

# 苯对雄性小鼠生殖系统的影响

江俊康, 翁诗君

(南通医学院卫生系劳动卫生与职业病学教研室, 江苏 南通 226001)

**摘要:** 目的 探讨苯对雄性小鼠的生殖毒性。方法 以浓度 400 mg/m<sup>3</sup>、2 000 mg/m<sup>3</sup>、10 000 mg/m<sup>3</sup> 的苯给小鼠作静式吸入染毒, 观察精子畸形和睾丸组织病理学改变。结果 染毒组小鼠精子畸形率明显高于阴性对照组, 随着染毒浓度的增加, 畸形率有增加的趋势; 睾丸组织内各期生精细胞减少, 间质细胞排列稀疏, 分裂异常, 这种损害在一定时间内也难以恢复。结论 较高浓度的苯具有一定生殖毒性, 能诱发雄性小鼠生殖细胞的损害。

**关键词:** 苯; 精子畸形; 生殖细胞; 病理损伤

中图分类号: O625.11; R135.12 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)02-0094-03

## Study on the reproductive toxicity of benzene in male mice

JIANG Jun-kang, WENG Shi-jun

(Department of Public Health, Nantong Medical College, Nantong 226001, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the reproductive toxicity of benzene in male mice. **Method** By static inhalation, the sperm deformity and pathological changes of testis were observed in male mice exposed to benzene at different concentrations (400, 2 000, 10 000 mg/m<sup>3</sup>). **Result** The rates of sperm deformity of exposed groups were significantly higher than that of negative control, and the higher the expose concentration of benzene, the higher the rate of sperm deformity. Various stage spermatogenic cells in testis reduced, the interstitial cells were also sparse structurally with the increase of benzene concentration, and these damages were hard to recover within a certain time after exposure. **Conclusion** High concentrations of benzene may lead to a definite pathological damage in testicle cell.

**Key words:** Benzene; Sperm deformity; Testicle cell; Pathological damage

近年来苯的毒性作用越来越受到人们的重视, 但对苯的生殖毒性和遗传毒性研究报道尚不多<sup>[1-3]</sup>。本文进行了小鼠精子畸形实验和睾丸组织病理学观察, 以期探讨苯的生殖毒性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

苯(分析纯), 江苏省如东助剂厂生产。圆柱形有机玻璃静式染毒柜, 每个体积 60 L, 上海市精益有机玻璃制品厂生产; 实验前彻底清洗晾干。ICR 健康成年雄性小鼠 45 只, 体重 24~28 g, 由南通医学院实验动物中心提供。

#### 1.2 方法

1.2.1 吸入染毒 小鼠称重后随机分为 4 组, 每组 5 只, 分别放入对应静式染毒柜中, 加盖, 经加药孔分别向蒸发皿中加入 27、136、683 μl 苯, 使低、中、高染毒组的浓度分别为 400 mg/m<sup>3</sup>、2 000 mg/m<sup>3</sup>、10 000 mg/m<sup>3</sup>, 打开加热灯(苯蒸干后即关闭), 开启小电扇, 进行静式吸入染毒, 计时观察。每天染毒 2 h, 连续 5 d, 染毒时动物禁食禁水。设 1 个阴性对照组, 除不吸入苯蒸气外, 其他条件均同染毒组。

1.2.2 睾丸组织病理学观察 分别在开始染毒后第 8 天(A)和第 35 天(B)分批处死动物, 取睾丸常规 HE 染色制成病理

标本片, 在显微镜下观察组织病理学变化。观察指标为精原细胞、初级精母细胞、精细胞、精子、间质细胞。

1.2.3 小鼠精子畸形实验 雄性小鼠依体重随机分为 5 组, 每组 5 只。设 3 个染毒组, 染毒方法和浓度同方法 1.2.1, 与 1.2.2 共用一个阴性对照组, 另设一个阳性对照组, 腹腔注射环磷酰胺(CITX), 剂量为 40 mg/kg, 连续 5 d。染毒后第 35 天处死动物, 取附睾制片。在高倍镜下, 每只动物计数形态完整、头尾均无重叠的精子 1 000 条; 畸变精子形态的判定标准参照《环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法》<sup>[4]</sup>并分类计数, 计算畸变率。

#### 1.3 资料分析

采用 Stata 统计软件, 对原始实验数据进行方差分析、秩和检验、等级相关分析及相关回归等统计检验。

### 2 结果

#### 2.1 睾丸组织病理学观察

开始染毒后第 8 天取睾丸组织镜下见: 对照组曲细精管内细胞数量多, 精原细胞、初级精母细胞分裂活跃, 精子生成多, 细胞形态未见异常。低、中浓度染毒组精原细胞、初级精母细胞分裂异常, 染色质变淡, 排列稀疏, 数量减少, 精细胞减少, 精子形成减少, 偶见核分裂相。高浓度染毒组精原细胞、初级精母细胞明显肿胀, 数量明显减少, 成熟精细胞减少, 且有个别精细胞坏死现象, 精子形成稀少或无, 间质细胞排列稀疏, 分裂异常。第 35 天各染毒组生精细胞数

收稿日期: 2003-08-10; 修回日期: 2003-11-18

作者简介: 江俊康(1962-), 男, 硕士, 主要从事有机磷农药、重金属中毒防治研究工作。

目减少, 高浓度染毒组精原细胞、初级精母细胞体积变小。

由表 1 可见, 各染毒组与对照组之间进行秩和检验, A、B 两组差异均有显著性。对其作 Spearman 等级相关分析, 可知染毒浓度与细胞分级间存在负相关, 即随着浓度增大, 细胞分级降低, 说明细胞受损越来越严重。A、B 两组各浓度之间进行比较, 2 000 mg/m<sup>3</sup> 染毒组存在差异 ( $\chi^2=15.993$   $P=0.0001$ ), 提示 B 组生殖细胞损伤较 A 组严重。10 000 mg/m<sup>3</sup> 也有加重趋势, 但差异无显著性。可能是苯对生殖系统的损伤较难恢复。

表 1 小鼠生殖细胞分级统计

组别	浓度 (mg/m <sup>3</sup> )	分 级				统计参数
		±	+	++	+++	
A 组	0	6	7	8	4	$\chi^2=47.45$
	400	6	7	9	3	$P<0.01$
	2 000	8	8	8	1	$\rho=-0.3059$
	10 000	12	11	2	0	$P<0.01$
B 组	0	7	8	3	7	$\chi^2=17.691$
	400	6	9	5	5	$P<0.01$
	2 000	11	9	5	0	$\rho=-0.2650$
	10 000	13	6	6	0	$P<0.01$

注: 分级以细胞密度和细胞层数为标准, ±: 一层细胞, 且分布不均匀, 稀疏; +: 一层细胞; ++: 二层细胞; +++: 三层细胞。

## 2.2 苯对小鼠精子畸变率的影响 (表 2)

表 2 苯对小鼠精子畸形发生率的影响

观察 精子数	染毒浓度 (mg/m <sup>3</sup> )				环磷酰胺 (40 mg/kg)
	0	400	2 000	10 000	
1 000	25	47	77	95	218
1 000	17	45	74	95	228
1 000	19	54	69	97	190
1 000	24	54	74	96	152
1 000	21	43	57	90	186
合计	106	243	351	473	974
畸形率 (%)	2.12	4.86	7.02	9.46	19.48

由表 2 可见, 0 mg/m<sup>3</sup>、400 mg/m<sup>3</sup>、2 000 mg/m<sup>3</sup>、10 000 mg/m<sup>3</sup> 4 个组经方差分析,  $F=268.37$ ,  $P<0.001$ , 4 个组精子畸形数差异有显著性。各染毒组及对照组之间, 经 Scheffe 检验两两比较, 精子畸形数差异亦有显著意义 ( $P$  值均小于 0.01)。将染毒浓度经对数变换后与畸形数进行趋势分析,  $R=0.9378$ ,  $P<0.001$ , 差异有显著意义, 即随着吸入苯浓度的增高, 精子畸形数有增大的趋势。

染毒组与对照组畸变精子的分型构成见表 3。由表 3 可见, 苯引起的精子畸形以无定型为主, 而环磷酰胺则以无钩为主。随着染毒浓度的增大, 不定型所占比例逐渐增大, 无钩所占比例逐渐减小。

## 3 讨论与分析

精原细胞经有丝分裂和减数分裂, 生成精子的过程称为精子的发生。精子生成后进入附睾发育成熟。精子的发生与成熟受下丘脑—垂体—性腺轴调控, 垂体前叶可分泌卵泡刺激素 (FSH) 和黄体生成素 (LH)。LH 刺激睾丸间质细胞分泌雄性激素, 主要是睾酮 (T), 它可促进精子的发生, 促进男

表 3 小鼠精子畸形类型及构成比

浓度 (mg/m <sup>3</sup> )	不定型	无钩型	香蕉型	尾折迭	双尾
0	36 (33.96)	54 (50.94)	5 (4.72)	5 (4.72)	6 (5.66)
400	101 (41.56)	99 (40.74)	15 (6.17)	13 (5.35)	15 (6.17)
2 000	148 (42.53)	124 (35.63)	29 (8.33)	32 (9.20)	15 (4.31)
10 000	252 (53.28)	145 (30.66)	25 (5.29)	28 (5.92)	23 (4.86)
环磷酰胺 (40 mg/kg)	322 (33.06)	401 (41.17)	61 (6.26)	124 (12.73)	66 (6.68)

注: 括号内为各浓度组畸形类型的比例。

性生殖管道及附属腺的发育。FSH 与 T 协同作用, 通过支持细胞介导作用于精细胞, 从而促进精子的发生和维持<sup>[5-8]</sup>。

化学物可通过 3 条途径影响雄性生殖系统: (1) 直接损害睾丸组织中各生精细胞、间质和支持细胞, 导致生精功能下降、精子数减少、活力下降、畸形率增加、雄激素分泌减少, 引起生殖器官萎缩; (2) 通过对附性腺的损害, 影响精子在附睾中继续发育过程的能量供给和精子的正常发育, 导致精子活力下降; (3) 通过对下丘脑—垂体—性腺轴调控机制的影响, 干扰下丘脑—垂体系统, 从而影响力功能和生育力、睾丸酮合成减少, 严重时精子生成受干扰<sup>[9]</sup>。

本次实验结果显示: 病理组织学观察染毒组小鼠睾丸组织曲细精管萎缩, 管腔内各种生精细胞明显减少, 间质细胞排列稀疏, 分裂异常。随着染毒浓度的增加, 细胞分级降低, 细胞受损越来越严重, 且这种损伤在停止染毒后一定时间内难以恢复; 在精子畸形试验中, 3 个染毒组的精子畸形率均已达到阴性对照组的 2 倍以上, 按照 Wyrobek 提出的判断标准<sup>[2]</sup>, 苯是小鼠精子畸形试验的阳性物。精子畸形数随着吸入苯浓度的增高而增多。以上结果表明, 苯可能直接作用于睾丸组织, 一方面作用于生精过程, 造成病理损伤, 使精子生成数目减少; 同时对精子的成熟过程造成影响, 使精子形态发生异常改变, 畸变精子数目增加。精子数目和形态的改变均可导致受孕力下降。另一方面, 苯可能通过损伤间质细胞和支持细胞, 引起睾酮分泌减少, 使生精细胞凋亡增多, 影响精子的生成、发育, 造成生殖器官萎缩, 性功能异常<sup>[10]</sup>。至于苯或其代谢产物是否对下丘脑—垂体—性腺轴的调控机制产生影响而使生殖机能下降, 有待进一步的研究。

另外, 本实验结果结合人群调查资料, Savitz 等报道在母亲分娩前 12 个月父亲接触苯, 胎儿不足月危险性增高<sup>[11]</sup>, Mickiney 调查发现小儿白血病与其父亲在母亲妊娠前接触苯显著相关<sup>[12]</sup>, 推测苯可能引起人类生殖系统受损, 导致下一代先天性缺陷, 如先天性心脏病、先天性白血病、智力低下等, 严重的还可致畸胎、不孕等。提示我们应加强对苯接触人群的保护措施及健康监护, 以确保职业人群及下一代的健康。

参考文献:

[1] 肖国兵, 蔡耀章, 林辉, 等. 苯系混合物对男工精液质量的影响

- [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1997, 15 (5): 285-287.
- [2] 朱玉芬, 冯文君, 李书香. 苯对雄性小鼠生殖细胞损伤的研究 [J]. 卫生毒理学杂志, 1989, 3 (4): 228-230.
- [3] 李芝兰, 孙应彪, 付思武, 等. 苯对雄性小鼠生殖系统损伤的实验研究 [J]. 兰州医学院学报, 1997, 23 (2): 23-24.
- [4] 黄幸纾, 陈星若. 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法 [M]. 浙江: 浙江科学技术出版社, 1985. 64.
- [5] 孙则禹, 王润. 睾丸的主要功能及其调控 [J]. 男科学报, 1998, 4 (1): 33.
- [6] Heckert LL, Griawold MD. Expression of follicle-stimulating hormone receptor mRNA in rat testes and Sertoli cells. Molec Endocrin [J], 1991, 5: 670.
- [7] Hans LS, Sylverter SR, Kim KH, et al. Basic fibroblast growth factor is a testicular germ cell product which may regulate Sertoli cell function [J]. Molec Endocrin, 1993, 7: 889.
- [8] Skinner MK. Cell-cell interactions in the testis [J]. Endocrine Rev, 1991, 12: 45.
- [9] 钟先玖, 周元陵, 缪颖, 等. 乙二醇对雄性大鼠生殖系统的影响 [J]. 卫生毒理学杂志, 1992, 6 (3): 178-180.
- [10] 张桥. 卫生毒理学基础 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 158.
- [11] Savitz DA. Effect of parents occupational exposures on risk of stillbirth, preterm delivery and small-for-gestational-age infants [J]. Am J Epidemiol, 1989, 129 (6): 1201.
- [12] Mickinney PA. Parental occupations of children with leukaemia in west Cumbria north Humberside and Gateshead [J]. BMJ, 1991, 302 (6778): 581.

## 乙二醛对小鼠脂质过氧化物水平及 SOD 活性的影响

赵 肃<sup>1</sup>, 金焕荣<sup>1</sup>, 王任群<sup>1</sup>, 王 灿<sup>1</sup>, 管 威<sup>2</sup>

(1. 沈阳医学院劳动卫生学教研室, 辽宁 沈阳 110034; 2. 沈阳疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110031)

**摘要:** 目的 测定乙二醛染毒小鼠血清及组织中脂质过氧化主要产物丙二醛 (MDA) 的含量和超氧化物歧化酶 (SOD) 活力的变化, 以探讨乙二醛毒性的可能机制。方法 40 只小鼠分成 1 个对照组和 3 个实验组, 实验小鼠的染毒剂量分别为 1.29 mmol/kg、2.58 mmol/kg 和 5.16 mmol/kg, 每天腹腔注射 1 次, 连续染毒 30 d。用硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法测定血清及组织中 MDA 含量, 用黄嘌呤氧化酶法测定全血及组织中 SOD 活性。结果 乙二醛染毒小鼠高剂量组肾脏 MDA 含量与对照组相比显著升高, 其他各项指标与对照组相比差异均无显著性; 小鼠全血、肝脏和肾脏中 SOD 活性变化与对照组相比差异均无显著性。结论 乙二醛能够增高小鼠肾脏 MDA 含量, 提示有可能导致肾组织氧化性损伤。

**关键词:** 乙二醛; 丙二醛; 超氧化物歧化酶

中图分类号: O622.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)02-0096-02

### Effects of glyoxal on the serum level of lipid peroxide and activity of superoxide dismutase in mice

ZHAO Su<sup>1</sup>, JIN Huan-rong<sup>1</sup>, WANG Ren-qun<sup>1</sup>, WANG Can<sup>1</sup>, GUAN Wei<sup>2</sup>

(1. Department of Occupational Health, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China; 2. Shenyang Center for Disease Control and Prevention, Shenyang 110031, China)

**Abstract:** **Objective** To study the possible mechanism of glyoxal poisoning in mice. **Method** Forty mice were divided into trial and control groups. Mice in trial group were exposed to varied doses of glyoxal, 1.29 mmol/kg, 2.58 mmol/kg and 5.16 mmol/kg, respectively, by intraperitoneal injection once daily for 30 days. Serum and tissue levels of malonyl dialdehyde (MDA) were measured with thiobarbiturate colorimetry and activity of superoxide dismutase (SOD) in the whole blood and tissues were measured with xanthine oxidase method. **Result** Level of MDA in the kidney of the mice exposed to high-dose glyoxal increased significantly than that in the control mice. There was no significant difference in the other indicators measured between the exposed and control mice. Also, there was no significant difference in activity of SOD in the whole blood, liver and kidney between the exposed and control mice. **Conclusion** Glyoxal could increase content of MDA in the kidney of mice exposed to glyoxal, suggesting it could cause oxidative injury in renal tissue of mice.

**Key words:** Glyoxal; Malonyl dialdehyde; Superoxide dismutase

乙二醛是一种  $\alpha$ -酮基醛类, 为合成树脂的中间产物, 是碳水化合物辐射和热分解产物之一。在工业上主要用于造纸、

纺织、制药、染料生产等行业, 生活中也广泛存在于许多加热的食品中, 如加热的葡萄糖、咖啡等溶液<sup>[1]</sup>。近年来研究表明, 乙二醛与脂质过氧化作用关系密切, 可导致活性氧产物增加<sup>[2]</sup>。动物实验也有人报道, 急性染毒乙二醛可诱发大

收稿日期: 2003-09-01; 修回日期: 2003-11-11

作者简介: 赵肃 (1956-), 女, 满族, 辽宁沈阳人, 高级实验师。