

· 综述 ·

环磷酰胺的致畸、损伤和致突变作用及中药防护

梁前进¹ 程晓蕾²

环磷酰胺(cytosan, CTX)是一种烷化剂,能抗有丝分裂,被用作广谱抗癌药物。癌细胞是由正常细胞转化而来的,CTX对两者均有作用。钟惠军⁽¹⁾、叶任高等⁽²⁾研究表明,它对正常细胞的毒害作用也很明显。近年来对于致畸、损伤、致突变的环磷酰胺作用的中药毒病理防护效果的研究取得了一定的进展。

1 CTX的致畸和损伤作用及中药防护

CTX可导致孕鼠体重降低,使死胎和吸收胎数明显增加,而且可抑制胎鼠发育^(3,4)。章晓玲等⁽⁴⁾报道,一旦孕鼠注射CTX,其体重增长即明显减缓;孕鼠注射一定剂量CTX后,引起相当数量的死胎和吸收胎,窝平均死胎数明显高于阴性对照组,并呈剂量反应关系;在幸存活胎中,可检查出胎鼠的体长、尾长和体重较阴性对照组明显降低。在注射CTX的孕鼠产出的胎鼠中,表现了脑膨出或外露、小头、腹部水肿、短肢、足内翻或外翻、短卷尾、缺趾和并趾等畸形外观,而波状肋、肋骨缺少、尾椎缺少和肱、尺、桡、掌骨缺少等骨骼畸形更是明显。Mirkes等研究了CTX对大鼠致畸作用的有效范围和最佳给药时间。孕鼠(小鼠)腹腔注射CTX 5~10mg/kg,未见畸形胎鼠出生,而孕后8~12天施行20mg/kg剂量的注射,发现多种足畸形胎;若剂量达40mg/kg,则全为死胎⁽⁵⁾。母体毒性指标以轻度体重下降或增重受抑及死亡率小于10%作标准⁽⁶⁾,而化学药物引起的畸胎和死胎多数是母体毒性造成的⁽⁷⁾。章晓玲等⁽⁴⁾指出,10mg/kg是CTX比较适合的致畸剂量。王爱平等⁽³⁾报道,CTX对小鼠的最佳致畸量和给药时间为10mg/kg,于妊娠第10~12天连续肌肉注射,或20mg/kg,于妊娠第10天一次性肌肉注射。钟惠军等⁽⁸⁾对妊娠第13天的大鼠进行15mg/kg剂量的CTX腹腔注射,给药后4、8、12、24、48h及妊娠20天观察胚胎,发现致畸率可高达97.46%,常见神经管畸形。神经上皮套层作为神经上皮细胞的DNA复制区域,给药后发生最严重的损伤性改变,表明正在进行DNA合成的细胞是CTX作用的最敏感靶子。这些细胞受作用后,会发生变性和死亡,还会发

生线粒体破坏等;并且CTX可损伤神经管周物质,干扰骨的发生。干扰细胞正常代谢,通过自由基等破坏细胞膜结构,则是CTX致畸的又一个环节。CTX作为小分子量物质,容易穿过胎盘屏障,直接作用于胚胎细胞。胎儿对药物的敏感性与母体不同,其肝脏有解毒机能的酶活性较低,血脑屏障也不如成体强,肾脏滤过功能也差,所以药物易进入脑组织,且不易及时排泄,尤其在早期发育阶段,胎儿对药物的毒害作用非常敏感⁽⁹⁾。

无论是通过干扰DNA复制,还是通过自由基损伤而使大鼠或小鼠的发育受到抑制或导致畸形胎,CTX的作用都必然伴随体内各种酶和代谢物的变化。作为补肾安胎、养血止血、主治滑胎之剂的寿胎丸,以菟丝子为主,续断、桑寄生和阿胶为辅煎制而成⁽¹⁰⁾。在其成分中,动物和人体所需的某些微量和大量元素含量丰富⁽¹¹⁾,比如铁在菟丝子、续断中分别含846ppm和2372ppm,锌在桑寄生中多达90.77ppm。这些金属元素是体内多种酶的组分,为酶活性所必需,通过酶系统发挥对机体代谢的调控作用,它们对核酸、蛋白质的合成起着非常重要的作用,对免疫、细胞繁殖来说也举足轻重。如机体缺锰,则性激素合成受影响,缺乏生殖力,骨骼、神经异常;缺锌,则影响内分泌功能,导致腺体萎缩,还可引起阳痿、不孕、习惯性流产等;而钙则是骨骼形成、肌肉运动的必需元素。以微量元素构成活性中心的超氧化物歧化酶,能抗自由基损伤,保护膜结构,抵抗CTX等对酶的合成、定位的干扰。不难推测,寿胎丸有可能对CTX等导致的畸变现象发挥积极防护作用。刘燕宁等⁽⁹⁾研究表明,寿胎丸可以使胎儿畸形率下降、体格发育正常,也能促进小儿智商发育;临床和实验观察表明,寿胎丸保胎治疗对后代无不良影响。陈裕明等研究了寿胎丸对CTX致畸的防护作用。CTX使孕鼠体重增长量明显降低,生殖功能明显受损,造成大量吸收胎、死胎,使胎鼠生长发育受到抑制,而寿胎丸的防护作用使这些影响均得以明显改善。

能对CTX等的毒病理作用起到拮抗效果的,除寿胎丸外,还有其他许多中药。回力康口服液是由黄芪、天冬、当归、枸杞子、甘草等8味中药煎制而成的复方纯中草药制剂。刘承恩等⁽¹²⁾研究表明,回力康口服液具有保护骨髓细胞完整性、防止细胞溶解作用,对于常

1. 北京师范大学生物系(北京 100875); 2. 北京红十字会塔院医院

用化疗药物 CTX 引起的骨髓损伤、末梢血中细胞减少,对于放射性同位素引起的骨髓改变和末梢血象变化均有明显保护作用,而且其效果明显优于国内常用升血药鲨肝醇。这些结果显示了回力康口服液用于放、化疗药物引起的骨髓造血功能损伤的防治的可行性,但作用机理尚不清楚。根据回力康口服液补气养血、填精滋阴、补肝肾、润五脏,寒温并举、阴阳双补的药效,它的作用机理可能不是单一的,而是综合作用于全身新陈代谢。

2 CTX 的致突变作用及中药防护

CTX 是重要的致突变剂,它能使遗传物质结构和遗传信息发生变异。邓建云等研究指出,黄芪、当归和丹参分别与 CTX 合用时,黄芪低、中剂量对 CTX 诱发的小鼠染色体畸变、SCE(姊妹染色单体交换)和微核的形成都有显著抑制作用,高剂量时抑制作用不明显;当归低、中、高剂量时对 SCE 抑制作用不明显,而对其他两者有明显抑制作用;丹参在低剂量时作用类似当归,而中、高剂量下 3 项指标作用均消失。陈裕明等研究了(党)参(黄)芪注射液对 CTX 诱发的遗传损伤的防护作用,结果表明,CTX 可强烈诱发小鼠骨髓染色体损伤,使 SCE 率和染色体突变率明显升高,而参芪注射液对之有显著防护作用。陈之莹等用雄性小白鼠做实验发现,刺五加、苦参碱和氧化苦参碱(后二者是中药苦参提取物)分别与 CTX 共用时,刺五加对微核的抑制效果不明显,对其余两项指标均显著;苦参碱和氧化苦参碱在低、中剂量时对 SCE 抑制效果显著。陈裕明等用 DNA 解旋荧光法对小鼠脾细胞 DNA 受 CTX 的损伤进行了研究,结果表明,CTX 对 DNA 损伤严重,双链 DNA 剩余率与空白对照差异显著;寿胎丸对此有明显防护作用。

为探讨中药对同工酶变异的作用及其机理,梁前进等^[13]曾选用昆明种雌性小鼠,研究了 CTX 对孕鼠肝及胎鼠肝、脑组织同工酶的影响,以及寿胎丸的防护作用。结果表明,寿胎丸对于 CTX 引起的酯酶和乳酸脱氢酶同工酶的变化均有防护作用,其中对胎鼠同工酶的防护作用更明显。虽然不同研究者对 CTX 导致同工酶变异的研究结果有别,但这里的结论却将 CTX 对机体的作用以及中药成分的防护作用直接同主宰机体生理机能的酶的多态性联系起来,应该说对于遗传病、毒理学和母体及胚胎保健等方面的研究有一定的意义。

总之,化疗药物主要通过干扰病原体或异常细胞的生化代谢过程而起作用,其作用机理有抑制叶酸代谢、抑制细胞壁合成、抑制蛋白质合成、影响质膜通透

性和影响核酸合成等。作为烷化剂类抗有丝分裂药物,CTX 的致癌抑癌、致畸和致突变机理也基本表现在这些方面。烷化剂有活泼的烷化基团,能与细胞多种功能成分起作用,通过取代这些基团中的氢原子等影响肿瘤细胞或正常细胞的增殖和生理功能。探讨中药对 CTX 致畸、损伤和致突变作用以及类似 CTX 所致的病伤症的治疗机理,应从这些遗传、生化和生理机制上多加考虑。现已知道,CTX 可通过自由基损伤膜性结构,干扰酶的合成、定位。超氧化物歧化酶对氧自由基的清除作用近年来倍受关注。用 CTX 对癌症患者进行化疗,可导致严重白细胞减少症,甚至会因严重感染而致死亡;而大剂量 CTX 治疗引起白细胞大幅度减少后,静脉注射超氧化物歧化酶,可使白细胞数很快恢复至安全值^[14]。寿胎丸成分中含有丰富的微量元素,它们构成了能抗自由基的超氧化物歧化酶的活性中心;在核酸及蛋白质的合成、修复和体内各种代谢过程中,大量的酶系需要各种微量和大量元素。所以,寿胎丸等中药的作用机理可以从影响超氧化物歧化酶等酶的功能上来探讨。还有不少中药具有清除自由基的作用^[14]。如五味子对肝损伤的保护作用与其成分(乙素等)的抗氧化能力可能关系密切;皮下注射齐墩果酸对肝损伤亦有保护作用,而它正是中药女贞子的成分。另外,五味子乙素能抑制肝脏毒物引起的苹果酸脱氢酶、转氨酶和乳酸脱氢酶的释放,保护膜形态完整性;五味子酚能抑制多形核白细胞产生的自由基;当归等中药,特别是合理的复方水提物几乎可以完全抑制过氧化反应,还可清除氧自由基,对抗衰老等有重要意义。

染色体畸变是由染色体先发生断裂,然后发生非重建性愈合,或由于物理、化学因素作用而在染色体上形成“原发性损伤”,形成易变部位,在以后的若干世代中出现染色体结构重排造成的。CTX 通过其烷化等作用,影响 DNA 及相关酶系的结构、功能,造成染色体畸变、SCE 和微核(来自染色体损伤后的一些无着丝粒断片、纺锤丝受损后的个别滞后染色体或主核出芽的产物)等。SCE 是衡量染色单体断裂发生率的指标,也是灵敏度很高的致癌力检测方法^[15]。致癌与致突变在分子水平上机理相似,凡能大幅度提高 SCE 的物质都有致突变或致癌作用,CTX 就属于这一类物质。正如本文所论述过的,许多中药能减少染色体畸变、SCE 和微核的发生率,其生理、药理作用很有意义。正如本文列举的研究所揭示的,不少经验证明扶正固本药物可以增强或改善机体的免疫状态。本文提到过的黄芪、菟丝子和旱莲草等就是补气补肾药,能提

高淋巴细胞数量或促进淋巴细胞转化;菟丝子还能提前促进抗体产生,党参、黄芪、刺五加还可增强网状内皮细胞的吞噬能力。药物联用的原则之一就是合用不同反应毒性的药物,如在使用明显抑制骨髓的 CTX、氟脲嘧啶时,可以合用能提高白细胞数量的刺五加、鹅血等^[16]。从本文的论述还可以得出以下两方面启示:(1)对于严重的机体畸形、毒性作用和遗传损伤,多种中草药具有异曲同工之效果。中国的中药资源丰富,中药又具有宏观调理、疗效久稳的独特优点,为药源的开发利用提供了条件;(2)药物,尤其是多种西药在治疗疾病的同时,也带来各种毒副作用,采用中西药联用可以产生相互协调、拮抗、去毒和稳定作用。

(本文承蒙程晓莉同志大力帮助,谨此致谢)

参 考 文 献

1. 钟惠军. 环磷酰胺对大鼠胚胎 DNA 含量及神经上皮细胞有丝分裂的影响. 中国药理学与毒理学杂志 1990;4(4):281.
2. 叶任高,余俊文,周霞,等. 中药对环磷酰胺治疗狼疮性肾炎引起白细胞减少症的影响. 中国中西医结合杂志 1994;14(1):43.
3. 王爱平,张清林,王治乔. 环磷酰胺对小鼠最佳致畸剂量及给药时间的研究. 卫生毒理学杂志 1991;5(2):105, 115—116.
4. 章晓玲,项华,袁振华. 环磷酰胺对大鼠的致畸性和染毒程序的探讨. 癌变·畸变·突变 1994;6(6):27—30.
5. 李寿祺等主编. 卫生毒理学基本原理和方法. 成都:四川科技出版社,1987:175—176.

6. Schardein JL. Approaches to define the relationship of maternal and development toxicity. Teratogen Carcinogen Mutagen 1987;7:255—271.
7. Khara KS. Maternal toxicity: A Possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. Teratology 1985;31:129—153.
8. 钟惠军,高英茂. 环磷酰胺对 SD 大鼠的致畸作用及其致神经管畸形形态发生的观察. 解剖学报 1990;21(1):107—110.
9. 刘燕宁,黄虹,周晓爱,等. 寿胎丸加减保胎对小儿影响的初步研究. 河南中医 1988;(2):14—17.
10. 张锡纯. 医学衷中参西录. 天津:河北人民出版社,1957(第一册卷 8):325—326.
11. 赵春桂,黄薇,庞敬萍. 六种安胎中草药中微量元素的光谱测定及临床意义. 河北中医学院学报 1989;4(3—4):48—49.
12. 刘承恩,李智,丛华,等. 回力康口服液对⁶⁰Co 放射和环磷酰胺所致造血系统损伤的保护作用. 中国中药杂志 1997;增刊:180—182.
13. 梁前进,陈裕明,赵秀清,等. 环磷酰胺对小鼠(孕鼠和胎鼠)同工酶的影响及寿胎丸的防护作用. 中国中药杂志 1997;增刊:225—228.
14. 郑荣梁. 自由基生物学. 北京:高等教育出版社,1992:57—59.
15. Latt S A. Sister chromatid exchanges formation. Ann. Rev. Genet 1981;51:11—56.
16. 王钦茂,李仪奎. 药理学. 上海:上海科学技术出版社,1985:274—277.

(收稿:1998-08-11 修回:1999-05-20)

深切悼念本刊顾问周金黄教授

中国共产党优秀党员,著名药理学家、一级研究员、博士研究生导师、本刊顾问周金黄教授于 1999 年 7 月 11 日 21 时 20 分在北京逝世,享年 90 岁。

周金黄教授 1909 年 6 月出生于湖北省黄冈县,1928 年就读于上海吴淞中央大学医学院,并以优异成绩获北平协和医学院医学博士学位。1935 年赴美国、德国从事客座研究,他谢绝国外一些大学和研究机构的再三挽留,放弃优越的科研条件和生活待遇,毅然回到祖国,先后在广州孙逸仙医学院、贵阳医学院、成都国立中央大学医学院从事教学工作,历任副教授、教授。1947 年 5 月到武汉筹建武汉大学医学院和附属医院并亲任院长兼附属医院院长。1958 年,他服从组织安排,调往刚刚建立不久的军事医学科学院药理毒理研究所,他带领科技人员在较短的时间内研制成功了速杀性神经毒剂的治疗药物,以及多种抗神经毒剂和失能性毒剂的药物和复方,为此,他多次获得国家、军队颁发的科学奖励,被树为“科研指挥畅通标兵”,荣立二等功;1986 年,他参与完成的“战时特种武器伤害的医学防护”研究荣获我国医药卫生界迄今为止唯一一个国家科技进步特等奖;1995 年 9 月,他荣获中国药理学会中药药理专业委员会“功勋奖”;1996 年 5 月,荣获中国科学技术发展基金会药学会发展基金会“药学会发展特别奖”,同年被解放军总后勤部授予“一代名师”的光荣称号;曾当选为第四、五届全国人民代表大会代表。

周金黄教授在任本刊顾问期间,不顾年事已高,关心和支持本刊的发展,每年都坚持参加本刊座谈会,提出办刊宝贵意见。周金黄教授虽然离开了我们,使我们失去了一位尊敬的学术前辈、良师,但他几十年的科学生涯以及对我国医学科学和中西医结合医学的发展所做出的卓越贡献,将永远铭刻在我国医药学发展历史的丰碑上,他崇高的品德和对科学事业的献身精神,永远值得我们学习、敬仰和怀念。

周金黄教授永垂不朽!

(本刊编辑部)