

丙烯腈对小鼠精子生成的影响

李海山, 马明月, 张玉敏, 崔金山

(沈阳医学院毒理学教研室, 辽宁 沈阳 110031)

摘要: 目的 研究丙烯腈对小鼠精子生成的影响。方法 经皮下注射丙烯腈 35 天, 检测雄性小鼠的精子数量、活动度、精子畸形率。结果 剂量达 $6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$ 时, 小鼠精子活动度即受影响, 且随染毒剂量增加直线运动精子数明显减少 ($r=-0.57$, $P<0.01$), 静止精子数增加 ($r=0.30$, $P<0.05$); 精子畸形率亦增高, 且存在剂量-效应关系 ($r=0.52$; $P<0.01$)。结论 丙烯腈对小鼠的精子生成和发育具有一定的损害作用。

关键词: 丙烯腈; 小鼠; 精子生成

中图分类号: O625.123; Q492.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(1999)06-0333-02

Effect of acrylonitrile on the spermatogenesis in mice

LI Hai-shan, MA Ming-yue, ZHANG Yu-min, Cui Jin-shan

(Department of Toxicology, Shenyang Medical College, Shenyang 110031, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of acrylonitrile on the spermatogenesis in mice. **Method** The amount, motility and deformity of sperm of mice were determined 35 days later after Sc. injection of acrylonitrile. **Result** At the level of 6mg/kg , the sperm motility was affected significantly, the number of sperm moving straightly was decreased with the increase of acrylonitrile dose ($r=-0.57$, $P<0.01$), while the amount of inactive sperms increased ($r=0.30$, $P<0.05$), and the rate of sperm deformity rate of sperm increased with a dose-effect relationship ($r=0.52$, $P<0.01$). **Conclusion** Acrylonitrile can damage spermatogenesis in mice.

Key words: Acrylonitrile; Mice; Spermatogenesis

丙烯腈 (AN) 是有机合成工业的重要单体, 近年来对其致畸性、致癌性、肝脏毒性等已开始深入研究^[1,2]。本实验通过皮下注射丙烯腈, 观察精子畸形发生率、精子数及精子活动度来探讨 AN 对小鼠精子生成及发育的影响。

1 材料与方法

1.1 丙烯腈

由上海试剂三厂提供, 化学纯, 纯度 $\geq 99\%$, 含氰酸 (HCN 计) 0.05% 。

1.2 实验动物及处置

选用沈阳医学院实验动物研究中心提供的昆明种雄性健康成熟小鼠 60 只, 体质量 $20\sim 24\text{g}$ 。按体质量随机区组分为阳性对照组, 阴性对照组, 3 、 6 、 9 、 $12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 丙烯腈染毒组。各染毒组按设计剂量将丙烯腈用生理盐水配成相应浓度, 按 $0.1\text{ml}\cdot 10\text{g}^{-1}$ 皮下注射, 临用时现配; 连续染毒 35 天。阳性对照组给予环磷酸胺 $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 按 $0.2\text{ml}\cdot 10\text{g}^{-1}$ 腹腔注

射, 每日 1 次, 连续 5 日。阴性对照组给予等容积生理盐水皮下注射, 每日 1 次, 连续给予 35 日。

1.3 观测指标及方法

1.3.1 一般状况 每天观察动物一般状况, 每周称质量 1 次。

1.3.2 精子活动度 参照黄勤方法^[3], 取一侧附睾置于 1ml 精子营养液中剪碎制成精子悬液, 于 37°C 孵育 20 分钟, 充入红细胞计数板内, 在高倍镜下计数 200 个精子。

1.3.3 精子计数 将精子悬液置于 $60\sim 80^\circ\text{C}$ 水浴中处死精子, 按红细胞计数法, 计数 5 个中方格内精子数, 记为 a , 然后按公式 $a\times 50\,000=\text{精子数量}(10^6\cdot\text{ml}^{-1})$, 计算出每侧附睾每毫升精子悬液中精子的数量。

1.3.4 精子畸形率检查 参照高青方法制片^[4], 每只动物计数 1 000 只完整精子, 畸形分类及判定参照黄幸舒方法^[5], 计算精子畸形率。

1.3.5 统计方法 对精子数量进行方差分析, 精子畸形率用 poisson 分布检验, 精子活动度及畸形率构成比用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 一般状况

收稿日期: 1999-04-07; 修回日期: 1999-06-28

作者简介: 李海山 (1972—), 男, 河北人, 学士学位, 助教, 主要从事生殖毒理学研究。

仅 $12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$ 剂量组动物在染毒后 5 分钟较兴奋, 约持续 15 分钟; 染毒期间小鼠饮水进食均正常, 各剂量组小鼠体重增长与对照组比较差异无显著性 ($P>0.05$)。

2 2 丙烯腈染毒小鼠精子活动度构成比

结果见表 1。

表 1 丙烯腈染毒 35 天小鼠精子活动度构成比 (%)

组别	n	直线运动	方向不定	原地运动	静止不动
阴性对照组	10	20.00	38.80	22.00	19.20
$3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	10	17.85	38.45	24.75	18.95
$6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	10	16.83	32.50	25.22	25.44
$9\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	10	16.05	35.20	22.50	26.25
$12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	10	11.20	38.85	25.70	24.25
阳性对照组	10	3.30	18.30	27.00	51.40

由表 1 可见, 6 、 9 、 $12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$ 各剂量组精子活动度发生明显改变, 与阴性对照组比较差异有高度显著意义 ($P<0.01$), 且随染毒剂量增加直线运动精子数明显减少 ($r=-0.57$, $P<0.01$), 静止不动精子数明显增加 ($r=0.30$, $P<0.05$)。

2 3 丙烯腈染毒小鼠精子计数及精子畸形率

结果见表 2。

表 2 丙烯腈染毒 35 天小鼠精子数及精子畸形率 ($n=10$)

组别	精子数 ($10^6\cdot\text{ml}^{-1}$) 观察		畸形精子畸形率	
	($\bar{x}\pm s$)	精子数	精子数	(%)
阴性对照组	1.17 ± 0.67	10 000	139	13.9
$3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	0.98 ± 0.52	10 000	137	13.7
$6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	0.74 ± 0.12	10 000	233	23.3**
$9\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	0.97 ± 0.38	10 000	339	33.9**
$12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	0.73 ± 0.19	10 000	283	28.3**
阳性对照组	0.92 ± 0.45	10 000	457	45.7

**与阴性对照组相比差异有高度显著性 $P<0.01$ 。

由表 2 可见, 染毒丙烯腈各组精子计数与阴性对照组比较, 差异无显著性 ($P>0.05$)。6、9、 $12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$ 各剂量组精子畸形率与阴性对照组比较差异均有高度显著性 ($P<0.01$), 且随染毒剂量增大, 精子畸形率也增高 ($r=0.52$, $P<0.01$)。

2 4 丙烯腈染毒小鼠畸形精子构成比

结果见表 3。

表 3 丙烯腈染毒 35 天小鼠精子畸形构成比 (%) ($n=10$)

组别	无钩	不定型	胖头	香蕉	双头
阴性对照组	35.25	39.57	16.55	7.91	0.72
$3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	26.28	56.20	10.95	5.84	0.73
$6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	32.86	45.71	11.90	9.05	0.48
$9\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	29.79	46.61	11.80	11.21	0.59
$12\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{AN}$	25.09	47.35	15.19	12.37	0.00
阳性对照组	25.16	49.02	15.10	10.72	0.00

由表 3 可见, 丙烯腈组与阴性对照组自然畸形构成比相比较, 差异无显著性 ($P>0.05$)。

3 讨论

本研究结果表明, 皮下注射 AN 剂量达 $6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 小鼠精子畸形率即明显增高, 且存在剂量效应关系, 与以往吸入染毒研究结果一致^[6]。目前认为精子形态是由多基因遗传控制, 引起遗传性精子损伤的化学物质可使精子头部畸形, 而精子头部损伤又与生殖细胞突变高度相关^[7]。AN 及其代谢产物 2-氰环氧乙烷 (CEO) 均有亲电子性, 能与组织大分子发生共价结合, 因而有可能形成未修复或修复错误的 DNA。Ahmed 等^[8]研究表明 AN 可直接损害睾丸, 并可作为多效因子使睾丸组织的 DNA 发生烷化作用损伤多基因。提示 AN 及其代谢产物造成生殖细胞 DNA 损伤可能是导致精子畸形的主要机制。

剂量达 $6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 精子活动度亦发生改变, 随染毒剂量增加直线运动精子数明显降低 ($r=-0.57$; $P<0.01$), 静止不动精子数明显增加 ($r=0.30$; $P<0.05$)。一般认为, 畸形精子增多可导致精子活动度的下降; Tandon 等^[9]报道, 雄性小鼠经口染毒 AN 后可引起睾丸山梨醇脱氢酶和酸性磷酸酶活性降低, 表明 AN 尚可干扰生精细胞能量代谢, 从而影响精子发育和成熟, 这可能是本研究中精子活动度下降的原因。

本研究中, AN 对小鼠精子数量的影响与阴性对照组比较差异无显著性, 表明本实验剂量下染毒 35 天对精子数尚未产生影响。

综上所述, 表明 AN 对小鼠生精过程产生了一定程度的影响。故建议在修订丙烯腈车间空气中最高容许值时应充分考虑其对生殖系统的影响作用, 以更好地更全面地保护接触者健康。

参考文献:

- [1] 肖卫. 丙烯腈的肝脏毒性作用研究 [J]. 卫生研究, 1996, 25 (2): 74.
- [2] 张正东, 戴修道. 丙烯腈毒理学研究进展 [J]. 中国公共卫生学报, 1994, 13 (4): 248.
- [3] 黄勤, 黄幸纾. 工业品六六六对小鼠精子影响的研究 [J]. 浙江医科大学学报, 1987, 16 (1): 9.
- [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] 黄幸纾. 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985. 264.
- [6] 王振全, 李芝兰, 肖卫. 丙烯腈对小鼠精子致畸的研究 [J]. 兰州医学院学报, 1995, 21 (3): 130.
- [7] 蒋学之, 等. 编译. 生殖医学 [M]. 上海: 上海翻译出版公司, 1991. 148.
- [8] Ahmed AE, Abdel SZ, Nour AM. Acrylonitrile interaction with testicular DNA in rats [J]. J Biochem Toxicol, 1992, 7 (1): 5.
- [9] Tandon R, Saxena DK, Chandra SV, et al. Testicular effects of acrylonitrile in mice [J]. Toxicol Lett, 1988, 42 (1): 55.