

重质芳烃对雄性小鼠生殖细胞遗传效应的研究

王安莲¹, 冯学庆¹, 胡道华²

(1. 安徽省职业病防治研究所, 安徽 合肥 223002; 2. 安庆石化总厂医院, 安徽 安庆 256001)

摘要:目的 探讨重质芳烃对雄性小鼠生殖细胞遗传效应。方法 通过小鼠精子畸形实验和小鼠睾丸染色体畸变实验进行遗传毒性研究。结果 在重质芳烃高剂量组, 小鼠精子畸形率、睾丸染色体结构畸变率、性染色体早分离率、常染色体分离率与阴性对照组比较, 差异呈高度显著性。结论 重质芳烃对雄性小鼠生殖细胞有一定的遗传毒性, 应重视重质芳烃对接触人群的潜在危害, 并加强劳动卫生防护和健康监护。

关键词: 重质芳烃; 雄性小鼠; 精子畸形; 染色体畸变; 遗传效应

中图分类号: O625.1; R994.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)02-0076-03

Studies on genetic effects of heavyweight aromatic hydrocarbon on germ cells in male mice

WANG An-lian¹, FENG Xue-qing¹, HU Dao-hua²

(1. Anhui Institute for Occupational Health, Hefei 223002, China; 2. Anqing Petrochemical Factory Hospital, Anqing 256001, China)

Abstract: **Objective** To study genetic effects of heavyweight aromatic hydrocarbon (HAH) on germ cells in male mice. **Methods** Sperm deformity test and testes chromosome aberration test were used in the studies. **Results** Higher rates of sperm deformity, testes aberration, early separation of sex chromosome and separation of autosome were observed in male mice exposed to high dose of HAH with highly statistical significance, as compared with those in control group. **Conclusions** HAH had certain genotoxicity on germ cells in male mice. Importance should be attached to potential hazard caused by HAH and labor hygienic protection and health monitoring should be strengthened for those exposed to HAH.

Key words: Heavyweight aromatic hydrocarbon; Male mice; Sperm deformity; Chromosome aberration; Genetic effect

重质芳烃是应用催化裂解方法从回炼油中抽提出来的副产品, 主要用于化工原料。重质芳烃中主要成分为多环芳烃, 含量达 95%~99%。多环芳烃类物质 (PAH) 的研究国内外已有很多报道, 重质芳烃的危害是否同 PAH, 其毒性及危害, 特别是对职业接触人群及使用者有何影响, 国内未见报道。本文通过小鼠精子畸形实验和小鼠睾丸细胞染色体畸变实验, 研究重质芳烃对雄性生殖细胞的影响。

1 材料和方法

1.1 受试物及主要试剂

重质芳烃由某石化企业提供, 黄褐色粘稠性液体, 相对分子质量 342, 相对密度 1.101 2, pH7.0, 40℃饱和蒸气压为 720 Pa。石油经催化裂解后的 0.3 MPa, 330~350℃的回炼油 (芳烃抽提装置原料油) 以糠醛和溶剂油为溶剂, 通过芳烃抽提装置将重质芳烃抽提出来, 抽余油返回催化裂化装置回炼。抽提温度 40~220℃, 出口采样温度 80~90℃, 环磷酰胺

(cp) 为上海华联制药公司生产 (批号: 990504), 秋水仙素由上海卫辉化学试剂厂生产 (批号: 19980620)。

1.2 实验动物

昆明种小鼠, 安徽医科大学动物实验中心提供。

1.3 小鼠急性经口毒性 LD₅₀测定

设重质芳烃 4 640、2 150、1 000、464 mg/kg 体重量 4 个剂量组, 按《工业化学品毒性鉴定规范及实验方法》^[1]测定经口 LD₅₀。

1.4 小鼠精子畸形实验

选用雄性小白鼠 60 只, 体重 20~22 g, 随机分成 7 组, 每组 8 只。设重质芳烃 1/20LD₅₀、1/10LD₅₀、1/5LD₅₀、1/2LD₅₀ 4 个剂量组, 溶剂对照组用色拉油 (金龙鱼牌), 阴性对照组用蒸馏水, 阳性对照组用环磷酰胺 (30 mg/kg)。按文献[2]制片, 每只动物镜检 1 000 个完整精子, 计算畸形率; 用 χ^2 检验进行统计分析^[3]。

1.5 小鼠睾丸细胞染色体畸变实验

健康雄性小鼠, 体重 25~30 g, 每组 5 只, 实验分组设置同连续 5 d 经口染毒, 饲养至第 14 d, 于

收稿日期: 2002-09-17; 修回日期: 2002-11-11

作者简介: 王安莲 (1963-), 女, 安徽安庆人, 副主任医师, 从事职业医学和毒理学研究。

处死前 6 h 腹腔注射 40 mg/kg 秋水仙素, 按常规方法取睾丸制片, Giemsa 染色。每只小鼠计数 100 个结构完整的中期相细胞, 记录常染色体、性染色体早熟分离数和染色体畸变数, 分别计算染色体早熟分离率和畸变率。数据处理用 χ^2 检验^[3]。

2 结果

2. 1 急性经口毒性实验

重质芳烃 4 个剂量组对两种性别小鼠灌胃后, 观

察 2d, 雌、雄性小鼠经口 LD₅₀ 均为 3 160mg/kg, 属于低毒类。

2. 2 小鼠精子畸形实验

由表 1 可见, 1/2LD₅₀ mg/kg 剂量可引起雄性小鼠精子畸形率升高, 与对照组相比差异有显著性 ($P < 0.05$)。重质芳烃所致精子畸形的类型以无定形、小头、无钩、香蕉形、胖头等头部畸形为主。

表 1 重质芳烃对小鼠精子畸形率的影响

组别	剂量 (mg/kg)	各种精子畸形数 (%)										畸形率 (%)
		检查精 子总数	小头	无钩	香蕉形	胖头	尾折叠	双尾	双头 双尾	其他	总数	
溶剂对照组	20 ml	7 000	24 (0.34)	60 (0.86)	48 (0.69)	9 (0.13)	8 (0.11)			87 (1.24)	236	3.37
实验组	1/20LD ₅₀	7 000	8 (0.11)	94 (1.34)	25 (0.36)	8 (0.11)	8 (0.11)			98 (1.40)	241	3.44
	1/10LD ₅₀	7 000	23 (0.33)	112 (1.60)	10 (0.14)	5 (0.07)	4 (0.57)	1 (0.01)		100 (1.43)	255	3.64
	1/5LD ₅₀	7 000	21 (0.30)	98 (1.40)	28 (0.40)	3 (0.04)	15 (0.21)	3 (0.43)		108 (1.54)	276	3.96
	1/2LD ₅₀	8 000	70 (0.88)	174 (2.18)	62 (0.78)	7 (0.09)	7 (0.09)	44 (0.63)	21 (0.30)	299 (3.74)	685	8.56*
阳性对照组	30	5 000	64 (1.28)	137 (2.74)	48 (0.96)	31 (0.62)	8 (0.16)	20 (0.40)	10 (0.20)	140 (2.80)	458	19.16**
阴性对照组	20	3 000	17 (0.57)	22 (0.73)	7 (0.23)	4 (0.13)	4 (1.20)	6 (0.20)	1 (0.03)	36 (0.13)	97	3.23

与阴性对照组相比 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下表同。

2. 3 小鼠睾丸细胞染色体畸变实验

由表 2 可见, 1/2LD₅₀ mg/kg 剂量组与阴性对照

组比较常染色体早分离率、性染色体早分离率和睾丸结构变化畸形率差异呈高度显著性 ($P < 0.01$)。

表 2 小鼠睾丸染色体畸变实验结果

组别	剂量 (mg/kg.bw)	动物数 (个)	中期相 细胞数 (个)	性染色体早分离		常染色体早分离		染色体结构畸变			
				数目(个)	分离率(%)	数目(个)	分离率(%)	断片(%)	断裂(%)	微小体	畸变率(%)
实验组	1/20LD ₅₀	5	500	0	0	3	0.6	7	6	0	2.6
	1/10LD ₅₀	5	500	1	0.2	3	0.6	6	7	0	2.6
	1/5LD ₅₀	5	500	3	0.6	4	0.8	7	7	0	2.8
	1/2LD ₅₀	5	500	42	8.4**	26	5.2**	9	10	7	5.2**
溶剂对照组	20 ml	5	500	3	0.6	5	1.0	5	7	0	2.4
阳性对照组	30	5	500	70	14.0**	38	7.6**	10	12	9	6.2**
阴性对照组	20	5	500	0	0	2	0.4	5	6	0	2.2

3 讨论

小鼠精子畸形实验对于检测环境中化学因素对雄性生殖细胞的遗传物质损伤具有相当高的敏感性, 而且快速、简便、终点明确。但是不同发育阶段的生殖细胞对于化学物质的敏感性不同。小鼠从精原细胞到形成精子至少需 36 d, 因而首次给药 4~5 周后一次性检查获得的小鼠精子畸形率较高, 主要反映的是精原细胞的遗传损伤, 以及部分初级精母细胞早期受到损伤。

精子形成是由生殖细胞的常染色体及性染色体上的不同基因决定的, 精子形态的改变是精子形成基因发生突变的结果^[4]。Topham 指出^[5], y-性连锁基因控制畸形精子的数量, 而常染色基因控制精子畸形的类

型。精子畸形率的增加, 在一定程度上反映雄性生殖细胞的遗传损伤, 畸形率增高, 表明待测物能干扰精子正常生长与成熟, 至少能说明它对精子生成具有潜在有害影响。当环境化学物质使生殖细胞的基因发生突变或干扰了基因的表达过程, 受到诱变损伤的生殖细胞除影响生育力, 引起流产、死胎, 还可造成后代的先天性缺陷等遗传性疾病^[6,7]。

本次研究, 在重质芳烃 1/2LD₅₀ mg/kg 高剂量组小鼠精子畸形率、小鼠睾丸染色体畸变率、常染色体早分离率和性染色体早分离率均显著高于阴性对照组, 说明重质芳烃可能是小鼠雄性生殖细胞遗传损伤的诱变物, 对接触作业人群可能有一定的危 (下转第 81 页)

结果显示, 营养素干预可显著改善铅对血 SOD 活性和肝 GSH 含量的影响, 使一些营养素干预组的 SOD 活性和肝 GSH 含量恢复到正常含量。说明营养素干预可有效降低铅引起的氧化应激反应, 从而保护铅中毒时由于氧化应激而引起的继发性机体损伤。

极差是给予了某种营养素干预的各实验组小鼠血 SOD 活性或肝 GSH 含量的平均值与未给予该营养素的各实验组小鼠该指标平均值的差。营养素配伍的正交表统计分析结果显示: 对于 SOD 活性的改变, 以 NAC 和 Met 的极差最大, 而对于肝 GSH 含量, 以 NAC 和 VitB₁ 的极差最大, 且均有统计学意义。说明该 3 种营养素可有效地改善铅引起的氧化应激反应, 从而保护铅对机体的损伤。同时我们可以看到, 营养素在改善铅氧化应激反应中具有一定的协同作用效果。各实验组小鼠的血 SOD 活性和肝 GSH 含量的均值很好地反映了这一点, 平均值最高的一组正好是同时给予了该两种营养素组。这进一步说明, 虽然单一营养素干预对改善氧化应激有一定的作用, 但如果同时给予多种营养素, 由于营养素间的协同作用, 可以产生更明显的拮抗作用效果。

本实验中, 未见铅对血清 MDA 含量有明显的影响, 说明铅对机体的氧化损伤很可能正处在代偿阶段, 铅对 SOD 活性的影响也间接地证明了这一点。另外虽也未见铅对血 GSH-Px 活性有明显的影响, 但从营养素干预对 GSH-Px 活性的影响中, 我们发现硒营养素干预可显著提高 GSH-Px 活性, 极差为 118.53 U/g Hb, 是硒营养素非干预组均值的 1/2。GSH-Px 是体内重要的含硒酶, 硒是该酶的活性中心。硒营养素干预后, 提升了体内的硒含量, 进而可提高 GSH-Px 活性。我们的实验结果与这一推测一致, 说明本实验结果基本反映了体内的变化。

综合以上的实验结果, 联合投予营养素可明显改

善铅引起的氧化应激反应。这种改善作用以 NAC、Met 和 VitB₁ 的作用最明显。同时我们也看到同时强化多种营养素可取得更强协同作用效果。

参考文献:

- [1] 金亚平, 胡荣, 张军, 等. 营养素在铅中毒防治中的作用 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2002, 20: 392-394.
- [2] 贺锡雯. 中国儿童铅中毒基础研究概况及值得注意的问题 [J]. 中华预防医学杂志, 1999, 33: 265.
- [3] 赖建强, 荫士安. 某些营养素对铅毒性的影响 [J]. 国外医学卫生学分册, 1999, 26 (2): 95-96.
- [4] 遂晓波, 李北利, 金亚平, 等. 铅致幼鼠脑脂质过氧化的实验研究 [J]. 中国医科大学学报, 2002, 31 (3): 184-186.
- [5] McGowan C. Influence of Vitamin B₆ status on aspects of lead poisoning in rats [J]. Toxicol Lett, 1989, 47: 87-93.
- [6] Bratton GR, Zmudzki J, Bell MC, et al. Thiamin (Vitamin B₁) effects on lead intoxication and deposition of lead in tissue: therapeutic potential [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1981, 59: 164-172.
- [7] Ercal N, Treeratphan P, Hammond TC, et al. In vivo indices of oxidative stress in lead-exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2,3-dimercaptosuccinic acid or N-acetylcysteine [J]. Free Radic Biol Med, 1996, 21: 157-161.
- [8] Flora SJ, Kumar D, Das Gupta S. Interaction of zinc, methionine or their combination with lead at gastrointestinal or post-absorptive level in rats [J]. Pharmacol Toxicol, 1991, 68: 3-7.
- [9] Flora SJ, Tandon SK. Beneficial effects of zinc supplementation during chelation treatment of lead intoxication in rats [J]. Toxicology, 1990, 64: 129-139.
- [10] Llobet JM, Domingo JL, Paternain JL, et al. Treatment of acute lead intoxication. A quantitative comparison of a number of chelating agents [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1990, 19: 185-189.
- [11] Othman AI, El Missiry MA. Role of selenium against lead toxicity in male rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 1998, 12: 345-349.
- [12] 庞战军, 周玫, 陈媛. 自由基医学研究方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 121-147.
- [13] Hande Gurer, Nuran Ercal. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2000, 29: 927-945.

州: 浙江科学技术出版社, 1985. 249-270.

(上接第 77 页) 害。再结合现场生产的调查, 重质芳烃采样出口温度达 80~90℃, 车间空气中有部分挥发物。另外, 产品出厂为手工装车, 工人有一定的接触。因此, 笔者认为应当重视重质芳烃对接触人群的潜在危害, 进一步加强对重质芳烃作业环境的监测和作业人群的健康监护。

参考文献:

- [1] 尹松年, 王淑洁, 毕文芳. 工业化学品毒性鉴定规范及实验方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 15-19.
- [2] 黄辛梓, 陈星若. 环境化学物致突变致畸致癌试验方法 [M]. 杭

- [3] 杨树勤. 卫生统计学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 76-86.
- [4] 黄勤. 小鼠精子畸形试验在毒理学上的应用 [J]. 浙江医科大学学报, 1986, 15 (4): 182.
- [5] Topham JC. Chemical mutagens principles and methods for their detection [M]. Vol 8 plenum press, 1983. 201.
- [6] Jeulin G, Feneux D, Serres C, et al. Sperm factors related to failure of human in vitro fertilization [J]. J Rep Fert, 1986, 76: 735.
- [7] Lauwerys R, Roels H, Genet P, et al. Fertility of male works exposed to cadmium, lead or manganese [J]. Am J Epidemiol, 1992, 135: 1208-1209.