

## Norplant<sup>R</sup> 和 CLa 长期埋植者的细胞遗传学效应对比研究

尹娇杨<sup>1</sup> 孙晓玲<sup>2</sup> 刘权章<sup>3</sup>

<sup>1</sup>沈阳医学院生物学教研室 沈阳 110031 <sup>2</sup>辽宁省计划生育科学研究院遗传优生研究室 沈阳 110031 哈尔滨医科大学生物学教研室 哈尔滨 150086

**摘要** 对长期皮下埋植 Norplant<sup>R</sup> 型和 CLa 型避孕药剂的妇女和正常对照组的妇女的染色体畸变、姊妹染色单体互换及细胞微核等细胞遗传学指标进行了研究。结果提示:Norplant<sup>R</sup> 型可增加其应用者体内细胞诱变性环境的存在,使其染色体畸变率和姊妹染色单体互换率显著性增加,且有统计学意义,故应引起对长期皮下埋植 Norplant<sup>R</sup> 型长效避孕皮埋药剂是否存在致突变作用问题的重视和进一步研究。CLa 型长效避孕皮下埋植药剂未发现有明显的致突变作用,从细胞遗传学角度上看是安全的。

**关键词** Norplant<sup>R</sup> 型;CLa 型;长期皮下埋植避孕;细胞遗传学

## CYTOGENETICS CAMPARISON STUDIES ON EFFECTS OF NORPLANT<sup>R</sup> AND CLA SUBDERMAL IMPLANT

Yin Jiaoyang<sup>1</sup>, Sun Xiaoling<sup>2</sup>, Liu Quanzhang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biology Section, Shenyang Medical College, Shenyang 110031, <sup>2</sup>Section of Genetics and Eugenics, Liaoning Research Institute of Family Planning, Shenyang 110031, <sup>3</sup>Biology Section, Harbin Medical College, Harbin 150086

**Abstract** We analysed cytogenetics indexes from 29 women and 27 women who had been implanting Norplant<sup>R</sup> and CLa as a long-term contraceptive system, respectively and from 19 women as the control group. The results suggested that Norplant<sup>R</sup> may be induce the existence of an increase mutagenic environment in cells of its impanters and significantly higher frequencies of chromosome aberration and sister chromatid exchange, the problems of Norplant<sup>R</sup> subdermal implant for long-term contraception should be attached importance to and that this kind of CLa could not be a clastogen or mutagen-carcinogen.

**key words** Norplant<sup>R</sup>; CLa; Long-term subdermal implant for contraception; Cytogenetics

皮下埋植避孕是六十年代未发展起来的一种新型的避孕方法。1984 年 4 月,国家计划生育委员会与联合国人口理事会签订了在中国试用 Norplant 的协议,在上海、北京、天津、沈阳建立了四个临床实验中心。进口埋植避孕药剂比较昂贵,与此同时辽宁省计划生育科学研究院在国内率先成功研制了这类皮下埋植避孕药剂 - CLa (China Liaoning a 型)。这两种埋植药剂的避孕效果已为临床所肯定,与临床有关的副作用经多方面研究已较明确,但有关左旋十八甲

基快诺酮这类药剂毒性及药理作用动物研究数据较少,国内外尚未见到该类药剂长期埋植对人体细胞遗传学效应长期安全性的报道<sup>(1,2)</sup>。为了探索该类药剂长期皮下埋植对母体体细胞有无致突变的作用,我们进行了组合突变实验。

### 材料与方法

#### 1 药物

Norplant<sup>R</sup> 型(芬兰产):由 6 支长 34mm,直径 2.4mm 硅胶囊组成,每支含左旋十八甲基炔诺酮 36mg,共 216mg,一次性埋入受试者体内,避孕有效期五年。CLa 型(国产):由 5 支长 34mm,直径 2.4mm 硅胶囊(济南医用硅橡胶制品厂)组成,每支含左旋十八甲基炔诺酮 40mg(北京第三制药厂),共 200mg,一次性埋入受试者体内,避孕有效期五年。

## 2 检测对象

均为辽宁抚顺钢厂身体健康的正常育龄妇女,排除任何职业性危害接触史,无烟酒嗜好,短期内未接触过 X 射线照射及未服用过任何药物,详见表 1。

**Table 1 Subjects investigated in this study**

	The control	Norplant <sup>R</sup>	CLa
Total subjects investigated	19	29	27
Median time of implanting drug (year)	-	3.5	2.2
Median age (range)	29.5(23 - 40)	35.5(30 - 40)	32(29 - 40)

## 3 检测方法

3.1 外周血淋巴细胞培养 参考常规应用的培养方法<sup>(3)</sup>。每例培养 4 瓶,1 瓶培养 72h,制备染色体,供分析染色体畸变用;另 1 瓶培养 72h,收获前不加秋水仙素,供分析微核率用;2 瓶培养 24h 后,加入 Brdu(最终浓度 8μg/ml),再避光培养 48h,制备染色体,供 SCE 计数。

3.2 染色体畸变标本的制作及计数 常规方法收获细胞及制作染色体标本<sup>(3)</sup>。每例观察 100 个中期分裂相,记录染色单体和染色体裂隙及断裂、环形染色体、双着丝粒染色体、无着丝粒片段、微小体、易位、缺失、染色体粉碎、四射体、多倍体、超二倍体、亚二倍体等畸变,合并计数。

3.3 姊妹染色单体分化染色及 SCE 计数,紫外光照射法进行姊妹染色单体分化染色。选择 2n = 46 的中期分裂相 30 个做 SCE 计数,染色体端部或着丝粒部出现的互换计为 1 次 SCE,中部出现的互换计为 2 次 SCE。

3.4 细胞微核标本的制作及计数 参考 Hogstedt 方法<sup>(4)</sup>收获细胞及制作微核标本。选择细胞浆疏松、转化的淋巴母细胞进行微核率计数,每人计数 1 000 个间期转化的淋巴母细胞。

## 结果

1 染色体畸变(CA)试验结果见表 2。Norplant<sup>R</sup> 组与对照组间的染色体畸变率平均值存在着极显著

性差异( $P < 0.01$ )。CLa 组的染色体畸变率平均值略高于对照组的染色体畸变率平均值,但两组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。

**Table 2 Chromosome aberration (CA) frequency of Norplant<sup>R</sup> group, CLa group and the control group (mean %)**

Group	Persons tested	Cell number tested	CA frequency	t value	P value
The control	19	1 900	5.31		
Norplant <sup>R</sup>	29	2 900	8.76	2.968	< 0.01
CLa	27	2 700	5.63	0.400	> 0.05

2 姊妹染色单体互换(SCE)试验结果见表 3。Norplant<sup>R</sup> 组与对照组间的 SCE 频率平均值存在着显著性差异( $P < 0.05$ )。CLa 组的 SCE 频率平均值略低于对照组的 SCE 频率平均值,但两组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。

**Table 3 Sister chromatid exchange (SCE) frequency of Norplant<sup>R</sup> group, CLa group and the control group ( $\bar{x} \pm s, \bar{x}$ ) / cell)**

Group	Persons tested	Cell number tested	SCE frequency	t value	P value
The control	19	570	4.16 ± 0.23		
Norplant <sup>R</sup>	29	870	4.91 ± 0.21	2.394	< 0.05
CLa	27	810	4.02 ± 0.21	0.443	> 0.05

3 细胞微核(MN)试验结果见表 4。Norplant<sup>R</sup> 组的细胞微核率平均值略高于对照组的细胞微核率平均值,但两组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。CLa 组的细胞微核率平均值尚不及对照组的细胞微核率平均值高,且有显著性差异( $P < 0.05$ )。

**Table 4 Micronuclei (MN) frequency of Norplant<sup>R</sup> group, CLa group and the control group (mean %)**

Group	Persons tested	Cell number tested	MN frequency	t value	P value
The control	19	19 000	9.74		
Norplant <sup>R</sup>	29	29 000	9.86	0.062	> 0.05
CLa	27	27 000	7.22	2.146	< 0.05

## 讨论

淋巴细胞中期分裂相染色体畸变(CA)分析是一种传统的检查染色体损伤的办法,且是一种相对稳定的观察指标,已知许多环境诱变剂都可造成染色体畸变率增加。外周血淋巴细胞姊妹染色单体互换(SCE)是检测细胞遗传学损伤的一种较敏感的指标。

细胞微核(MN)试验可作为检测细胞遗传学损伤的一个敏感、快速、简便的方法,虽有其局限性,但仍是遗传毒理学研究的方法之一。每一种测试都有其独特的优点和不足之处。为了提高检测可靠性,通常采用组合突变实验,本课题采用的正是这种国际公认的组合突变实验检测方法。

关于口服避孕药的细胞遗传学研究资料较多,尽管研究资料甚多,总的来看,是存在着两种观点<sup>(5)</sup>。

多年来避孕的研究目的之一是希望寻找更理想的方法,能将宫内节育器(IUD)的长效作用与口服避孕药(OC)的高效性结合起来,这就导致皮下埋植避孕药剂的研究和发展。皮下埋植避孕药剂是一种新兴的与口服避孕药不同的给药途径,不同的药方配伍及不同的药物持续时间的药物避孕手段,还要加上硅橡胶管的作用(最近有资料<sup>(1)</sup>表明:Norplant<sup>R</sup>型硅橡胶管混有致癌作用的污染物而暂停使用)等因素。文献检索表明:国内外尚未见到有关皮下埋植避孕药剂的妇女的细胞遗传学效应的资料报道。

Norplant<sup>R</sup>型:其染色体畸变率的研究结果与 Goh<sup>(6)</sup>和 McQuarrie 等人<sup>(7)</sup>对口服避孕药妇女的研究结果相一致,埋药组染色体畸变率(8.76%)明显高于对照组染色体畸变率(5.31%),且有统计学意义( $t = 2.968, P < 0.01$ );SCE 频率研究结果与 Murthy 等人<sup>(8,9)</sup>对口服避孕药妇女的研究结果相一致,埋药组的 SCE 频率平均值(4.91 ± 0.21/细胞)高于对照组的 SCE 频率平均值(4.16 ± 0.23/细胞),且有统计学意义( $t = 2.394, P < 0.05$ )。染色体畸变率和 SCE 频率的增加有平行关系。但两组之间的细胞微核率却没有显著性差异( $t = 0.062, P > 0.05$ )。综合三项细胞遗传学研究指标结构分析表明:在埋植了 Norplant<sup>R</sup>型避孕药剂的妇女体内,由于存在一个长期的持续的激素不平衡状态及因左旋十八甲基炔诺酮、载体材料-缓释硅橡胶管囊和封堵材料像许多药物及化学物质一样会影响体内的许多代谢作用及生化反应,故导致增加了其埋植者的体细胞的诱变性环境的存在,诱导了体细胞中染色体畸变率和 SCE 频率极显著性增加和显著性增加。鉴于本实验为初步研究,故关于此种药剂的细胞遗传学效应尚不能定论,但提示应引起对长期皮下埋植 Norplant<sup>R</sup>型避孕药剂是否存在致突变作用问题的重视和进一步研究。

CLa 型:其染色体畸变率的研究结果与近年来国内外一些学者<sup>(5,11)</sup>对口服避孕药妇女的研究结果相一致,埋药组染色体畸变率(5.63%)略高于对照组染

色体畸变率(5.31%),但无统计学意义( $t = 0.400, P > 0.05$ );其 SCE 频率研究结果与 Husum、范耀山等人<sup>(10,11)</sup>对口服避孕药妇女的研究结果相一致,埋药组的 SCE 频率平均值(4.02 ± 0.21/细胞)略低于对照组的 SCE 频率平均值(4.16 ± 0.23/细胞),无统计学意义( $t = 0.443, P > 0.05$ )。细胞微核率的研究中,埋药组细胞微核率平均值(7.22%)反远不及对照组细胞微核率平均值(9.74%)高,且有统计学意义( $P < 0.05$ ),这是否是像一些文献中所报道的在有些试验中高剂量组微核率往往降低,可能是因为受试物延迟了细胞周期,致使细胞只经历一次分裂,减少了形成微核的机率<sup>(12)</sup>,尚待进一步研究探讨。但是从微核形成的机理来看,微核率相对较高则意味着染色体和 DNA 或者纺锤丝的损伤程度相对严重<sup>(4,13)</sup>。总之,综合本实验三项细胞遗传学研究指标结果分析表明:从细胞遗传学角度上看是安全的,尚未发现有明显的致突变作用。这一初步研究结果为推广和应用国产的 CLa 型长效避孕皮下埋植药剂提供了母体细胞遗传学效应长期安全性的科学理论依据。

## 参考文献

- 1 郑树衡. 皮下埋植剂研究及临床应用. 生殖与避孕, 1995;15(1):3
- 2 翁梨驹. 皮下埋植避孕的进展. 国外医学计划生育分册, 1985;3:129
- 3 刘权章. 人类染色体方法学. 北京:人民卫生出版社, 1992
- 4 Hogstedt B. Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm. A method for assessment of cytogenetic damage in man. *Mutat Res*, 1984;130:63
- 5 刘诚. 口服避孕药的细胞遗传学效应及其观察指标. 遗传, 1986;8(1):9
- 6 Goh KO. In research report, Medical Division, Oakridge Associated Universities, Springfield, Clearing House for Federal Science and Technological Information, 1967:97
- 7 McQuarrie HG, Scott CD, Ellsworth HS, et al. Cytogenetic studies on women using oral contraceptives and their progeny. *Am J Obstet Gynec*, 1970;108(4):659
- 8 Murthy PBK, Prema K. Sister-chromatid exchanges in oral contraceptive users. *Mutat Res*, 1979;68:149
- 9 Murthy PBK, Prema K. Further studies on sister-chromatid exchange frequency in users of hormonal contraceptives. *Mutat Res*, 1983;119:351
- 10 Husum B, Wulf HC, Niebuhr E. Normal sister-chromatid exchanges in oral contraceptive users. *Mutat Res*, 1982;103:161
- 11 范耀山,李璞,齐士云. 长期服“复方 18 甲基炔诺酮”妇女的姊妹染色单体互换、染色体畸变和随体联会. 生殖与避孕, 1982;2(3):45
- 12 Jenssen D, Ramel C. Factors affecting the induction of micronuclei at low doses of X-rays, MMS and dimethylnitrosamine in mouse erythroblasts. *Mutat Res*, 1978;58:51
- 13 顾祖维. 鉴别化学品诱突变的快速方法-微核试验. 国外医学卫生学分册, 1981;3:144

(1998-06-28 收稿;1998-09-25 修回)