

丙烯腈亚慢性染毒对雄性大鼠精浆果糖和锌含量的影响

常锐霞, 陈军义, 赵乾龙, 张洁, 魏倩, 党瑜慧, 李芝兰

摘要: [目的] 探讨丙烯腈亚慢性染毒对雄性大鼠精浆果糖和锌含量的影响以及果糖、锌含量与精液运动参数的相关关系。[方法] SPF级健康成年雄性SD大鼠40只, 按体重随机分为对照组(玉米油)、低剂量组(丙烯腈12.5 mg/kg)、中剂量组(丙烯腈25 mg/kg)和高剂量组(丙烯腈50 mg/kg), 每组10只。灌胃染毒, 1次/d, 6d/周, 连续13周。于末次染毒后采用颈椎脱臼法分批处死大鼠, 检测大鼠精浆中果糖、锌含量以及附睾精子密度、精子活率、精子活力。[结果] 中、高剂量染毒组大鼠精囊腺和前列腺系数与对照组比较降低($P=0.045, 0.011, P=0.048, 0.004$)。低、中、高剂量染毒组大鼠精浆果糖、锌含量与对照组比较降低($P=0.002, 0.000, 0.000; P=0.013, 0.016, 0.001$)。低、中、高剂量染毒组大鼠精子活率与对照组比较降低($P=0.043, 0.004, 0.014$); 高剂量染毒组大鼠精子密度、精子活力与对照组比较降低($P=0.007, P=0.031$)。精浆果糖、锌含量与精子活率呈正相关(分别 $r=0.672, P=0.001; r=0.611, P=0.000$)。[结论] 在本实验条件下, 丙烯腈亚慢性染毒可以导致雄性大鼠生殖内分泌系统损害, 抑制雄性大鼠精囊腺、前列腺分泌果糖和锌, 影响精子密度、活率和活力, 从而对精子运动及受精能力产生不良影响。

关键词: 丙烯腈; 精浆; 果糖; 锌; 精液运动参数

Effect of Sub-Chronic Acrylonitrile Exposure on Seminal Fructose and Zinc Contents in Male Rats
CHANG Rui-xia, CHEN Jun-yi, ZHAO Qian-long, ZHANG Jie, WEI Qian, DANG Yu-hui, LI Zhi-lan (School of Public Health, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China). Address correspondence to LI Zhi-lan, E-mail: Lizhl@lzu.edu.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To explore the effect of sub-chronic acrylonitrile (ACN) exposure on seminal fructose and zinc contents in male rats and the relationship of sperm motion parameters with fructose and zinc contents. [Methods] Forty healthy adult male SD rats (SPF degree) were randomly divided by weight into control group (corn oil), low dose group (ACN 12.5 mg/kg), medium dose group (ACN 25 mg/kg), and high dose group (ACN 50 mg/kg), with 10 male rats in each group. Exposure by gavage was conducted once daily, continuous 6 days every week, for 13 weeks. The male rats were sacrificed by cervical dislocation after the last exposure to detect seminal fructose and zinc contents, as well as epididymis sperm density, sperm viability, and sperm motility. [Results] Compared to the control group, the seminal vesicle and prostate coefficients were lower in the medium and high dose groups ($P=0.045, 0.011; P=0.048, 0.004$). The contents of seminal fructose and zinc in each dose group were significantly lower than those in the control group ($P=0.002, 0.000, 0.000; P=0.013, 0.016, 0.001$). The sperm viability in each exposure group was also lower than that of the control group ($P=0.043, 0.004, 0.014$); the sperm density and sperm motility in the high dose group were decreased compared to the control group ($P=0.007, P=0.031$). Sperm viability had positive correlations with seminal fructose and zinc contents ($r=0.672, P=0.001; r=0.611, P=0.000$). [Conclusion] Under current experimental conditions, sub-chronic ACN exposure might cause reproductive endocrine system damage in male rats, inhibit seminal vesicle and prostate secreting fructose and zinc, and influence sperm density, viability, and motility, resulting in adverse effects on sperm motion and fertility.

Key Words: acrylonitrile; seminal plasma; fructose; zinc; sperm motion parameter

丙烯腈是一种有机单体, 常用于制造腈纶纤维、丁腈橡胶、ABS(丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物)工

程塑料和合成树脂等高分子材料, 也可用于制作食品包装袋及医用材料等。丙烯腈属于高毒类物质, 能够造成机体多器官损伤, 有明显的急、慢性毒作用^[1]。有报道显示丙烯腈也可以诱导雄性小鼠生精细胞凋亡, 降低精子密度和活动度, 使精子畸形率升高^[2]。近年来, 丙烯腈对作业工人生殖系统的毒性影响已引起了人们的广泛关注。钟先玖^[3]对职业性接触丙烯腈男工进行调查, 发现接触组男工妻子的过期产、不孕

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15417

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项资金项目(编号: lzujbky-2014-221)

[作者简介] 常锐霞(1989—), 女, 硕士生; 研究方向: 儿少卫生与妇幼保健; E-mail: 1308303956@qq.com

[通信作者] 李芝兰, E-mail: Lizhl@lzu.edu.cn

[作者单位] 兰州大学公共卫生学院, 甘肃 兰州 730000

症和自然流产的异常妊娠结局发生率明显增高。

精囊腺和前列腺作为雄性(男性)生殖系统重要的附属性腺,分泌的果糖和锌可以影响精子质量,对精子的生育力产生重要的作用,因此其在男性不育症的诊断和治疗中也发挥着越来越重要的作用。目前,关于丙烯腈对精浆生化(果糖和锌)影响的研究较少,因此,本实验建立了丙烯腈亚慢性染毒大鼠模型,以探讨丙烯腈对雄性大鼠精浆果糖、锌含量的影响及其与精液运动参数的相关关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级健康成年雄性SD大鼠40只,体重250~300g,由甘肃中医学院SPF级中心实验室提供,动物合格证号:SCXK(甘)2011-0001。实验大鼠饲养于甘肃中医学院动物实验中心,实验室合格证号:SYXK(甘)2011-0001。

1.2 实验材料

丙烯腈(纯度>99%),购买于天津四通化工厂;WLJY-9000型伟力彩色精子质量检测系统,购买于北京伟力新世纪科技发展有限公司。

1.3 动物模型建立

本研究采用成组设计的方法,将40只SD雄性大鼠按体重随机分为4组,分别为对照组(玉米油)、低剂量组(丙烯腈12.5mg/kg)、中剂量组(丙烯腈25mg/kg)、高剂量组(丙烯腈50mg/kg),每组10只。各染毒组按设计剂量将丙烯腈用玉米油配成相应浓度。对各剂量组动物进行灌胃染毒,1次/d,6d/周,连续13周。每隔3d称一次体重,按照体重调整灌胃剂量。于末次染毒24h后称量体重,每组随机选取6只大鼠,采用颈椎脱臼法分批处死。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 大鼠脏器系数测定 脱臼处死大鼠后,分离出精囊腺、前列腺和附睾,分别称重,计算脏器系数,脏器系数(%)=[脏器湿重(g)/大鼠体重(g)]×100%。

1.4.2 精浆果糖、锌含量的测定 剖取大鼠精囊液及前列腺液,放入37℃恒温箱中液化,5000r/min(6762×g)离心30min,分离出上清液于-70℃冰箱冻存待测。果糖含量采用紫外法检测,锌含量采用比色法检测,试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。具体方法按说明书进行。

1.4.3 精液运动参数的测定 脱臼处死大鼠后,立即

分离出大鼠左侧附睾,放入37℃预温的盛有1mL生理盐水的容器中,将附睾横向,用眼科剪剪开3个切口,放入37℃水浴箱中50min,让精子自由游出。50min后吸取10μL精子悬液,采用精子质量检测系统进行相关参数测定,主要有:(1)精子密度,每mL精液标本中的精子数(×10⁶个/mL);(2)精子活率,即精子活动率,是指精液样本中运动精子占精子总数的百分率,按精子运动方式可分为4级,a级指精子快速地前向运动,b级指精子慢速或呆滞地前向运动,c级指精子非前向运动,d级指精子不动,样本中(a级+b级+c级)精子占精子总数的百分率为精子活动率;(3)精子活力,是指精液样本中前向运动精子占精子总数的百分率,即样品中(a级+b级)精子占精子总数的百分率。

1.5 统计学分析

采用SPSS 22.0统计软件进行分析,数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间均数比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD法;相关性分析用Pearson法,以相关系数(r)表示。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般毒性

实验开始前各组大鼠体重之间差异无统计学意义($P>0.05$)。染毒过程中,4组大鼠体重增长趋势大致相同,重复测量方差分析结果显示,各组间体重差异均无统计学意义($P>0.05$)。见图1。染毒组大鼠从染毒第6周后出现流涎、躁动、易激惹等行为表现,对照组未见明显异常。

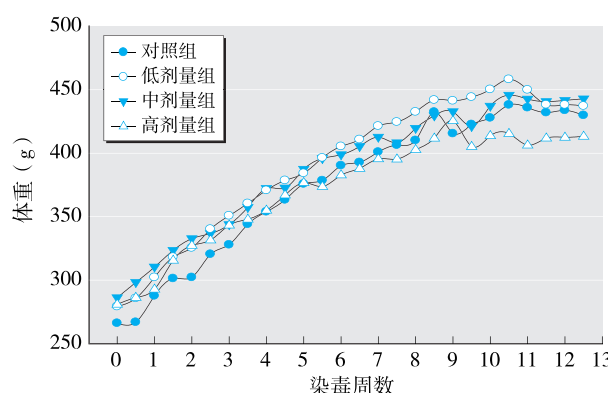


图1 丙烯腈染毒13周大鼠体重变化趋势

2.2 脏器系数

经单因素方差分析可知,各组间精囊腺系数、

前列腺系数不全相等($F=2.079$, $P=0.042$; $F=4.420$, $P=0.18$), 进一步经LSD法两两比较得到, 中、高剂量染毒组精囊腺系数、前列腺系数较对照组降低, 差异有统计学意义(分别 $P=0.045$ 、 0.011 , $P=0.048$ 、 0.004), 而低剂量染毒组精囊腺系数、前列腺系数与对照组比较, 差异无统计学意义($P=0.284$, $P=0.487$)。详见表1。

表1 丙烯腈染毒13周各组大鼠前列腺、精囊腺脏器系数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)		
分组	精囊腺脏器系数(%)	前列腺脏器系数(%)
对照组(0mg/kg)	0.57 ± 0.06	0.20 ± 0.01
低剂量组(12.5mg/kg)	0.54 ± 0.04	0.19 ± 0.03
中剂量组(25mg/kg)	0.50 ± 0.08*	0.17 ± 0.02*
高剂量组(50mg/kg)	0.48 ± 0.05*	0.16 ± 0.03*

[注]*: 与对照组相比, $P<0.05$ 。

2.3 精浆果糖、锌含量

经单因素方差分析可知, 各组间果糖和锌含量不全相等($F=3.492$, $P=0.039$; $F=5.798$, $P=0.008$), 进一步经LSD两两比较得到, 低、中、高剂量染毒组大鼠精浆果糖、锌含量均明显低于对照组, 差异有统计学意义(分别 $P=0.002$ 、 0.000 、 0.000 ; $P=0.013$ 、 0.016 、 0.001)。见表2。

表2 丙烯腈染毒13周各组大鼠精浆果糖和锌含量($\bar{x} \pm s$, $n=6$)		
分组	果糖质量浓度(mg/mL)	锌离子浓度(μmol/L)
对照组(0mg/kg)	4.29 ± 0.40	321.77 ± 38.39
低剂量组(12.5mg/kg)	3.39 ± 0.15**	197.25 ± 83.40*
中剂量组(25mg/kg)	3.35 ± 0.37**	183.60 ± 11.77*
高剂量组(50mg/kg)	3.42 ± 0.40**	152.80 ± 88.39**

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

2.4 精子密度、活率和活力

经单因素方差分析可知, 各组间精子活率不全相等($F=4.706$, $P=0.018$), 进一步经LSD法两两比较得到, 低、中、高剂量染毒组大鼠精子活率明显低于对照组, 差异有统计学意义(分别 $P=0.043$ 、 0.004 、 0.014); 高剂量染毒组大鼠精子密度、精子活力明显低于对照组, 差异有统计学意义($P=0.007$, $P=0.031$)。详见表3。

2.5 精浆果糖、锌含量与精子密度、活率及活力的相关性分析

精浆果糖、锌含量与精子活率呈正相关, 差异有统计学意义($r=0.611$, $P=0.001$; $r=0.672$, $P=0.000$); 与精子密度、精子活力未见相关关系($P>0.05$)。见表4。

表3 丙烯腈染毒13周各组大鼠精子密度、活率、活力 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)			
分组	精子密度($\times 10^6$ /mL)	精子活率(%)	精子活力(%)
对照组(0mg/kg)	5.71 ± 0.66	83.22 ± 13.86	28.23 ± 4.82
低剂量组(12.5mg/kg)	4.95 ± 1.33	70.55 ± 6.67*	24.65 ± 3.68
中剂量组(25mg/kg)	5.98 ± 0.78	62.18 ± 3.41**	23.98 ± 4.57
高剂量组(50mg/kg)	3.52 ± 0.46**	66.25 ± 7.23*	21.85 ± 4.00*

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

表4 丙烯腈染毒13周大鼠精浆果糖、锌含量与精液运动参数的相关系数			
指标	精子密度($\times 10^6$ /mL)	精子活率(%)	精子活力(%)
锌	0.268	0.672*	0.065
果糖	0.333	0.611*	0.058

[注]*: 与对照组相比, $P<0.01$ 。

3 讨论

在毒性试验研究中, 脏器系数可以较好地综合反映毒物对某个脏器的毒性影响, 也可旁证某器官组织病理学变化的可能性, 是寻找化学毒物作用靶器官的重要线索之一^[4]。本研究结果显示, 中、高剂量染毒组大鼠精囊腺和前列腺脏器系数减小, 提示该剂量下的丙烯腈亚慢性染毒对大鼠精囊腺和前列腺有一定的毒性影响。

精液主要由精子和精浆组成, 其中精浆是精子的承载物, 发挥中和、缓冲和保护精子的重要作用, 从而使精子可以在阴道的酸性环境中存活。正常功能的附属性腺能够产生精子所需要的各种物质, 例如, 精囊腺分泌的果糖能够为精子提供能源物质, 而前列腺分泌的锌离子能够促进生殖器官发育, 维持正常生精功能^[5]。本实验中, 丙烯腈各剂量染毒组中精浆果糖、锌含量与对照组比较显著降低, 这可能是因为: 丙烯腈作为高毒性致癌物直接或间接对精囊腺和前列腺产生毒性, 从而影响腺体分泌果糖和锌; 丙烯腈可能会直接进入精浆, 破坏精浆的稳态性, 从而引起精浆果糖、锌含量的降低。对于丙烯腈引起精浆果糖、锌含量降低的机制, 还有待进一步的研究。

精液运动参数是评价男性生育能力最常用的方法, 精子质量变化可反映早期的生殖损害。精子运动是精子独有的特征, 既是精子多种功能的综合表现, 同时又是完成受精过程的重要基础。正常的受精过程需要有正常的精子功能和结构来保证, 大多数因素造成的精子功能障碍和结构异常, 可以通过精子的运动表现出来^[1]。本研究结果显示, 低、中、高剂量染毒组

大鼠精子活率明显低于对照组,高剂量染毒组大鼠精子密度、精子活力明显低于对照组,提示丙烯腈亚慢性染毒会造成雄性大鼠生殖功能的损害,影响精子的运动能力,降低精子密度、活率和活力,从而影响正常受孕过程。

精囊腺分泌的果糖是其功能的特征性标记物,也是精子能量代谢的重要来源,直接参与精子的获能和受精^[6]。精浆果糖为精子直接利用,其浓度与精子运动及受精能力呈正相关。当精浆果糖浓度低于正常值时,不能为精子提供能源物质,影响精子运动以致不易受孕^[7]。本研究结果显示,精浆果糖与精子活率呈显著正相关,提示精浆果糖含量减少会直接影响精子的运动能力,从而影响受孕。

锌是人体内重要的微量元素。前列腺中的锌含量明显高于血清或其他体液,精浆锌对男性生殖功能起着非常重要作用:如锌参与机体内多种酶的合成,与男性生殖系统代谢及精子的发生、成熟、凋亡过程都有着密切的相关性;锌通过延缓脂质过氧化而维持精子细胞膜的稳定性,保持精子活力等^[8]。本研究结果显示,精浆锌含量与精子活率呈显著正相关,这与江莉等^[9]研究结果一致,说明适量增加精浆锌含量可以提高精子的活率。其可能原因为:精浆中的锌通过干扰垂体分泌促性腺激素降低性腺功能,从而使精子生成减少^[10]。

本研究的不足之处主要有:①未能做到配对实验设计;②未能探讨丙烯腈致雄性大鼠生殖损伤的发生机制。

综上所述,在本实验条件下,丙烯腈亚慢性染毒可以导致雄性大鼠生殖内分泌系统损害,抑制雄性大鼠精囊腺、前列腺分泌果糖和锌,影响精子密度、活

率和活力,从而对精子运动及受精能力产生不良影响。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] 陈亚,李福伦,马国燕,等.丙烯腈对小鼠精液运动参数的影响[J].生态毒理学报,2010,5(5):711-717.
- [2] 马国燕.丙烯腈对雄性小鼠生殖细胞毒性作用机制研究[D].兰州:兰州大学,2011.
- [3] 钟先玖,吴鑫,周元陵,等.丙烯腈对男工生殖健康影响的流行病学研究[J].职业卫生与应急救援,2004,22(4):173-177.
- [4] 孙建新,安娟,连军.影响试验动物脏器重量及脏器系数因素分析[J].试验动物科学,2009,26(1):49-51.
- [5] 陈杰翔,李利.乙醇对实验大鼠精浆生化指标的相关性影响研究[J].中国医学创新,2014,11(25):17-18.
- [6] 冯播,左阳花.不育男性精浆果糖及精浆锌含量的研究[J].中国优生与遗传杂志,2010,18(7):117-118.
- [7] 杨向峰,徐计秀,梁廷宇.酒精对雄性大鼠性激素、精浆果糖、精浆锌的影响[J].中国医学创新,2012,9(10):9-10.
- [8] Marzec-Wróblewska U, Kamiński P, Lakota P, et al. Zinc and iron concentration and SOD activity in human semen and seminal plasma[J]. Biol Trace Elem Res, 2011, 143(1):167-177.
- [9] 江莉,李慕军,牛冉冉,等.精浆锌含量与精液质量及体外受精结局的相关性[J].山东医药,2015,52(35):22-24.
- [10] 崔艳国,张立新,董丽萍,等.男性低生育人群精浆锌、酸性磷酸酶及血清性激素水平及意义[J].山东医药,2010,50(25):85-86.

(收稿日期:2015-07-02)

(英文编辑:汪源;编辑:王晓宇;校对:郑轻舟)