

醋酸铅对雄性小鼠生殖功能的影响

王薛君, 张玉敏, 崔金山

(沈阳医学院毒理教研室, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: 给雄性小鼠灌胃染毒醋酸铅 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg, 每天 1 次连续 35 d。应用分光光度法测定血清和睾丸中酶活性, 按标准方法测定小鼠生育力, 并对睾丸、附睾进行组织病理学检查。结果表明, 雄鼠受精率、雌鼠妊娠率、平均每窝活胎率及睾丸匀浆中的 β -G 和 LDHx 随染毒剂量增加而降低, 死胎率和吸收胎率随染毒剂量增加而升高, 与阴性对照组比较差异均有显著性 ($P < 0.05$), 并呈现明确的剂量-反应关系, r 值依次为 -0.412、-0.420、-0.537、-0.538、-0.617、0.542 和 0.535。雄鼠交配率, 血清和睾丸匀浆中 G-6-PD、ACP、LDH 仅在 40 mg/kg 组与阴性对照组比较差异有高度显著性和显著性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。说明染毒醋酸铅 ≥ 20 mg/kg 剂量可损害雄性小鼠生殖功能。

关键词: 醋酸铅; 小鼠; 生育力; G-6-PD; ACP; LDH; LDHx; β -G

中图分类号: O614.433; Q355 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)04-0237-03

Study of effects of lead acetate on reproductive function in male mice

WANG Xue-jun, ZHANG Yu-min, CUI Jin-shan

(Department of Toxicology, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China)

Abstract: Male mice were orally administered with lead acetate of 10 mg/kg, 20 mg/kg and 40 mg/kg, respectively, via gastric tube once daily for 35 days consecutively. Activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD), acid phosphatase (ACP), β -glycosidase (β -G), lactic acid dehydrogenase (LDH) and lactic acid dehydrogenase isoenzyme (LDHx) in the serum and testis homogenate of male mice were determined with spectrophotometry and their fertility was measured with a standard method. Their testis and epididymis were examined histopathologically. Results showed that insemination rate in male mice, pregnancy rate in female mice, average number of live birth of mice per nest and activities of β -G and LDHx in testis homogenate decreased with the increase of dose of lead acetate, as compared to the control mice, while stillbirth rate and embryo resorption rate increased with dose of lead acetate, in a significant dose-response pattern, as compared with the negative control group ($P < 0.05$), with coefficients of regression of -0.412, -0.420, -0.537, -0.538, -0.617, 0.542 and 0.535, respectively. While, mating rate in male mice, activities of G-6-PD, ACP and LDH in the serum and testis homogenate in the rats exposed to 40 mg/kg of lead acetate were significantly different from those in the negative control group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), indicating that fertility in male mice could be damaged by exposed to ≥ 20 mg/kg of lead acetate.

Key words: Lead acetate; Mice; Fertility; Glucose-6-phosphatase dehydrogenase (G-6-PD); Acid phosphatase (ACP), β -glycosidase (β -G), Lactic acid dehydrogenase (LDH); Lactic acid dehydrogenase isoenzyme (LDHx)

近年来, 铅对生殖系统的损害作用引起人们的广泛重视。为进一步探讨铅对生殖功能的影响及其可能机制, 进行了本研究。

1 材料与与方法

1.1 试剂

醋酸铅为上海化学试剂厂生产的分析纯试剂, 临用前用蒸馏水配成相应浓度溶液。

1.2 动物分组与模型制备

选择健康性成熟的昆明种雄性小鼠 120 只, 体重 20 ~ 24 g, 由沈阳医学院实验动物中心提供。睾丸标志酶研究和交配实验均设蒸馏水阴性对照组, 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg 染铅组, 测睾丸标志酶每组 10 只小鼠, 交配实验每组 20 只小

鼠。饲养室室温控制在 20 ~ 23℃, 相对湿度 45% ~ 55%, 喂饲全营养块料。

按 0.1 ml/10g 容积每天 1 次灌胃染毒, 连续 35 d。睾丸标志酶研究组动物于染毒第 35 天, 摘取眼球取血, 静置凝固后离心, 取血清进行葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G-6-PD)、乳酸脱氢酶同工酶 x (LDHx)、乳酸脱氢酶 (LDH)、 β -葡萄糖苷酸酶 (β -G) 和酸性磷酸酶 (ACP) 活性测定。处理后摘取睾丸, 称质量去被膜, 用 0.05 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液 (pH7.5) 按 1:20 低温制备匀浆, 离心取上清进行酶活性测定。交配实验小鼠于第 35 天与雌鼠同笼, 6 d 后脱颈处死, 大体剖检称量睾丸、附睾和精囊腺质量, 并进行睾丸、附睾组织病理学检查。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 小鼠睾丸标志酶活性测定 G-6-PD 的测定应用 2, 6-二氯酚靛酚连续比色法^[1], β -G、ACP 活性测定按南京建成生

收稿日期: 2003-09-15; 修回日期: 2004-01-20

作者简介: 王薛君 (1959-), 女, 高级实验师, 研究方向: 生殖毒理学和遗传学

物工程研究所提供的试剂盒说明书进行。将 1:20 的睾丸组织匀浆上清液和用生理盐水 5 倍稀释后的血清置于 65℃ 水浴 30 min, 再测定 LDHx 活性, 测定方法同 LDH。

1.3.2 小鼠交配实验 染毒 35 d 后, 阴性对照组和各染毒组每只雄鼠按 1:1 与未染毒、未交配的性成熟雌鼠同笼 6 d。每天早晨检查阴栓, 查到阴栓的雌鼠与雄鼠分笼并计为妊娠 0 天, 所有妊娠雌鼠于妊娠第 15 天处死, 剖腹取出子宫, 检查并记录每只雌鼠着床数、活胎数、死胎数及吸收胎数。计算各组雄鼠交配率 (检出阴栓的雌鼠数/用于交配的雌鼠数)、雄鼠受精率 (与雄鼠交配妊娠雌鼠数/与雄鼠同笼的雌鼠数)、雌鼠妊娠率 (妊娠雌鼠数/检出阴栓的雌鼠数)、每窝平均活胎率、每窝死胎率、每窝胎吸收率。

1.3.3 睾丸、附睾组织病理学检查 常规称量交配后与雌鼠分笼的雄鼠睾丸、附睾、精囊腺质量, 实验各组每组随机选取 5 只雄鼠进行睾丸、附睾常规光镜组织病理学检查, 在 40 mg/kg 剂量组选择 3 只雄鼠作睾丸、附睾电镜检查。

表 1 醋酸铅染毒小鼠血清中标志酶活性测定结果 ($\bar{x} \pm s$) U/g

组别	n	G-6-PD	ACP	β -G	LDH	LDHx
阴性对照组	10	55.82±20.46	15.32±3.10	31.45±3.70	2 645.6±788.2	388.6±142.9
染毒 10mg/kg 组	10	54.17±21.39	14.97±3.04	31.48±2.97	2 738.7±1 023.4	379.7±139.8
染毒 20mg/kg 组	10	50.46±20.63	14.12±2.76	30.16±2.46	2 583.9±1 043.2	376.9±141.8
染毒 40mg/kg 组	10	32.32±17.84**	10.13±1.78*	24.36±3.13*	2 033.2±721.3*	210.7±119.8**

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

表 2 醋酸铅染毒小鼠睾丸匀浆中标志酶活性 ($\bar{x} \pm s$) U/g

组别	n	G-6-PD	ACP	β -G	LDH	LDHx
阴性对照组	10	1 145.60±265.84	10.13±1.13	1.84±0.36	2 789.4±180.4	355.6±69.7
染毒 10mg/kg 组	10	1 138.90±246.93	11.42±1.32	1.79±0.41	2 832.9±220.3	361.3±58.6
染毒 20mg/kg 组	10	1 108.40±278.32	10.53±1.20	1.29±0.32*	2 699.7±210.5	213.4±34.7
染毒 40mg/kg 组	10	932.70±243.42*	7.47±1.12*	1.03±0.34**	2 013.4±213.7**	198.7±39.7**

2.2 醋酸铅对小鼠生育力的影响

表 3 可见, 受精率、雌鼠妊娠率、平均每窝活胎数均随染毒剂量增加而下降, 呈明确的剂量-反应关系, r 值依次为 -0.412、-0.420 ($P < 0.05$)、-0.537 ($P < 0.01$)。死胎率、

1.3.4 曲细精管生精细胞计数 每只小鼠随机选取 10 个高倍镜视野, 计数每个高倍镜视野下的曲细精管内所有生精细胞数, 并计算每组 5 只小鼠平均每高倍视野下曲细精管内的生精细胞数, 以均值±标准差表示。

1.4 统计方法

应用 SPSS 软件进行数据处理, 计数资料进行卡方检验, 计量资料进行 F 检验并进行直线相关分析。

2 结果

2.1 染毒小鼠血清和睾丸组织标志酶活性测定结果

从表 1 可见, 染毒 40 mg/kg 组血清中 ACP、 β -G、LDH 酶活性与阴性对照比较差异有显著性 ($P < 0.05$), G-6-PD 和 LDHx 与对照组比较差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。从表 2 可见染毒 20 mg/kg 及 40 mg/kg 组 β -G 和 LDHx 与阴性对照组比较差异有显著或非常显著性 ($P < 0.05$ $P < 0.01$), 并呈明确的剂量-反应关系, 其相关系数依次为一 0.538 和一 0.617 ($P < 0.01$)。

吸收胎率随染毒剂量增加而升高, r 值分别为 0.542 和 0.535 ($P < 0.01$)。交配率仅 40 mg/kg 组与阴性对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。

表 3 醋酸铅对小鼠生殖功能的影响 (%)

组别	n	交配率	受精率	雌鼠妊娠率	每窝活胎数 ($\bar{x} \pm s$)	死胎率	吸收胎率
阴性对照组	20	95.0 (19/20)	95.0 (19/20)	100.0 (19/19)	10.2±1.64	2.31	2.00
染毒 10mg/kg 组	20	100.0 (20/20)	90.0 (18/20)	90.0 (18/20)	10.9±1.83	3.41	3.11
染毒 20mg/kg 组	20	95.0 (19/20)	70.0 (14/20)*	73.7 (14/19)*	8.1±1.72*	6.47*	5.53*
染毒 40mg/kg 组	20	80.0 (16/20)*	45.0 (9/20)**	50.0 (9/18)**	7.1±1.43**	9.80**	7.14**

2.3 染毒醋酸铅小鼠睾丸、附睾组织病理学检查结果

大体解剖未见睾丸、附睾和精囊腺有病理意义的改变, 睾丸、附睾和精囊的质量和脏器系数各组间经检验 F 值为 1.738, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。光镜下可见阴性对照组曲细精管内生殖细胞排列整齐, 层次清楚, 结构正常, 管腔充满大量精细胞和精子, 10 mg/kg 和 20 mg/kg 组仅见少数管腔精细胞排列不整齐, 生精细胞层数减少, 腔内精子细胞减少。

40 mg/kg 组曲细精管变薄, 层次减少, 有的区域性排列紊乱, 管腔内精细胞数明显减少, 精子扭曲折断。电镜下 40 mg/kg 组可见曲细精管各层生精细胞及精子细胞胞核折曲、皱缩, 线粒体呈空泡样变性, 内质网扩张。支持细胞胞质疏松化, 线粒体未见减少, 但有空化变性。

2.4 曲细精管生精细胞计数 (表 4)

表 4 醋酸铅染毒小鼠平均每高倍镜视野曲细精管内生精细胞数 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	精原细胞	初级精母细胞	次级精母细胞	精细胞
阴性对照组	5	83.7±13.6	55.1±12.1	98.4±14.1	184.0±18.7
染毒 10mg/kg 组	5	76.8±12.4	54.3±10.4	99.3±12.8	189.3±21.4
染毒 20mg/kg 组	5	71.4±10.6	50.4±10.1	91.5±12.5	143.7±23.1*
染毒 40mg/kg 组	5	43.8±9.7**	34.1±7.2**	70.3±10.5**	93.6±21.1**

3 讨论

β-G 和 ACP 主要分布在睾丸支持细胞的溶酶体内，是支持细胞的标志酶，ACP 可在性激素诱导下参与蛋白质合成，其活性降低反映了生精上皮和支持细胞的功能改变，β-G 参与各种葡萄糖苷酸的水解，还可与其他溶酶共同参与细胞器降解与更新^[5]。本实验中β-G 在染毒剂量为 20 mg/kg 时就显著低于阴性对照组，ACP 在 40 mg/kg 组亦低于阴性对照组，说明醋酸铅能降低上述二种酶的活性。支持细胞受到了损害，与组织病理学检查所见相对应。

睾丸中 LDH 存在于生精细胞内，参与能量代谢，并与生精上皮成熟有关。LDHx 是 LDH 的同工酶之一，为一种特异酶，其活性与精子的成熟和发育有关，并影响精子的能量和活力^[5]。本研究结果发现，在 20 mg/kg 组 LDHx 的活性明显低于阴性对照组 ($P<0.05$)，在 40 mg/kg 组 LDH 和 LDHx 均非常显著低于对照组 ($P<0.01$)，说明该二酶活性受到了影响，而且 LDHx 活性改变早于 LDH。二种酶活性下降，影响了睾丸的能量代谢和精子的生成和发育，这一结果亦为组织病理学检查和精细胞计数所证实。这可能是铅所致精子计数减少，精子活动度下降的机制之一。

睾丸组织中的 G-6-PD 主要存在于睾丸的间质细胞、支持细胞和生精细胞内，是间质细胞受损的标志酶^[3]。本研究发现，无论是血清还是睾丸匀浆中 G-6-PD 在 40 mg/kg 组明显低于对照组，说明间质细胞已受到损害，但光电镜检查未发现间质细胞有意义的病理学改变，说明 G-6-PD 酶活性的改变要较组织病理学改变出现的早。

染毒醋酸铅小鼠生育力实验结果表明，染毒剂量达 20 mg/kg 时，除雄鼠交配率与阴性对照组差异无显著性外，其他各指标均与对照组差异有显著性和高度显著性 ($P<0.05$ 或 0.01)，并且有明确的剂量-反应关系，说明染毒醋酸铅 20 mg/kg 35 d 可损伤雄性小鼠的生殖功能。其原因是铅能透过血气屏障进入睾丸组织，损伤了曲细精管的各级生精细胞和支持细胞，使精子生成减少，精子活动度下降，酶活力降低，精子的能量代谢减少，致使睾丸初级精母细胞染色体畸变，精子畸形率增加^[9]。同时有文献报道铅可影响睾酮生成，使其分泌物减少^[7]，影响小鼠性功能，因而使其生殖功能受损。

参考文献:

[1] 夏元洵. 化学物质毒性全书 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1991. 123-129.
[2] 沈彤. 铅对男(雄)性生殖生育的影响研究现状 [J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28 (6): 342-352.
[3] Vamagy L, Budai P, Molnar E, et al. One-generation reproduction toxicity of Dithane M-45 (mancozeb) and lead acetate [J]. Acta Vet Hung, 2002, 50 (3): 365-371.
[4] 王坤 瞿韬, 左砚芬. 实用诊断酶学 [M]. 重庆: 科学技术文献出版社重庆分社, 1989. 514-543.
[5] 江泉观, 于永强. 雄(男)性生殖毒理学 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1994. 225-245.
[6] 周景明, 张文龙. 铅对动物的生殖毒性 [J]. 动物医学进展, 2000, 21 (4): 126-127.
[7] 何群, 关哲, 刘树范, 等. 铅作业男工血中某些生殖激素水平的研究 [J]. 中国工业医学杂志, 1995, 8 (3): 138-140.

几种生产性噪声源治理情况调查

张云生

(辽宁省疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110005)

为了给工业企业实施噪声控制措施及制定噪声控制设施管理制度提供参考, 采用询问和查阅有关记录的方法, 对几种生产性噪声源的治理情况进行了调查。

4 台进口编织机安装国外专业厂家提供的隔声罩后, 其操作位的 A 声级由 101~102 dB 降到 86~88 dB, 隔声值为 14~15 dB, 岗位工人接触噪声的 $L_{Aeq}8h$ 由 98~99 dB 降到了 83~85 dB; 保护对象 36 人, 治理费用 20 万元, 且均状况良好。8 台国产小型编织机安装国内专业厂家设计的隔声罩后, 其 A 声级由 94~96 dB 降至 84~85 dB, 隔声值为 10~11 dB, 工人接触噪声的 $L_{Aeq}8h$ 由 91~93 dB 降到了 85 dB 以下; 保护对象 32 人, 治理费用 2.5 万元, 但由于国产编织机性能较差, 使得作业时不得不频繁地打开隔声门来连接断线, 故此隔声门现已被逐一拆掉。3 台小型球磨机安装非专业厂家设计的隔声

。短篇报道。

罩后, 其 A 声级由 99~101 dB 降到 92~93 dB, 隔声值为 7~8 dB, 工人接触噪声的 $L_{Aeq}8h$ 由 90~92 dB 降到了 85 dB 以下; 保护对象 12 人, 治理费用 0.8 万元, 但由于每次加料、除料时都需整体拉开隔声罩的上盖, 操作较麻烦, 故已全部废弃。6 台空压机安装国产消声器后, 其 A 声级由 91~95 dB 降到 85~90 dB, 衰减值为 5~6 dB, 工人接触噪声的 $L_{Aeq}8h$ 由 86~89 dB 降到了 85 dB 以下; 保护对象 28 人, 治理费用 1.2 万元, 其中 5 台状况良好, 1 台因影响送风量而拆掉。4 台鼓风机安装自制的隔声罩后, 其 A 声级由 98~101 dB 降到 91~93 dB, 隔声值为 7~8 dB, 工人接触噪声的 $L_{Aeq}8h$ 由 89~92 dB 降到 85 dB (A) 以下; 保护对象 9 人, 治理费用 2.4 万元, 2 台状况完好, 另 2 台检修时被部分拆除。

本组结果显示, 所采用的治理设施均有效, 隔声设施优于消声设施, 进口设施优于国产设施, 专业厂家设计的设施优于非专业厂家设计的设施。生产厂家可根据自身的实际情况和经济条件选择相应的、切实可行的噪声控制措施和建立有效的管理制度, 以保障劳动者的身体健康。