

两种热暴露对小鼠睾丸与精子的影响

卢晓翠, 罗海吉, 孙俊松

(第一军医大学军队卫生学教研室, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 探讨热应激与热习服对小鼠睾丸与精子的影响。方法 15只ICR小鼠分为热习服(I组)、热应激(II组)和常温对照组(III组)。I组小鼠每天上午移入人工热室(干球 36°C , 相对湿度68%)暴露60min, 连续9d, 记录肛温。II组仅在热习服最后一天与I组同时进行热暴露, 平时与III组同在室温($15\sim 20^{\circ}\text{C}$)。实验结束后观察3组小鼠睾丸重量、睾丸重量指数、睾丸含水量和畸形精子数等指标。结果 在热环境下I、II组肛温都高于受热前。I、II、III组睾丸的含水量分别为(113.03 ± 21.05)g、(131.04 ± 11.78)g、(131.35 ± 22.22)g; 重量指数为 0.5829 ± 0.07 、 0.5895 ± 0.06 、 0.5804 ± 0.11 , $P>0.05$; 热习服组畸形精子率为(13.42 ± 3.78)%, 与对照组的(14.68 ± 7.40)%相比 $P>0.05$, 而热应激组畸形精子数明显减少, 畸形率仅为(6.36 ± 1.51)%, $P<0.05$, 与高温(睾温达 $41\sim 42^{\circ}\text{C}$)下精子畸形率升高的报道相反。结论 提示精子在附睾的分化发育可能存在温热应激效应, 但其机理尚待进一步探讨。

关键词: 热应激; 热习服; 睾丸; 精子

中图分类号: R134⁺.3; Q492.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(1999)05-0263-02

Effects of two modes of heat exposure on testes and sperms in mice

LU Xiao-cui, LUO Hai-ji, SUN Jun-song

(Department of Military Hygiene, The First Military Medical College, Guangzhou 501515, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of heat stress and heat acclimatization on testes and sperms of mice. **Methods** Fifteen male ICR mice were divided into heat acclimatization group (group I), heat stress group (group II), and control group (group III). Mice of group I were acclimatized the thermal environment for nine days one hour a day in manual thermal room at 36°C (dry bulb temperature) and relative humidity 68%. Group II and group III were fed at the ambient temperature of $15\sim 20^{\circ}\text{C}$, but group II were exposed with group I together in the same manual thermal room in ninth day. The weight of testes, weight index of testes, water content in testes and the number of spermatid malformation were observed at the end of experiment. **Results** The anal temperatures of the mice in group II and group I significantly increased under above thermal environment. The water contents of testes in three groups were (113.03 ± 21.05)g, (131.04 ± 11.78)g, (131.35 ± 22.22)g respectively, and the weight indices of testes were all in normal range. There was no difference in the number of spermatid malformation in heat acclimatization group (13.42 ± 3.78)% compared with control group (14.68 ± 7.40)%, but the heat stress group (6.36 ± 1.51)% showed obviously decreased. **Conclusion** There might be some heat stress effects on the differentiation and development of spermatids, the mechanism needs further investigation.

Key words: Heat stress; Heat acclimatization; Testes; Sperm

精子发生受下丘脑-垂体-睾丸激素的调控, 并必须经过附睾的孵育才能达到功能上的成熟, 而适宜的温度对精子发生来说也是必不可少的。热对精子发生的抑制作用已为一些研究者所肯定^[1~3]。但热应激状态下精子的变化情况少有研究, 为此将笔者的实验结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用本校实验动物中心提供的ICR小鼠, 6~8周龄, 体重 $18\sim 20\text{g}$ 。按体重大小随机分为热习服、

热应激和常温对照3个组, 每组5只。观察1周后开始实验。实验期间常规饲料自由摄食饮自来水。

1.2 热暴露方法

热习服组每天上午将小鼠移入人工热室(干球 $35\sim 36^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度67%~68%)暴露60min, 连续9天, 并观察记录小鼠受热前后肛温变化情况, 以确定热习服否。热应激组是平时在动物房中饲养(室温 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$), 与热习服组最后一天同时进行热暴露60min。对照组不作任何处理。

1.3 实验方法

热暴露结束后将3组小鼠活杀观察下列指标。

1.3.1 睾丸重量及其重量指数测定 小鼠处死前称体重, 处死后取出两侧睾丸称重量, 计算各鼠睾丸重量指数。

收稿日期: 1999-04-23; 修回日期: 1999-07-09

基金项目: 军队指令性课题

作者简介: 卢晓翠(1966—), 女, 四川人, 实验师, 从事热环境对机体影响的研究。

1.3.2 睾丸含水量 将称重后的双侧睾丸在 105℃ 烘至恒重, 计算干、湿重之差, 即为睾丸含水量。

1.3.3 畸形精子数 按精子制片改良法^[4]制片, 油镜下计数每只小鼠 500 个精子中出现的头部畸形精子数。

全部数据由 SAS 软件系统处理。

2 实验结果

2.1 肛温的变化 (见表 1)

表 1 小鼠热暴露前后肛温的变化

时 间	肛温 (°C)	q 值	P 值
受热前	37.13±0.18		
热应激后	39.64±0.32	> 18.6	< 0.01
热习服后	38.85±0.24	> 5.1	< 0.01

小鼠在热环境下不论热应激抑或热习服后肛温都明显高于受热前。热应激后升高 2.51℃, $P < 0.01$, 热习服后第 5 天肛温开始下降, 至第 9 天下降为

表 3 热应激与热习服后畸形精子的变化

组 别	受检鼠数 (只)	受检精子数 (个)	畸形精子		F 值	P 值
			总数	%		
对照组	5	2 500	367	14.68±7.40		
应激组	5	2 500	159	6.36±1.51	4.2	0.04
习服组	5	2 500	324	13.42±3.78		

从表 3 结果可见, 小鼠畸形精子数热习服组与对照组无差异, 但热应激组畸形精子数明显减少, $P < 0.05$ 。

3 讨论

哺乳类动物睾丸对热十分敏感, 温度升高数度即可造成睾丸损害。睾丸重量的变化可反映生殖系统损伤的程度。虽然随着热习服过程的进行, 小鼠肛温由热应激时的 39.64℃ 逐渐降到 38.85℃ ($P < 0.01$), 且稳定在此水平。但由于热习服早期大量出汗导致机体和含水量较多的器官如睾丸失水, 自发饮水又不足以补充失水量^[5], 导致热习服后期虽然出汗量减少但仍存在睾丸脱水现象。本实验热习服组睾丸重量减轻、含水量下降正说明此。睾丸重量减轻的同时, 小鼠体重也因机体失水而减轻, 故而睾丸重量指数可无变化, 说明睾丸重量指数不适作为观察生殖系统热效应的敏感指标。

精原细胞经一系列分裂增殖最终形成精子, 睾丸精子进入附睾后经过大约 11~16 天才能转变为成熟精子^[6]。精子发生过程中的各级生精细胞对温度的敏感性不同, 各研究者的实验结果也不同。Asdell 认为^[7],

38.85℃, 降幅为 0.79℃, 与热应激后相比 $P < 0.01$, 且精神状态好于第一天, 唾液分泌也大为减少, 说明小鼠对热已适应, 热习服形成。

2.2 睾丸重量、重量指数与含水量的变化 (见表 2)

表 2 热应激与热习服后睾丸重量与含水量的变化

组 别	睾丸重量 (g)	睾丸重量指数 (%)	睾丸含水量 (g)
对照组	159.16±25.90	0.5804±0.11	131.35±22.22
应激组	156.10±13.02	0.5895±0.06	131.04±11.78
习服组	129.38±19.40	0.5829±0.07	113.03±21.05
F 值	3.31	0.02	2.6
P 值	0.07	0.98	0.12

热应激组与热习服组睾丸重量指数与对照组比较均无显著差异, 且都在正常范围。睾丸重量与含水量各组之间也无统计学差异, 但热习服组较之热应激组和对照组下降较多。

2.3 畸形精子的变化 (见表 3)

精原细胞对温热比较耐受, 早期精子细胞及晚期精母细胞比较敏感; Payne^[8]研究了实验性隐睾, 认为最早变化的是精子; 国内的研究则认为精子不受热影响^[9]。各类生精细胞的退化顺序与作用的时间、次数及温度有关, 认为在 38℃ 环境下不会造成睾丸的热损伤效应^[10], 只有使睾丸升高至 41~42℃ 才具有抑制生精作用, 并认为这可能是人、兔、鼠等哺乳类动物睾丸的临界温度。另有观点则认为热是一种应激原, 对机体具有刺激作用, 温热睾丸后间质细胞功能略有增强^[11]。本次实验热应激下畸形精子数明显减少, 提示在 35~36℃ 热环境睾丸精子在附睾的发育可能存在热应激反应, 应激反应调动机体的保护潜能, 从而降低附睾精子的自发畸变率, 但其机理尚待进一步探讨。

(本实验数据处理得到本校医学统计学教研室陈红兵讲师指导, 特致谢意!)

参考文献:

[1] 邹蓁蓁. 人工加温对睾丸生精作用的影响 [J]. 中华医学杂志, 1974, 6: 365.
 [2] Rock J. et al. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 1965, 93: 793.

(下转 267 页)

氧化损伤起重要作用,而磷灼伤后,应用SOD不能降低死亡率,将创面元素磷以高锰酸钾完全氧化也未能降低死亡率,说明与口服元素磷致死不同^[3]。磷燃烧后创面残留的毒性物质至少有两种以上,已确认的包括少量未充分氧化的元素磷和大量磷酸,但何者在中毒中起主要作用争论较大。只有明确了主要毒性物质,临床治疗才有针对性。

皮肤对多种物质的吸收均有明显的屏障作用,磷灼伤中毒首要条件是燃烧热力导致皮肤屏障破坏,形成创面后再吸收中毒。有研究表明,需要20mg/cm²黄磷燃烧才能形成III度创面^[3],经测定,在此过程中,66%形成五氧化二磷烟雾挥发,创面残留总磷6.1mg/cm²,其中残留绝大多数为磷酸,很少部分以无毒的红磷形式存在,极少量以黄磷形式存在。预实验表明,大鼠皮下注射100mg磷酸即100%死亡,而30%磷灼伤模型创面残留总磷达600mg(绝大部分为磷酸),显然,磷灼伤后创面残留磷酸的毒性是不容忽视的,但由于该黄磷灼伤模型创面既有磷酸也有磷元素,显然,单用该模型无法区分主要中毒物质。

由于磷酸本身不易对皮肤造成损害与吸收。本研究以加热的磷酸液形成创面,并通过对不同浓度的磷酸液选择,使创面深度、残留总磷量与黄磷灼伤模型相同,这样假设创面所有的磷最终均以磷酸形式导致中毒,与黄磷灼伤模型进行比较进行研究,将有助于明确磷灼伤后主要中毒物质。

本文结果显示,磷酸与黄磷灼伤后,血磷水平显著升高,主要脏器病理损害一致,在灼伤面积、深度及创面总磷量相同时,死亡率相同,血浆与细胞游离钙均下降。也就是说,两者在生化改变、脏器病理损害、致死性以及中毒表现均表现出一致性变化。这提示,磷灼伤后,创面残留的磷完全以磷酸形式即可致全身中毒,因而,可以认为磷灼伤中毒主要毒性物质

是创面的磷酸,元素磷只起次要作用。

磷灼伤后,磷酸吸收一方面导致细胞内外游离钙下降及血小板等细胞功能障碍,临床表现为抽搐、心率增快、出血等,补钙后可迅速消失;另一方面,磷酸可直接对细胞及线粒体等结构造成损害,钙治疗后显著改善。临床补钙能完全防止磷烧伤所致中毒,这些均与本研究结果相一致^[4,8,9]。以往有报道在磷灼伤总钙降低时可以补钙纠正低钙,多数资料未发现血总钙降低,我们发现,总钙正常时游离钙降低,说明总钙远不如游离钙检测敏感。因此,磷灼伤后无论是从拮抗磷酸毒性的角度还是预防低钙的角度,均应及时、足量使用钙治疗。

参考文献:

- [1] 曹大鑫. 磷烧伤与磷中毒的治疗 [A]. 常致德, 张明良, 孙永华, 等. 烧伤创面修复与全身治疗 [M]. 北京: 北京出版社, 1993. 163~173.
- [2] 方之扬, 陈玉林. 常见化学烧伤 [A]. 黎鳌, 杨宗诚. 烧伤治疗学 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 339~345.
- [3] Eklad A, Wisoki M, Cohen H, et al. Phosphorus burns; Evaluation of various modalities for primary treatment [J]. J Bum Care Rehabil. 1995, 16 (1): 49~55.
- [4] 胡安军, 杨智义, 刘新民, 等. 钙剂防治磷烧伤中毒的临床效果 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1993, 11 (1): 421~425.
- [5] 夏淑芳, 史景泉, 刘明懿, 等. 磷烧伤对大鼠全身影响的实验研究 [J]. 中华外科杂志, 1982, 20: 411~418.
- [6] 孟迅吾, 邢小平, 谭舒文, 等. 血游离钙浓度测定的初步临床应用 [J]. 中华内科杂志, 1993, 32 (10): 665~668.
- [7] Hiroshi Komada, Hiroshi Nakabayashi, Hiroshi Nakano, et al. Measurement of the cytosolic free calcium ion concentration of individual lymphocytes by microfluorometry using Quin-2 or Fura-2 [J]. Cell Struct Funct. 1989, 14: 141~147.
- [8] 李达, 阮仕荣, 胡安军, 等. 磷烧伤出血机理及钙剂治疗效果的实验研究作用 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1998, 14 (1): 45~48.
- [9] 阮仕荣, 李达, 胡安军, 等. 钙剂防治磷烧伤中毒机理的研究 [J]. 解放军医学杂志, 1997, 22 (6): 450~452.

(上接 264 页)

- [3] Fahion. M. S. et al. Fertility & Sterility. 1977, 28 (8): 828.
- [4] 卢晓琴. 实验动物精子制片的改良方法. 中华预防医学杂志, 1993, 27 (5): 307.
- [5] 张虎山. 热习服过程水盐代谢规律探讨 [A]. 全军第四次中暑防治学术会议汇编 [C]. 北京: 1987. 65.
- [6] 王国钦. 化学物的生殖毒理 [A]. 见: 李寿祺. 卫生毒理学基本原理和方法 [M]. 第一版. 成都: 四川科技出版社, 1987. 273.
- [7] Asdell S A, et al. Anatomical Record. 1941, 80: 145
- [8] Payne J M. Journal of Pathology & Bacteriology, 1956, 71: 117.
- [9] 张汇泉, 朱文化. 温水加热对大白鼠睾丸组织学影响的定量研究 [J]. 生殖与避孕, 1982, 2 (4): 35.
- [10] 温泉法, 王兰兴, 范正平. 低剂量辐射和高温复合暴露对大鼠精子发生的影响 [J]. 海军军事医学, 1991, 12 (2): 11.
- [11] 朱继业, 王一飞, 吴明章. 电吹风透热对睾丸精子发生和间质细胞影响的组织学和组化观察 [J]. 生殖与避孕, 1982, 2 (3): 37.