

醋酸铅对小鼠生精功能的影响

张玉敏, 马明月, 崔金山

(沈阳医学院毒理学教研室, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: 小鼠灌胃染毒醋酸铅 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg, 1 次/d, 连续染毒 5 d, 测定精子数、精子活动度、精子畸形率和初级精母细胞染色体畸变率。结果显示染毒 20 mg/kg 以上时, 精子计数、直线运动精子数、活精子率随染毒剂量增加而下降, 而静止不动精子数、精子畸形率和初级精母细胞染色体畸变率随剂量增加而升高, 各指标与阴性对照组比较差异均有显著性或高度显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并呈明确的剂量-反应关系, r 值依次为 -0.7866 、 -0.8949 、 -0.7809 、 0.7809 、 0.5581 、 0.4932 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。说明染毒醋酸铅 ≥ 20 mg/kg 可损害小鼠的生精功能。

关键词: 醋酸铅; 小鼠; 生精功能; 初级精母细胞染色体畸变

中图分类号: R99 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2004)05-0315-03

Effects of lead acetate on spermiogenesis in mice

ZHANG Yu-min, MA Ming-yue, CUI Jin-shan

(Department of Toxicology, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China)

Abstract Mice were continuously given lead acetate at doses of 10 mg/kg, 20 mg/kg and 40 mg/kg respectively, once a day for 5 days by gavage, and count, motility, deformity of the sperm and chromosome aberration of primary spermatocyte were determined. Result showed that count of sperm, number of sperm moving straightly and its viability decreased with increase of doses of lead acetate in the mice exposed to 20 mg/kg or over of lead acetate, while count of inactive sperm, deformity of sperm and chromosome aberration rate of primary spermatocyte increased with increase of doses of lead acetate, all significantly different from those in the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), in a dose-response relationship with $r = -0.7866$, -0.8949 , -0.7809 , 0.7809 , 0.5581 and 0.4932 , respectively ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). It indicated that exposure to lead acetate at a dose of 20 mg/kg or above by gavage could damage spermiogenesis in mice.

Key words: Lead acetate; Mice; Spermiogenesis; Chromosome aberration of primary spermatocyte

近十几年人们对铅的生殖毒性更加关注, 亦进行了较多的研究^{1,2}, 但对其生精功能影响的研究报道较少。为深入了解铅对生精功能的损害作用及其规律, 进行了本研究。

1 材料与与方法

1.1 受试物

醋酸铅为购于上海化学试剂厂的分析纯试剂, 用时以蒸馏水配成相应浓度的溶液。

1.2 实验动物与分组

选用健康性成熟的昆明种雄性小鼠 100 只, 体重 20~24 g, 由沈阳医学院实验动物中心提供。饲养环境室温 20~23 °C, 相对湿度 45%~55%, 喂饲全营养饲料。精子畸形实验和睾丸初级精母细胞染色体畸变实验各分为阴性对照组, 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg 醋酸铅染毒组和 40 mg/kg 环磷酰胺阳性对照组, 每组 10 只小鼠。

1.3 实验动物处理

动物染毒容积 0.1 ml/10g, 除阳性对照组经腹腔注射给药外, 其余各组均经口灌胃染毒, 阴性对照组给予蒸馏水, 每

天 1 次, 连续染毒 5d。睾丸初级精母细胞染色体畸变实验, 于染毒第 13 天颈椎脱臼处死小鼠; 小鼠精子计数、精子活动度和精子畸形实验于染毒第 35 天处死小鼠。

1.4 观察指标与实验方法

1.4.1 精子计数和精子活动度的测定 取一侧附睾按常规制备精子悬液, 将精子悬液置 37 °C 恒温水浴孵育 20 min, 按文献[3]方法, 在 23 °C 以上室温下, 用高倍镜计数 2000 个精子, 计算精子活动度和活精子率, 然后将剩余的精子悬液在 60~80 °C 水浴中处死精子, 计数精子数, 计算出每克附睾中精子数量。

1.4.2 精子畸形实验 取另一侧附睾, 制备精子悬液参照文献[4]方法制片, 染色, 每只小鼠计数 1000 个完整精子, 并计算精子畸形率。

1.4.3 睾丸初级精母细胞染色体畸变分析 处死小鼠前 5 h 腹腔注射秋水仙碱 4 mg/kg, 然后颈椎脱臼处死小鼠, 按文献[5]方法制备初级精母细胞染色体观察片, 每只小鼠制备 2~3 张玻片, 计数 50 个合格的中期分裂相细胞, 分别记录各种畸变出现的数量, 计算畸变率。

2 结果

2.1 染毒醋酸铅对小鼠精子计数和精子活动度的影响 (表 1)

收稿日期: 2003-10-08; 修回日期: 2003-11-09

作者简介: 张玉敏 (1963-), 女, 辽宁人, 高级实验师, 主要从事毒理学实验研究。

表1 染毒醋酸铅小鼠精子计数和精子活动度构成比(%)

| 组别 | n | 精子计数 | | 观察精子数 | 直线运动 | 方向不定 | 原地转动 | 静止不动 | 活精子率(%) |
|---------------|----|-------------------------|--|-------|---------|--------|--------|---------|---------|
| | | (×10 ⁶ /g附睾) | | | | | | | |
| 阴性对照组 | 10 | 5 874±1 721 | | 2 000 | 25.7 | 23.3 | 37.2 | 13.8 | 86.2 |
| 染毒 10 mg/kg 组 | 10 | 5 498±1 940 | | 2 000 | 22.1 | 26.0 | 34.2 | 17.7 | 82.3 |
| 染毒 20 mg/kg 组 | 10 | 4 483±1 422 * | | 2 000 | 12.3 * | 25.8 | 32.6 | 29.3 * | 70.7 * |
| 染毒 40 mg/kg 组 | 10 | 3 469±1 214 ** | | 2 000 | 11.2 ** | 18.2 * | 37.5 | 33.1 ** | 66.9 ** |
| 阳性对照组 | 10 | 3 284±1 312 ** | | 2 000 | 7.9 ** | 18.5 * | 34.7 * | 38.9 ** | 61.1 ** |

与阴性对照组比较 * P<0.05 ** P<0.01, 下同。

从表1可见, 随染毒剂量增加精子计数、直线运动精子数和活精子率明显减少, 呈现明确的剂量-反应关系, r值依次为-0.786 6、-0.894 9和-0.780 9(均 P<0.01), 而静止不动

精子数随染毒剂量增加而升高, 有明确的剂量-反应关系, r=0.780 9(P<0.01)。

2.2 染毒醋酸铅对小鼠精子畸形率的影响(表2)

表2 染毒醋酸铅小鼠精子畸形率及构成比(%)

| 组别 | n | 观察精子数 | 畸形精子数 | | | | | 畸形精子率(%) | |
|---------------|----|--------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|---------|
| | | | 无钩 | 不定型 | 胖头 | 香蕉 | 双头或双尾 | | |
| 阴性对照组 | 10 | 10 000 | 37.50 | 27.78 | 18.05 | 13.89 | 2.78 | 144 | 14.4 |
| 染毒 10 mg/kg 组 | 10 | 10 000 | 30.21 | 39.58 | 22.92 | 7.29 | 0 | 162 | 16.2 |
| 染毒 20 mg/kg 组 | 10 | 10 000 | 33.33 | 37.25 | 19.61 | 8.83 | 0.98 | 190 | 19.0 * |
| 染毒 40 mg/kg 组 | 10 | 10 000 | 34.36 | 34.54 | 23.31 | 6.47 | 1.32 | 220 | 22.2 ** |
| 阳性对照组 | 10 | 10 000 | 45.28 | 39.62 | 10.06 | 3.77 | 1.27 | 316 | 31.6 ** |

从表2可见, 精子畸形率随染毒剂量增加而升高, 呈明确的剂量-反应关系, r值为0.558 1(P<0.05)。精子畸形以无钩、头部不定型为主, 构成比各组间差异无显著性(P>

0.05)。

2.3 染毒醋酸铅小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变率分析(表3)

表3 染毒醋酸铅小鼠睾丸初级精母细胞染色体畸变率

| 组别 | n | 观察细胞数 | 性染色体 | | 常染色体 | | 畸变类型 | | | | 畸变细胞数 | 畸变细胞率(%) |
|---------------|----|-------|------------|------------|----------|----------|------|----|-------|--------|-------|----------|
| | | | 单价体分离(%) | 双价体分离(%) | 单价体分离(%) | 双价体分离(%) | 断裂 | 断片 | 链状多价体 | 环状多价体 | | |
| 阴性对照组 | 10 | 500 | 30 (6.0) | 4 (0.8) | 1 | 3 | 0 | 0 | 4 | 0.8 | | |
| 染毒 10 mg/kg 组 | 10 | 500 | 29 (5.8) | 5 (1.0) | 1 | 4 | 0 | 0 | 5 | 1.0 | | |
| 染毒 20 mg/kg 组 | 10 | 500 | 31 (6.2) | 5 (1.0) | 2 | 3 | 0 | 0 | 5 | 1.0 | | |
| 染毒 40 mg/kg 组 | 10 | 500 | 36 (7.2) * | 8 (1.6) ** | 3 | 8 | 1 | 1 | 13 | 2.6 * | | |
| 阳性对照组 | 10 | 500 | 44 (8.8) | 11 (2.2) | 7 | 23 | 4 | 2 | 36 | 7.2 ** | | |

从表3可见, 染毒醋酸铅小鼠仅40mg/kg剂量组常染色体单价体分离, 与阴性对照组比较差异有高度显著性(P<0.01), 性染色体分离和畸变细胞率与阴性对照组比较差异有显著性(P<0.05), 随染毒剂量增加而升高, r=0.493 2(P<0.05), 并且出现链状和环状多价体, 说明染色体间发生了易位。

3 讨论

本研究结果发现, 染毒醋酸铅达20mg/kg以上时可使小鼠精子计数明显减少, 精子活动度、活精子率明显降低, 精子畸形率升高, 并均有明确的剂量-反应关系, 说明铅确实能损伤小鼠的生精功能, 这与国内报道相一致^[6,7]。有研究报道, 铅可通过睾丸屏障进入睾丸组织内, 且在睾丸内有一定的蓄积作用, 损伤睾丸的生精细胞^[6]。有文献报道, 铅可对睾丸组织产生脂质过氧化作用, 使大鼠血和睾丸匀浆中MDA升高, 抗氧化酶SOD、GSH-Px降低^[8], 组织病理学发现睾丸曲细精管层次减少, 管腔中精子数减少, 生精细胞变性、坏死。从上述文献报道中可知, 由于铅能透过血睾屏障, 在睾丸内蓄积对生精细胞产生脂质过氧化作用, 损伤了生精细胞, 使生精细胞数量减少, 结构和功能受损, 因而使产生的精子数量减

少, 质量下降, 精子活动度下降, 活精子率减少, 精子畸形率升高。

本研究还发现, 染毒醋酸铅40mg/kg可使睾丸初级精母细胞染色体畸变率升高, 且出现环状和链状多价体, 对染色体发生至少2次以上的损伤产生相互易位, 说明铅可损伤染色体致睾丸初级精母细胞染色体畸变率和精子畸形率升高, 影响精子的运动, 使精子活动度下降, 损害了小鼠的生殖功能。因此, 加强预防铅对男工及其子代健康的影响是一项十分重要的工作。

参考文献:

[1] 沈彤. 铅对男(雄)性生殖生育的影响研究现状[J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28(6): 342-352
 [2] 周景明, 张文龙. 铅对动物的生殖毒性[J]. 动物医学进展, 2000, 21(4): 126-127
 [3] 黄勤, 黄幸纾. 工业品六六六对小鼠精子影响研究[J]. 浙江医科大学学报, 1987, 16(1): 9-11
 [4] 高青. 一种改进的小鼠精子畸形检测方法[J]. 卫生研究, 1989, 18(1): 13

- [5] 张桥. 卫生毒理学基础 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 249-251.
- [6] 江泉观, 于永强. 雄(男)性生殖毒理学 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1994. 112-117.
- [7] 丁训诚, 蒋学之, 顾祖维, 等. 男性生殖毒理学 [M]. 北京: 中国人口出版社, 1997. 93-94.
- [8] 崔金山, 王薛君, 张玉敏, 等. 铅对大鼠某些内分泌腺脂质过氧化作用 [J]. 卫生毒理学杂志, 1995, 9 (4): 245-247.

丙溴磷对家兔大脑脂质过氧化和一氧化氮浓度的影响

林立, 张强, 张春之, 隋桂英

(济宁医学院职业卫生与环境医学研究所, 山东 济宁 272013)

摘要: 为探讨丙溴磷对家兔脑组织脂质过氧化和一氧化氮浓度的影响, 将家兔分为 2 个剂量组经皮肤染毒丙溴磷, 于染毒前和染毒后 5 d、10 d 分别测定各组大脑组织中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和维生素 E (Vit E)、一氧化氮 (NO) 浓度。结果染毒后家兔脑组织 GSH-Px、SOD 活性明显增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), Vit E、NO 浓度显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并呈一定的剂量-效应关系。提示丙溴磷所致的家兔脑组织脂质过氧化增强与 NO 浓度降低相互促进, 并可能是脑功能受损的原因之一。

关键词: 丙溴磷; 脂质过氧化; 一氧化氮; 脑功能; 家兔

中图分类号: R595.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)05-0317-02

Effects of profenofos on LPO level and NO concentration in brain of rabbits

LIN Li, ZHANG Qiang, ZHANG Chun-zhi, SUI Gui-ying

(Institute for Occupational Health and Environmental Medicine, Jining Medical College, Jining 272013, China)

Abstract: Rabbits were divided into two exposed groups with various doses of profenofos. The activities of GSH-Px, SOD and the concentrations of Vit E, NO in rabbit brains of both groups were measured before poisoning and 5th day, 10th day after poisoning. Result showed that the activities of GSH-Px and SOD were increased while the concentrations of Vit E and NO were decreased significantly than those before poisoning and control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Profenofos could enhance LPO and the reduced production of NO in brain which might be one of mechanisms of brain impairment function induced by profenofos poisoning.

Key words: Profenofos; LPO; NO; Brain function; Rabbit

胆碱酯酶活性抑制以外的毒性作用, 是目前有关有机磷酸酯类农药中毒研究的重要内容。脂质过氧化是机体大多数细胞和组织损伤过程中发生的共同通路之一, 而且有时是较早期的变化。本研究探讨了丙溴磷对脑组织脂质过氧化和一氧化氮浓度的影响, 旨在为有机磷酸酯类农药中毒时中枢神经系统的损伤机制研究及防治提供更细致依据。

1 研究对象与方法

1.1 实验动物及分组

选择 3 5 月龄的健康白兔 42 只作为实验对象, 雌雄各半, 体重 3.0~3.5 kg, 由济宁医学院实验动物中心提供。将家兔随机分为 A (高剂量组)、B (低剂量组)、C (对照组) 3 组, A、B 组每组 12 只, C 组 18 只。

1.2 实验仪器与试剂

722 光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂), XHF-1 高速分散器 (上海金达生化仪器公司), RC5Cplus 高速冷冻离心机

(美国科峻公司), 738 低温冰箱 (美国 Foma Scientific 公司), 77% 丙溴磷原品 (青岛农药厂), GSH-Px、SOD、Vit E、NO 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.3 动物染毒及标本制备

动物染毒剂量分别为 A 组: 0.08 g/(kg·d), B 组: 0.02 g/(kg·d), 染毒前将丙溴磷原品用丙酮稀释, 使 1ml 丙酮中所含丙溴磷的量为该家兔每天的染毒量; C 组用 1ml/d 的丙酮涂皮。各组家兔均采用背部皮肤吸收的方式: 家兔背部剪毛成 4 cm×5 cm 区域, 染毒时用注射器将染毒液注入剪毛区域, 使其均匀弥散, 迅速用双层聚乙烯膜将该区域覆盖并用胶布固定, 当天染毒结束后 (即染毒 6 h 后), 去掉聚乙烯膜, 并用清水反复清洗染毒区域。染毒时间为 6 h/d, 共 10 d。分别对染毒前随机取的对照组 6 只家兔、染毒后 5 d 每组各随机取的 6 只家兔、染毒后 10 d 各组剩余的家兔, 进行脑组织 GSH-Px、SOD、Vit E、NO 的测定。

脑组织匀浆液的制备: 将家兔处死的同时, 迅速取出脑组织, 剔除脂肪组织, 用 0.9% 冰氯化钠溶液 (1~2 °C) 快速洗去血浆, 并迅速用滤纸拭干、称重, 用高速分散器在 1~2 °C 环境下进行匀浆, 然后加入 9 倍于其质量的 0.86% 冰氯化

收稿日期: 2003-03-19; 修回日期: 2003-05-08

作者简介: 林立 (1967-), 男, 副教授, 主要研究方向为物理因素职业卫生。