

口服避孕药的细胞遗传学效应及其观察指标¹⁾

刘 诚

(北京第二医学院)

口服避孕药的广泛使用,使人们对其安全性产生很大的关注。染色体畸变和用姐妹染色单体分化染色(SCD)来观察姐妹染色单体交换(SCE),是目前用于探讨口服避孕药细胞遗传学效应的主要指标,特别是SCE已作为检测染色体损伤的一种敏感而可靠的方法被广泛应用。但是,SCE技术的应用和观察结果,又提出了一些值得探讨的问题。为此,本文试就口服避孕药对染色体畸变和SCE的研究概况综述如下。

一、染色体畸变的观察

除 Gch (1967) 在 5 名服药妇女中和 McQuarrie 1970 在 23 名服药妇女中观察到口服避孕药明显增加染色体畸变外^[13,17],近年来国外大多数研究都表明服药者与对照组之间没有显著差异。有人虽然观察到某些服药妇女染色体畸变增加,但整个服药组与对照组相比,畸变率没有增加。进一步的研究也证实了这一结果,因此推论染色体畸变与服药时间长短或服药周期无关。合成甾体激素对染色体没有直接损伤作用^[16,18]国内多数报道也都未发现服药者的染色体畸变率有所增加。虽然有些研究观察到长期服药者染色体断裂增加,但不显著^[1-3]。而连续服药并在停药后仅几个月就怀孕的妇女,其自然流产胎儿的染色体异常率则有所增加^[8]。值得注意的是因漏服而避孕失败或停药后短期内怀孕者,其新生儿可能有染色体异常的危险。McQuarrie (1970)、Weise (1975)、Bishun (1975)、Mills (1975) 都观察到服药妇女新生儿染色体畸变有不同程度的增加。Rothman 和 Louik (1978) 观察到在停药 1 个月内怀孕妇女的后代中 Down 氏综合症增加, Braeckn (1978) 发现怀孕期间服用避孕药或停药后近期怀孕妇女的新生儿患 Down 氏综合症增加两倍多。综合其他研究结果发现此症的发病率在服药妇女后代中比正常人群高,并且这些服药的母亲平均年龄明显较年轻^[14]。从染色体三体的形成即近端着丝粒的随体联合频率来看,这种联合频率的异常被认为与有丝分裂、减数分裂中近端着丝粒染色体的不分离和易位有关^[9]。McQuarrie (1970) 对 23 名服药妇女染色体随体联合频率进行了观察,结果表明 D 组和 G 组联合频率增加。在 50 名服药妇女的后代中出现 1 名 D/G 组易位患儿^[17]。Bishun (1972) 观察到服药妇女

D 组染色体联合频率增加^[7]。但是,范耀山 (1982) 对 10 名服药妇女的观察表明,染色体联合频率较对照组低,并且联合是随机的^[3]。利用核仁组织者区选择性银染技术是目前探讨 rRNA 基因功能的准确方法,而且也能较客观地反映 D 组和 G 组随体联合频率。为消除停药后近期怀孕妇女担心避孕药对胎儿有所影响的顾虑,有必要用银染技术对服药妇女及其后代进行研究。黄天华 (1983) 用银染技术对 13 名服药妇女及胎儿的观察结果表明,染色体随体联合频率和 rRNA 基因活性较对照组低^[4]。限于观察例数,目前还不能做出肯定的结论。虽然口服避孕药对妇女妊娠胎儿染色体异常的作用尚未被证实,但多数研究者认为这类药物对染色体的致畸作用即使有,也是十分微弱的。而更应当注意的是有许多观察结果,是在十分不同或可比性不大的实验条件下获得的。例如:受检者的遗传背景、药物种类与配伍、年龄、服药持续时间以及停药时间,特别是观察的个体和中期分裂相数目较小。因此,仅仅根据少数病例所观察的染色体畸变,是难于确定口服避孕药潜在的遗传学效应的。

二、姐妹染色单体交换的观察

Murthy 和 Prema (1979) 首先将 SCE 技术应用于检验口服避孕药的细胞遗传学效应。他们发现服药妇女外周淋巴细胞的 SCE 显著增加。在服用 d-18 甲基炔诺酮和炔雌醇复方片 6—24 个月的 15 名妇女与 15 名正常妇女和 15 名怀孕妇女的比较观察中(这些妇女年龄在 18—25 岁之间),未服药的正常妇女和怀孕妇女的 SCE 没有差异,而服药妇女平均细胞的 SCE 数与正常妇女相比增加 75%。在观察的 375 个细胞中有 45% 以上 SCE 数分布从 10 到 21,对照组只有 17%。作者认为药物本身或其代谢产物增加了环境对于培养细胞的致变作用^[19]。但是, Husum (1982) 的观察对此提出异议。在 52 名(年龄为 16—43 岁)服用雌孕激素的妇女中(其中 37 名抽烟)排除抽烟的影响后,与对照组 63 名(年龄为 15—42 岁)正常妇女(其中 38 名抽

Liu Chang: Cytogenetic Effect of Oral Contraceptives and Its Observational Targets

1) 丁延淑老师对本文进行审阅,非常感谢。

本文于 1984 年 5 月 24 日收到。

烟)相比,每个个体观察 30 个分裂相,其结果没有发现显著差异。有意义的是,他认为一个个体不同时期的细胞 SCE 数服从不同均数 (λ) 的混合泊松分布^[15]。Murthy (1983) 又进一步对 20 名服用 d-18 甲基炔诺酮和炔雌醇复方片的妇女进行了观察。每个个体至少观察 20 个经过二次分裂的细胞,其结果同前。与 30 名正常妇女和 20 名怀孕妇女相比平均每细胞 SCE 数显著增加。而注射孕激素的 10 名妇女(每月一次,持续 8—14 个月),其 SCE 没有明显增加。8 名服用雌孕激素复方片的妇女,停药 3 个月后每细胞 SCE 数由 11.95 ± 0.97 下降为 9.98 ± 0.63 。作者认为服药妇女的 SCE 增加可能是由于雌激素或其代谢产物所致。药物引起的 SCE 增加可能只是暂时现象,没有持久的突变效应^[20]。

Dutkowski 观察了溶于酒精的乙炔雌二醇和炔诺酮对 5 名妇女淋巴细胞培养的 SCE 频率^[11]。结果发现这两种药物的某种配伍与酒精对照组相比, SCE 频率增加。因此认为这类药物对某些个体有突变效应。

国内近一、二年这方面工作较多。但多数没有观察到 SCE 频率增加。至于各结果之间 SCE 值的差别,一般认为是由于甾体激素的种类、剂量不同所致。

值得注意的是,在 19 名服药妇女早期妊娠胎儿中,观察到 SCE 频率明显增加^[6]。限于观察例数,有可能存在偶然因素。因此,尚需继续观察才能对服药者后代的遗传安全性作出确切评价。

综上所述,在应用 SCE 技术检测口服避孕药突变效应上同样存在有观察个体和细胞数目不足等问题。另外还有一些问题值得探讨,如体外培养的外周血淋巴细胞被植物血球凝集素 (PHA) 刺激后是在不同时期起步开始细胞分裂的。因此它们可能有不同的分裂次数,这说明可能有不同阶段的 T 淋巴细胞众数存在。人体中的这些不同淋巴细胞众数可能对引起 SCE 的试剂有不同的敏感性。这样,如果在 SCE 分析中仅从一个个体的 15—30 分裂相得到数据,就可能受到影响^[22]。人体外周血淋巴细胞正常情况下 SCE 有一定范围。从对口服避孕药的观察结果来看,难于确定 BrdU 用量与 SCE 均数的联系。但是,如果注意到同一作者或不同作者得到的 SCE 均数的差异不小于药物造成的影响,就不能不考虑这种细胞不同众数的存在所造成的影响。此外,年龄、地区和遗传因素等也不容忽视。SCE 显示技术本身的一个缺陷是要加 BrdU,许多研究表明 BrdU 对培养细胞有各种效应,包括毒性、抑制分化、突变作用,其本身也会引起培养细胞的 SCE,这主要取决于培养基中 BrdU 的浓度^[10]。BrdU 的加入使得观察结果包含有被测试剂与 BrdU 二者的作用。因此在口服避孕药导致 SCE 显著增加的观察中,往往使用 BrdU 浓度较低的 ($3\mu\text{g}/\text{ml}$); 而阴性结果的浓度一般较高 ($6—10\mu\text{g}/\text{ml}$)。如果不是由于偶然因素,则有理由考虑到口服避孕药即使有某种致突变效应,这种

效应也是较低的。因为药物引起的 SCE 频率的可能增加,能够被浓度较高的 BrdU 所产生的 SCE 效应掩盖。

SCE 技术的应用的确为探讨口服避孕药对染色体作用的研究开辟了新的领域。一般认为 SCE 技术是一种敏感、可靠的检测染色体损伤的指标。并且发现许多物质在引起染色体畸变和 SCE 频率增加有平行关系。但也发现有许多物质在引起这两种效应上没有本质上的必然联系。某些已知的强突变剂引起很低或不能引起 SCE 频率的增加^[21]。即便它们有很好的平行关系,但由于突变剂的量大小不同,也会引起试验结果的差异。这说明染色体畸变与 SCE 有不同的分子作用机制。此外,关于用这种方法来检测微弱突变也存在有较大的分歧。不同意见者认为 SCE 仅适用于检测那些引起 DNA 初级损伤最终导致 SCE 形成的突变剂^[12]。在某些情况下,染色体畸变比 SCE 检测更敏感。由于对 SCE 的生物学效应还不完全了解,同时 SCE 与染色体畸变具有不同的机制。所以 SCE 检测不能取代染色体畸变的观察。但只要对弱阳性结果不要过高估计, SCE 检测仍为有效的指标。

尽管染色体畸变的观察以及 SCE 技术的应用为认识口服避孕药的利害提供了大量有益的资料。但由于这些技术本身的局限,还需要应用更直接可靠、敏感的手段去揭示遗留的问题。

参 考 文 献

- [1] 张忠恕等: 1979. 遗传学报 6(1):137
- [2] 丁延淑等: 1980. 北京第二医学院学报, 2:115.
- [3] 范耀山等: 1982. 生殖与避孕, 2:45.
- [4] 张忠恕等: 1981. 生殖与避孕, 1:3.
- [5] 黄天华等: 1983. 生殖与避孕, 3:48.
- [6] 丁延淑等: 1983. 北京第二医学院学报, 3:181.
- [7] Bishun, N. P. et al., 1972. *Cytologia*, 37: 639.
- [8] Carr, D. H.: 1970. *Can. Med. Assoc. J.*, 103: 343.
- [9] Davison, E. V. et al.: 1981. *Human Genetics*, 56: 309.
- [10] Davidom, M. C.: 1980. *Nature (London)*, 284: 74.
- [11] Dutkowski, R. T.: 1983. *Exp. Cell Biol.*, 51: 115.
- [12] Gebhart, D. E.: 1981. *Human Genet.*, 58: 235.
- [13] Goh, K. O.: 1967. USAEC-ORAU, *Res. Report*, 106: 97.
- [14] Harlap, S. et al.: 1979. *Lancet*, June, 23.
- [15] Husum, B. et al.: 1982. *Mutat. Res.*, 103: 161.
- [16] Littlefield, L. G. et al.: 1975. *Amer. J. Obstet Gynecol.*, 121: 976.
- [17] McQuarrie, H. G. et al.: 1970. *ibid.*, 108: 659.
- [18] Mills, J. N. et al.: 1975. *Clin. Oncol.*, 1: 141.
- [19] Murthy, P. B. K. et al.: 1979. *Mutat. Res.*, 68: 149.
- [20] Murthy, P. B. K. et al.: 1983. *ibid.*, 119: 351.
- [21] Thust, R. et al.: 1983. *ibid.*, 103: 91.
- [22] Walf, H. C. et al.: 1984. *ibid.*, 125: 263.