

有机锗(Ge - 132)对大鼠肝细胞色素 P₄₅₀、EROD 活性抑制作用的研究

夏清林 莫白耀 杜琰琰 麦惠霞

广州市卫生防疫站毒理科 广州 510080

摘要 利用雄性 SD 大鼠每日经口给予有机锗(Ge - 132) 100、250、500mg/kg 连续二十五 d,发现高剂量组的肝细胞色素 P₄₅₀ 受到明显抑制($P < 0.05$)。对 P₄₄₈ 的标志酶乙氧基异吩恶唑脱乙氧基酶(EROD)的抑制也近 50%;动物以 Ge - 132 500mg/kg/d 预先处理 20d,再分别给予苯巴比妥钠盐(PB)、3 - 甲基胆蒎(3 - MC),发现 Ge - 132 对 PB 诱导 P₄₅₀ 的抑制不明显,而对 3 - MC 诱导 EROD 的抑制仍达 33%。

关键词 有机锗(Ge - 132); P₄₅₀; EROD 活性;抑制作用

STUDY ON THE INHIBITION OF CYT P₄₅₀ CONTENT AND EROD ACTIVITY OF LIVER MICROSOMAL PREPARATION BY ORGANOGERMANIUM COMPOUNDS (G- 132) IN RATS

Xia Qinglin, Mo ziyao, Du Yanyan, Mai Huixia

Antiepidemic station of GuangZhou, GuangZhou 510080

Abstract Male SD rats were fed orally with Ge - 132 100, 250 and 500mg/kg each day for 25 days, Cyt P₄₅₀ of liver cell of high dose group was inhibited significantly ($P < 0.05$), EROD activity was also inhibited about 50 percent in the group compared with the control. The animals were pretreated with Ge - 132 500mg/kg/d for 20 days, then give PB and 3 - MC, found that the inhibition of P₄₅₀ induced by PB was not obvious, but there was 33 percent inhibition of EROD activity induced by 3 - MC.

Key words Organogermaninm Compounds (Ge - 132); P₄₅₀; EROD activity; Inhibition

参考文献

1. Church DF Pryer, WA et al. Free radical chemistry of cigarette smoke & its toxicological implications environ. *Health Perspectives*, 1985;64:111
2. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals & catalytic metal ions in Human Disease. *Methods in Enzymology*, 1990;186:1
3. Halliwell B, Grootveld M. Methods for measurement of hydroxyl radicals in biochemical systems. *Methods of Biological Analysis*, V. 33, 59 - 90
4. Proyor WA. Cigarette smoke and the involvement of free radical reactions in chemical carcinogenesis. *Br J Cancer*, 1987;55:Suppl. V111, 19
5. Akuzawa S, Yamaguehi H, Matsuida Tet al. Radical-mediated modification of deoxy guanine and deoxyribose by luvoskyrin and related anthraquinines. *Mutat Res*, 1992; 266:63
6. 郑荣梁,王肖萱,周秀芳等.兰州大气飘尘中稳定性自由基浓度变化规律. Intern. Workshop-Symposium on Biol. & Med. Aspects of Free Radicals, 1988:85 - 86

有机锗(Ge-132)作为一种有多方面生理活性的物质,已证明其有调节机体免疫功能、抑制化学致癌、抗衰老等作用,并作为一种新型抗癌药物投入临床试用⁽¹⁾,而其抗诱变作用也在多篇文献中报道^(2,3,4)。已经知道,部分化学致诱变剂或致癌剂需在体内经代谢活化后才产生毒作用。近年研究发现,微粒体酶系统特别是P₄₅₀及其亚型P₄₄₈即CYPIA基因编码的CYPIA蛋白等在一些外来化学物的代谢转化过程中起主要作用,并证实CYPIA基因编码的CYPIA蛋白在许多化学物致癌过程中的重要性,提出化学物致癌潜力与诱导P₄₄₈的标志酶乙氧基异吩噁唑脱乙氧基酶(EROD)活性的能力有关⁵。有研究报道,Ge-132抗诱变作用的可能机制是抗氧化作用或调节药物代谢酶(抑制氧化、促进结合)等,并发现Ge-132可降低活体小鼠肝细胞色素P₄₅₀的活力¹,但对EROD活性影响的文献报道甚少,对其抗诱变作用机制的研究缺乏更深的了解。因此本次研究除了继续观察Ge-132对大鼠肝细胞色素P₄₅₀的影响外,也重点研究了Ge-132对EROD活性的改变,并同时观察其对在使用某些诱导剂后这些酶改变的影响。

材料和方法

1 试剂与设备 有机锗(5%的Ge-132口服液),由广州军区后勤部药物研究所提供;连二亚硫酸钠,广东汕头保险粉厂产品;7-乙氧基异吩噁唑和异吩噁唑,美国Aldrich公司产品;NADPH,德国Boehringer Mannheim Gmbh产品;精工H-251高速离心机;贝克曼超速离心机;岛津Uv-365双光束紫外分光仪;日本850荧光分析仪。

2 动物及受试物给予 选用SD雄性大鼠,体重180-220克,由中山医科大学实验动物中心提供。动物随机分成四组,剂量组分别

为:100、250、500mg/kg(以Ge-132的实验含量计)以及空白对照组。将有机锗配入饮水中,每晚供动物自由饮用,累计染毒总剂量分别为2500、6250、12500mg/kg。空白对照组给予清洁水。动物于给药后第二十五d颈静脉放血处死,取肝制备肝匀浆。

3 Ge-132对PB、3-MC诱导作用的影响 动物以Ge-132 500mg/kg预处理,从第21、22d起再分别给予苯巴比妥钠盐(PB)腹腔注射50mg/kg/d连续4d,3-甲基胆蒎(3-MC)腹腔注射5mg/kg/d连续3d,同时设立空白对照组及单纯PB、3-MC组。末次给药后24h颈静脉放血处死动物,取肝制备肝匀浆。

4 制备肝微粒体 肝微粒体的制备按文献⁶,P₄₅₀的测定按文献⁷,EROD活性的测定⁸在室温条件下用荧光仪进行时间扫描,以测定酶反应产物异吩噁唑的荧光强度,激发波长530nm,发射波长582nm,酶反应时间3min。微粒体蛋白含量测定以牛血清白蛋白作标准,用考马斯亮蓝G-250法测定。

5 统计方法 F检验和t检验。

结果

1 不同剂量有机锗(Ge-132)对肝细胞色素P₄₅₀、EROD活性的影响结果见表1。以不同剂量有机锗处理SD雄性大鼠,发现低剂量(100mg/kg)、中剂量(250mg/kg)对大鼠肝细胞P₄₅₀含量及EROD活性的影响不明显,而高剂量(500mg/kg)对P₄₅₀含量则有较强的抑制(P<0.05),对EROD活性的抑制也近50%。

2 500mg/kg有机锗对PB、3-MC诱导P₄₅₀含量、EROD活性抑制的影响见表2。P₄₅₀含量、EROD活性经诱导后明显高于空白对照组。预先给予有机锗处理,发现对PB诱导P₄₅₀含量升高的抑制较弱,与单纯诱导组基本一致,而对3-MC诱导EROD活性升高的抑制则较强,达到33%。

Table 1 Effect of Ge - 132 on Cyt P₄₅₀ content and EROD activity of rat liver microsomes($\bar{x} \pm s$)

Group (mg/ kg)	n	P ₄₅₀ (nmol/ mg protein)	EROD activity (pmol/ mg protein/ min)
control	6	1.191 ±0.482	150.20 ±85.78
100	5	0.991 ±0.191	142.11 ±47.11
250	5	1.441 ±0.013	192.02 ±38.89
500	6	0.671 ±0.169 *	79.11 ±21.78

*compared with the control $P < 0.05$,

Table 2 Inhibitory Effect of Ge - 132 on the induction of Cyt P₄₅₀ content and EROD activity of rat liver microsomes by PB and 3 - MC($\bar{x} \pm s$)

Group	n	P ₄₅₀ (nmol/ mg protein)	EROD activity (pmol/ mg protein/ min)
control	6	1.038 ±0.069	152.24 ±24.44
Ge - 132 + PB	5	1.814 ±0.246	
PB	6	1.888 ±0.270	
Ge - 132 + 3 - MC	5		1374.67 ±343.33
3 - MC	6		2058.22 ±744.22

讨 论

对 Ge - 132 的抗诱变作用,已有文献报道其对短波紫外线(Uv)、亚砷酸钠(NaAsO₂)、环磷酰胺(CP)、黄曲霉素(AFB₁)等多种不同的诱变剂表现出抑制作用,推测 Ge - 132 抗诱变作用的可能机理包括:抗氧化作用;调节药物代谢酶(抑制氧化、促进结合);增强切割修复和抑制错误修复等,Ge - 132 的抗诱变作用可能涉及了致诱变过程的多个环节¹。本研究利用大鼠进行有关的实验,发现 Ge - 132 在较高剂量(500mg/kg)时,对肝细胞色素 P₄₅₀ 有较明显的抑制(P < 0.05),与以往报道一致外,尚还看到 Ge - 132 对 CYP1A 的标志酶 EROD 的抑制也近 50%。同时也发现,较高剂量(500mg/kg) Ge - 132 对 3 - MC 诱导的 EROD 活性升高的抑制也达 33%。由于细胞色素 P₄₅₀ 等在许多外来化合物的代谢转化过程中起主要的作用,特别是 CYP1A 与毒效应有关⁹,在部分化合物毒性致癌中起重要作用⁶,以此推论 Ge - 132 的抗诱变作用的部分机理可能是通过对 P₄₅₀ 等代谢酶活性的抑制,降低了某些诱变剂在体内的代谢活化

以及活性产物的产生,从而降低了它们的诱变性。通过研究 Ge - 132 对 P₄₅₀ 及 EROD 活性的影响,进而探讨其抗诱变抗癌作用的某些可能机制,对于阐明有机锗的某些临床作用特点以及应用范围具有较为重要的意义。另外在设计上,尚需再探讨有机锗的使用剂量、剂型、给药途径、给药时间和增加受试的动物数目等,以便为以后进一步研究奠定更良好的基础。

参考文献

1. 杨小奇,张桥. 羧甲基锗倍半氧化物的抗诱变作用. 癌变 畸变 突变,1990;2(1):5
2. Moclizuki Kada K. Antimutagenic effect of Ge - 132 on R - ray - induced mutations in Escherichia coli w^r trp^rint. *Radiat Biol*, 1982;42:653
3. 叶维,叶思赐. 含锗物对环磷酰胺所致小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的抑制作用. 全国第二届锗研讨会论文集. 杨州. 1993:86
4. 张树功,杨魁跃,刘启民等. 有机锗 Ge - 132 Ge - 162 Ge - 164 对动物移植肿瘤抑制作用的比较. 全国第二届锗研讨会论文集. 杨州. 1993:108
5. 吴坤,甘卉芳,陈春生. 维生素 C 和亚砷酸钠对大鼠肝脏细胞色素 P₄₄₈ 的抗诱导作用. 卫生毒理学杂志,1992;6

OF-3 的致突变、致畸的研究

周立国 周谟炯 邵雪熹 程 灵

同济医科大学药学院 武汉 430030

摘要 报道 OF-3 对小鼠的急性毒性试验、微核试验,对大鼠骨髓染色体畸变及对大鼠的致畸试验的结果,小鼠经口 LD₅₀为 3.30g/kg。其剂量在 0.16 - 1.65g/kg 的微核试验结果表明:各剂量组与阴性对照组的微核率比较,结果无显著意义 ($P > 0.05$);0.33 - 1.65g/kg 剂量组对大鼠的骨髓染色体畸变也无明显影响;致畸试验中随剂量的增大,母鼠的增长越缓慢。同时,鼠胎的体重也明显低于阴性对照组。提示:长期服用本品有减轻体重的作用,并对胚胎有一定的毒作用。

关键词 OF-3;微核试验;骨髓染色体畸变;致畸试验。

STUDIES ON THE MUTATION AND TERATOGENICITY OF OF-3

Zhou Liguo Zhou Mojiong Shao Xuexiwi Cheng Ling

School of Pharmacy, Tongji Medical University, Wuhan 430030

Abstract In this paper, the mutation and teratogenic effect of the OF-3 were investigated. The LD₅₀ was determined as 3.3g/kg in mice by oral. The results indicated that the micronucleus rate was not significant difference ($P > 0.05$) in dosage of 0.17 - 1.65g/kg/day and the marrow chromosome aberration was negative in dosage of 0.03 - 0.17g/kg, but in teratogenic test, the weight of the female rats and its fetus were lighten with the dosage increasing, this result shows the OF-3 have toxic effect on fetus in long-term administration.

Key Words OF-3; animal experiment; micronucleus; marrow chromosome aberration; teratogenic effect

OF-3(1, - 3 - 二羟丙基 5 - 氟尿嘧啶)是武汉大学化学系高分子教研室合成的新的抗肿瘤药物,实验证明该药对动物移植性肿瘤 S180、LL、EAS 等有抑制作用,毒性比 5 - 氟尿嘧啶低,为探明该药对大鼠是否引起胚胎中

毒及胎鼠发育迟缓等,我们对该药进行了小鼠急性毒性试验,小鼠的微核试验,大鼠的骨髓染色体畸变试验和对大鼠的致畸试验的研究,现将研究结果报告如下:

- (3):184
- 莫自耀,夏清林,杜琰琰等. 直链烷基苯磺酸钠对大鼠肝 P₄₅₀、P₄₄₈等影响研究. 卫生毒理学杂志,1995;9(1):12
 - Eslabook RW et al. The Measurement of difference spectra: application to the cytochromes of microsomes. h: Sidemy F, Lester P. eds. Methods in enzymology New York: Academic Press, 1987; 52:212 ~ 220
 - 吴坤,陈春生,甘卉芳. 多氯联苯对大鼠脾脏 EROD 的诱导作用. 卫生毒理学杂志,1992;6(1):29.
 - 杨学明,刘毓谷. 六种大鼠肝微粒体细胞色素 P₄₅₀重组酶系对 33 种外来化合物的代谢. 中国药理学与毒理学杂志,1992;6(3):172