

# 百草枯对雄性大鼠精液质量及睾丸组织脂质过氧化的影响

陈庆<sup>1</sup>, 赵宗霞<sup>2</sup>, 赵金燕<sup>1</sup>, 李向红<sup>1</sup>, 卢晓宁<sup>1</sup>, 薛翔<sup>1</sup>

## 摘要:

[目的] 研究百草枯(paraquat, PQ)对雄性大鼠精液质量和睾丸组织脂质过氧化的影响。

[方法] 将32只健康成年雄性Wistar大鼠随机分为4组,即对照组和低、中、高三个PQ染毒组(0.5、2.0、8.0 mg/kg),每组8只。采用经口灌胃,连续染毒8周。染毒结束后,处死大鼠,分离睾丸及附睾组织,称重并计算脏器系数,分析精子数量及活力,采用H-E染色观察睾丸组织病理学变化,并检测睾丸组织中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)以及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力。

[结果] 低、中、高染毒组大鼠精子数量分别为 $(48.37 \pm 3.76) \times 10^6$ 、 $(41.56 \pm 3.13) \times 10^6$ 、 $(32.48 \pm 4.09) \times 10^6$ ,活力分别为 $(68.85 \pm 5.27)\%$ 、 $(66.65 \pm 2.83)\%$ 、 $(52.30 \pm 1.99)\%$ ,均低于对照组 $[(53.19 \pm 4.15) \times 10^6$ , $(70.65 \pm 6.07)\%]$ ,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。各染毒组大鼠睾丸脏器系数 $(0.87 \pm 0.08$ 、 $0.85 \pm 0.07$ 、 $0.78 \pm 0.07)$ 及附睾脏器系数 $(0.27 \pm 0.02$ 、 $0.29 \pm 0.03$ 、 $0.31 \pm 0.03)$ 与对照组 $(0.94 \pm 0.06$ , $0.24 \pm 0.03)$ 相比较,差异亦具有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组相比,染毒组睾丸组织出现明显的退行性改变;且高PQ染毒组睾丸组织中MDA含量升高 $[(1.45 \pm 0.18) \text{ nmol/mg}$  vs.  $(0.79 \pm 0.11) \text{ nmol/mg}$ ],SOD $[(76.19 \pm 6.71) \mu\text{mol/mg}$  vs.  $(108.50 \pm 11.24) \mu\text{mol/mg}$ ]及GSH-Px $[(15.07 \pm 2.71) \mu\text{mol/mg}$  vs.  $(30.61 \pm 3.23) \mu\text{mol/mg}$ ]活力下降。

[结论] 百草枯导致大鼠精液质量下降,睾丸组织脂质过氧化增强。

**关键词:** 精液质量; 脂质过氧化; 百草枯; 生殖毒性; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶

**引用:** 陈庆, 赵宗霞, 赵金燕, 等. 百草枯对雄性大鼠精液质量及睾丸组织脂质过氧化的影响[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(4): 337-340. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16656

**Effects of paraquat on semen quality and lipid peroxidation in testis of male rats** CHEN Qing<sup>1</sup>, ZHAO Zong-xia<sup>2</sup>, ZHAO Jin-yan<sup>1</sup>, LI Xiang-hong<sup>1</sup>, LU Xiao-ning<sup>1</sup>, XUE Xiang<sup>1</sup> (1. Department of Gynecology and Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710004, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China). Address correspondence to XUE Xiang, E-mail: xgxue@263.net • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

## Abstract:

[Objective] To study the effects of paraquat (PQ) on semen quality and lipid peroxidation in testis of male rats.

[Methods] Healthy adult male Wistar rats ( $n=32$ ) were randomly divided into four groups, including control group and paraquat (0.5, 2.0, and 8.0 mg/kg) groups, with eight rats in each group. Animals were exposed to designed treatments by oral gavage for eight weeks and then sacrificed. Testis and epididymis were isolated and weighed, and organ coefficient was calculated. Sperm count and motility plus testes histopathological changes using HE staining were determined. Additionally, malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity, and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity of testis tissues were detected.

[Results] The sperm counts [ $(48.37 \pm 3.76) \times 10^6$ ,  $(41.56 \pm 3.13) \times 10^6$ , and  $(32.48 \pm 4.09) \times 10^6$ ] and mobility [ $(68.85 \pm 5.27)\%$ ,  $(66.65 \pm 2.83)$ , and  $(52.30 \pm 1.99)\%$ ] of the 0.5, 2.0, and 8.0 mg/kg paraquat groups were less than those of the control group [ $(53.19 \pm 4.15) \times 10^6$  and  $(70.65 \pm 6.07)\%$ ] ( $P < 0.05$ ) respectively. The organ coefficients of testis ( $0.87 \pm 0.08$ ,  $0.85 \pm 0.07$ , and  $0.78 \pm 0.07$ ) and epididymis ( $0.27 \pm 0.02$ ,  $0.29 \pm 0.03$ , and  $0.31 \pm 0.03$ ) of the paraquat groups were different from those of the control group ( $0.94 \pm 0.06$  and  $0.24 \pm 0.03$ ) ( $P < 0.05$ ) respectively. Obvious degenerative changes were observed in the paraquat treated rats. The 8.0 mg/kg

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目( 编号: 31201118 )

[作者简介] 陈庆(1979—),男,博士,助理研究员;研究方向:生殖毒理学;E-mail: lychenqing@163.com

[通信作者] 薛翔, E-mail: xgxue@263.net

[作者单位] 1. 西安交通大学第二附属医院妇产科,陕西 西安 710004; 2. 西安医学院第二附属医院妇产科,陕西 西安 710038

paraquat exposure led to a significant increase in the MDA content [( $1.45 \pm 0.18$ ) nmol/mg vs. ( $0.79 \pm 0.11$ ) nmol/mg], and decrease in the SOD [ $(76.19 \pm 6.71)$   $\mu$ /mg vs. ( $108.50 \pm 11.24$ )  $\mu$ /mg] and GSH-Px [ $(15.07 \pm 2.71)$   $\mu$ /mg vs. ( $30.61 \pm 3.23$ )  $\mu$ /mg] activities of testes tissues.

[Conclusion] Paraquat can result in decreased semen quality of rats and elevated lipid peroxidation in testis tissues.

**Keywords:** semen quality; lipid peroxidation; paraquat; reproductive toxicity; malondialdehyde; superoxide dismutase; glutathione peroxidase

**Citation:** CHEN Qing, ZHANG Zong-xia, ZHAO Jin-yan, et al. Effects of paraquat on semen quality and lipid peroxidation in testis of male rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(4): 337-340. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16656

百草枯(paraquat, PQ), 化学名称为1, 1'-二甲基-4, 4'-联吡啶阳离子盐, 是目前被广泛使用的除草剂之一。PQ对人和动物具有很强的神经发育毒性<sup>[1]</sup>, 在过去的几十年中, 已导致许多急性中毒和死亡病例发生<sup>[2-3]</sup>, PQ已成为严重威胁人类健康的环境危险因素。

近年来, 有研究表明男性的精液质量呈下降趋势<sup>[4]</sup>, 男性不育的发病率则有所上升<sup>[5]</sup>。由于生殖系统是许多外源化学物的靶器官, 因此环境污染物对男性生殖系统的影响受到了人们的普遍关注。然而, 目前PQ对男性生殖系统的影响机制尚不清楚, 本研究通过观察PQ对雄性大鼠生殖系统的影响, 为探索PQ对男性生殖健康影响的可能机制提供线索。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

PQ(Sigma, 美国), 丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧酶(superoxide dismutase, SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所, 中国), DR-HW-1型电热恒温水浴箱(北京医疗设备总厂, 中国), LDZS-2型台式离心机(北京医用离心机厂, 中国), BX41-12J02型显微镜(Olympus, 日本), 酶标仪(Bio-Rad, 美国)。

### 1.2 实验动物

健康成年雄性Wistar大鼠32只(体重180~220 g), 由西安交通大学实验动物中心提供, 适应性饲养1周, 随机分为4组, 每组8只。设对照和低、中、高三个染毒组( $0.5$ 、 $2.0$ 、 $8.0$  mg/kg), PQ染毒剂量参照预实验结果及相关文献报道<sup>[6]</sup>, 按 $0.01$  mL/g(以每克体重计)经口灌胃, 连续染毒8周, 对照组给予生理盐水, 每天记录动物的体重及摄食量。染毒结束后, 采用质量分数25%的乌拉坦麻醉大鼠, 断头处死, 将睾丸及附睾取出进行称重、处理、检测。脏器系数=脏器湿重/体积×100。

### 1.3 精子质量分析

取大鼠左侧附睾尾部组织置于含有生理盐水的35 mm培养皿内, 用眼科剪剪碎, 37℃放置15 min, 制备精子悬浮液。然后采用计算机辅助精子质量分析系统(SCA, 西班牙)检测精子的密度及活力。精子运动可分为前向运动、非前向运动及不动精子, 精子活力以精子活动率(%)表示。精子活动率=(前向运动精子数+非前向运动精子数)/精子总数×100%。

### 1.4 睾丸组织病理学观察

取左侧睾丸组织于体积分数10%的福尔马林溶液中固定48 h, 石蜡包埋, 4 μm切片, 二甲苯脱蜡、梯度酒精水化后, 苏木精-伊红(H-E)常规染色, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 光学显微镜下观察。

### 1.5 MDA、SOD及GSH-Px检测

取大鼠右侧睾丸组织100 mg置入预冷的生理盐水中, 用匀浆器制备组织匀浆。然后采用分光光度法分别检测MDA的含量、SOD及GSH-Px的活力, 操作步骤严格按照测定指标试剂盒说明进行。

### 1.6 统计学方法

实验数据以均数±标准差表示, 采用SPSS 13.0软件进行统计学分析。采用单因素方差分析进行组间检验, 两两比较采用SNK检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

在整个染毒过程中, 各组大鼠精神状态及毛色无明显变化, 并且各染毒组与对照组相比较, 大鼠体重增长速率及日均摄食量差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 见图1、图2、表1。表明PQ的染毒剂量选择合适。

### 2.2 PQ对睾丸及附睾脏器系数的影响

中、高剂量组的大鼠睾丸脏器系数低于对照组, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。而高剂量组大鼠附睾脏器系数则高于对照组, 差异具有统计学意义( $P<$

0.05)。见表1。

### 2.3 PQ对大鼠精子数量及活力的影响

染毒组精子数量明显低于对照组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。就精子活力而言,高剂量组前向运动率与对照相比,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

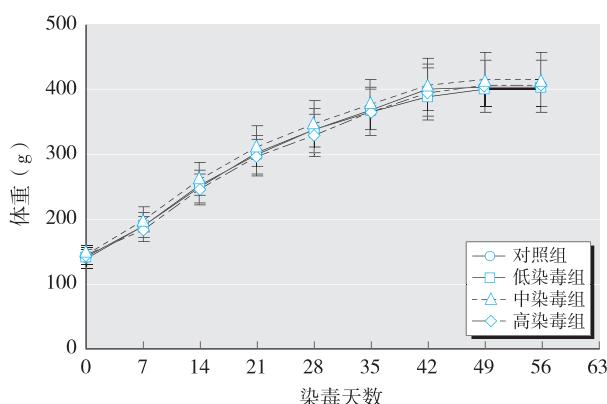


图1 百草枯对大鼠体重增长的影响

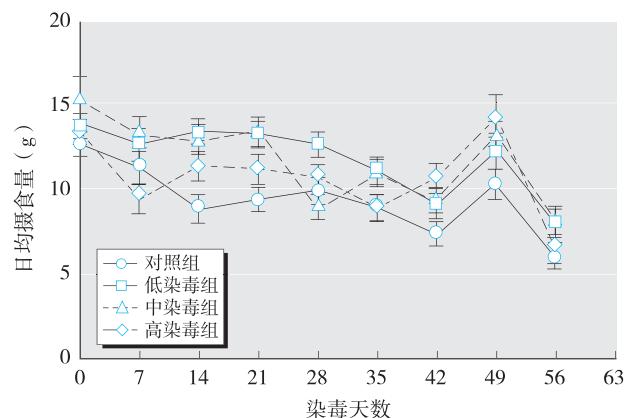


图2 百草枯对大鼠日均摄食量的影响

表1 百草枯对雄性大鼠睾丸及附睾脏器系数的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	体重(g)	睾丸脏器系数(g/100g)	附睾脏器系数(g/100g)
对照组	403.32 ± 10.85	0.94 ± 0.06	0.24 ± 0.03
低染毒组	395.03 ± 16.59	0.87 ± 0.08	0.27 ± 0.02
中染毒组	415.46 ± 20.27	0.85 ± 0.07*	0.29 ± 0.03
高染毒组	387.50 ± 19.63	0.78 ± 0.07**	0.31 ± 0.03*

[注]与对照组比较,\*: $P<0.05$ ; \*\*: $P<0.01$ 。

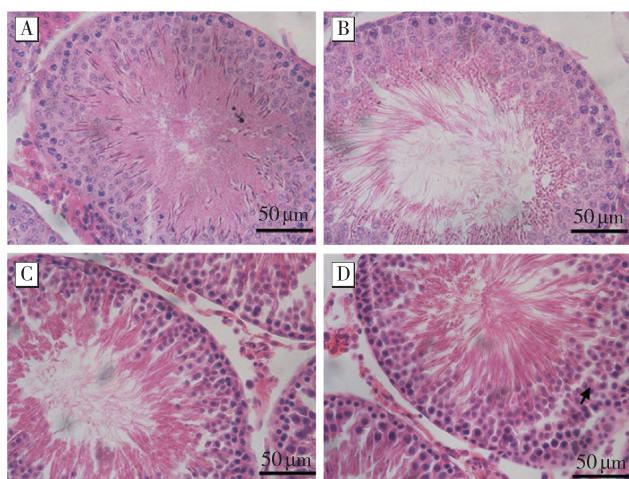
表2 百草枯对精子数量及活力的影响

组别	精子计数( $\times 10^6$ )	精子活力分级(%)			
		前向运动	非前向运动	不动精子	总活力
对照组	53.19 ± 4.15	49.22 ± 0.76	21.43 ± 5.11	29.35 ± 2.64	70.65 ± 6.07
低染毒组	48.37 ± 3.76*	45.40 ± 0.51	23.45 ± 4.71	31.15 ± 3.03	68.85 ± 5.27
中染毒组	41.56 ± 3.13**	38.98 ± 0.17	27.67 ± 1.89	33.35 ± 5.63	66.65 ± 2.83
高染毒组	32.48 ± 4.09**	32.70 ± 0.36*	20.22 ± 0.93	47.70 ± 6.23**	52.30 ± 1.99**

[注]与对照组比较,\*: $P<0.05$ ; \*\*: $P<0.01$ 。

### 2.4 大鼠睾丸组织病理学变化

经H-E染色,与对照组相比,PQ染毒组睾丸组织生精小管的管壁排列疏松、不规则,并出现空泡化改变。见图3。



[注]A: 对照组; B: 低剂量; C: 中剂量组; D: 高剂量组。

图3 大鼠睾丸组织的病理学变化(H-E染色)( $\times 40$ )

### 2.5 PQ对大鼠睾丸组织脂质过氧化的影响

与对照组相比,高剂量组MDA含量明显增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。中、高剂量组中SOD和GSH-Px活性均低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表3。

表3 百草枯对雄性大鼠睾丸组织脂质过氧化的影响

组别	MDA(nmol/mg) <sup>#</sup>	SOD(U/mg) <sup>#</sup>	GSH-Px(U/mg) <sup>#</sup>
对照组	0.79 ± 0.11	108.50 ± 11.24	30.61 ± 3.23
低染毒组	0.78 ± 0.17	97.82 ± 8.42	23.56 ± 2.89
中染毒组	1.06 ± 0.09	84.07 ± 6.58*	17.40 ± 3.20**
高染毒组	1.45 ± 0.18**	76.19 ± 6.70**	15.07 ± 2.71**

[注]与对照组相比,\*: $P<0.05$ ; \*\*: $P<0.01$ 。#:以每毫克蛋白计。

### 3 讨论

据统计,在育龄夫妇中存在生育障碍的约占12.5%~15%,其中由男方因素造成的约占50%<sup>[7]</sup>。而在引起男性不育的因素中,环境因素越来越受到人们的重视。PQ是目前全球范围内被广泛使用的除草剂之一,在我国更是被广泛使用于农业生产。已有研究

表明 PQ 是引起帕金森综合征的危险因子<sup>[8-9]</sup>, 然而, PQ 的对生殖系统的影响机制目前尚不清楚。因此, 本研究探讨了 PQ 对雄性大鼠精液质量及睾丸组织脂质过氧化的影响。

本研究发现, PQ 暴露可引起大鼠精子数目明显下降, 精子活力降低, 尤其精子前向运动率与对照组相比, 差异具有统计学意义, 这表明 PQ 可导致精子质量下降, 这与 Deepananda 等<sup>[10]</sup>的报道相一致。睾丸和附睾在精子生产和成熟过程中起关键作用, 睾丸和附睾的正常结构是精子发生的基础<sup>[11]</sup>。本研究发现, PQ 暴露引起大鼠睾丸及附睾脏器系数出现明显变化, 与对照组相比较, PQ 染毒组大鼠睾丸脏器系数明显降低, 而附睾脏器系数却出现升高, 这提示 PQ 很可能对雄性大鼠的睾丸及附睾具有不良影响。进一步的病理组织学检查表明, PQ 染毒导致睾丸组织出现退行性变化, 如生精小管上皮出现疏松、不规则排列以及空泡改变, 这些结果表明, PQ 对大鼠睾丸组织具有毒性作用。有报道 PQ 可导致组织水肿<sup>[12]</sup>, 这也可能是 PQ 引起附睾脏器系数增大原因之一。而附睾是精子成熟的场所, 这些损伤都可能是 PQ 导致精子质量下降的原因所在。

研究表明, PQ 能产生大量的氧自由基<sup>[13]</sup>, 通过氧化应激反应对肺组织<sup>[14]</sup>和神经系统<sup>[15]</sup>产生损伤。PQ 是否也是通过氧化应激对大鼠睾丸组织产生损伤呢? 通过分析睾丸组织中 MDA 的含量, 发现 PQ 可导致睾丸组织中 MDA 含量升高, 表明 PQ 增强睾丸组织的脂质过氧化效应。此外, PQ 染毒组睾丸组织中抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 活性明显低于对照组, 表明 PQ 能够抑制睾丸组织中抗氧化酶的活性。

综上, 本研究表明, PQ 能引起大鼠精子质量下降, 并通过增强睾丸组织脂质过氧化反应, 最终导致大鼠生殖系统损伤。然而对于导致睾丸损伤的具体分子机制, 尚需进一步深入研究。

## 参考文献

- [ 1 ] 严梦玲, 周志俊, 常秀丽. 百草枯致神经发育毒性的研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2015, 32( 3 ): 275-278.
- [ 2 ] 江亚. 22 例百草枯中毒患者临床分析 [J]. 当代医学, 2014, 20( 29 ): 16-17.
- [ 3 ] 王喆, 魏芳, 陈海燕, 等. 急性百草枯中毒患者的预后因素分析 [J]. 天津医科大学学报, 2014, 20( 5 ): 392-395.
- [ 4 ] 任彤彤, 张树成, 王介东. 人类精液质量变化的趋势 [J]. 国外医学( 计划生育/生殖健康分册 ), 2006, 25( 1 ): 3-6.
- [ 5 ] Su FH, Chang SN, Sung FC, et al. Hepatitis B virus infection and the risk of male infertility: a population-based analysis [J]. Fertil Steril, 2014, 102( 6 ): 1677-1684.
- [ 6 ] Chen Q, Niu Y, Zhang R, et al. The toxic influence of paraquat on hippocampus of mice: involvement of oxidative stress [J]. Neurotoxicology, 2010, 31( 3 ): 310-316.
- [ 7 ] 秦玉峰. 关键基因遗传变异、代表性 EDCs 暴露及其交互作用在精子生成中的作用 [D]. 南京: 南京医科大学, 2014.
- [ 8 ] 罗烘权, 袁进, 徐名衬, 等. 口服百草枯建立帕金森病模型及其评价研究 [J]. 动物医学进展, 2015, 36( 9 ): 88-92.
- [ 9 ] 娄丹, 常秀丽, 周志俊. 百草枯暴露致帕金森病的机制研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2010, 24( 3 ): 241-244.
- [ 10 ] Deepananda KH MA, De Silva WA JP. Mechanism of paraquat action shows interference in spermatogenesis and epididymal maturation of sperm in mice [J]. J Biol, 2013, 1( 3 ): 67-76.
- [ 11 ] 张连栋, 李和程, 张同殿, 等. 由二维到三维—睾丸发育及精子生成研究方法的新选择 [J]. 中华男科学杂志, 2016, 22( 3 ): 258-263.
- [ 12 ] 杨琛, 马涛, 刘志. 急性百草枯中毒大鼠肾损伤的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33( 5 ): 370-374.
- [ 13 ] Mussi MA, Calcaterra NB. Paraquat-induced oxidative stress response during amphibian early embryonic development [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2010, 151( 2 ): 240-247.
- [ 14 ] 刘虹, 丁颖威, 侯跃辉, 等. 携带 SOD 基因的骨髓间充质干细胞对小鼠百草枯肺损伤的保护作用 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2016, 34( 1 ): 1-7.
- [ 15 ] Shukla AK, Pragya P, Chaouhan HS, et al. Heat shock protein-70 ( Hsp-70 ) suppresses paraquat-induced neurodegeneration by inhibiting JNK and caspase-3 activation in *Drosophila* model of Parkinson's disease [J]. PLoS One, 2014, 9( 6 ): e98886.

( 收稿日期: 2016-07-05; 录用日期: 2016-10-19 )

( 英文编辑: 汪源; 编辑: 汪源; 校对: 洪琪 )