

# 高温与香烟联合对大鼠早期胚胎致畸作用的研究<sup>\*</sup>

丰慧根 孙璐 刘明林 穆灵敏

(新乡医学院细胞生物学教研室 河南 453003)

**摘要** :为了探讨高温与香烟联合对胚胎的毒性和致畸作用 ,用高温( 40、41、42、43℃ )及香烟烟雾水溶液联合处理怀孕的大鼠。结果表明 ,高温与香烟联合可加强胚胎的致畸作用 ,并与温度、香烟浓度和高温持续时间明显相关 ,当持续 3 分钟的高温与香烟联合 ,胚胎致畸率达 70% 以上 ,与单独高温组、单独给烟组有明显差异 ( $P>0.01$  ) ,并具有协同效应。结果提示 ,持续高温与香烟联合有明显的胚胎毒性和致畸作用。

**关键词** :高温 ,致畸作用 ,胚胎 ,香烟烟雾水溶液

中图分类号 :R595 文献标识码 :A 文章编号 :10250-3263(2000)04-08-04

## Studies on Teratogenic Effects of Hyperthermia and Smoke of the Cigarette in Early Embryos of the Rat

FENG Hui-Gen SUN Lu LIU Ming-Lin MU Ling-Min

(*Research Section of Cell Biology ,Xinxiang Medical College Xinxiang 453003 ,China* )

**Abstract** :To reseach the toxic and teratogenicity of hyperthermia combined with cigarette smoking in early embryos of rat Pregnant rats were exposed to hyperthermia or aqueous solution of soluble cigarette smoking and to the combined with hyparthermia and cigarette somk-

<sup>\*</sup> 河南省自然科学基金资助项目( No. 974020500 ) ;

第一作者介绍 :丰慧根 ,男 ,36 岁 ,副教授 ,硕士 ,研究方向 :行为毒理学 ;

收稿日期 :1999-02-04 ,修回日期 :2000-04-17

ing. The absorption rate, death rate and teratogenic rate of the rat embryo were examined, and measured with experimental teratological methods on the day twenty of gestation. The results showed that the hyperthermia combined with cigarette smoking could enhance the teratogenic and toxic effects of the rat embryos, which is related with the temperature, the sustained time of the hyperthermia and the concentration of the cigarette smoking. The rats were put into hyperthermia (42°C) for three minutes, the result indicated that the hyperthermia combined with cigarette smoking their teratogenic rate was more than 70% and there was a significant difference compared with the rate of those only in single hyperthermia of single cigarette smoke. It suggests that the sustained hyperthermia combined with cigarette smoking can lead obvious toxic and teratogenic effects of the rat embryos.

**Key words:** Hyperthermia; Teratogenic effects; Embryo; Aqueous solution of cigarette smoking

高温在自然环境、劳动环境中经常出现,某些疾病也常伴有发烧,同时,由于我国是烟草销售大国,在这些环境条件中常伴有主动和被动吸烟。大量的实验研究证明,高温对多种动物有致畸作用<sup>[1-5]</sup>;香烟含有多种化学诱变剂,对动物遗传物质有致突变作用<sup>[6]</sup>。目前,高温与其它致畸因子的联合致畸作用报道尚少,本实验在高温环境下模拟人的吸烟过程,研究高温与香烟对大鼠胚胎的复合致畸作用,为评价高温与香烟联合对胚胎的发育毒性提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 健康未生育 SD 雌性大鼠,体重(200±10)g(河南省实验动物中心提供),鼠颗粒饲料喂养,常规饮水,自然光照,室温(25±2)℃。

**1.2 香烟烟雾水溶物制备** 参照 Chih 的方法<sup>[7]</sup>在蒸馏瓶中盛 35 ml 双蒸水(放在冰浴中)40 分钟内,室温下收集 20 支不同品牌的香烟(豫烟王、彩蝶、金芒果、散花各 5 支,河南省生产,焦油含量中)主流烟雾,使其成分溶解在双蒸水中制成香烟烟雾水溶物,保存在-70℃下备用,每毫升香烟烟雾水溶物相当于 0.6 支香烟主流烟雾成分。

**1.3 大鼠妊娠的确定与分组** 将上述雌鼠与雄鼠以 2:1 比例合笼过夜,次日晨检查雌鼠,以

发现阴栓为妊娠依据,并定为孕第 0 天,共获得孕鼠 350 只,随机分成 35 组,每组 10 只孕鼠。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 高温致畸处理** 将孕 10 天的 220 只孕鼠,置温箱中使体温升高,按肛温分 37℃ 对照组和 40、41、42、43℃ 实验组,当体温升至各实验组温度(40、41、42、43℃)时开始计时,每温度实验又分为持续时间为 1、2、3、4、5 分钟小组,对照组分持续时间为 0 和 5 分钟两个小组,孕鼠移出温箱,室温(25℃)下饲养,于受孕第 20 天剪开腹腔,暴露子宫角,记录着床数、吸收胎数、活胎数和胎鼠外观形态。测量胎鼠体重、身长和尾长,每窝 1/2 胎鼠固定于 Bouin 氏液中,做内脏检查,另外 1/2 胎鼠用 95% 乙醇固定,经茜素红染色供骨骼检查,按致畸实验方法检查胎鼠内脏<sup>[8,9]</sup>。

**1.4.2 香烟烟雾水溶物致畸处理** 将 60 只孕鼠分成 6 个实验组,室温下饲养,每一实验组从大鼠怀孕的第 2 天开始,每只隔日皮下注射相当于 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 支香烟的烟雾水溶物,对照组每只注射 2.0 ml 双蒸水,共 7 次,于孕 20 天按上述方法处理动物并记录结果。

**1.4.3 高温与香烟联合致畸处理** 70 只孕鼠分成 7 个实验组,室温下饲养,从怀孕第 2 天开始,每只孕鼠隔日皮下注射相当于 2.0 支香烟的烟雾水溶物,对照(一)组,注射 4 ml 双蒸水。于受孕的第 10 天,在 42℃ 温箱中处理,持续

42℃ 肛温时间分别为 1、2、3、4、5 分钟,对照(二)组 42℃ 肛温不持续,于孕 20 天按上述方法处理动物并记录结果。

1.5 统计处理 对胎鼠外观畸形、骨骼和内脏异常等数据用均数 ± 标准差( $\bar{X} \pm SE$ )表示,显著性差异用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 高温的致畸作用 高温对胚胎发育有明

表 1 高温对胚胎发育的毒性和致畸作用

温度 (℃)	时间 (min)	总胎数	活胎数	死胎数	吸收胎数	死加吸收胎率 (%)	畸胎数	畸胎率 (%)
37	5	120	119	0	1	0.83	0	0
	0	118	118	0	0	0	1	0.85
40	1	112	110	0	1	0.89	0	0
	2	108	106	1	1	1.85	0	0
	3	121	119	2	1	2.48	3	2.52
	4	119	114	3	2	4.20	7	6.14
	5	122	106	0	8	6.56	9	8.49
41	1	118	116	1	1	1.69	2	1.72
	2	109	104	3	2	4.59	7	6.73
	3	121	112	2	7	7.44	11	9.82
	4	115	102	2	11	12.75*	17	16.67**
	5	104	86	3	15	17.31*	21	24.4**
42	1	121	112	2	7	7.43	12	10.71**
	2	108	90	4	14	16.67**	21	23.3**
	3	117	90	6	20	23.08**	35	38.89**
	4	122	85	9	30	30.33**	49	57.64**
	5	105	67	9	29	36.19**	49	73.13**
43	1	122	101	1	30	17.21**	28	27.72**
	2	106	81	2	23	23.58**	35	43.21**
	3	113	79	9	25	30.09**	42	53.16**
	4	118	78	8	32	33.89**	51	65.38**
	5	120	76	8	36	36.67**	62	81.58**

注:与对照组(温度 37℃)比较,\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

2.2 香烟的致畸作用 皮下注射香烟烟雾水溶物,实验结果表明每只鼠注射低于相当于 2 支的香烟,对胚胎早期发育没有明显影响,其死和胚胎吸收率及畸胎率低于 8%,与对照组无明显差别;当注射香烟浓度较高时(大于 2 支/只),对胚胎发育有一定的影响(表 2)。

2.3 高温与香烟联合致畸作用 孕鼠隔日皮下注射相当于 2 支香烟的烟雾水溶物,于孕 10 天高温(42℃)处理,实验结果显示高温与香烟联合加强了后代先天畸形的形成,与对照组比较有明显差异。42℃ 持续 3 分钟的高温与香烟联合和单独 42℃ 持续 5 分钟的高温所诱发的胚

显的毒性和致畸作用,并且与高温和持续时间明显相关(表 1)。温度为 40~41℃,持续时间较短时,死和胚胎吸收率及畸胎率均低于 10%,与对照组无明显差异;当温度超过 41℃ 时,死和胚胎吸收率及畸胎率均高于 10%,与对照组的差异显著,在 41℃ 以上高温持续时间 5 分钟,死和胚胎吸收率达 35% 以上,畸胎率达 70%~80%。

胎畸形率结果一致,都达 70% 以上,并且与单独高温和单独香烟组比较有明显差别,提示高温与香烟联合可加强对胚胎的致畸作用(表 3)。

表 2 不同浓度香烟对胚胎成活及畸胎的影响

香烟剂量 (支)	总胎数	活胎数	死胎数	吸收胎数	死加吸收胎率 (%)	畸胎数	畸胎率 (%)
0	112	112	0	0	0	0	0
0.5	118	117	0	1	0.38	0	0
1.0	121	118	1	3	3.31	1	0.84
1.5	122	116	1	5	4.92	3	2.59
2.0	108	99	2	7	8.33*	8	8.08*
2.5	109	99	3	7	9.17*	7	6.42*

注:与对照组(香烟剂量为 0)比较,\*  $P < 0.05$

表3 高温(42℃)与香烟联合对胚胎发育的毒性和致畸作用

香烟剂量 (支)	温度 (℃)	时间 (min)	总胎数	活胎数	死胎数	吸收胎数	死加吸收胎率 (%)	畸胎数	畸胎率 (%)
2	42	0	122	113	1	8	7.38	12	10.62
2	42	1	108	90	3	15	16.67*	23	25.56**
2	42	2	119	91	3	25	23.53*	43	47.25**
2	42	3	121	84	6	31	30.57*	61	72.62**
2	42	4	110	62	6	42	43.64**	45	72.58*
2	42	5	121	56	4	61	53.72**	39	69.64*
0	42	0	126	120	0	6	4.76	11	9.17

注:与对照(一)组(香烟为0,持续时间为0)和对照(二)组(香烟为2支,持续时间为0)比较,\* $P < 0.01$ ;与单独高温组(香烟为0)比较,\*\* $P < 0.01$

### 3 讨论

本实验结果表明高温、高温与香烟联合对怀孕的大鼠胚胎有明显的毒性和致畸作用,通过对畸胎解剖发现,致畸类型主要有神经管畸形、颅面部发育畸形、骨骼畸形、体节异常、脊柱和肋骨畸形及端脑小等,与 Kimmel<sup>[4]</sup>等报道结果基本一致。

本研究表明大鼠胚胎畸形与热强度、持续时间有明显的关系,当温度 40~41℃,持续时间较短(低于3分钟)或 42℃ 温度不持续时,致畸率低于 10%,与对照组没有明显差异;在 41℃ 以上高温或高温持续较长时间,致畸率可达 70% 以上,几乎所有活胎均有形态畸形,与国外文献报道<sup>[1-4]</sup>的胚胎发育异常发生率变化规律基本一致。提示较低的温度和不持续高温对胚胎发育影响不明显,孕妇应避免持续高温。

香烟烟雾中含有多种化学致癌和致癌物前体<sup>[6,7]</sup>,对胚胎的致畸作用不明显,它与高温联合实验结果显示,对胚胎发育致畸具有复合作用。当持续高温时与香烟联合可加强胚胎的致畸作用,在 42℃ 高温下,持续时间低于 3 分钟时,高温与香烟对胚胎的致畸具有协同效应,持续时间高于 3 分钟时,对胚胎的致畸具有拮抗作用。实验还表明不持续高温与香烟联合对胚胎的发育影响不显著,结果提示在持续高温情况下,应避免接触香烟烟雾。

目前高温与香烟的联合作用问题资料较少,且由于人类畸形发生的遗传基础及对毒性物质的吸收、分布、转化和排泄等方面与动物存在种属差异,显然不能将动物实验结果简单地外推到人。有关高温与香烟联合对胚胎发育的毒性和致畸作用及联合致畸的机理需进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] Golub, M. A. Marmal toxicity and the identification of inorganic arsenic as a developmental toxicant. *Reprod. Toxicol.*, 1994, **8**(4): 282~285.
- [2] Mirks, P. E. Hyperthermia and the induction of neural tube defects in mice. *Teratology*, 1994, **49**: 135~142.
- [3] Geman J. Embryonic stress hypothesis of teratogenesis. *Am J. Med.*, 1984, **76**: 293~304.
- [4] Kimmel, C. A., G. L. Kimmel, B. R. Fisher *et al.* Effects of heat shock and skeletal development in the rat. *Teratology*, 1987, **35**~**36A**: 156~176.
- [5] Fisher, B. R., N. T. Brown, D. J. Heredia *et al.* Occipital encephalocele and early gestational hyperthermia. *Teratology*, 1995, **52**: 90~100.
- [6] Crebelli, R., L. Conti, S. Fuselli *et al.* Further studies on the comutagenic activity of cigarette smoke. *Mutation Res.*, 1991, **259**: 29~36.
- [7] Chin, K. L., J. D. David, T. B. Gary *et al.* Comparative genotoxicity testing of mainstream whole smoke from cigarette which burn or heat tobacco. *Mutation Res.*, 1990, **242**: 37~45.
- [8] 工业毒理学实验方法编写组. 工业毒理学实验方法. 上海: 上海科学技术出版社, 1977.
- [9] 张江泉主编. 人体畸形学. 北京: 人民卫生出版社, 1986.