

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.20.004

维生素CE咀嚼片对小鼠生殖细胞和体细胞的遗传毒性研究*

高翔¹, 马鹏飞¹, 崔亚宁¹, 唐娜^{1△}, 马丽²

(1. 陕西省食品药品监督检验研究院, 陕西 西安 710065; 2. 陕西省咸阳市中心医院药学部, 陕西 咸阳 712000)

摘要:目的 探讨维生素CE咀嚼片对小鼠生殖细胞和体细胞的遗传毒性作用。方法 将小鼠分为高、中、低剂量组, 阴性对照组和阳性对照组, 进行小鼠精子畸形试验和骨髓细胞微核试验, 观察并计算各剂量组小鼠的精子畸形率与微核率。结果 各剂量组的精子畸形率与微核率, 与阴性对照组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$); 与阳性对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 维生素CE咀嚼片对小鼠生殖细胞和体细胞均无致遗传毒性作用。

关键词: 维生素CE咀嚼片; 精子畸形; 骨髓细胞微核; 遗传毒性; 小鼠

中图分类号: R965.3; R977.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)20-0010-03

Genetic Toxicity of Vitamin CE Chewable Tablets on Germ Cells and Somatic Cells of Mice

Gao Xiang¹, Ma Pengfei¹, Cui Yanning¹, Tang Na¹, Ma Li²

(1. Shaanxi Provincial Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi, China 710065; 2. Department of Pharmacy, The Central Hospital of Xianyang, Xianyang, Shaanxi, China 712000)

Abstract: Objective To investigate the genetic toxicity of Vitamin CE Chewable Tablets on germ cells and somatic cells of mice.

Methods The mice were divided into high dose group, medium dose group, low dose group, negative control group and positive control group, the sperm abnormality test and bone marrow micronucleus test of mice were carried out, then the sperm malformation rate and bone marrow cell micronucleus rate of mice in all the groups were observed and calculated. **Results** The sperm malformation rate and bone marrow cell micronucleus rate of each dose group had no significant difference compared with the negative control group ($P > 0.05$), but which had significant difference compared with the positive control group ($P < 0.01$). **Conclusion** Vitamin CE Chewable Tablets have no genotoxic effect on germ cells and somatic cells of mice.

Key words: Vitamin CE Chewable Tablets; sperm malformation; bone marrow cell micronucleus; genetic toxicity; mice

维生素是维持人体正常生命代谢和某些特殊生理功能不可缺少的低分子有机化合物^[1]。各种维生素均必须达到一定的摄入量才能维持机体的正常生理机能, 摄入过多或过少均会引起生理疾病^[2]。维生素CE咀嚼片是以维生素C和维生素E为主要原料制成的保健食品, 用于补充维生素C和维生素E。保健食品可调节机体功能, 但不以治疗疾病为目的, 为了更好地控制其质量, 应评价其致突变性^[3]。本研究中以小鼠精子畸形率和骨髓细胞微核率为指标, 对维生素CE咀嚼片进行了安全性评价。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

BS2202S型电子天平(赛多利斯公司); BX43F型电子显微镜(奥林巴斯公司); 解剖器材, 细胞计数器。环磷酸胺(Sigma公司, 批号为SLBG4216V); 伊红染料(批号为20110809), 甲醇(分析纯, 批号为20131206), Giemsa色素(批号为20140616), 均为国药集团化学试剂有限公司产品; 小牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司,

批号为131103); 中研通牌维生素CE咀嚼片(陕西仁康药业有限公司, 批号为121002)。

1.2 试验动物

SPF级雄性BALB/c种小鼠25只, 体重25~30g, 用于小鼠精子畸形试验; BALB/c种小鼠50只, 雌雄各半, 体重18~22g, 用于骨髓细胞微核试验。动物均由第四军医大学实验动物中心提供, 生产许可证号为SCXK(陕)2014-002。动物室温度22~26℃, 相对湿度40%~70%。实验动物使用许可证号为SYXK(陕)2013-001。

1.3 方法

小鼠精子畸形试验^[4-5]: 将25只雄性小鼠随机分为5组, 各5只。本实验室测得维生素CE咀嚼片的半数致死量(LD_{50})为3.2g/kg。按照 LD_{50} 的1/2, 1/4, 1/8试验, 分为高(1.6g/kg)、中(0.8g/kg)、低(0.4g/kg)3个剂量组, 另设阴性对照组(采用蒸馏水灌胃)和阳性对照组(采用环磷酸胺40mg/kg灌胃)。各组动物灌胃体积为20mL/kg, 每日经口灌胃1次, 连续灌胃5d, 于首

*基金项目: 陕西省科学技术研究发展计划项目[2012K17-02-03]

第一作者: 高翔, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药品检验, (电话)029-62288419(电子信箱)2517212742@qq.com。

△通信作者: 唐娜, 女, 副主任药师, 研究方向为药品检验, (电话)029-62288456(电子信箱)tnlb2000@126.com。

次给受试物后第35天颈椎脱臼处死,取两侧副睾,放入盛有1.5 mL生理盐水的平皿中,用眼科剪将副睾纵向剪1~2刀,静置3~5 min,用4层擦镜纸过滤,吸滤液涂片,空气干燥后,用甲醇固定10 min,1%伊红染色1 h后,用水轻冲,干燥。在高倍镜下每只动物计数1 000条完整精子,记录精子畸形类型(无钩、香蕉形、无定型、胖头、尾折叠、双头、双尾等)、畸形数,并计算畸形率^[6]。

小鼠骨髓细胞微核试验^[7]:将50只小鼠(雌雄各半)随机分为5组,各10只,分组及剂量同小鼠精子畸形试验。经口连续灌胃2 d,第2天给受试物后6 h颈椎脱臼处死小鼠,取小鼠股骨骨髓,常规涂片,自然干燥后,放入甲醇中固定10 min,将固定好的涂片在Giemsa应用液中染色10 min,立即用蒸馏水冲洗,晾干。在油镜下观察,每只动物计数1 000个嗜多染红细胞,分别计算雌、雄小鼠各试验组的嗜多染红细胞与正染红细胞

(PCE/RBC)比值和嗜多染红细胞(PCE)微核率。微核检出率以千分率表示^[8-9]。

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0统计学软件分析。计量资料采用 t 检验,计数资料精子畸形采用Wilcoxon秩和检验,骨髓细胞微核采用 χ^2 检验,按动物性别分别统计。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

结果见表1和表2、图1和图2。

3 讨论

正常情况下,人或其他哺乳动物的精液中存在少量畸形精子,正常小鼠的精子畸变范围一般为0.8%~3.4%,不同品系小鼠的精子畸形率基础值差异较大。林建等^[10]的研究表明,美国癌症研究所(ICR)小鼠更适合作为小鼠精子畸形试验的材料。但目前研究少见有统计

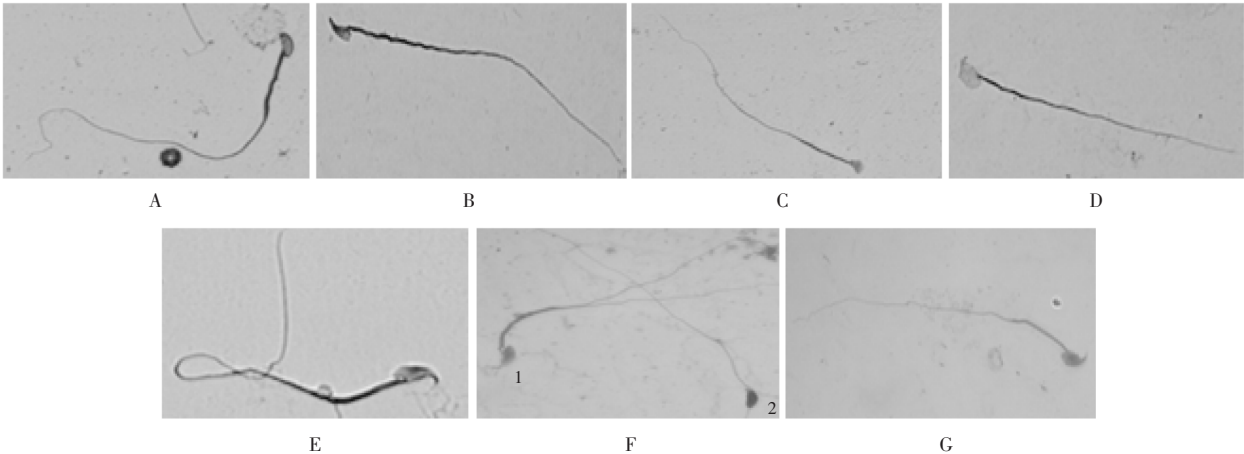
表1 小鼠精子畸形试验结果($n=5$)

组别	受检精子数 (条)	精子畸形类型(条)							精子畸形数 (条)	精子畸形率 ($\bar{X} \pm s, \%$)
		无钩	香蕉型	无定型	胖头	尾折叠	双头	双尾		
低剂量组	5×10^3	28	17	76	1	1	0	0	123	2.46 ± 0.09
中剂量组	5×10^3	28	15	73	5	2	0	0	123	2.46 ± 0.42
高剂量组	5×10^3	28	16	75	3	4	0	0	126	2.52 ± 0.29
阴性对照组	5×10^3	24	15	69	4	2	0	0	114	2.28 ± 0.15
阳性对照组	5×10^3	58	28	183	46	144	0	2	461	$9.22 \pm 1.23^*$

注:与阴性对照组比较,* $P<0.01$ 。表2同。

表2 小鼠骨髓细胞微核试验结果($n=10$)

组别	检查细胞总数 (个)	雌性			雄性		
		微核数	微核率($\bar{X} \pm s, \%$)	PCE/RBC($\bar{X} \pm s$)	微核数	微核率($\bar{X} \pm s, \%$)	PCE/RBC($\bar{X} \pm s$)
低剂量组	5×10^3	12	2.40 ± 0.89	0.65 ± 0.02	12	2.40 ± 1.14	0.66 ± 0.02
中剂量组	5×10^3	11	2.20 ± 1.30	0.66 ± 0.02	11	2.20 ± 0.84	0.67 ± 0.01
高剂量组	5×10^3	11	2.20 ± 1.10	0.66 ± 0.01	11	2.20 ± 1.10	0.66 ± 0.01
阴性对照组	5×10^3	13	2.60 ± 1.14	0.66 ± 0.01	13	2.60 ± 0.55	0.67 ± 0.02
阳性对照组	5×10^3	116	$23.20 \pm 2.59^*$	0.64 ± 0.01	118	$23.60 \pm 0.93^*$	0.64 ± 0.01



A. 无钩 B. 香蕉型 C. 无定型 D. 胖头 E. 尾折叠 F. 双尾及无定型(1为双尾,2为无定型) G. 正常

图1 小鼠精子畸形类型(1%伊红染色,1 000倍)