}-\text{TdR}$ in organism on induction of germ toxicity. The data of retention of $^3\text{H}-\text{TdR}$ in testes, liver, spleen, kidney, femur and blood were described by an usually exponential expression: $R(t) = Ae^{-\lambda_1 t} + Be^{-\lambda_2 t}$. Where the retention $T_{1/2}$ in various tissues and the cumulative absorbed dose—estimation of $^3\text{H}-\text{TdR}$ in various organs were compared respectively. $^3\text{H}-\text{TdR}$ could damage genetic materials and cause dominant lethality and the skeletal abnormalities in offsprings. The relationship between the dominant lethal mutation (Y) and the injected activity of $^3\text{H}-\text{TdR}$ (I) was $Y = 74.13 + 80.20I$. While the relationship between the incidence of the dominant skeletal abnormalities in offsprings (B) and the accumulated radioactivities of $^3\text{H}-\text{TdR}$ (I) in testes was $B = 0.16 + 0.079I$.

Key words $^3\text{H}-\text{TdR}$; metabolism; reproduction toxicity; dominant lethal mutation; dominant skeletal abnormalities

氚标记的胸腺嘧啶核苷($^3\text{H}-\text{TdR}$)是一种极其重要的有机氚结合形式,它是DNA合成的前体物。考虑到DNA是机体细胞生命活动与遗传的物质基础,是对辐射敏感的

靶分子,在放射遗传毒理效应的研究中起着关键的作用⁽¹⁾。而 $^3\text{H}-\text{TdR}$ 可掺入到各种生物体的遗传物质DNA中,是已知能量最弱的低能软 β 粒子,尤其是在当前的细胞水平

和亚细胞水平研究中常用 $^3\text{H-TdR}$ 作为 DNA 合成的示踪剂^(2,3), 其应用范围日益扩大, 使 $^3\text{H-TdR}$ 引起内污染的可能性有所增加, 引起了人们的重视。考虑到 DNA 结合氟在体内的滞留时间较长, 甚至可以终生滞留^(4,5), 位于 DNA 分子上的氟在发生 β 衰变中释出的 β 粒子和局部转化突变作用所引起的生殖毒性损伤, 有必要加以阐明, 因为胚胎是由不断分化和有丝分裂着的细胞组成, 对辐射更为敏感, 为此, 有必要阐明在器官形成期的 BALB/c 纯品系小白鼠的胚胎受到 $^3\text{H-TdR}$ 诱发的显性致死突变和显性骨骼畸形效应。

材料和方法

实验用 BALB/c 纯品系的成年雄性和雌性小白鼠, 体重在 $25 \pm 1\text{g}$ 之间。所用的 $^3\text{H-TdR}$ 比放射性活度为 37MSq/ml 。在临实验前取注射用水稀释成工作液, 由尾静脉的注射容积为 0.02ml/g 体重。

1、 $^3\text{H-TdR}$ 的体内滞留过程及吸收剂量估算

观察取 BALB/c 纯品系雄性小白鼠 30 只, 随机分成 6 个实验组, 在注射 $^3\text{H-TdR}$ 后的 1, 3, 7, 15, 30 和 60d 的不同阶段, 分别由颈动脉放血处死各 5 只动物, 随即剖取出睾丸、肝、脾、肾、股骨和取血样, 然后称取各组织器官 50mg, 血液 $50\mu\text{l}$, 分别置于液闪测量杯底, 立即取消化剂高氯酸 0.1ml 和脱色剂 30% 过氧化氢 0.2ml 滴加于标本的上方, 紧盖液闪杯后, 置于 80°C 恒温水浴装置中作用 1h, 冷却后, 开盖加入助溶剂乙二醇乙醚 8ml , 即可得到无色透明液标本, 最后加入 0.6% PPO-甲苯闪烁液, 经暗适应后, 在 Beckman 液体闪烁测量装置上进行放射性测量。

实验所得各标本的放射性测量数据, 制成散点图, 根据散点图的趋势, 拟合各脏器组织的 $^3\text{H-TdR}$ 滞留方程。然后按下列公式⁽⁶⁾ 估算出在不同脏器组织中的累积吸收剂量:

$$D = \frac{A \times E \times K}{m \times 10^4}$$

式中, D 为累积吸收剂量, Gy; A 为累积衰变数, 衰变 $\cdot \text{d}$, $A = 3600 \times 24 \times Q(t) dt$; E 为氟 β 粒子的平均能量, $5.7 \times 10^{-3}\text{MeV}$; m 为器官质量, g; K 为转换系数, $K = 1.602 \times 10^{-6}\text{erg/MeV}$ 。

2、 $^3\text{H-TdR}$ 诱发生殖毒性效应

观察分 4 个实验组和一个相应对照组进行, 每组为 6 只雄性 BALB/c 小白鼠。各实验组注入 $^3\text{H-TdR}$ 的放射性活度依次为 0.037, 0.185, 0.37 和 1.11MBq/g 体重。在摄入 $^3\text{H-TdR}$ 后的第 31d 起各组雄鼠与成年雌鼠以 1:2 的比例交配, 并每天检查雌鼠阴栓。在检出阴栓后的第 17-18d 将孕鼠脱颈处死, 立即剖检孕鼠子宫内容物, 记录双侧子宫中的活胎数、死胎数和吸收结节数。随后将子宫中的胚胎用清水洗净, 吸干体表水, 放置到 95% 乙醇中固定 2-4d, 1% KOH 溶液中透明 2-5d, 再用 0.01% 茜素红水溶液染色 24h, 置于下列不同比例溶液中各浸泡 1-2d 后; 即配制 1% KOH: 95% 乙醇: 甘油的比例分别为 (1) 9:0:1; (2) 6:2:2; (3) 2:4:4; (4) 1:0:9。最后放入纯甘油中保存, 观察胎鼠的骨骼畸形发生率。

结果

1、 $^3\text{H-TdR}$ 的体内滞留过程及吸收剂量估算

在机体摄入 $^3\text{H-TdR}$ 后持续 60d 的观察中, 见到 $^3\text{H-TdR}$ 在各组织器官中的放射性活度变化趋势是: 早期下降速度较快, 15d 后下降速度明显缓慢, 其在体内的滞留与时间之间存在着二项指数式关系, 其滞留方程的通式为:

$$R(t) = Ae^{-\lambda_1 t} + Be^{-\lambda_2 t}$$

式中, $R(t)$ 为 t 时刻在各器官组织中存留量的放射性核素相当于初始全身中含量的分数; A 和 B 均为系数, A 代表快组份所占的份额, B 代表慢组份所占的份额; λ_1 为快组

份的衰减常数, λ_p 为慢组份的衰减常数, 为 $\frac{\ln 2}{T_e}$ 。

有关各器官组织的滞留方程中4个参数以及相关指数 R^2 列于表1中。

表1 静脉注射37kBq/g 体重³H-TdR 后氚在主要器官组织中的滞留分数方程参数表

观察器官	滞留分数方程参数值				(R^2)
	A	λ_a	B	λ_b	
睾丸	0.43	0.79	0.07	0.07	(0.97)
肝	0.96	0.38	0.04	3.33×10^{-3}	(0.99)
脾	0.88	0.36	0.12	0.02	(0.99)
肾	0.91	0.32	0.09	1.58×10^{-3}	(0.99)
股骨	0.98	0.42	0.02	0.02	(0.99)
血液	0.99	0.41	0.01	6.03×10^{-3}	(0.94)

由滞留方程得出的各器官组织的初始含量及快组份与慢组份的有效半减期见表2所示。

表2 静脉注射37kBq/g 体重³H-TdR 后体内主要器官的初始氚含量和有效半减期

观察器官	初始含量 (Bq/g)	快组份半减期 (d)	慢组份半减期 (d)
睾丸	20163.9	0.9	10.2
肝	21116.5	1.8	208.3
脾	48305.1	1.9	32.2
肾	17915.7	2.2	439.0
股骨	33136.1	1.6	30.6
血液	26895.6	1.7	114.9

根据各观察器官中³H-TdR 的滞留方程, 积分得出各脏器在不同阶段的累积吸收剂量列于表3中, 可见³H-TdR 在不同器官中的累积吸收剂量贡献, 随着辐照时间的延长而增升。

表3 静脉注射37kBq/g 体重³H-TdR 后体内主要器官在不同时间的累积吸收剂量

观察器官	³ H-TdR 注入后不同时间的累积吸收剂量, mGy		
	1d	60d	365d
睾丸	0.87	13.87	14.09
肝	1.40	7.51	16.98
脾	3.27	25.02	30.98
肾	1.23	11.18	38.56
股骨	2.14	7.87	8.51

2. ³H-TdR 对机体诱发的生殖毒性

2.1 显性致死突变

表4中列出了摄入不同放射性活度的³H-TdR 后4个实验组和对照组雄鼠与成年雌鼠交配后的显性致死突变发生情况。可见随着机体摄入放射性活度的增加, 则反映受孕雌鼠的植入死亡率增加, 活胎数下降, 并且观察到显性致死突变(Y)发生与摄入³H-TdR 放射性活度(I)呈正相关, 见图1中所示:

$Y = 80.20I + 74.13$, 式中, Y 为显性致死突变发生指数; I 为摄入³H-TdR 的放射性活度, MBq/g 体重; 其相关系数为0.95。

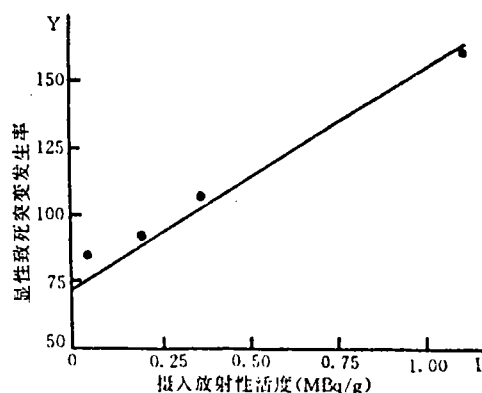


图1 显性致死突变发生率与摄入³H-TdR 放射性活度呈正相关

表4 静脉注入不同放射性活度³H-TdR 后的显性致死突变发生率

注入放射性活度 (MBq/g)	受功率	平均活胎数	平均死胎数	胚胎死亡率	致死突变指数, Y***
0.000	0.84	8.19	0.69	0.08	56.25
0.037	0.79	7.56	1.00	0.12**	88.89
0.185	0.86	7.36	1.00	0.12**	90.91
0.370	0.69	6.22	1.44*	0.19**	111.11
1.110	0.77	6.70	1.70**	0.20**	160.00

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ *** 致死突变指数 = $\frac{\text{早期死亡胚胎数}}{\text{受孕♀数}} \times 100$

2.2 显性骨骼畸形

实验表明,在对照组和较低放射性活度实验组的 F₁ 子代中,见到的骨骼畸形发生有双侧多肋、单侧多肋和点状肋。在高放射性活度 (1.11 MBq/g) 实验组中,则发现一例骨骼严重畸形的胚胎,表现为腰椎排列紊乱,十二对肋骨变形,导致胸廓变形。表5中列出了机体摄入不同放射性活度³H-TdR 后诱发的显性骨骼畸形效应。并观察到骨骼畸形发生率 B 与摄入³H-TdR 放射性活度 I 间呈正相关见图2,其关系式为: $B = 0.079I + 0.16$ 。

式中, B 为显性骨骼畸形发生率, I 为摄入³H-TdR 的放射性活度, MBq/g 体重; 其相关系数为 0.95。

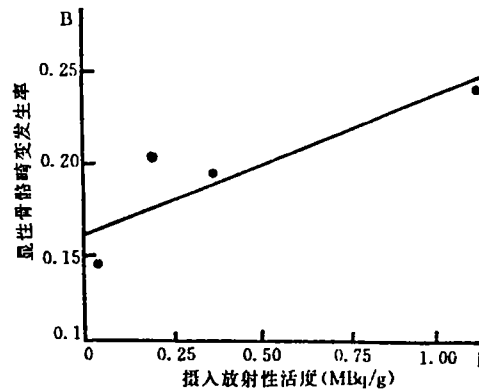


图2 显性骨骼畸形发生率与机体摄入³H-TdR 放射性活度间呈正相关

表5 静脉注入不同放射性活度³H-TdR 后诱发显性骨骼畸形效应

注入放射性活度 (MBq/g)	F ₁ 胚胎数	骨骼异常胚胎数					骨骼畸形率 %
		单侧多肋	双侧多肋	点状肋	胸骨异常	胸廓变形	
0.000	95	3	4	7	0	0	14.74
0.037	70	5	3	0	2	0	14.29
0.185	71	7	3	4	1	0	21.13**
0.370	56	4	2	1	2	0	19.64**
1.110	62	8	6	5	0	1	32.26**

** $P < 0.01$

讨论

考虑到³H-TdR 作为 DNA 的专一前体物,主要结合在合成 DNA 的细胞核中,由于正处在 DNA 合成期而摄取大量³H-TdR 的

精原细胞和初级精母细胞可在一个月左右成熟排出⁽⁷⁾,因而可见到机体在摄入³H-TdR 后 31d 收集到的精子被标记百分数和畸形数的明显增加,处在这阶段的雄鼠与雌鼠交配

后,从而导致受孕母鼠的植入前丢失和早期死亡数增加,活胎数下降的显性致死突变发生。

至于³H-TdR 摄入机体后诱发的生殖毒性,除了引起显性致死突变的发生率增高外,还可使胚胎骨骼发育过程出现畸形的机率增升。文献中 Selby^(8,9)曾对一些携带畸形突变的雄性小白鼠睾丸进行了细胞遗传学的观察,表明存在平衡相互易位和出现骨骼缺陷之间有一定的相关性。有关³H-TdR 所诱发的显性骨骼畸形,可能与精原细胞和初级精母细胞的染色体易位有关⁽¹⁰⁾,有待进一步研究阐明。

参考文献

1. 朱寿彭. 放射毒理学. 第二版, 北京: 原子能出版社, 1992: 475—491.
2. 朱寿彭, 张澜生. 医用同位素示踪技术. 北京: 原子能出版社, 1989: 131—135.

3. 周湘艳. 氟水和⁶⁰Co γ 射线诱发小鼠显性致死突变相对生物效应. 中华放射医学与防护杂志, 1984; 4(1): 19—22.
4. Burki S. DNA damage from incorporated radioisotopes: influence of the H location in the cell. *Radiat Res*, 1975; 62(3): 299—312.
5. Takada H, Iwakura T, Mabechi Y. Radiation doses to the tissues of rat from tritiated thymidine administered by three different routes. *J Radiat Res*, 1984; 25(3): 94—120.
6. Bone VP. Intranuclear ³H thymidine induced dosimetric and radiation protection aspects. *Health Phys*, 1966; 12(4): 1007—1020.
7. Green SB, Auletta A, Fabricant J, et al. Current status of bioassays in genetic toxicology. *Mutat Res*, 1985; 154(1): 49—67.
8. Selby PE, Selby PR. Gamma-ray induced dominant mutations that cause skeletal abnormalities. *Mutat Res*, 1978; 51(2): 199—236.
9. Selby PE. Radiation induced skeletal mutation. *Genetics*, 1979; 92(2): 172—183.
10. 朱寿彭, 胡启跃, 曹根发等. 浓缩铀诱发体细胞和生殖细胞的放射遗传毒理效应. 中华放射医学与防护杂志, 1992; 12(4): 232—237.

贝叶多孔菌水相提取液对大鼠肝脏谷胱甘肽硫转移酶、还原型谷胱甘肽和细胞色素 P450的影响

张 珍 黄丰纤

浙江医科大学毒理研究室 杭州 310006

摘要 贝叶多孔菌(*Polyporus frondosus*, Pf)是属于担子菌亚门多孔菌属的食用菌,其提取液有抑突变作用,本文旨在探讨其作用机理,现将其对大鼠肝脏谷胱甘肽硫转移酶活性、还原性谷胱甘肽水平和细胞色素 P450 含量影响的研究报道如下:Wistar 大鼠24只,雌雄各半,随机分为2组,灌胃分别给予蒸馏水和加热的14.28% Pf 水相提取液10ml/kg,每日两次,连续10d,然后剖验.该液对大鼠肝脏 GST 活性,GSH 水平和 P450含量均有一定的提高作用,增长率分别为27.50%,47.50%和33.33%.这可能是 Pf 抑诱变作用的机理之一。

关键词 贝叶多孔菌;谷胱甘肽硫转移酶;还原型谷胱甘肽;细胞色素 P450

STUDY ON THE EFFECTS OF EXTRACT FROM POLYPORUS FRONDOSUS ON GLUTATHIONE S — TRANSFERASE, GLU-