

医用高分子材料的 Ames 试验研究

马明福¹ 李练兵¹ 曾维三¹ 徐小丽¹ 朱明华² 吴增树² 张其清³

¹重庆市计划生育科学研究所 重庆 400020 ²四川省生物医学材料检测中心 成都 610041 ³中国医学科学院生物医学工程研究所 天津 300192

摘要 男性绝育药输精管粘堵剂、男性避孕材料水凝胶、医用组织复合膜、胶原膜、复合缝线、铬制复合型可吸收缝线、药物载体聚乳酸、固定材料聚酯醚等 8 种医用高分子材料,经 Ames 试验的标准菌株 TA97、TA98、TA100、TA102 测试,均未诱发回复突变菌落数增加,对 Ames 试验菌株无诱发突变作用。用这种方法测试不同类型的医用高分子材料是可行的。

关键词 医用高分子;Ames 试验;突变

THE STUDY OF THE MEDICAL HIGH POLYMERS MATERIALS IN AMES TEST

Ma Mingfu¹, Li Lianbing¹, Zeng Weisan¹, Xu Xiaoli¹, Zhu Minghua², Wu Zengshu², Zhang Qiqing³

¹Chongqing Family Planning Scientific Research Institute, Chongqing 400020, ²Sichuan Biomedical Materials & Detected Center, Chengdu 610041, ³Institute of Biomedical Engineering Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192

Abstract The study is detected that dury on spermatic duct adhesive for male sterilization, Hydrogel HFMC for male sterilization, Co membranes in medical organize, collagen membranes, Co suture, absorbed CrCo stuture, dury carried Polymile acid and Solid material Polyesterether would not be to induce positive mutation for Ames test. The results demonstrated that 8 medical high polymers material would not be mutagenic in this experiment. It is feasible that Ames test is detected each type medical high polymers material.

Key words Medical high polymers material; Ames test; Mutation

自 1947 年发表有关医用高分子 (Medical High Polymers) 展望性论文以来⁽¹⁾, 每年有大量的医用高分子材料的应用, 它们的致突、致畸变、致癌等问题颇为人们关注。测定也早已列入标准²⁻³, 特别是将 Ames 法作为初筛医用高分子材料的致突性得到了研究者的广泛重视⁽⁴⁾。本文用 Ames 法对 8 种医用高分子

材料进行研究, 并对材料有无致突变性作出了初步评价。

材料与方法

1 材料

1.1 药物

输精管粘堵剂 (504P), 批号 840490, 由重

庆市第七制药厂提供。水凝胶(HFMC),批号 89011,由中国科学院成都有机化学研究所提供。组织引导再生膜(Comembrance),批号 920381;复合型组织引导再生膜(胶原膜,Col-lagen membranes),批号 911121 - 8 - 45 - c;复合型可吸收缝线(Co suture),批号 921530;铬制复合缝线(Crco stuture),批号 920530 由中国医学科院生物医学工程研究所提供。

1.2 对照物

阳性对照剂丝裂霉素 C(MMC,Japan)、正定霉素(Dau, Sigman)、甲基甲烷磺酸酯(MMS, Emerk)、2 - 氨基苄(2 - AF, Alorich)、1.8 - 二羟蒽醌(1.8 - Dan Sigman)、环磷酸胺(CP,上海第十二制药厂)、叠氮化钠(NaN₃,四川省卫干院),除 Dau 溶于生理盐水中,其余用二甲基亚砷(DMSO)溶解,备用。

1.3 溶解受试物

504P 玉米油溶解, HFMC 用 DMSO 溶解,聚乳酸和聚酯醚用 N. S 溶解。再生膜和胶原膜、Co 缝线和 CrCo 缝线按文献⁽⁵⁾制备,在 5 × 0.3cm (厚度 < 0.5mm) 被测膜中加 20ml N. S, 5 × 0.3cm 节段缝线中(直径 < 0.3mm)加 2ml N. S, 121 萃取 1h, 用萃取液做试验。

1.4 试验菌株

试验菌株 TA97, TA98, TA100 和 TA102

由 Ames 教授赠送。

2 方法

采用纸片点试法、标准平皿掺入法和预培养法。结果判断等均按标准执行⁽⁴⁾。

结 果

1 纸片点试法

除 HFMC 10000μg/片,纸片周围出现 2mm 直径白色沉淀圈,随即消失外,其余 7500、5000、2000、500、200、20、2μg/片无此现象发生。再生膜(1、5、10、20、30mg/片)、胶原膜(1、5、10、20、30mg/片)、Co 缝线(1、2、3、4mg/扎)、CrCo 缝线(1、2.5、5、7.5、10mg/扎)、聚酯醚(1500、750、500、200、20、2、0.2μg/片)、聚乳酸(500、200、20、2、0.2μg/片)的材料中,无代谢活化条件下,结果阴性。而阳性诱变剂纸片周围出现密集微小菌落。

2 标准平皿掺入试验

分别将再生膜、胶原膜、Co 缝线、CrCo 缝线萃取液,聚酯醚和聚乳酸的受试剂量,在 ± S9mix 条件下,每一剂量作 3 皿,重复 3 次,与对照比较,结果各剂量组与对应菌株回变菌落数均未超过各自的自发回变菌落数 2 倍。诱变剂所对应的菌株,在平行试验中均诱发了较高的回复突变菌落数,呈明显阳性反应。因此各受试材料的试验结果为阴性(见表 1~3)。

Table 1 the Result of Ames Test for Comembrance and Collagen Membranes($\bar{x} \pm s$)

Groups	Dose μl/plate	TA97		TA98		TA100		TA102	
		- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉
Comembrance	400	171.0 ±25.4		49.5 ±0.7		161.5 ±23.2		294.0 ±25.4	
	200	164.0 ±10.6	183.0 ±7.0	45.5 ±4.2	60.0 ±4.2	197.5 ±17.6	195.0 ±9.1	295.5 ±23.2	303.0 ±18.3
	100	165.3 ±7.7		43.0 ±5.6		195.0 ±4.2		236.0 ±25.4	
Collagen Membranes	400	150.5 ±3.5		57.5 ±6.3		180.5 ±17.7		246.5 ±12.0	
	200	150.0 ±22.6	184.3 ±8.1	61.0 ±4.2	60.0 ±4.2	205.5 ±17.7	204.0 ±19.7	230.5 ±7.7	254.0 ±49.4
	100	168.0 ±28.2		55.5 ±3.5		188.5 ±7.7		248.0 ±19.7	
Spontaneous reversion	0	180.5 ±6.3		57.5 ±2.1		194.5 ±7.7		278.0 ±25.4	
Solution control		162.0 ±9.8		60.0 ±4.2		172.5 ±6.3		281.0 ±2.8	
S ₉ mix control			179.0 ±8.4		60.5 ±4.9		122.5 ±17.6		256.0 ±11.3
Positive control		MMS 1ul	2 - AF10ug	Dan10ug	2 - AF10ug	MMS 1ul	2 - AF10ug	MMS 1ul	Dan 60ug
		1437.3 ±34.1	1382.3 ±465.3	572.8 ±7.9	3958.0 ±825.1	1625.5 ±36.3	1544.5 ±471.0	1745.0 ±118.5	616.0 ±71.9

Table 2 the Result of Ames Test for Co Stuture and CrCo Suture($\bar{x} \pm s$)

Groups	Dose μl/ plate	TA97		TA98		TA100		TA102	
		- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀
		Co Suture	400	181.0 ±11.3		24.5 ±2.1		232.0 ±15.5	
	200	136.0 ±21.2	146.0 ±4.2	37.0 ±1.4	184.5 ±43.1	186.0 ±8.4	217.0 ±31.8	292.5 ±6.3	292.5 ±6.4
	100	173.0 ±7.0		40.0 ±11.3		166.0 ±26.8		298.0 ±24.0	
CrCo Stutuer	400	150.5 ±3.5		57.5 ±6.3		180.5 ±17.7		246.5 ±12.0	
	200	150.0 ±22.6	184.3 ±8.1	61.0 ±4.2	205.5 ±17.7	204.0 ±19.7	230.5 ±7.7	254.0 ±49.4	239.0 ±2.8
	100	168.0 ±28.2		55.5 ±3.5		188.5 ±7.7		248.0 ±19.7	
Spontaneous reversion	0	180.5 ±6.3		57.5 ±2.1		194.5 ±7.7		278.0 ±25.4	
Solution control		162.0 ±9.8		60.0 ±4.2		172.5 ±6.3		281.0 ±2.8	
S ₀ mix control			179.0 ±8.4		60.5 ±4.9		122.5 ±17.6		256.0 ±11.3
Positive control		MMS 1ul	2—AF10ug	Dan10ug	2—AF10ug	MMS 1ul	2—AF10ug	MMS 1ul	Dan 60ug
		1437.3 ±34.1	1382.3 ±465.3	572.8 ±7.9	3958.0 ±825.1	1625.5 ±36.3	1544.5 ±471.0	1745.0 ±118.5	616.0 ±71.9

Table 3 The result of Ames test for Polymilkacid and Polyesterether($\bar{x} \pm s$)

Groups	Dose μg/ plate	TA97		TA98		TA100		TA102	
		- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀
		Polymilkacid	5 000	135.0 ±18.5	133.0 ±1.4	32.3 ±3.3	38.0 ±7.1	157.0 ±17.1	210.5 ±31.8
	2 000	150.0 ±13.7	177.0 ±1.4	36.3 ±3.1	45.0 ±4.3	180.3 ±12.9	225.0 ±26.1	244.5 ±20.6	239.5 ±7.8
	200	161.0 ±16.5	206.0 ±4.3	40.3 ±7.8	41.0 ±1.4	16.45 ±22.1	211.5 ±24.7	25.5 ±22.3	231.0 ±25.5
	20	153.5 ±28.8	188.0 ±11.3	48.3 ±3.7	44.5 ±6.4	160.8 ±27.2	219.0 ±1.4	256.3 ±16.9	227.5 ±10.6
	2	158.5 ±16.4	190.0 ±21.2	43.3 ±7.5	58.0 ±1.4	160.5 ±17.9	208.5 ±9.2	252.8 ±20.1	238.0 ±9.9
	0	138.4 ±29.3	151.3 ±26.8	41.4 ±2.1	51.0 ±8.4	197.4 ±46.0	230.5 ±10.5	233.2 ±21.2	288.5 ±22.0
Polyesterether	5 000	144.3 ±31.9	154.0 ±4.6	44.0 ±1.8	47.0 ±1.4	223.8 ±13.9	238.5 ±7.8	188.8 ±18.6	25.5 ±4.9
	2 000	139.8 ±28.9	168.0 ±15.6	37.8 ±7.5	46.5 ±0.7	227.3 ±17.0	229.0 ±11.3	189.8 ±8.9	212.5 ±36.1
	200	127.3 ±33.0	215.0 ±7.1	44.0 ±10.0	51.3 ±9.1	233.0 ±14.0	215.0 ±29.7	208.8 ±33.6	26.5 ±3.5
	20	115.5 ±16.2	175.0 ±17.0	41.8 ±12.2	55.5 ±9.2	221.3 ±18.3	239.5 ±13.4	222.0 ±34.7	241.5 ±7.8
	2	138.0 ±12.6	207.5 ±29.0	41.3 ±2.5	58.0 ±8.5	235.3 ±8.5	211.0 ±45.3	197.0 ±15.7	240.5 ±20.5
solution control		155.3 ±28.4		63.7 ±8.0		176.0 ±2.0		312.7 ±43.9	
S ₀ mix			152.0 ±16.1		43.5 ±10.3		260.0 ±23.3		236.5 ±23.1
Positive control		MMS 1μl	2—AF10μg	Dan 10μg	2—AF 10μg	MMS 1μl	2—AF 10μg	MMS 1μl	Dan 60μg
		1175.5	1382.3	589.5	3958.0	1357.0	1544.5	1727.0	616.0
		±210.0	±465.3	±13.8	±825.2	±171.1	±471.0	±145.6	±71.9

3 预培养平皿掺入试验

S₀mix、自发回变对照组比较,无显著差异(表

504P和 HFMC 在 ±S₀mix 条件下,重复 4~5)。

3次试验,所得的回复突变菌落数与溶剂、

Table 4 The result of Ames test for spermatic duct adhesive ($\bar{x} \pm s$)

Adhesive for spermatic duct (mg/ plate)	TA97		TA98		TA100		TA102	
	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀
4	157.5 ±26.9	232 ±11.3	46.75 ±2.06	68 ±1.41	93 ±36.23	158 ±2.83	159.75 ±33.97	207 ±34.97
2	156 ±15	240 ±5.66	44.5 ±6.24	55 ±14.14	123 ±24.3	142 ±5.66	142.5 ±51.36	214 ±20.46
1	217 ±11.9	234 ±8.49	46.25 ±4.58	72 ±1.4	127.5 ±37.68	152 ±11.99	159 ±45.66	220 ±22.86
0.5	19.5 ±26.9	262 ±25.46	41.75 ±5.9	72.5 ±12.82	149.75 ±31.54	144 ±4.90	174 ±41.02	214.5 ±18.57
0.25	191.5 ±36.96	254 ±14.14	48.66 ±5.5	72 ±4.24	120 ±12.28	150 ±7.12	191.67 ±61.86	199 ±8.25
0.025	145 ±7	230 ±8.49	45 ±2.83	59.5 ±3.54	97.5 ±12.90	139 ±15.45	149 ±15.56	197.25 ±18.14
0	197.75 ±28.09	174 ±8.49	41.75 ±5.90	49 ±2.83	98.67 ±7.2	124.25 ±3.86	184.5 ±15.93	111.75 ±13.33
Corn oil	212 ±28.7	182 ±8.49	40.5 ±5.80	73 ±14.14	91.5 ±23.3	128.5 ±8.85	206.5 ±41.48	180.5 ±12.69
S ₀ mix		205 ±18.39		67 ±2.83		150.75 ±10.11		206 ±19.25
Corn oil + S ₀ mix		210.5 ±20.51		72 ±4.24		143 ±2.58		191 ±11.60
Positive control	MMS (1μl/皿)	2 —AF (100μl/皿)	Daun (2.5μg/皿)	2 —AF (100μg/皿)	MMS (1μl/皿)	CP (800μg/皿)	(MMS (0.5μg/皿)	(Dan (30μg/皿)
	1500 ±422.84	716 ±28.28	2322 ±208.67	418 ±14.14	1488 ±104.9	785 ±10.5	1830 ±264.47	480 ±39.60

Table 5 The result of Ames test for HFMC ($\bar{x} \pm s$)

Dose μg/ plate	TA97		TA98		TA100		TA102	
	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀	- S ₀	+ S ₀
7500	174.0 ±18.8	151.5 ±17.7	44.3 ±9.1	35.0 ±2.9	182.5 ±26.9	201.0 ±10.1	231.5 ±36.7	281.5 ±55.9
5000	149.0 ±47.6	165.0 ±22.9	45.3 ±4.2	42.8 ±6.7	180.5 ±17.8	195.3 ±33.5	288.0 ±26.9	298.0 ±47.6
2000	157.5 ±39.9	168 ±19.7	43.0 ±8.4	44.8 ±10.1	199.3 ±18.0	205.5 ±22.6	249.5 ±47.3	290.0 ±51.9
200	174.5 ±32.1	144.5 ±9.0	58.0 ±10.0	43.3 ±6.9	197.0 ±21.8	202.0 ±14.8	246.8 ±59.6	294.0 ±66.7
20	149.0 ±18.3	169.0 ±26.4	42.5 ±9.9	43.5 ±6.1	189.5 ±17.6	179.0 ±26.6	257.5 ±16.8	294.0 ±60.8
2	148.0 ±25.8	140 ±29.5	36.3 ±5.9	42.0 ±10.4	202.9 ±29.0	167.0 ±17.7	249.0 ±22.7	290.5 ±40.7
0	138.5 ±29.3	107.0 ±22.4	44.0 ±2.3	43.0 ±7.2	184.5 ±19.1	197.3 ±23.8	247.5 ±10.5	304.8 ±20.6
solution control	158.3 ±23.5	118.2 ±11.7	39.5 ±7.3	43.0 ±3.9	189.0 ±27.1	184.0 ±19.0	245.3 ±19.3	305.5 ±31.4
S ₀ mix control		134.8 ±20.1		61 ±4.3		190.0 ±20.8		298.3 ±54.3
Positive control	MMS (0.5μl/皿)	2 —AF (10μg/皿)	Dau (4μg/皿)	2 —AF (10μg/皿)	MMS (1μl/皿)	2 —AF (10μg/皿)	MMS (0.5μg/皿)	1.8Dan (60μg/皿)
	1448.0 ±181.5	1391.0 ±329.3	1568.0 ±181.5	1317.5 ±72.2	614.0 ±159.9	748.0 ±157.1	1669.0 ±107.3	699.0 ±49.5

讨 论

1 剂量和菌株

通过研究发现不同的药物和材料的最高剂量是不一的,有的已经超过标准规定最高剂量,因此选择最高剂量应根据药物和材料的最大溶解度确定。美国材料标准组织 (ASTM)⁽⁶⁾ 和国际标准组织 (ISO)⁽³⁾, 虽然在材料生物学评价中规定了 Ames 试验细则,但仍沿用老一套菌株⁽⁷⁾。在我们的药物和材料

研究中按修订标准引用新型测试菌株,且经重复试验证实,未发现各受试物有诱发细菌基因突变作用。

2 试验溶剂选择

在 Ames 试验中怎样选择最佳受试物的溶剂,将直接影响试验的成败和结果的可靠性。1981 年 Maron 等就溶剂问题进行了专项研究⁽⁸⁾。根据研究工作体会,易溶药物和材料以水或 N. S 作溶剂;难溶药物和材料首选

燃煤烟颗粒介导的 DNA 氧化损伤 I. 对脱氧核糖羟化降解的影响

仲伟鉴¹ 时胜利¹ 杨 隼¹ 刘云利¹ 张荣泉¹ 郑方园² 张国雄² 周澄明³

¹上海市卫生防疫站 上海 200335 ²上海市煤气公司 ³中国科学院上海有机化学研究所

摘要 煤厂的煤烟颗粒有机溶剂(硝基甲烷和二氯甲烷)和水相二种类型的抽提物都能有效增强、加速 Udenfriend 反应体系中脱氧核糖(dR)羟化降解,并呈现一定的剂量-效应关系。用脱氧腺苷(dA)替代,也能获此结果。而燃油厂的油烟颗粒则无上述作用。经 ESR 测定,燃煤厂的煤烟颗粒自由基 g 值为 2.0016;燃油厂的油烟颗粒自由基 g 值为 2.1008,前者接近于半醌自由基,后者为类似于大气飘尘中性质完全不同的宽谱、稳定自由基。提示煤烟的诱变性和致癌性与其对 OH 生成的加速作用及其对 DNA 造成的氧化损伤有一定关系。

关键词 煤烟;氧化应激;自由基;脱氧核糖;DNA 氧化损伤。

DMSO;不溶药物和材料,如被测膜和缝线等应按有关规定制备应用液;还有如 504P 在丙酮等溶剂中不溶,改选玉米油作溶剂,效果最佳。因此,选择最佳溶剂对提高溶解度,提高测试剂量,增强试验结果的可靠性与准确性是非常重要的。

3 可行性分析

目前在我国除了张文郁⁽⁹⁾等曾报道高分子材料氯乙烯的 Ames 试验结果为阳性外,对该法检测易溶、难溶、不溶的医用高分子材料,尚属研究和探索。本文使用的方法为 Ames 试验的纸样点试验、标准平皿掺入试验和预培养平皿掺入试验。溶剂分别为 DM-SO、N. S、N₂O 和玉米油。其目的是提高溶解度,增加受试剂量,加强实验结查的可靠性和可比性。通过研究认为,用 Ames 法测定医用高分子材料是否具有致突性是可行的。在本实验条件下,所测定的计划生育药物、医用材料、药物载体等 8 种医用高分子材料均未诱发 Ames 试验菌株回复突变菌落数增加和基因突

变作用。

参考文献

- 汪锡安,胡宁先,王庆生. 医用高分子. 上海:上海科学技术文献出版社,第一版. 1980:4
- ANST/ADA, for recommended standard practices for biotogicat eratuation of dentat materiats. 1982; No 41 a: 19 - 34e
- ISO/ TR, 7405 - 1984(E); 5. 5:17
- Maron DM and Ames BN. Rivised methods for Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res*, 1983;113:173
- 化工部橡胶工业科技情况中心站. 医用高分子通讯. 1980;7:60
- ASTM. Standard practics for selecting generic biological test methods for materials and devices. F 748 - 82:1319
- Ames BN, McCann J, Yamaski E. Methods for detecting carinogens and mutagens with the salmonella/ mam - malian - microsime mutagenicity test. *Mutat Res*, 1975;31:347
- Dorthy Maron, John Katzenellenabogen, Brace N Ames. Compatibilty of organic solvents with the salmonella/ microsome test. *Mutat Res*, 1981;88:343 - 350
- 张文郁,孔毓柏,刘淑英,等. 环氧乙烷等 7 种气态及挥发性化学物质对组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌/ 微粒体酶系统诱变实验的研究. 中华劳动卫生职业病杂志, 1984;2(6):36