

丙烯腈对雄性大鼠生殖内分泌系统影响的研究

张玉敏 马明月 李海山 崔金山

摘要 目的 探讨丙烯腈(AN)对雄性生殖内分泌系统的影响,为保护男工健康提供科学依据。方法 应用RIA测定大鼠血清和睾丸匀浆中T、LH、FSH和E₂水平,并对睾丸、附睾做光、电镜组织病理学检查。结果 皮下注射染毒AN 38天各组大鼠各检测指标均未发现有意义的改变;染毒77天25mg·kg⁻¹组血清中T下降,LH升高,睾丸中T含量下降,LH、FSH、E₂均升高;光、电镜可见间质细胞及生精上皮受到不同程度的损害。结论 丙烯腈可对雄性生殖内分泌系统产生损害作用,影响血清及睾丸匀浆中性激素水平,可能危害工人及子代健康,应引起高度重视。

关键词 大鼠 丙烯腈 T LH FSH E₂

Effects of Acrylonitrile on Reproductive and Endocrine System of Male Rats Zhang Yumin, Ma Mingyue, Li Haishan, et al. Department of Toxicology Shenyang Medical College Shenyang, Liaoning 110031

Abstract **Objective** To study the effects of acrylonitrile (AN) on reproductive and endocrine system of male workers in order to protect their health. **Methods** Their levels of testosterone (T), luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) and estradiol (E₂) were determined in serum and testis homogenate. Histopathological examinations were performed for testis and epididymides with light and electron microscopy. **Results** No significant changes were found in rats 38 days after subcutaneous injection of AN. Seventy-seven days after exposure to AN of 25 mg/kg body weight, serum levels of T decreased and LH increased, and testis levels of T decreased and LH, FSH and E₂ increased; and it was found that interstitial cells and spermatogenic epithelium were damaged to different extent. **Conclusion** Importance should be attached to the fact that AN can damage reproductive and endocrine system in male rats, changing their serum and testis homogenate levels of hormones, which may cause impairment to health of the workers and their offspring.

Key words Rat, Acrylonitrile, Testosterone(T), Luteinizing hormone(LH), Follicle stimulating hormone(FSH), Estradiol(E₂)

丙烯腈(Acrylonitrile, AN)为腈纶纤维、丁腈橡胶、ABS工程塑料和合成树脂等有机合成单体及其他化工原料,其产量在我国化工产品中居前,是环境中特别是职业环境中重要的空气污染物之一^[1]。由于接触的人群范围广,数量亦较多,因而造成的职业危害亦较严重。近年来,各国对其一般毒性、致突变、致癌作用研究较广泛^[1-4],但对生殖内分泌系统可能造成的危害报道甚少^[5],为深入探讨其对生殖内分泌系统的损害作用及其规律,进行本研究。

1 材料与方法

1.1 受试物

丙烯腈由上海试剂三厂生产化学纯试剂,批号94210,纯度>99%,含HCN 0.05%。

1.2 实验动物及分组

选体重180~220克健康性成熟的雄性Wistar大鼠80只(中国医科大学实验动物中心提供),随机分为对照组、5mg·kg⁻¹、15mg·kg⁻¹和25mg·kg⁻¹丙烯腈

染毒组,每组20只。

1.3 动物处置

等体积不同浓度用双蒸水配成丙烯腈水溶液,每天现用现配,按0.1ml·100g⁻¹体重,对照组给等体积生理盐水,皮下注射1次·d⁻¹连续染毒77天。于染毒第38天和第77天每组随机取10只,经腹主动脉采集血样然后处死动物,进行大体剖检和组织病理学检查。

1.4 观测指标及实验方法

观察一般中毒症状和体征,每周称体重一次。血样和睾丸组织匀浆用于测定睾酮(T)、促黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)和雌二醇(E₂)含量。上述各指标测定均采用RIA,试剂盒由天津放射研究所提供,按试剂盒方法测定^[6]。处死动物称量睾丸、附睾重量并对全部大鼠做光镜,25mg·kg⁻¹组随机选取3只大鼠做电镜组织病理学检查。

1.5 统计方法

应用SAS软件在486微机上进行相应的t检验、F检验和q检验。

2 结果

2. 1 生长发育及中毒症状

对照组及各染毒组大鼠生长发育良好，染毒各组各周体重与对照组相应各周体重比较差异均无显著性 ($P>0.05$)，各染毒组进食、饮水量均正常，未观察到任何明显的中毒症状和体征。对照组和各染毒组大鼠血中 GOT 和 GPT 酶活性均在正常值范围内，GOT、

GPT 活性各染毒组与对照组比较差异均无显著性 ($P>0.05$)。

2. 2 染毒 33 天雄性大鼠血清中性激素水平
结果见表 1。各指标未见明显改变。

2. 3 染毒 33 天雄性大鼠睾丸匀浆中性激素水平
结果见表 2。各指标未见明显改变。

表 1 染毒 33 天雄性大鼠血清中各指标测定结果 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	<i>n</i>	T (nmol·L ⁻¹)	LH (IU·L ⁻¹)	FSH (IU·L ⁻¹)	E ₂ (pmol·L ⁻¹)
对照组	10	8.84±5.41	1.69±0.65	1.71±0.92	98.50±47.44
5mg·kg ⁻¹	10	10.66±3.70	1.48±0.72	1.74±0.68	100.17±30.64
15mg·kg ⁻¹	10	8.77±3.80	2.21±0.78	1.69±0.45	92.56±27.42
25mg·kg ⁻¹	10	8.08±4.59	2.19±0.92	2.56±1.26	103.11±53.99

表 2 染毒 33 天大鼠睾丸匀浆中各指标测定结果 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	<i>n</i>	T (nmol·L ⁻¹)	LH (IU·L ⁻¹)	FSH (IU·L ⁻¹)	E ₂ (pmol·L ⁻¹)
对照组	10	8.96±4.69	2.48±0.71	1.10±0.42	188.42±104.70
5mg·kg ⁻¹	10	7.78±4.73	2.31±0.64	1.21±0.64	169.70±98.24
15mg·kg ⁻¹	10	8.71±3.12	2.09±0.62	1.76±0.30	186.22±100.14
25mg·kg ⁻¹	10	7.13±3.12	2.99±1.02	1.52±0.60	179.78±99.27

2. 4 染毒 77 天雄性大鼠血清中性激素水平

从表 3 可见，血清中 T 含量随染毒剂量增加而逐渐下降，呈明显剂量-效应关系 $r=-0.5437$ ($P<0.01$)，至 25mg·kg⁻¹ 组血清中 T 含量明显低于对照

组，差异有高度显著性 ($P<0.01$)，而血清中 LH 随染毒剂量增加而代偿性升高，呈显著剂量-效应关系 $r=0.3905$ ($P<0.05$)，从 15mg·kg⁻¹ 组开始与对照组差别有显著意义 ($P<0.05$)。

表 3 染毒 77 天雄性大鼠血清中各指标测定结果 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	<i>n</i>	T (nmol·L ⁻¹)	LH (IU·L ⁻¹)	FSH (IU·L ⁻¹)	E ₂ (pmol·L ⁻¹)
对照组	10	15.30±5.68	2.02±0.64	2.52±1.18	97.44±58.49
5mg·kg ⁻¹	10	14.61±7.16	3.15±1.66	2.19±1.14	92.27±36.83
15mg·kg ⁻¹	10	10.23±5.04	5.19±0.70*	2.69±1.18	107.93±29.12
25mg·kg ⁻¹	10	5.32±5.51**	5.63±1.74*	3.30±0.62	96.32±46.26

*与对照相比差异有显著意义 $P<0.05$ **与对照相比差异有非常显著意义 $P<0.01$

2. 5 染毒 77 天雄性大鼠睾丸匀浆中性激素水平

表 4 中睾丸匀浆 T 含量随染毒剂量增加而逐渐下降，至 25mg·kg⁻¹ 组与对照组比较差异有非常显著意义 ($P<0.01$)，存在明显的剂量-效应关系 $r=-$

0.6846 ($P<0.01$)。而睾丸匀浆中的 LH、FSH、E₂ 随染毒剂量增加而升高，有明确的剂量-效应关系，相关系数依次为 0.731 1、0.551 0、0.545 1， P 值均小于 0.05。

表 4 染毒 77 天大鼠睾丸匀浆中各指标测定结果 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	<i>n</i>	T (nmol·L ⁻¹)	LH (IU·L ⁻¹)	FSH (IU·L ⁻¹)	E ₂ (pmol·L ⁻¹)
对照组	10	13.96±4.69	2.42±0.80	1.07±0.81	114.63±72.41
5mg·kg ⁻¹	10	11.27±4.73	2.99±1.09	1.44±0.42	188.36±166.52
15mg·kg ⁻¹	10	9.93±4.21	4.15±1.08*	1.58±0.30	309.81±71.56*
25mg·kg ⁻¹	10	6.71±4.23**	5.89±1.42**	1.97±0.21**	316.50±80.41*

*与对照相比差异有显著意义 $P<0.05$ **与对照相比差异有非常显著意义 $P<0.01$

2.6 大鼠睾丸和附睾组织病理学检测结果

染毒 38 天和 77 天各组大鼠大体剖检未发现与染毒有关的病理学改变。各染毒组大鼠睾丸和附睾重量与对照组比较差异均无显著意义 ($P > 0.05$)。

光镜检查: 染毒 38 天各组大鼠睾丸和附睾均未发现有意义的病理学改变。染毒 77 天 $15\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组有 2 只大鼠 (2/10) 光镜可见少量睾丸间质细胞水肿, 轻度变性, 曲细精管层次紊乱, 有少量精细胞脱落和变性, 附睾输精管内精子数量减少。 $25\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组有 4 只大鼠 (4/10) 发现与 $15\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组相类似的病理变化, 但程度较重, 少数曲细精管层次紊乱、变薄, 间质细胞除水肿外尚有少数变性、坏死。

电镜检查: 仅在 $25\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组随机选取 3 只大鼠进行了电镜观察, 结果发现, 染毒 38 天大鼠睾丸间质细胞线粒体肿胀, 嵴变宽, 滑面内质网肿胀, 粗面内质网少量脱颗粒, 支持细胞亦见线粒体肿胀, 精原细胞核膜皱缩, 核染色质凝集。染毒 77 天大鼠睾丸间质细胞可见线粒体肿胀, 嵴消失, 有的线粒体破碎, 粗面内质网明显脱颗粒, 支持细胞内线粒体肿胀和破碎, 精原细胞膜皱缩、破溃, 核膜消失, 染色质凝集, 附睾和其他结构未见异常。

3 讨论

本研究结果发现皮下注射染毒 77 天可见血清和睾丸匀浆中的 T 随染毒剂量增加而下降, 剂量达 $25\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 血清和睾丸匀浆中的 T 水平明显低于对照组, 差异有高度显著性 ($P < 0.01$), 与染毒剂量呈明显的负相关。说明染毒时间延长, 损伤效应的累积, 致使丙烯腈损伤间质细胞合成和分泌睾酮的效应明显显现出来, 致使 T 水平下降。AN 及其代谢产物 2-氰环氧乙烷 (Cyanoethylene oxide, CEO) 均具有较强的亲电性和氧化性^[5], 引起睾丸间质细胞、支持细胞及精原细胞的生物膜肿胀、变性甚至坏死, 产生脂质过氧化作用, 或者 AN 与睾丸细胞中的 DNA 共价结合, 使 DNA 合成受抑制^[7], 影响膜上的酶蛋白的合成和睾酮合成所需的一系列酶的活性发生改变, 因而使睾酮的合成受到损害, 同时膜上的 LH 受体亦可受到损害, 即使垂体分泌的 LH 增加, 由于 LH 受体受损使 LH 调控睾酮分泌的功能受损, 因而使血清和睾丸匀浆中 T 水平下降^[8]。

本研究结果还发现, 染毒 77 天血清和睾丸匀浆中的 LH、FSH 均随染毒剂量增加和血清中 T 的下降而升高, 且与染毒剂量呈正相关, 剂量达 $15\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

时血清和睾丸匀浆中 LH 水平均与对照组比较差异有高度显著性 ($P < 0.01$), 这可能是由于血清中和睾丸中 T 的下降, 通过下丘脑—垂体—睾丸轴系的负反馈调节, 促进下丘脑释放 GnRH (促性腺激素释放激素), 进而促使垂体分泌 LH 增加, 使 LH 升高^[9]。血清和睾丸匀浆中 FSH 的升高除受睾酮调节外, 主要是由于丙烯腈损伤了支持细胞使其分泌的抑制素减少, 使垂体分泌 FSH 的抑制作用减少, 因而使垂体 FSH 分泌增加, 致使血和睾丸中的 FSH 升高^[9]。至于血清和睾丸中 E_2 的升高原因较复杂, 可能是 AN 直接刺激支持细胞使 E_2 合成增加, 或/和由于 FSH 的升高, 刺激支持细胞将 T 芳香化转变为 E_2 ^[10], 因而致使血清和睾丸中 E_2 升高, 其确切原因尚需深入研究。

总之, 丙烯腈及其代谢产物 CEO 可损伤间质细胞及生精上皮细胞, 影响了 T 的合成分泌功能而使睾酮下降, 由 T 下降产生的负反馈作用代偿性使 LH、FSH 升高。 E_2 的升高机制尚不十分清楚。由于丙烯腈可对雄性生殖内分泌系统造成损害作用, 因此丙烯腈对接触男工及其子代健康的影响应引起高度重视。

4 参考文献

- 1 张贵利, 戴修道. 丙烯腈的毒作用研究进展. 中国公共卫生学报, 1998, 17 (3): 190
- 2 Lambotte-Vandepare. M and Duverger-Van Bogavertm. Genotoxic properties of acrylonitrile. Mutat Res, 1984, 134: 49
- 3 Saillenfait AM, Payan JP, Langonne I, et al. Modulation of acrylonitrile induced embryotoxicity in vitro by glutathione depletion. Arch Toxicol, 1993, 67 (3): 164
- 4 IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 1982, 4 (suppl): 25
- 5 Tandon R, Saxena DK, Chandra SV, et al. Testicular effects of acrylonitrile in mice. Toxicol Lett, 1988, 42 (1): 55
- 6 天津放射研究所. T、FSH、LH、 E_2 放射免疫测定试剂盒说明书. 1998
- 7 19Ahmed AE, Abdel-Rahman SZ, Nour-al-Deen AM. Acrylonitrile interaction with testicular DNA in rats. J Biochem Toxicol, 1992, 7 (1): 5
- 8 江泉观, 于永强, 主编. 雄 (男) 性生殖毒理学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1994. 31
- 9 丁训诚, 蒋学之, 顾祖维, 等. 主编. 男性生殖毒理学. 北京: 中国人口出版社, 1997. 56
- 10 程治平, 主编. 内分泌生理学. 北京: 人民卫生出版社, 1984. 303

(收稿: 1998-07-02 修回: 1998-08-10)