文章编号:1000-5404(2006)07-0697-03

论著

蝙蝠葛酚性碱抗突变作用的研究

李 铭[1],蔡文清[2],李 颖[3],田建华[1],卢 东[1] (河北医科大学:[1]第四附属医院泌尿外科,石家庄 050011,[2]第二附属医院泌尿外科,石家庄 050051;[3]河北省人民医院信息中心,石家庄 050051)

提 要:目的 应用昆明小鼠股骨骨髓嗜多染红细胞微核实验,研究蝙蝠葛酚性碱(phenolic alkaloids from menispermum dauricum,PAMD)的致突变作用和抗突变作用。**方法** 均在10~40 mg/kg剂量下,连续腹腔注射给药11 d,在致突变实验,末次给药6 h后处死小鼠,检测骨髓嗜多染红细胞微核率。在抗突变实验,小鼠在于处死前的24 h,腹腔注射40 mg/kg环磷酰胺(cyclophosphamide,CP)或2 mg/kg丝裂霉素C(mitomycinc,MC),末次给药6 h后取样。**结果** 蝙蝠葛酚性碱与对照组相比未诱发骨髓嗜多染红细胞微核率的增高(微核细胞率<3‰)。蝙蝠葛酚性碱可使环磷酰胺和丝裂霉素C诱发的骨髓细胞微核率增高数值出现明显的降低。PAMD+CP组微核细胞抑制率分别为61.83%、43.51%和22.52%。PAMD+MC组微核细胞抑制率分别为31.09%、21.50%和8.29%。**结论** 蝙蝠葛酚性碱具有一定的抗突变作用,而无致突变作用。

关键词:蝙蝠葛酚性碱;微核;致突变;抗突变
中图法分类号:R282.71;R285.5;R73-36 **文献标识码**:A

Antimutagenic activity of phenolic alkaloids from menispermum dauricum

LI Ming[1], CAI Wen-qing[2], LI Ying[3], TIAN Jian-hua[1], LU Dong[1] ([1]Department of Urinary Surgery, The Fourth Hospital, Shijiazhuang 050011, [2]Department of Urinary Surgery, The Second Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, [3]The Information Center, Hebei People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract: Objective To investigate the antimutagenic and mutagenic activity of phenolic alkaloids from menispermum dauricum (PAMD) by mouse micronucleus test of polychromatic erythrocytes in bone marrow. **Methods** PAMD at the dose of 10, 20, 40 mg/kg was injected intraperitoneally to mice once a day for 11 d, the physiological saline containing 10% ethanol as normal control, cyclophosphamide (CP) and mitomycin C (MC) as positive controls. In the mutagenic test, the mice were killed at 6 h after the last administration, and the micronucleated polychromatic erythrocytes of bone marrow were observed and measured; in the antimutagenic test, CP of 40 mg/kg or MC of 2 mg/kg were injected intraperitoneally at 24 h before killing, and the statistic was obtained at 6 h after the last administration. **Results** The rate of the micronucleated polychromatic erythrocytes (<3‰) in PAMD group were not significantly different from the control group. PAMD significantly decreased the rate of the micronucleated polychromatic erythrocytes in mice induced by CP and MC as compared with the positive control groups. The micronucleus cell inhibiting rate of PAMD+CP group were 61.83%, 43.51% and 22.52%, and that of PAMD+MC group were 31.09%, 21.50% and 8.29%. **Conclusion** Phenolic alkaloids from menispermum dauricum have antimutagenic effect. The mutagenicity of phenolic alkaloids from menispermum dauricum was not observed in our study.

Key words: phenolic alkaloids from menispermum dauricum; micronucleus; mutagenicity; antimutagenicity

北豆根是防己科植物蝙蝠葛(menispermum dauricum, DC)的干燥根茎,为北方习用的中药。其性味苦寒,有清热解毒、祛风止痛之功效。具有抑菌、降压、抗心律失常等作用。近来发现北豆根具有较强的抗肿瘤活性,单保恩等[1]证实,北豆根的有效提取成分蝙蝠葛酚性生物碱(phenolic alkaloids from menispermum dauricum,PAMD)对肿瘤细胞具有广谱的抑制作用,能诱导肿瘤细胞凋亡,并有免疫调节作用。如果将北豆根作为抗肿瘤药物开发,致突变和抗突变作用是重要的理论依据。我们应用昆明小鼠股骨骨髓嗜多染红细胞微核实验,研究了蝙蝠葛酚性碱的致突变作用和抗突变作用。

作者简介:李 铭(1967-),男,山东省莱州市人,博士,副主任医师,主要从事泌尿外科肿瘤的临床方面的研究。电话:(0311)86033941-364,E-mail:zlylm@yahoo.com.cn
通讯作者:蔡文清,电话:(0311)86265510
收稿日期:2005-09-02;修回日期:2006-01-02

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 受试物 蝙蝠葛酚性碱(PAMD)为棕褐色粉末,不溶于水,可溶于乙醇,纯度>99%,由华北制药集团新药开发研究所提供,本实验室室温下密闭保存。实验前称取PAMD 140 mg,用95%乙醇7 ml溶解,再用0.9%生理盐水63 ml稀释至2 mg/ml浓度。小鼠腹腔注射给药20 ml/kg。

1.1.2 溶剂对照品 含10%乙醇的生理盐水(NS)。

1.1.3 阳性对照品 注射用环磷酰胺(cyclophosphamide, CP)为上海第十二制药厂生产,购于医院药房。称取CP 45 mg加生理盐水18 ml,配制成2 mg/ml浓度的溶液。丝裂霉素C(mitomycin c, MC)为Sigma生产的化学纯品,购于化学试剂商店。称取MC 2.25 mg加生理盐水18 ml,配制成0.125 mg/ml浓度的溶液。

1.1.4 实验动物 SPF级昆明种小鼠120只,雌雄各半,体质量22~24 g,动物质量合格证号为京动管许字(2000)第017号,由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供。每笼饲养小鼠10只,在三级标准实验动物室饲养观察1 d后用于实验。

1.1.5 剂量设计 根据小鼠腹腔注射(intraperitoneal injection, ip)给药LD_{50}=(115±18) mg/kg进行设计[2]:高剂量组为40 mg/kg,是LD_{50}的1/3量。中、低剂量组分别是20 mg/kg和10 mg/kg。以LD_{50}的1/3量设定小鼠连续给药的高剂量组,在给药后期已经出现毒性反应,小鼠体重增长明显减缓。如果按常规实验LD_{50}的1/2量设计给药高剂量[3],则将出现更大的毒性反应,甚至在给药期间出现小鼠的死亡。

1.2 实验步骤和方法

1.2.1 致突变实验[4] PAMD共设3个剂量组(40、20、10 mg/kg),另加溶剂对照组和阳性对照组。每组10只小鼠。PAMD浓度分别为2.0、1.0 mg/ml和0.5 mg/ml,每天1次腹腔注射(ip)给药,连续11 d,末次给药6 h脱颈处死小鼠;溶剂对照组给予同体积的生理盐水(NS);阳性对照组1次ip给药40 mg/kg CP,给药后24 h脱颈处死小鼠。常规取股骨骨髓,小牛血清稀释后涂片,干燥,甲醇固定,Giemsa染色。每只小鼠在油镜下计数1 000个嗜多染红细胞(polychromatic erythrocytes, PEC)中出现微核的细胞数(MN),并计数100个嗜多染红细胞(P)与正染红细胞(N)的比例。全部数据以组为单位进行统计学分析。

1.2.2 抗突变实验[5] PAMD共设6个剂量组(40、20 mg/kg和10 mg/kg各2组),另加阳性对照40 mg/kg CP组和2 mg/kg MC组。每组10只小鼠。PAMD浓度分别为2.0、1.0 mg/ml和0.5 mg/ml,每天1次ip给药,连续11 d;于处死前的24 h,PAMD各剂量组一次性ip给予致突变剂40 mg/kg CP或2 mg/kg MC,末次给药PAMD 6 h后处死小鼠。处理及检测方法同上。

1.3 统计学方法

采用SPSS 10.0统计软件进行方差分析和χ^2检验。

2 结果

2.1 致突变实验

溶剂对照组和PAMD各剂量组的微核细胞率均<3‰,与溶剂对照组比较,无显著性差异($P>0.05$);阳性对照组的微核细胞率>26‰,与溶剂对照组比较,有非常显著性差异($P<0.01$),见表1。

表1 蝙蝠葛酚性碱微核实验致突变结果

组别	剂量(mg/kg)	P/N	PEC	MN	微核率(‰)
NS	–	1.29	10 000	17	1.50
CP	40	0.89	10 000	262	26.20[a]
PAMD	10	1.48	10 000	23	2.30
PAMD	20	1.25	10 000	20	2.00
PAMD	40	1.42	10 000	22	2.20

a: $P<0.01$, 与NS组比较

2.2 抗突变实验

阳性对照CP组的微核细胞率为26.2‰。PAMD+CP的3个剂量组微核细胞率均较阳性对照CP组明显降低,见表2。

表2 蝙蝠葛酚性碱微核实验抗突变(CP)结果

组别	剂量(mg/kg)	小鼠数	PEC	MN	微核率(‰)	抑制率(%)
NS	–	10	10 000	17	1.5	
CP	40	10	10 000	262	26.2	–
PAMD+CP	10+40	10	10 000	203	20.3[a]	22.52
PAMD+CP	20+40	10	10 000	148	14.8[a]	43.51
PAMD+CP	40+40	10	10 000	100	10.0[a]	61.83

a: $P<0.01$, 与CP组比较

阳性对照MC组的微核细胞率38.6‰,PAMD+MC的高、中剂量组微核细胞率较阳性对照MC组明显降低($P<0.01$),见表3。

表3 蝙蝠葛酚性碱微核实验抗突变(MC)结果

组别	剂量(mg/kg)	小鼠数	PEC	MN	微核率(‰)	抑制率(%)
NS	–	10	10 000	17	1.5	
MC	2	10	10 000	386	38.6	–
PAMD+MC	10+2	10	10 000	354	35.4	8.29
PAMD+MC	20+2	10	10 000	303	30.3[a]	21.50
PAMD+MC	40+2	10	10 000	226	26.6[a]	31.09

a: $P<0.01$, 与MC组比较

3 讨论

从天然产物中寻找和筛选抗诱变剂已引起世界各国的普遍关注,并且取得了较大进展,且逐渐成为防癌、防畸、防病的一条有效的化学预防途径。许多研究表明:维生素、蔬菜类、茶叶、中药等具有抗诱变作用。目前已发现的许多具有抗突变效应的中药就是通过抑制诱变剂的诱变作用,减少DNA损伤并增加其损伤修复能力,从而达到其抗诱变作用[6,7]。微核实验用于检测化学物质对整体哺乳动物骨髓细胞染色体的损伤作用,如果预先给予受试物,再使用固定剂量的某种已知的染色体断裂剂,即可研究该受试物对染色体损伤

的保护作用，即抗突变作用。我们在实验中应用了一种以上的化疗药物，环磷酰胺是一种临床上广泛应用的抗癌药，同时又是一种免疫抑制剂，是目前公认的诱变剂，常用于致突变实验，而丝裂霉素C是抗生素类抗肿瘤制剂的代表。

PAMD在10～40 mg/kg剂量下连续ip给药11 d，未诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率的明显增高，提示蝙蝠葛酚性碱在实验剂量范围内，引起体内染色体畸变的可能性较小。PAMD在10～40 mg/kg剂量下连续ip给药11 d，于小鼠处死前的24 h，各组一次性ip致突变剂CP或MC，其诱发骨髓嗜多染红细胞增高的微核率出现较明显的降低，并且具有剂量－效应关系，提示蝙蝠葛酚性碱在实验剂量范围内，对不同的致突变剂：烷化剂－环磷酰胺（需代谢活化）、抗肿瘤抗生素－丝裂霉素C（不需代谢活化）等具有对抗小鼠骨髓细胞染色体损伤的作用。蝙蝠葛酚性碱既有抗肿瘤作用又有抗突变作用，且无致突变作用。

在作用机制方面，有研究显示致突变物、致癌物在造成机体损害或诱导细胞突变与癌变过程中，可能与自由基的生成有关，自由基是导致DNA损伤的重要机制之一[8]。一些植物的有效成分能够对抗CP诱导突变，其作用机制归功于它的抗氧化清除自由基特性[9]，目前还没有蝙蝠葛酚性碱的抗突变机制的报道。北豆根作为抗肿瘤药物有待进一步开发，其作用机制有待进一步研究。

参考文献：

[1] 单保恩，梁文杰，任凤芝，等. 中药北豆根抗肿瘤活性的体外实验[J]. 癌变·畸变·突变，2004，16(5)：293－295，304.
[2] 李延忠，孙晓波，张殿文，等. 北豆根化学成分及其药理作用研究进展[J]. 特产研究，1999，21(3)：61－62.
[3] 袁伯俊，王治乔. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京：军事医学科学出版社，1997：102－110.
[4] 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(药学 药理学 毒理学). 致突变实验[S]. 北京：中华人民共和国卫生部药政局，1993：211－216.
[5] 商希梅，乔建维，候殿俊，等. 海珍玉液拮抗环磷酰胺诱发的遗传损伤效应[J]. 癌变·畸变·突变，2004，16(4)：242－243.
[6] 董彩婷，杨 青，肖元梅，等. 芦荟多糖抗突变作用的试验研究[J]. 华西医科大学学报，2002，33(3)：477－478.
[7] 杨胜利，韩绍印，张 巧，等. 冬凌草甲素抗突变性研究[J]. 癌变·畸变·突变，2001，13(1)：8－10.
[8] HUSSAIN S P, HOFSETH L J, HARRIS C C. Radical causes of cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(4): 276－285.
[9] 李双莲，徐厚恩，尚兰琴，等. 猕猴桃果汁抗环磷酰胺致突变作用及其机制[J]. 北京医科大学学报，1998，30(3)：270－272.

（编辑 龙 亮）

文章编号：1000-5404(2006)07-0699-01

个案与短篇

腹腔镜膀胱颈悬吊术治疗女性压力性尿失禁的护理

袁吉钊，王延洲，杨青兰，杜 凌 （第三军医大学西南医院妇产科，重庆 400038）

女性压力性尿失禁（stress urinary incontinence，SUI）是指由于各种原因引起盆底肌肉筋膜组织松弛、膀胱和尿道解剖位置改变及尿道阻力降低，致使排尿自禁功能障碍的一类疾病。其特点是在正常状态下无漏尿，而在腹压突然增高时则尿液不自主流出。在女性中发病率为15%～60%。严重影响患者生活质量。我院从2000年8月至2005年6月，用腹腔镜Burch手术治疗患者共49例，疗效显著，现将护理情况报告如下。

1 术前护理

1.1 心理护理

女性尿失禁是一种严重影响女性身心健康的疾病，因经常尿失禁，带有尿臭味而使她们不愿意接近他人，不愿参加社会活动，不敢坐别人的床椅，病程较长者甚至伴有自卑心理易产生压抑、忧郁、丧失自信等心理问题。故针对不同的心理状态，我们必须有针对性的给患者以情感支持，应以亲切诚恳的态度与患者进行交流，尽可能地为理解患者的疾苦，创造良好的人际氛围，以安抚患者的情绪。使患者在心理上能够得到更多的支持和鼓励，增强其战胜疾病的信心，同时应与患者家属进行沟通，使他们对手术也有所了解。说明腹腔镜膀胱颈悬吊术是一种微创手术，术后恢复快，住院时间明显缩短。消除患者紧张情绪，增强其对手术的信心，更好地配合医生完成治疗。

1.2 术前准备

术前应常规行阴道清洗。手术前3 d PP粉坐浴，每日2次。用碘伏棉球擦洗阴道，每日1次，有阴道炎性疾病者应治愈后再考虑手术。同开腹手术范围及方法，进行手术野皮肤清洁。应注意脐部清洁是预防穿刺口感染的重要环节。应用松节油棉签仔细擦洗脐孔后用干酒精棉球消毒后，用干棉球擦净。术前进易消化食物，术前12 h开始禁食、水。术前晚及术

（下转703页）

作者简介：袁吉钊（1977－），女，四川省宜宾市人，护师，主要从事妇科内镜护理方面的研究。电话：(023)68773145

收稿日期：2006-03-11；修回日期：2006-03-20