

# Evaluation of Genotoxicity and Repair of DNA Damage in a Novel Copper-Containing Contraceptive Composites

## —Genotoxicity of Copper-Containing Composite

Xinggong Wang<sup>1</sup>, Na Fang<sup>1</sup>, Congcong Cao<sup>1</sup>, Shiming Xie<sup>1</sup>, Jinping Suo<sup>2</sup>, Xunbin Huang<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>The Center for Reproductive Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

<sup>2</sup>College of Materials Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

<sup>3</sup>Family Planning Research Institute, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

Email: \*huangxb@mails.tjmu.edu.cn

Received: Dec. 18<sup>th</sup>, 2018; accepted: Jan. 2<sup>nd</sup>, 2019; published: Jan. 9<sup>th</sup>, 2019

---

### Abstract

**Objects:** To evaluate the genotoxicity and damage repair ability of novel copper-containing contraceptive composites (polyvinyl alcohol and silica nanoparticle composites) in mammals. **Methods:** The degree of DNA damage was estimated by comet assay. The fluorescence intensity of intracellular reactive oxygen species (ROS) was detected after treatment with 50% and 25% copper-containing composite leaching solution, and further cultured for 3 hours. The Superoxide dismutase activity (SOD) in plasma was measured by WST. **Results:** ① Cells DNA were damaged after treatment with three different concentrations of copper-containing composite extracts for 3 hours. After 3 hours of continuous culture, the degree of cell damage was increased and the intracellular ROS was significantly increased compared with the negative control group; ② In female mice, the DNA damage degree was the most serious on the 2nd, the 3rd and the 4th day after treatment and significantly reduced on the 5th day. The content of SOD in plasma reached its peak on the 3rd day. The DNA damage degree of male mice was the most on the 4th day after the infection, and obviously decreased on the 6th day. The content of SOD increased significantly on the 4th day and the 7th day. **Conclusions:** Although copper-containing materials can damage cellular DNA *in vitro*, the mechanism of damage repair *in vivo* can repair part damaged cells and inhibit further copper damage on cells with SOD playing a role in injury repair.

### Keywords

Composite, Copper, DNA Damage, Repair

---

\*通讯作者。

# 新型含铜避孕复合材料的遗传毒性评估及体内DNA损伤修复

## ——含铜材料遗传学毒性

王兴刚<sup>1</sup>, 方 纳<sup>1</sup>, 曹聪聪<sup>1</sup>, 谢世明<sup>1</sup>, 索进平<sup>2</sup>, 黄勋彬<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院生殖医学中心, 湖北 武汉

<sup>2</sup>华中科技大学材料科学与工程学院, 湖北 武汉

<sup>3</sup>华中科技大学同济医学院计划生育研究所, 湖北 武汉

Email: huangxb@mails.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2018年12月18日; 录用日期: 2019年1月2日; 发布日期: 2019年1月9日

### 摘 要

目的: 评估新型含铜避孕复合材料(聚乙烯醇, 二氧化硅纳米颗粒高分子复合材料)在哺乳动物体内外遗传毒性及损伤修复能力。方法: 采用彗星实验测定细胞DNA损伤程度, 含铜复合材料50%, 25%浸提液处理后以及继续培养3小时后检测细胞内活性氧类物质(Reactive Oxygen Species, ROS)荧光强度, 测定染毒后小鼠血浆中超氧化物歧化酶活力(superoxidantase, SOD)。结果: ① 细胞经两个不同含铜复合材料浸提液浓度处理3小时后, 细胞DNA受损, 继续培养3小时后, 细胞受损程度有所增加, 细胞内ROS含量在处理和继续培养3小时平均荧光强度与阴性对照组相比有明显升高; ② 雌性小鼠于染毒后第2、3、4天血细胞DNA损伤程度最严重, 第5天DNA损伤有明显降低, 血浆内SOD含量第3天达到高峰。雄性小鼠于染毒后第4天DNA损伤最严重, 第6天明显降低, SOD含量于第4天和第7天显著升高。结论: 虽然含铜材料在体外可以使细胞DNA受损, 体内的损伤修复机制可以使受损细胞修复并抑制铜离子进一步对细胞的损伤, SOD在损伤修复中可能发挥一定的作用。

### 关键词

复合物, 铜, DNA损伤, 修复

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

含铜宫内节育器(Intrauterine device, IUD)是一种避孕效果好、可复性强、经济方便的长效避孕方法, 主要通过铜离子释放引起局部免疫反应起避孕作用[1] [2] [3]。IUD 在置入体内早期可出现铜离子的暴释现象, 使宫腔内铜离子浓度短期内急剧升高, 长期暴露可以造成子宫内膜细胞的损伤[4], 同时, 许多研究表明, 金属铜释放的铜离子通过体内的氧化还原反应, 生成活性氧类物质(Reactive Oxygen Species, ROS) [5], ROS 可以迅速与 DNA 结合, 造成 DNA 链断裂、碱基突变从而损伤 DNA。随着现在高分子复

合材料的应用,为解决现存避孕方式的弊端提供了可能性。近年来应用新型材料制作宫内节育器取得了较好的进展,避免了铜离子的暴释现象[6][7][8][9],从而避免高浓度铜离子直接与子宫内膜接触,减少铜离子对子宫内膜的损伤。本课题组前期采用聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, PVA),二氧化硅纳米颗粒加或不加  $\text{CuCl}_2$  制备含铜/无铜高分子复合材料,通过调整成孔剂草酸铵的含量调整微孔大小,使微孔直径为 5~10  $\mu\text{m}$ ,以便用于制作过滤性输精管内节育装置(Intra-vas device, IVD) [10]。前期研究中,对于材料的缓释性进行检测,表明该材料可以有效控制材料中铜离子的释放,避免了铜离子暴释。该材料制作的输精管内节育装置(IVD)在宾格犬和新西兰大耳白兔在体内取得了良好的避孕效果,同时对生殖器官组织损伤、细胞凋亡与输精管结扎组相比明显降低[10]。在体外细菌回复突变实验(Ames 实验)检测中,含铜高分子复合材料在 100%、50%以及 25%浸提液浓度情况下,可诱发移码型突变;彗星实验检测 TM4 细胞 DNA 损伤,结果表明 100%、50%以及 25%浸提液浓度均可导致 DNA 损伤,无铜高分子复合材料浸提液均无明显损伤[11]。

机体对于铜离子刺激产生的过量 ROS 首先出现的是抗氧化酶的活性增加,以清除过量的 ROS 从而维持细胞内的氧化还原平衡,降低 ROS 的损伤。体内抗氧化酶主要包括:超氧化物歧化酶(superoxidantase, SOD)、过氧化氢过氧化物酶、谷胱甘肽酶等。细胞内的  $\text{O}_2^-$  可以被超氧化物歧化酶(SOD)还原为  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 然后通过过氧化氢酶或谷胱甘肽过氧化物酶催化下转化为无毒的  $\text{H}_2\text{O}$ 。机体内存在许多代谢系统,铜离子被吸收入血,在体内再分布,经过一系列的代谢反应,能否将过量离子造成的损伤降低,同时,机体对已受损细胞能否进行修复这仍然值得我们去探讨。Saleha Banu 等[12]在小鼠体内研究,结果显示,虽然铜在体内能够导致遗传毒性,在处理 48 小时后,损伤程度逐渐降低,2 周后达到处理前水平。这表明机体对铜离子造成的 DNA 损伤具有一定的修复能力。

本研究采用连续染毒小鼠的方式检测小鼠体内在连续较高浓度铜离子浸提液注射的条件下,通过血细胞检测机体 DNA 损伤程度,通过检测体内 ROS 含量推断机体对铜离子造成的 DNA 损伤修复能力。同时,通过 WST 法检测染毒后血浆中 SOD 含量的变化,从而对体内损伤修复机制进行研究。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 实验材料

所用新型复合材料由华中科技大学材料科学与工程学院模具技术国家重点实验室制作。小鼠淋巴瘤细胞株(L5178Y/tk+/-3.7.2C)购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心(中国上海)。昆明小鼠(Kunming Mouse), 20 只,雌雄各半,体重 25~30 g,购买于华中科技大学同济医学院动物中心。动物实验方案严格按照华中科技大学同济医学院伦理委员会的规定执行。

### 2.2. 材料的提取

按照 ISO 10993-12: 2007 指南制备样品的要求,将材料称量后装入洁净干燥玻璃瓶中,高压蒸汽灭菌 30 分钟。按照材料重量/体积 0.2 g/ml 浸提比例加入浸提液——无血清的 RPMI 1640 培养基用于小鼠淋巴瘤测定和彗星测定,生理盐水用于微核试验。密封瓶口,37℃培养箱中浸提 24 小时,将浸提液转入无菌玻璃瓶中,4℃保存。

### 2.3. 单细胞凝胶电泳——彗星实验(Comet Assay)

用含铜高分子复合材料 50%和 25%浸提液浓度处理细胞 3 小时,将处理 3 小时后的细胞用 PBS 洗涤 3 遍后, R-10 调整密度至  $2 \times 10^5/\text{ml}$ ,制胶、裂解、解旋、电泳和染色分析尾部 DNA 含量(Tail DNA%) 和 Olive 尾距(Olive Tail Moment, OTM)。

## 2.4. 动物处理与 DNA 损伤、修复的检测

用高浓度金属铜离子浸提液(100%)染毒动物,腹腔注射连续染毒七天,染毒剂量为 1.5 ml/100g 体重。染毒前和每次染毒后 24 小时断尾取血 6  $\mu$ l 加入至 94  $\mu$ l 37 $^{\circ}$ C 预热的 PBS 中,吹散混匀,置于 37 $^{\circ}$ C 水浴锅中,用于彗星实验检测。按照染毒时间标记,分别标记为 0D、1D、2D、3D、4D、5D、6D、7D 组,分别代表染毒前,第一次染毒后 24 小时(染毒 1 次)、48 小时(染毒 2 次)、3 天(染毒 3 次).....直至第一次染毒后 7 天(染毒 7 次)。

## 2.5. 细胞内活性氧物质(Reactive Oxygen Species, ROS)检测

用含铜高分子复合材料 50%和 25%浸提液浓度处理细胞,用不含血清培养基洗涤细胞 3 次,将 DCFH-DA 按照 1:1000 用无血清培养基稀释,是最终浓度为 10  $\mu$ mol/L,加入适当的体积重悬细胞,密度约为  $1 \times 10^6$ /ml, 37 $^{\circ}$ C 避光震荡孵育 20 分钟。用无血清培养基洗涤 3 次,以充分洗去多余 DCFH-DA。检测、拍照和分析。

## 2.6. 血浆内超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活力单位的检测(WST 法)

染毒前以及每次染毒后 24 小时分别断尾取血,用柠檬酸钠抗凝 EP 管收集血液, WST 法检测血浆内 SOD 活力单位。

## 2.7. 数据分析

对 Tail DNA%, Olive 尾距运用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, ANOVA 检验将各实验组与阴性对照组进行比较,  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 处理后继续培养检测彗星实验结果

细胞经两个浓度处理 3 小时后,细胞 DNA 出现不同程度的损伤,去除培养物后细胞 DNA 损伤出现差异,而有些细胞损伤明显增加,与处理组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。相反,培养 6 小时后,大部分细胞恢复正常。(如图 1(A)所示) ROS 也显示了类似的趋势,彗星图像将 CASP 分析后,分析结果见表 1, 图 1(B)。可以看出,ROS 在细胞内产生的越多, DNA 损伤程度越高。

### 3.2. 细胞内 ROS 检测实验结果

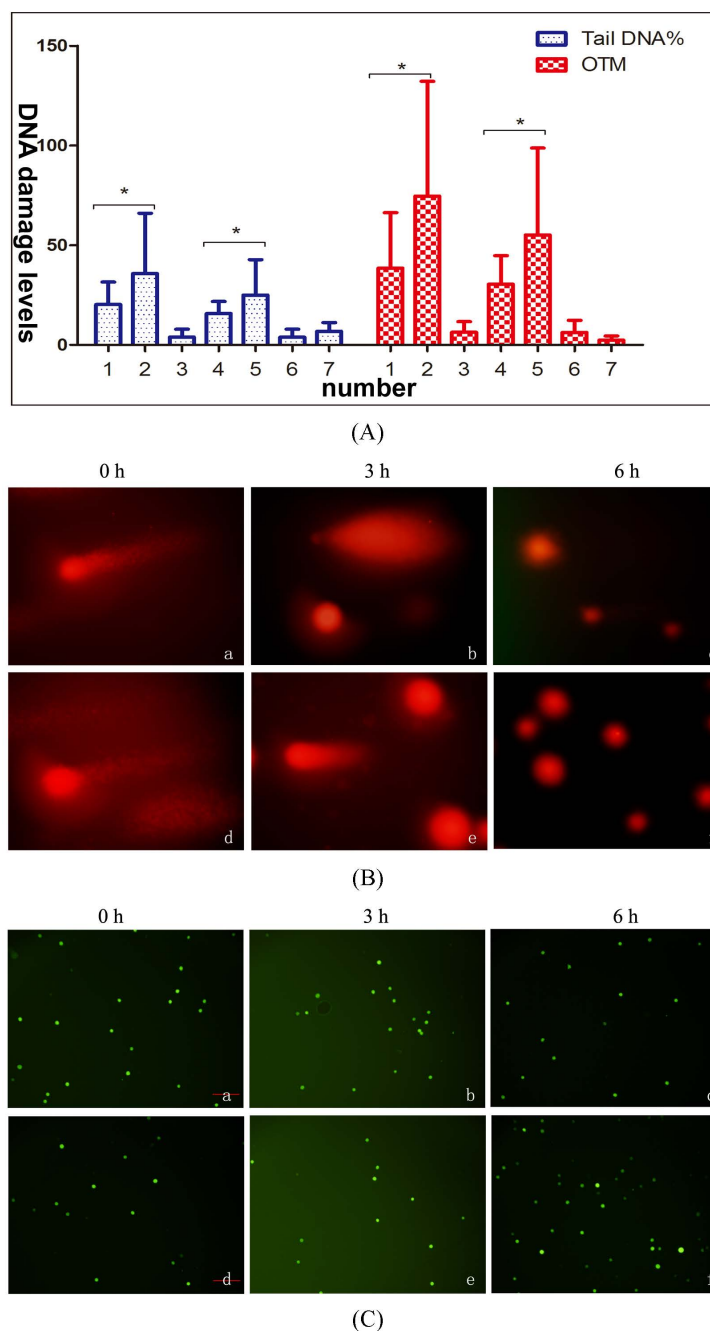
检测的各时间点,细胞内均可观察到不同强度的荧光,经含铜复合材料 25% (铜离子浓度为 3.18 mg/L) 处理 3 小时后,细胞荧光强度明显增加,去除培养物继续培养 3 小时后,细胞荧光强度仍增加。但是,培养 6 小时后,荧光强度有所减弱(如图 1(C)所示)。

### 3.3. 小鼠全血细胞彗星实验结果

结果显示雌性小鼠于染毒后第 2、3、4 天 DNA 损伤程度最严重,雄性小鼠于染毒后第 4 天 DNA 损伤最严重。雌性小鼠第 5 天 DNA 损伤有明显降低,雄性小鼠第 6 天明显降低。(图 2(A), 图 2(B), 表 2)

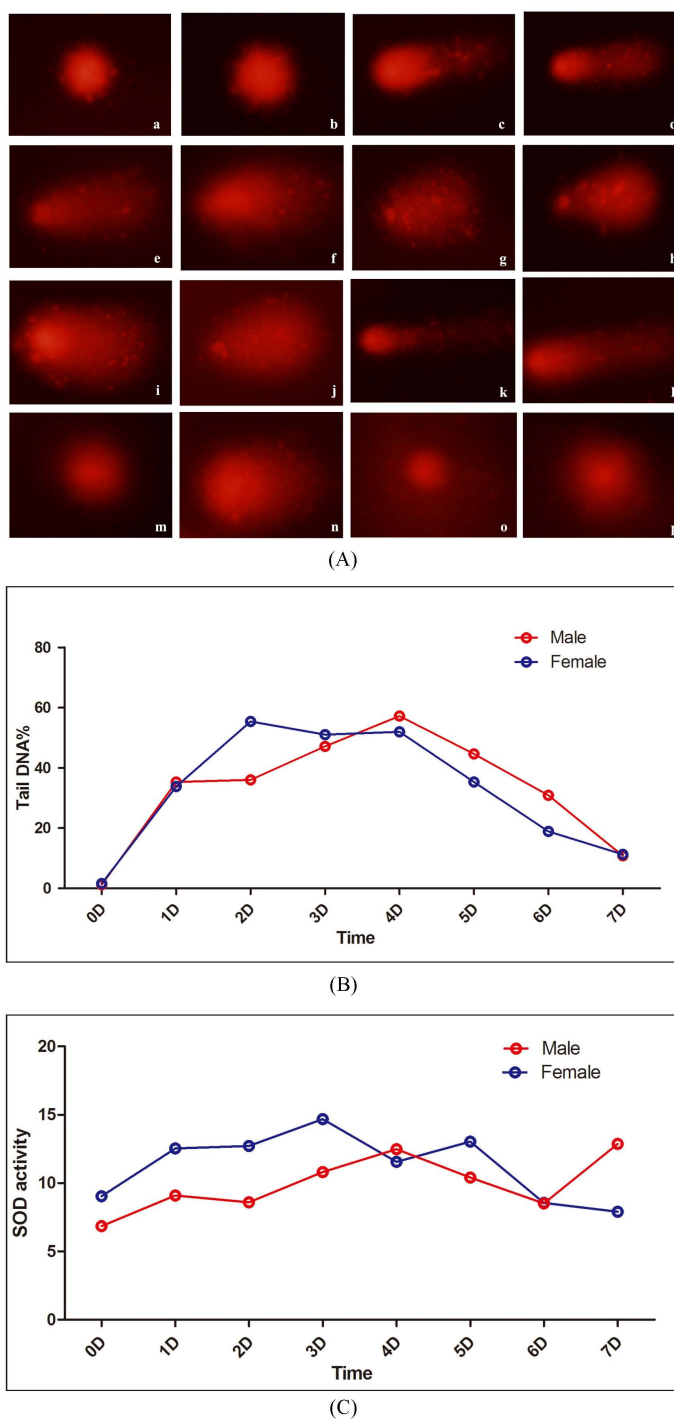
### 3.4. 血浆中 SOD 活力单位的测定结果

雌性小鼠体内 SOD 活力第 3 天达到高峰,雄性小鼠体内 SOD 含量第 4 天、第 7 天显著升高,同时结果表明雌性小鼠体内 SOD 含量普遍较雄性小鼠体内含量高(图 2(C))。



**Figure 1.** The DNA damage repair ability *in vitro* and ROS concentration of different time points. (A) is the level of DNA damage after treatment of cells with two groups of material extracts number 1 - 3 mean the copper wire 50% groups for 0, 3 and 6 hours, number 4 - 6 mean the copper wire 25% groups for 0, 3 and 6 hours, 7 is the negative group \* indicates that the group compare to the no recultured group, the DNA damage were significantly increased. (B) is the typical Comet images of different time points of different groups. (C) is the ROS results. In this figure, 0 h meant the cells were treated by the new composite and without recultured. 3 h indicated the cells were recultured for 3 hours. 6 h indicated the cells were recultured for 6 hours. a - c mean the copper wire 50% groups. d - f mean the copper wire 25% groups

**图 1.** 体外 DNA 损伤修复能力和不同时间点的 ROS 浓度。(A) 是两组材料浸提液处理细胞后 DNA 损伤水平数字 1~3 表示含铜复合材料 50%再培养 0、3、6 小时组, 4~6 表示含铜复合材料 25%组再培养 0、3、6 小时组; 7 为阴性对照组; \*表示与未再培养组相比, DNA 损伤显著增加。(B) 是不同组在不同时间点的典型彗星图像。(C) 是 ROS 的结果。图中 0 小时表示细胞被新的复合物处理而没有重新培养, 3 小时表示细胞再培养 3 小时, 6 小时表示细胞再培养 6 小时。a~c 表示含铜复合材料 50%组, d~f 含铜复合材料 25%组



**Figure 2.** The DNA damage repair ability *in vivo* and the SOD activity tendency with the time change. (A) is the typical Comet images of different days. a, c, e, g, i, k, m, and n were the images of female mice, and the rest are the images of mice. Meanwhile, a and b are the pre-treatment, c and d are the 24 h after treatment, e and f are the 48 h after treatment, and o and p are the 7 days after treatment. (B) is the DNA damage level of different time. (C) is the SOD activity tendency in both mice with the time change

**图 2.** 体内 DNA 损伤修复能力和随时间变化的 SOD 活性趋势。(A) 是不同染毒时间后血细胞彗星实验的典型彗星图像。a, c, e, g, i, k, m 和 n 是雌性小鼠的图像，其余的是雄性小鼠的图像。同时，a 和 b 是染毒前，c 和 d 是染毒后 24 小时，e 和 f 是染毒后 48 小时，o 和 p 是染毒后 7 天。(B) 是不同染毒时间后的 DNA 损伤程度。(C) 是雌雄小鼠体内不同染毒时间血浆 SOD 活性单位变化趋势

**Table 1.** The comet assay results of two groups of material extracts treated cells for 0, 3, 6 hours and continued to culture for 0, 3, 6 hours**表 1.** 两组材料浸提液处理细胞 3 小时与继续培养 0, 3, 6 小时彗星实验结果

分组(铜离子浓度: mg/L)	Tail DNA% (Mean ± SD)	OTM (Mean ± SD)
1 含铜复合材料 50% (6.37)	20.29 ± 11.22 <sup>Δ</sup>	38.52 ± 27.79 <sup>Δ</sup>
2 含铜复合材料 50%培养 3 小时	35.79 ± 30.2 <sup>*Δ</sup>	74.63 ± 57.52 <sup>*Δ</sup>
3 含铜复合材料 50%培养 6 小时	3.93 ± 3.98	6.35 ± 5.31
4 含铜复合材料 25% (3.18)	15.72 ± 6.04 <sup>Δ</sup>	30.46 ± 14.31 <sup>Δ</sup>
5 含铜复合材料 25%培养 3 小时	24.97 ± 17.83 <sup>*Δ</sup>	55.11 ± 43.63 <sup>*Δ</sup>
6 含铜复合材料 25%培养 6 小时	3.93 ± 3.99	6.25 ± 6.13
7 阴性对照	6.88 ± 4.29	2.42 ± 2.11

\*表示与同浓度处理 3 小时后相比具有统计学差异(P < 0.05); <sup>Δ</sup>表示与阴性对照组相比具有统计学意义(P < 0.05)。

**Table 2.** The results of blood comet assay after different exposure time**表 2.** 不同染毒时间后血细胞彗星实验分析结果

时间	Tail DNA%		OTM	
	雄性 (Mean ± SD)	雌性 (Mean ± SD)	雄性 (Mean ± SD)	雌性 (Mean ± SD)
0 D	1.19 ± 1.94	1.61 ± 1.49	0.93 ± 1.87	1.14 ± 1.06
1 D	35.32 ± 15.06 <sup>*</sup>	33.80 ± 15.51 <sup>*</sup>	33.23 ± 21.87 <sup>*</sup>	35.25 ± 28.65 <sup>*</sup>
2 D	36.03 ± 17.91 <sup>*</sup>	55.41 ± 15.01 <sup>*</sup>	28.05 ± 16.96 <sup>*</sup>	28.58 ± 16.97 <sup>*</sup>
3 D	47.14 ± 18.33 <sup>*</sup>	51.05 ± 20.22 <sup>*</sup>	37.64 ± 21.93 <sup>*</sup>	40.03 ± 29.01 <sup>*</sup>
4 D	57.20 ± 15.93 <sup>*</sup>	51.99 ± 18.94 <sup>*</sup>	42.62 ± 23.69 <sup>*</sup>	41.13 ± 32.04 <sup>*</sup>
5 D	44.65 ± 17.01 <sup>*</sup>	35.29 ± 13.37 <sup>*</sup>	45.26 ± 31.14 <sup>*</sup>	28.26 ± 22.58 <sup>*</sup>
6 D	30.89 ± 15.91 <sup>*</sup>	18.91 ± 14.37 <sup>*</sup>	18.56 ± 17.47 <sup>*</sup>	15.71 ± 15.79 <sup>*</sup>
7 D	10.81 ± 6.81 <sup>*</sup>	11.25 ± 7.89 <sup>*</sup>	2.67 ± 3.59	5.16 ± 5.95

\*表示: 与阴性对照组相比具有统计学意义, P < 0.05。

## 4. 讨论

许多研究表明, 金属铜释放的铜离子通过体内的氧化还原反应, 生成 ROS [5], 如 OH<sup>-</sup>等, 形成的 ROS 可以迅速与 DNA 结合, 造成 DNA 链断裂、碱基突变从而损伤 DNA。当然, 机体存在一系列的损伤修复机制, 从而使受损的 DNA 尽可能修复[13] [14]。但损伤修复情况受损伤程度和修复能力相互作用的影响。本课题组前期制备的新型避孕高分子复合材料, 能够对铜离子的释放进行有效控制, 避免了铜离子暴释。为进一步检测该材料的安全性, 本研究将继续检测该材料以及金属铜的体内外遗传学毒性, 同时检测体内外 DNA 损伤修复能力, 为该材料的安全性进行评定。

本研究用两种不同浓度浸提液处理细胞 3 小时后去除处理物继续培养 3 小时和 6 小时, 经彗星实验检测发现继续培养 3 小时后, 虽然发现平均细胞 DNA 损伤增加, 但损伤较小细胞 DNA 已经开始修复, 虽不能完全解释 DNA 修复程度, 但具有一定的意义。而继续培养 6 小时后, 损伤恢复正常。为更好的检测体外实验结果, 应进行更长时间修复。由于小鼠淋巴瘤生长周期为 10 小时, 细胞体外培养超过 10 小时后细胞进行分裂, 无形之中即会降低 DNA 损伤程度。因此, 为了更好的研究 DNA 损伤修复能力, 我

们进行了体内连续染毒实验,检测不同时间点 DNA 损伤程度,以此作为判断机体对 DNA 损伤修复的能力。结果表明,染毒后血细胞 DNA 损伤程度先逐渐增加(Tail DNA%逐渐增加),染毒 24 小时后雄性、雌性小鼠尾 DNA 含量分别为 35.32%、33.80%,48 小时后为:36.03%、55.41%,3 天后为:47.14%、51.05%,第 4 天为:57.20%、51.99%。虽然期间有一定的波动性(雌性小鼠第二三四天尾 DNA 含量基本相同),但随着染毒次数的增加,小鼠血细胞 DNA 损伤呈递增关系。但从第五天开始,尾 DNA 含量逐渐降低,表明细胞损伤得到了一定的修复。染毒后第 6 天,第 7 天尾 DNA 含量虽然与染毒前统计学分析后仍有统计学差异,但与损伤最严重时相比有大幅降低。

体内对于由过量 ROS 而造成的 DNA 损伤主要存在三种修复途径。首先是抗氧化体系来清除过量的 ROS,主要包括 SOD、过氧化氢酶等;其次是 DNA 损伤的修复体系,通过碱基修复、核酸修复、同源重组修复等修复轻度受损的 DNA;最后是 DNA 损伤检验点修复,通过基因表达调控使细胞对于损伤进行反应,使受损细胞恢复正常或促进细胞发生凋亡。这三种途径相互作用,使受损后的细胞恢复或凋亡,降低其对机体的影响。虽然体内彗星实验检测到铜离子可以对 DNA 造成损伤,但也有学者通过 Ecoli 检测到过量铜离子并未对其造成损伤,这可能是由于体内剩余的铜离子可以与配体结合,从而抑制 ROS 的生成或者使形成的 ROS 远离 DNA[15]。本实验通过血浆 SOD 含量测定,发现小鼠体内 SOD 含量于第 3 天(雌性),第 4、7 天(雄性)达到峰值,说明机体在受到外来刺激引起体内氧化物质增加时,体内的抗氧化酶开始发挥作用,从而降低对细胞的损伤。Pourahmad 等研究发现,羟自由基清除剂(DMSO, SOD 等)可以明显减少 ROS 的形成以及脂质过氧化[16]。这表明 SOD 可以通过减少 ROS 的形成从而降低 DNA 的损伤。

## 5. 结论

虽然含铜复合材料和金属铜在体内外均可导致一定的遗传毒性,可以使细胞 DNA 发生不同程度的损伤。但是,机体对于由铜离子造成的 DNA 损伤具有一定的修复能力,因此,铜离子对组织细胞的遗传毒性取决于局部铜离子浓度、接触时间以及机体自身修复功能的相互作用。

## 致 谢

本研究获得武汉科学技术局科研资助,项目(201706201010213),在此表示诚挚的感谢。

## 参考文献

- [1] Zipper, J.A., Tatum, H.J., Medel, M., *et al.* (1979) Contraception through the Use of Intrauterine Metals. I. Copper as an Adjunct to the T Decive. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **109**, 771-774. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(71\)90763-0](https://doi.org/10.1016/0002-9378(71)90763-0)
- [2] Tursi, A., Mastroilli, A., Ribatti, D., *et al.* (1984) Possible Role of Mast Cells in the Mechanism of Action of Intrauterine Contraceptive Devices. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **148**, 1064-1066. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(84\)90446-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(84)90446-0)
- [3] Alvarez, F., Brache, V., Fernandez, E., *et al.* (1988) New Insights on the Mode of Action of Intrauterine Contraceptive Devices in Women. *Fertility and Sterility*, **49**, 768-773. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)59881-1](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)59881-1)
- [4] Grillo, C.A., Reigosa, M.A. and de Mele, M.A. (2010) Does Over-Exposure to Copper Ions Released from Metallic Copper Induce Cytotoxic and Genotoxic Effects on Mammalian Cells? *Contraception*, **81**, 343-349. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2009.12.003>
- [5] Gaetke, L.M. and Chow, C.K. (2003) Copper Toxicity, Oxidative Stress, and Antioxidant Nutrients. *Toxicology*, **189**, 147-163. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8)
- [6] Li, J., Suo, J., Huang, X., *et al.* (2008) Comparison of the Release Behaviors of Cupric Ions from Metallic Copper and a Novel Composite in Simulated Body Fluid. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **85**, 172-179. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30931>



- [7] Li, J., Suo, J., Huang, X., *et al.* (2007) Release Behavior of Copper Ion in a Novel Contraceptive Composite. *Contraception*, **76**, 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2007.04.010>
- [8] Li, J., Suo, J., Zou, P., *et al.* (2010) Structure, Corrosion Behavior and Mechanical Property of a Novel Poly(vinyl alcohol) Composite in Simulated Body Fluid. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **21**, 863-876. <https://doi.org/10.1163/156856209X448084>
- [9] Li, J., Suo, J., Huang, X., *et al.* (2009) Study on a Novel Copper-Containing Composite for Contraception. *Contraception*, **79**, 439-444. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2009.01.002>
- [10] Chen, Z.L., Huang, X.B., Suo, J.P., *et al.* (2010) The Contraceptive Effect of a Novel Filtering-Type Nano-Copper Complex/Polymer Composites Intra-Vas Device on Male Animals. *International Journal of Andrology*, **33**, 810-817. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01028.x>
- [11] 陈淑剑. 两种新型避孕材料遗传毒性的研究[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2010.
- [12] Saleha Banu, B., Ishaq, M., Danadevi, K., *et al.* (2004) DNA Damage in Leukocytes of Mice Treated with Copper Sulfate. *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 1931-1936. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.07.007>
- [13] Evan, G.I. and Vousden, K.H. (2001) Proliferation, Cell Cycle and Apoptosis in Cancer. *Nature*, **411**, 342-348. <https://doi.org/10.1038/35077213>
- [14] Takata, M., Sasaki, M.S., Sonoda, E., *et al.* (1998) Homologous Recombination and Non-Homologous End-Joining Pathways of DNA Double-Strand Break Repair Have Overlapping Roles in the Maintenance of Chromosomal Integrity in Vertebrate Cells. *The EMBO Journal*, **17**, 5497-5508. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.18.5497>
- [15] Macomber, L., Rensing, C. and Imlay, J.A. (2007) Intracellular Copper Does Not Catalyze the Formation of Oxidative DNA Damage in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, **189**, 1616-1626. <https://doi.org/10.1128/JB.01357-06>
- [16] Pourahmad, J. and O'Brien, P.J. (2000) A Comparison of Hepatocyte Cytotoxic Mechanisms for  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ . *Toxicology*, **143**, 263-273. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(99\)00178-X](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(99)00178-X)

#### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2160-7613, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [ms@hanspub.org](mailto:ms@hanspub.org)