

参考文献:

[1] Yoshida M, Watanabe L, Horie K, et al. Neurobehavioral changes in metallothionein-null mice prenatally exposed to mercury vapor [J]. Toxicol Lett, 2005, 155 (3): 361-368.

[2] Yamada K, Sasaki Y, Masuda K, et al. Role of nitric oxide in learning and memory processes [J]. Nippon Yakurigaku Zasshi, 1998, 111 (2): 87-96.

[3] Mittal CK, Harrell WB, Mehta CS, et al. Interaction of heavy metal toxicants with brain constitutive nitric oxide synthase [J]. Mol Cell Biochem, 1995, 149-150: 263-265.

[4] Dawson TM, Bredt DS, Fotuhi M, et al. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88 (17): 7797-7801.

[5] 李国君, 吴德生. 中枢神经系统中一氧化氮和一氧化氮合酶研究进展 [J]. 国外医学卫生学分册, 1999, 26 (2): 65-68.

[6] Keys SA, Zmeman WF. Antioxidant activity of retinal glutathione, and taurine in bovine photoreceptor cell membranes [J]. Exp Eye Res, 1999, 68: 693-702.

[7] 杨兴斌, 赵燕, 海春旭, 等. 硒、锌对索曼神经毒剂诱导大鼠过氧化损伤的保护机制 [J]. 中国临床康复, 2004, 9 (8): 1792-1793.

[8] 刘亚华, 李积胜, 闫蓓. 牛磺酸锌对染铅大鼠海马 NOS 活性和 nNOS 蛋白及基因表达的影响 [J]. 营养学报, 2004, 26 (5): 337-340.

铅和乙醇对雄性大鼠生殖系统的联合毒作用

谭成森, 靳翠红, 刘秋芳, 赵剑, 蔡原*

(中国医科大学公共卫生学院毒理教研室, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 采用整体动物实验方法, 观察铅和乙醇对大鼠精子数量和质量, 以及血中性激素水平的联合作用。结果显示, 精子计数联合组比铅和乙醇单独作用组显著减少; 精子活动度分析联合组与其他各组比较显著下降。铅和乙醇单独作用均可使雄性大鼠血清睾酮 (T) 升高, 促黄体生成激素 (LH) 下降, 联合作用使 T 降低, LH 较单独作用组升高。提示铅和乙醇联合染毒对雄性大鼠生殖毒性影响可能具有增毒作用。

关键词: 铅; 乙醇; 精子; 性激素

中图分类号: R994.6; R114 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2006)05-0286-02

Study of collaborating effect of lead and ethanol on reproductive function in male rats

TAN Cheng-sen, JIN Cui-hong, LIU Qiu-fang, ZHAO Jian, CAI Yuan*

(Department of Toxicology, College of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract Rats were used to observe the effect of lead and ethanol on the quantity and quality of sperms and the levels of sex hormones in the study. The results showed that sperm counts in lead or ethanol administrated group were all decreased compared with control rats. The sperm count in lead-ethanol collaborating exposure group was much lower than that of lead or ethanol group. The motility of sperm in collaborating exposure group was also obviously decreased compared with lead or ethanol group. Additionally, the sex hormones determination also revealed that lead or ethanol might induce a marked decline of serum testosterone (T) level and a definite increase of serum luteinizing hormone (LH) level, whereas collaborating exposure of lead and ethanol showed some adverse effect on serum T and LH levels. It is suggested that the combining exposure of lead and ethanol might produce some additive effect in reproduction toxicity in male rats.

Key words: Lead; Ethanol; Sperm; Sex hormone

铅对生殖系统的损伤, 已由流行病学调查和动物实验广泛证实^[1,2]。乙醇对雄性生殖系统的损害近年来已引起人们的关注。本研究采用整体动物实验方法, 观察铅和乙醇联合作用对大鼠精子数量和质量以及血中性激素水平的影响, 初步探讨铅和乙醇对雄性生殖系统的联合毒作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年 Wistar 雄性大鼠 32 只, 体重 180~200 g, 由中国医科大学实验动物部提供, 饲养 1 周后分组。动物室温度 18~23 ℃, 相对湿度 40%~70%, 动物自由饮水、摄食。

1.2 主要试剂与仪器

醋酸铅 (分析纯, 沈阳试剂一厂), 乙醇 (分析纯, 沈阳市富康消毒药剂公司), 睾酮 (testosterone, T) 放射免疫分析试剂盒 (天津九鼎医学生物工程有限公司), 促黄体生成激素 (luteinizing hormone, LH) 放射免疫分析试剂盒 (天津九鼎医学生物工程有限公司); 显微镜 (日本, OLYMPUS), 恒温水浴箱 (HH-42 型, 常州国华电器公司), 放射性免疫测定仪 (FJ2003/50G 型, 西安)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及染毒 将 32 只大鼠按体重随机分为 4 组: 对照组、醋酸铅组、乙醇组、联合组。乙醇组大鼠按 2.16 g/kg 给予 26% 乙醇, 经口灌胃染毒, 连续 8 周, 每周 5 d, 每天 1 次; 醋酸铅组大鼠自由饮水摄入 5% 醋酸铅, 连续 8 周, 每周 5 d, 联合组大鼠乙醇和醋酸铅染毒剂量、方式、时

收稿日期: 2005-12-09; 修回日期: 2006-03-20

作者简介: 谭成森 (1977-), 男, 硕士, 研究方向: 生殖毒理。

通讯作者: 教授, 博士生导师。Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

间与乙醇和醋酸铅单独作用组相同；对照组与染铅组按 1 ml/100 g 蒸馏水灌胃，时间与其他各组相同。

1.3.2 睾丸及附睾脏器系数的测定 睾丸系数=（睾丸质量/体重）×100%，附睾系数=（附睾质量/体重）×100%

1.3.3 血清铅含量测定 取肝素抗凝血 0.1 ml，加稀释液 1.0 ml，振荡混匀，原子吸收分光光度计石墨炉法测定。

1.3.4 精子检查 大鼠处死后立即剪取一侧附睾尾，称重后于盛有 2 ml 生理盐水的小烧杯中剪碎，用两层擦镜纸过滤，制成精子悬液。取一滴悬液推片，晾干，甲醇固定，伊红染色，蒸馏水冲洗，晾干后镜检。每只大鼠计数 1 000 个精子，记录畸形精子数并计算精子畸形率。将悬液置于 37℃ 水浴中孵育 20 min 后滴片，光镜下计数 200 个精子中的活精子数和各级活动精子数，并计算活精率。悬液经 60℃ 水浴杀死精子，用血球计数板计数精子，再折算成精子数（个）/附睾尾（g）。

1.3.5 血清性激素的测定 将采集的血液室温下静置 1 h，用

表 1 动物睾丸、附睾系数及血铅浓度测定结果（ $\bar{x}\pm s$ ， $\bar{G}\pm s$ ， $n=8$ ）

组别	体重（g）	睾丸脏器系数（%）	附睾脏器系数（%）	血铅浓度（ $\mu\text{mol/L}$ ）
对照组	338.80±26.79	0.885±0.143	0.181±0.077	0.058±0.003
染铅组	318.00±48.41	1.063±0.158	0.182±0.021	11.610±0.178*
乙醇组	289.80±54.29	1.064±0.125	0.184±0.022	0.065±0.003 Δ
联合组	284.25±61.39	1.093±0.154*	0.174±0.023	17.257±0.213*

与对照组比较，* $P<0.05$ ；与联合组比较， $\Delta P<0.05$ ；表 2 同。

2.2 精子质量与数量检查及血清性激素水平

如表 2 所示，各实验组与对照组比较，精子数、活精率均显著降低（ $P<0.05$ ），联合组与染铅组和乙醇组比较，其精子数、活精率也显著降低（ $P<0.05$ ）。而各组之间的精子畸形率比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。血清睾酮浓度

表 2 各组精子数量、质量及血清性激素水平检查结果（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=8$ ）

组别	精子数（ $10^6/\text{g}$ ）	活精率（%）	精子畸形率（%）	T（ng/dl）	LH（mIU/ml）
对照组	3.393±1.804	90.00±6.36	5.6±4.0	297.85±91.86	6.91±0.97
染铅组	1.925±0.486* Δ	63.60±4.72* Δ	5.9±4.9	370.85±151.30 Δ	5.33±0.29* Δ
乙醇组	2.082±0.296* Δ	72.00±6.04* Δ	5.5±3.4	323.00±109.83 Δ	5.42±0.47* Δ
联合组	1.637±0.393*	43.63±9.75*	5.8±3.3	83.84±35.50*	6.48±1.28

3 讨论

本实验发现，联合组睾丸系数与对照组比较显著升高。染铅组、乙醇组和联合组精子计数与对照组比较显著减少，联合组与铅和乙醇单独作用组比较显著减少。联合组精子活动度较其他各组均显著下降。以上结果表明铅和乙醇对大鼠睾丸系数及精子有比较明显的增毒作用。

睾酮对于维持精子的发生和成熟是必需的，由睾丸的 Leydig 细胞分泌，该细胞是 LH 作用的靶细胞，LH 是控制 T 产生的主要刺激因子。本研究中，血清 T 水平乙醇组和染铅组与对照组比较有增高的趋势，血清 LH 水平染铅组和乙醇组与对照组比较显著降低，与某些报道的结果相反^[3,4]。这可能与睾丸中曲细精管受损使支持细胞分泌的雄激素结合蛋白（ABP）减少有关。ABP 使曲细精管上皮结合的 T 减少，导致血清中 T 水平升高。血清 T 升高又负反馈于腺垂体，使血清 LH 水平降低。联合组 T 浓度与其他各组比较显著降低，LH

玻璃棒沿着管壁轻轻剥离，1 000 r/min 离心 10 min，小心吸取血清，按试剂盒说明书应用放射免疫技术对血清睾酮、促黄体生成素水平进行测定。

1.4 数据处理

用统计软件 SPSS10.0 对各项指标的实验数据进行均值计算，各组间进行单因素方差分析。其中血铅浓度用几何平均数表示。

2 结果

2.1 动物体重与睾丸、附睾脏器系数及血铅浓度

如表 1 所示，体重、附睾脏器系数各实验组和对照组比较，无统计学意义（ $P>0.05$ ）。染铅组和乙醇组的睾丸脏器系数与对照组比较，无统计学意义（ $P>0.05$ ），但联合组的睾丸脏器系数显著高于对照组（ $P<0.05$ ）。联合组与染铅组的血铅浓度显著高于对照组和乙醇组（ $P<0.05$ ）。联合组的血铅浓度与染铅组比较虽无统计学意义，但联合组均值明显高于染铅组。

测定结果乙醇组和染铅组与对照组比较虽然未见显著性差异（ $P>0.05$ ），但均值有增大的趋势，而联合组与其他各组比较，显著降低（ $P<0.05$ ）。血清 LH 染铅组和乙醇组与对照组比较显著降低（ $P<0.05$ ），亦显著低于联合组（ $P<0.05$ ）

水平联合组与铅和乙醇单独作用组比较亦显著升高。显示铅和乙醇的联合作用可能使睾丸损伤加重，Leydig 细胞受损，分泌 T 能力下降，引起垂体促性腺激素 LH 代偿性升高。T 分泌减少可以引起精子的产生和发育障碍，使精子数目减少，活精率下降，这与本研究的结果一致。提示铅和乙醇对雄性大鼠的生殖内分泌的变化呈现明显的增毒作用。

参考文献：

[1] Suzan A Wadi, Ghayasuddin Ahmad. Effects of lead on the male reproductive system in mice [J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, 1999, 56: 513-522.
[2] Lancranjan L. Reproductive ability of workman occupationally exposed to lead [J]. Arch Environ Health, 1975, 30: 396.
[3] Rodanilances M. Effectiveness of blood-testis and blood-epididymic barriers for lead [J]. Toxic Lett, 1988, 24: 285.
[4] Sokol RZ. Reversibility of the toxic effects of lead on the male reproductive axis [J]. Reproductive Toxicol, 1989, 3: 175.