

研究论文

双炔失碳酯对家兔抗生育效应及血浆孕酮水平的影响

顾 锡 根

(上海市计划生育科学研究所)

摘要 抗孕-53 对家兔有明显的抗生育作用, 在抗着床实验中, 血浆孕酮水平无明显变化。这表明抗着床机理并非通过抑制黄体发育, 而可能影响孕卵的运行和发育; 抗孕-53 对早孕家兔的血浆孕酮水平有明显的影响, 使血浆孕酮水平急速下降, 说明黄体功能受到抑制并产生溶黄体作用导致妊娠终止。

关键词 妊娠; 抗着床; 抗早孕; 双炔失碳酯; 孕酮; 溶黄体

双炔失碳酯(又称抗孕-53, anordrin)是具有较弱雌激素样活性的A环失碳甾体化合物, 对小鼠、大鼠、金色田鼠、兔和狗均有良好的抗生育作用⁽¹⁾, 在食蟹猴上如在卵泡后期给抗孕-53 能影响黄体功能, 并抑制卵泡发育⁽²⁾。妇女服用抗孕-53 后黄体期明显缩短, 黄体期血浆孕酮水平下降^(3,4), 但对动物和人的妊娠期血浆孕酮水平的影响, 尚未见报道, 为此我们进行了抗孕-53 对早孕及假孕家兔血浆孕酮水平的研究。

方法与结果

(一) 抗孕-53 的抗生育试验

实验用性成熟的杂种雌兔, 与有生育力的雄兔自发交配 2 次以上, 以交配的当天为妊娠第 0 天。抗着床试验中有一个着床点或抗早孕试验中有一个活胎即为妊娠。

1. 抗着床实验

家兔 18 只(实验组 8 只, 对照组 10 只), 体重为 3~4kg, 于妊娠第 1 天分别经口灌服抗孕-53 (10.5 mg/kg) 及空白溶剂, 妊娠第 11 天剖腹记录黄体数、着床点数及胚胎数, 然后缝合留养。给抗孕-53 的实验组动物于妊娠第 3~17 天隔天从耳缘静脉取血, 肝素抗凝, 1500 × g 离心 10 min, 取上清液(血浆)置 -20°C 直至用放射免疫分析法测定其孕酮的含量。另取 8 只家兔静脉注射 hCG 100 IU 造成假孕, 注射 hCG 的当天为假孕第 0 天, 于假孕第 1~19 天隔天取血, 血浆处理及其孕酮含量的测定同上。

结果如表 1 所示, 抗孕-53 (10.5 mg/kg) 在配后 24 小时给兔灌服后, 有明显的抗着床效果。

2. 抗早孕实验

家兔 17 只(实验组 9 只, 对照组 8 只)分别于妊娠第 7~9 天连续灌服抗孕-53 (5mg/kg/d)

Tab 1. Anti-implantation efficacy of anordrin in rabbits

Groups	No. of animal	Administration time (day after mating)	Dose (mg/kg)	No. of corpus luteum	No. of implantation site	Fertility rate
Control	10	1	—	10.3±1.5	9.7±1.6	10/10
Anordrin	8	1	10.5	11.3±0.6	0.3±0.3*	1/8

The values are $\bar{X} \pm SE$

* $P < 0.01$ as compared with the control group.

及空白溶剂, 在妊娠第 17 天剖腹记录黄体数和胚胎发育情况, 并缝合留养, 在妊娠第 3~23 天隔天取血, 血浆的处理及血浆孕酮含量的测定同上。

结果归纳于表 2, 兔交配后第 7~9 天连续口服抗孕-53 (5 mg/kg/d), 抗早孕效果非常显著。

Tab 2. Effect of anordrin on termination of early pregnancy in rabbits

Groups	No of animal	Administration time (day after mating)	Dose (mg/kg)	No of corpus luteum	Development of embryo		Fertility rate
					normal	fetus necrosis	
Control	8	7, 8, 9	—	10.0±1.1	9.8±1.1	0	8/8
Anordrin	9	7, 8, 9	5.0	10.3±0.6	0.2±0.2*	7.4±0.5	1/9

The values are $\bar{X} \pm SE$

* $P < 0.001$ as compared with the control group.

(二) 抗孕-53 对血浆孕酮水平的影响

1. 用放射免疫分析法测定血浆孕酮的含量⁽⁵⁾

测定血浆孕酮是参照世界卫生组织推荐的放射免疫分析法, 使用世界卫生组织提供的配对试剂(孕酮放免测定药盒), 在用于兔血浆孕酮测定之前, 经平行性试验和回收率试验等方法学的考验。本实验的血浆孕酮测定中孕酮的回收率为 86%, 组内变异系数在 10% 以下, 组间变异系数在 15% 以下。测定的结果是可信的。

2. 家兔正常妊娠期间血浆孕酮水平的变化

家兔交配后第 1~9 天内, 血浆孕酮的含量逐渐上升, 血浆孕酮自第 11~19 天达到较高水平, 为 $38.6 \pm 5.6 \sim 46.5 \pm 9.4$ nmol/L。虽然第 11 天(38.6 ± 5.6 nmol/L) 和第 19~25 天($29.0 \pm 3.5 \sim 35.4 \pm 5.0$ nmol/L) 孕酮水平较低, 但与高水平的第 13~17 天($45.6 \pm 8.2 \sim 46.5 \pm 9.4$ nmol/L) 相比无显著性差别 ($P > 0.05$)。自第 25 天以后血浆孕酮水平逐渐下降至低水平。说明家兔正常妊娠期间血浆孕酮水平一直较高, 结果见图 1。

3. 抗着床时的血浆孕酮水平

结果如图 2 所示, 对照组为假孕家兔, 其血浆水平自假孕第 1~13 天逐日升高为 $7.3 \pm 0.8 \sim 53.0 \pm 4.5$ nmol/L, 自第 13 天后血浆孕酮逐渐下降到低水平; 抗着床组血浆孕酮水平自兔交配(给药后) 第 3~7 天逐日上升为 $15.6 \pm 2.4 \sim 47.7 \pm 6.3$ nmol/L, 之后虽有所降低, 但给药组的第 9、11 和 13 天的血浆孕酮水平与对照组的第 9、11 和 13 天相比均无显著差别 ($P > 0.05$), 因此可以认为, 抗孕-53 对家兔抗着床时血浆孕酮水平无明显变化。

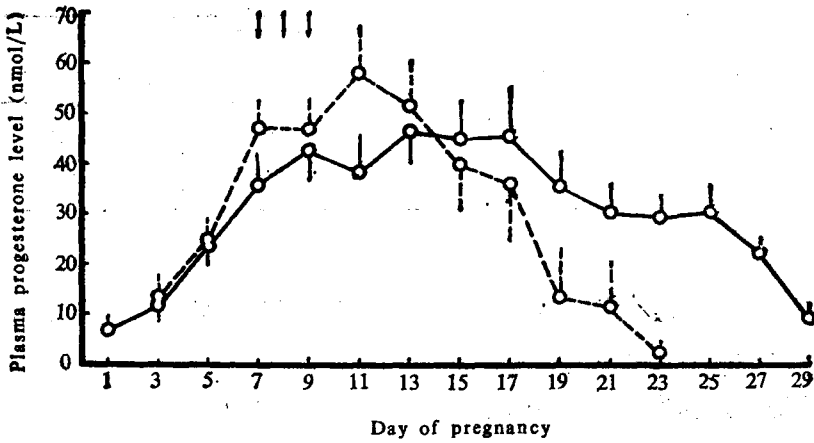


Fig 1. Changes of plasma progesterone relevant to the termination of early pregnancy after treatment with Anordrin in rabbits. —○— Control, - - -○- - Anordrin. The values are $\bar{X} \pm SE$. The arrowhead shows the time of administration

4. 抗孕-53对早孕家兔血浆孕酮水平的影响

抗孕-53对家兔抗早孕有效时，虽然血浆孕酮水平自妊娠第3~11天仍逐日增高，为 $13.5 \pm 3.6 \sim 56.8 \pm 5.1$ nmol/L，但自妊娠第13天起逐日下降，于妊娠第19天降低水平为 13.4 ± 9.9 nmol/L。说明抗孕-53对早孕家兔的黄体功能有抑制作用，血浆孕酮水平显著降低。结果见图1。

5. 抗孕-53对假孕兔血浆孕酮水平的影响

注射hCG造成假孕的假孕兔15只（实验组7只，体重为 3.8 ± 0.1 kg，对照组8只，体重为 3.5 ± 0.1 kg）分别于假孕第7天肌内注射抗孕-53（1.25 mg/kg）及空白油剂，于假孕第1~19天隔天取血，血浆处理及其血浆孕酮水平测定同上。

结果表明，假孕兔血浆孕酮水平自假孕第1天至13天逐渐升高，以后下降至低水平。

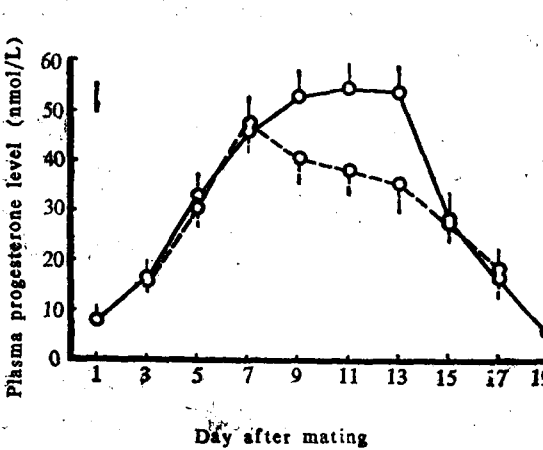


Fig 2. Changes of plasma progesterone relevant to anti-implantation after treatment with Anordrin in rabbit; —○— Control - - -○- - Anordrin

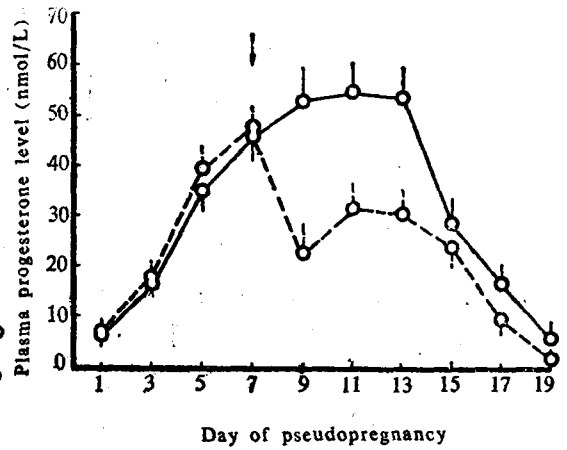


Fig 3. Changes of plasma progesterone relevant of pseudopregnancy after intramuscular injection of Anordrin in rabbits; —○— Control, - - -○- - Anordrin

给药组于假孕第 7 天给以抗孕-53 后, 血浆孕酮迅速下降与对照组相比有显著差别 ($P < 0.01$), 见图 3。

讨 论

在本实验中, 正常家兔妊娠后第 1~9 天血浆孕酮水平逐日升高, 之后维持在较高水平上, 在妊娠第 25 天后血浆孕酮水平逐渐下降, 这与 Baldwin 等的报道一致^(6~8)。假孕家兔血浆孕酮水平的变化与妊娠时的血浆孕酮水平的变化类似。在假孕第 1~13 天血浆孕酮水平逐日上升, 以后就逐渐下降到基础水平^(9~11)。

抗孕-53 在抗着床有效剂量 (10.5 mg/kg) 时, 对家兔血浆孕酮水平无明显影响。这表明, 抗孕-53 的抗着床机理并非通过抑制黄体发育, 可能是由于影响受精卵在输卵管中的运行速度, 使受精卵变性或使受精卵与子宫内膜发育不同步等其它作用环节⁽¹²⁾, 从而达到抗着床目的。

抗孕-53 对早孕家兔的血浆孕酮水平有明显的影响。血浆孕酮水平在妊娠第 11 天以后逐渐下降。这一结果与 Mahta 等报道相一致⁽²⁾, 说明黄体功能受到抑制。我所陈惠卿从本实验组在兔妊娠 17 天时所取得的黄体标本进行组织学检查, 发现大量黄体细胞的细胞质出现自噬空泡、细胞核固缩、核消失并有明显的溶黄体作用。

从假孕兔给以抗孕-53 后的血浆孕酮水平明显降低, 表明抗孕-53 对黄体功能的直接抑制作用。因此, 抗孕-53 的抗早孕作用可能是由于黄体功能受到抑制, 从而终止了妊娠。但从本实验的结果来看, 尚无法排除抗孕-53 对胚胎的直接杀伤作用, 而间接引起黄体功能的丧失。

Keyes 等报道, 外源性雌激素能维持妊娠家兔的黄体功能⁽¹³⁾, 而且此作用不依赖于垂体的存在。假孕兔黄体内植入雌激素结晶, 可明显延长黄体寿命⁽¹⁴⁾。未成熟大鼠一侧卵巢植入雌激素结晶, 也能导致卵巢增重, 黄体形成, 并增加对内源性或外源性促性腺激素的反应性。在假孕家兔黄体中已发现细胞浆有雌激素受体, 而且在假孕中期雌激素受体水平最高⁽¹⁵⁾。但是在本实验中, 我们发现具有一定雌激素样活性的抗孕-53 能抑制妊娠和假孕家兔的黄体功能。并注意到有关雌激素能维持妊娠家兔黄体功能的实验均是在妊娠中、后期进行的。尚缺乏雌激素能维持早孕家兔黄体功能的直接证据。正常妊娠的维持需要有一个稳定的生理内环境, 一旦自稳机制受到破坏, 妊娠的维持就会受到威胁。但对这一问题的阐明, 有待于进一步研究。

致谢 本工作得到世界卫生组织人类生殖研究特别规划处的支持, 李瑞麟、李顺安等同志提供抗孕-53

参 考 文 献

1. 顾芝萍等. 双炔失碳酯(抗孕-53)的药理研究. 中国科学 1975;2:229.
2. Mehta RR, et al. Antiestrogenic action of Anordrin in monkeys: effects on follicular development and corpus luteum function. *Biol Reprod* 1983;28:Suppl (1), 165.
3. GU Zhiping (顾芝萍), et al. Plasma progesterone levels in normal and pregnant Chinese women and effects of contraceptives on them. *Chinese Med J* 1980;93:523.
4. Shanghai antifertility-53 tablet research cooperating group. Endometrial and hormonal changes induced by Anordrin, In WHO Symposium on steroid contraception and mechanisms of endometrial bleeding. Geneva, 1979:191.
5. WHO Programme for the provision of assay reagents for the radioimmunoassay of matched hormones in reproductive physiology. Method manual 4th ed. WHO Geneva, 1982.
6. Baldwin DM, et al. Plasma levels of progesterone, cortisol, and corticosterone in the pregnant rabbit. *Biol Reprod* 1974;10:495.

7. Challis JRG, et al. The concentration of progesterone, estrone and estradiol-17 β in the plasma of pregnant rabbits. *Endocrinol* 1973, 93:971.
8. Hilliard J, et al. Progesterone, estradiol, and testosterone levels in ovarian venous blood of pregnant rabbits. *Ibid* 1973, 93:1235.
9. Nowak RA, et al. Effect of embryo removal on concentrations of progesterone and LH in the rabbit. *J Reprod Fert* 1983, 68:395.
10. Browning JY, et al. Comparison of serum progesterone, 20 α -dihydroprogesterone, and estradiol-17 β in pregnant and pseudopregnant rabbits: evidence for postimplantation recognition of pregnancy. *Biol Reprod* 1980, 23:1014.
11. Harrington FE, et al. Daily changes in peripheral plasma progesterone concentrations in pregnant and pseudopregnant rabbits. *Life Sciences* 1977, 20:1333.
12. Chihping KU et al. A-Nor steroids as post-coital contraceptives in the Hamster with special reference to the transport and degeneration of eggs. *Contraception* 1979, 20:549.
13. Keyes PL, et al. Maintenance and function of corpora lutea in rabbits depend on estrogen. *Endocrinol* 1967, 80:938.
14. Keyes PL, et al. Endocrine role of follicles in the regulation of corpus luteum function in the rabbit. *Ibid* 1968, 83:509.
15. Lee C, et al. Estrogen receptor in the rabbit corpus luteum. *Science* 1971, 173:1032.

THE ANTIFERTILITY ACTION OF ANORDRIN AND ITS EFFECT ON PLASMA LEVELS OF PROGESTERONE IN RABBITS

GU Xi-Gen

(Shanghai Institute of Planned Parenthood Research)

ABSTRACT Anti-implantation effect of Anordrin in rabbits: A single dose of Anordrin (10.5 mg/kg) was orally administered on day 1 post coitum. Laparotomy was performed on day 11 to examine the number of corpus luteum and implantation sites. The number of implantation sites in the control group was 9.7 ± 1.6 , but that in the treated group was 0.3 ± 0.3 ($\bar{X} \pm SE$)

Effect of Anordrin on termination of early pregnancy in rabbits: Rabbits were fed consecutively 3 doses of Anordrin (5 mg/kg/d) on days 7, 8 and 9 post coitum. On day 17 post coitum laparotomy was performed to examine the development of embryos, the number of normal and absorbed fetuses was recorded. The number of fetuses in the control group was 9.8 ± 1.1 , but that in the treated group was 0.2 ± 0.2 , dead fetuses 7.4 ± 0.5

Plasma changes of progesterone is relevant to the termination of early pregnancy and pseudopregnancy in rabbits treated with Anordrin.

The plasma concentration of progesterone levels started to decrease on the eleventh day after mating. The plasma concentration of progesterone levels was found to fall precipitously on day 9 after treatment with 100 IU of hCG.

Key words Pregnancy; Anti-implantation; Termination of early pregnancy; Anordrin; Progesterone; Luteolytic

Acknowledgement This work was supported by the Special Programme of Research in Human Reproduction of the World Health Organization