DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.035
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
1076 2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)09-1076-03

饮用水中有机污染物的雄性生殖毒性病理学研究

田怀军[1],吴德生[2],陶 锐[3] ([1]西南师范大学生物系,重庆 400715;[2]华西医科大学公共卫生学院,成都 610041;[3]成都市卫生防疫站,成都 610021)

提 要:目的 探讨饮用水有机污染物的潜在生殖危害。方法 用GDX-102树脂吸附饮用水中有机污染物;昆明种雄性小鼠分为对照组及12.5、25、50 L/kg试验组,腹腔注射染毒,分别于染毒后10、35 d处死动物取材,应用光镜和电镜技术对睾丸、附睾、精囊、前列腺进行组织病理学研究。结果 染毒后10 d,仅发现50 L/kg组间质细胞增生,坏死生精细胞较多;染毒后35 d,50 L/kg组间质细胞呈大片聚集状增生,曲细精管萎缩,生精细胞空泡化。电镜观察所见,染毒后10 d,50L/kg组Leydig细胞线粒体肿胀、嵴紊乱;染毒后35 d,Leydig细胞、生精细胞损伤随剂量增加而加重,损伤以线粒体的肿胀、空泡化甚至溶解为主。附睾、精囊、前列腺均未发现异常形态学变化。结论 饮用水有机污染物存在生殖危害,睾丸是其作用靶器官,靶细胞为Leydig细胞和生殖细胞,线粒体为主要作用部位。

关键词:饮用水;有机污染物;生殖毒性
中图法分类号:R123.1;R379.2^{+1};R446.8 文献标识码:A

Study of male reproductive toxicity induced by organic pollutants in drinking water

TIAN Huai-jun, WU De-sheng, TAO Rui (Department of Biology, Southwest Normal University of China, Chongqing 400715, China)

Abstract: Objective To explore the potential reproductive toxicity of organic pollutants in drinking water. Methods Organic pollutants were extracted with GDX-102 resin from drinking water and then injected intraperitoneal to male mice in different dosage of 12.5, 25 and 50 L/kg for 5 d. On the 10th and 35th day after treatment, the mice were killed and the testis, epididymis, seminal vesicles and prostate gland were removed and fixed for pathohistological examination. Results On the 10th day after treatment, hyperplasia of Leydig cells and increase of necrotic spermatogenic cells were found only in the mice treated at the dosage of 50 L/kg; On the 35th day, the Leydig cells in these mice demonstrated massive accumulating hyperplasia, the seminiferous tubules shrunk and spermatogenic cells were vacuolated. Under electron microscope, the mitochondria of Leydig cells were swollen and with disordered ridge in 50 L/kg mice 10 d after treatment, and on the 35 th day, the damage of Leydig cells and spermatogenic cells were more serious in swelling, vacuolation and lysis. Conclusion The results suggest that the organic pollutants in drinking water is harmful to reproductive system, with the testis as target organ, Leydig and spermatogenic cells as target cells, and their mitochondria as target site.

Key words: drinking water; organic pollutants; reproductive toxicity

近年来,人类生殖系统和内分泌系统功能障碍(如:男性精子数锐减、儿童性早熟、生殖器官发育畸形等)以及肿瘤(如:乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌等)发病率的增加及高发年龄提前,被高度怀疑与环境中有机物污染有关[1,2]。饮用水分析表明氯仿、苯系物、邻苯二甲酸酯、DDT等生殖毒性物质检出率较高[3]。为此,我们就某市自来水厂氯化饮用水中有机污染物的雄性生殖毒性进行了组织病理学研究,以期确定饮用水中混合性有机提取物的生殖毒作用效应和靶点,并就其机制进行初步探讨。

1 材料、方法

1.1 有机提取物制备

于1998年1月采集某市自来水厂出厂水1 000 L,应用固相萃取技术富集水中有机物,萃取剂为GDX-102树脂(天津试剂二厂),过柱流速为3倍柱体积/min;以二氯甲烷和甲醇为洗脱液;洗脱液经减压蒸馏挥干。用DMSO定容至100 L/ml,备用。试剂对照采用重蒸水过柱同法制备。

1.2 方法

昆明种雄性小鼠40只,体重18~25 g,购自华西医科大学实验动物中心。按体重随机分为3个试验组(每公斤体重注射相当于12.5、25、50 L水样中的有机提取物)和对照组,每组10只。染毒体积为0.1 ml·20 g^{-1}·d^{-1},下腹交替进针,连续5 d。于染毒后第10天和35天分批处死动物,每次每组5只,取一侧睾丸、附睾、精囊、前列腺固定于10%甲醛液中,作石蜡切片,HE染色,光镜观察。另一侧睾丸固定于3%戊二醛,作超薄切片,电镜观察(H-600透射电镜,日本日立)。

1.3 统计学处理

方差分析。

2 结果

经统计学分析,有机提取物对睾丸、附睾、精囊、前列腺的脏器系数无显著影响($P>0.05$)。

2.1 光镜观察

对照组睾丸间质未见异常,Leydig细胞3~5成群,胞质红染,核圆;曲细精管管壁完整,支持细胞和各级生精细胞排列及形态正常,见图1。染毒后10 d,仅见50 L/kg组间质细胞增生;

基金项目:成都市卫生局资助(成卫1997—31)
作者简介:田怀军(1964—),男,四川省广元市人,博士,副教授,主要从事环境毒理方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)68752293
收稿日期:2000-01-05;修回日期:2001-07-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

而生精细胞坏死在 12.5 L/kg 组偶见, 25 L/kg 组增多, 50 L/kg 组则可见多核细胞形成。染毒后 35 d, 50 L/kg 组, 间质细胞呈大片聚集状增生, 间质中散在炎细胞浸润, 曲细精管萎缩, 生精细胞排列混乱, 生精细胞空泡化, 可见大量坏死生精细胞, 见图 2。其他组未见异常。附睾、精囊、前列腺组织结构未见异常。

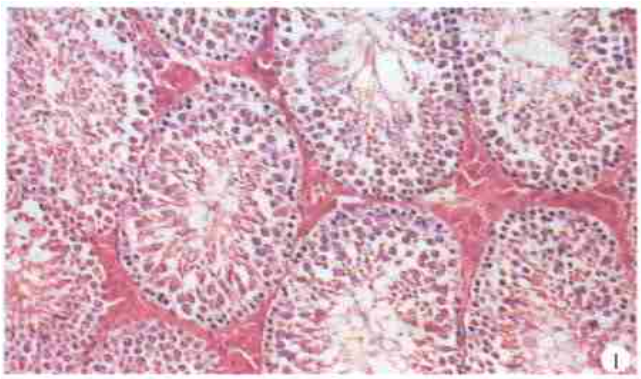




图 1　试剂对照组间质细胞和曲细精管 (HE× 220)

Fig 1　Leydig cell and seminiferous tubules in control group (HE× 220)

图 2　染毒后 **35 d, 50 L/kg** 组间质细胞和曲细精管 (HE× 88)

Fig 2　Leydig cells and seminiferous tubules in 50 L/kg group on the 35 th day after treatment (HE× 88)

2.2　电镜观察

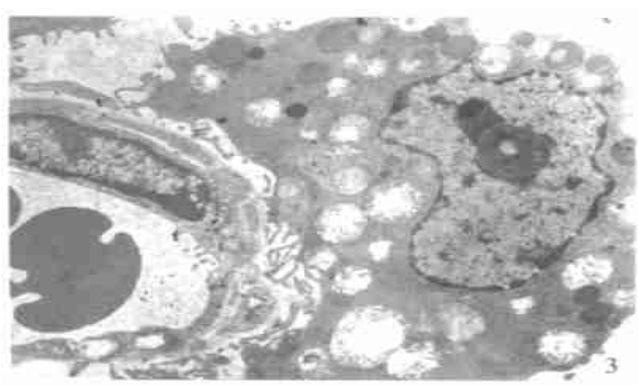
Leydig 细胞: 对照组, Leydig 细胞表面有微绒毛突起, 胞质内具有脂滴、管状嵴的线粒体和滑面内质网, 相邻 Leydig 细胞间可见细胞连接。染毒后 10 d, 50 L/kg 组 Leydig 细胞受到损伤, 表现为: 线粒体肿胀、嵴紊乱、甚至空泡化; 脂滴数量增加, 体积增大, 见图 3, 同时观察到毛细血管内皮细胞的线粒体肿胀。染毒后 35 d, 25 L/kg 组线粒体肿胀较前更严重, 有些线粒体嵴断裂, 脂滴增大, 部分核膜电子密度降低。50 L/kg 组, 细胞表面微绒毛消失, 脂滴明显减少, 线粒体进一步肿胀, 嵴消失, 出现无定形空泡, 同时有炎细胞浸润。

支持细胞: 对照组, 支持细胞核膜完整, 具凹陷, 核仁清晰, 胞质内具膜包颗粒、线粒体等, 细胞之间可见连接复合体。染毒后 10 d, 50 L/kg 组和染毒后 35 d 25 L/kg 组均未见支持细胞超微结构异常。染毒后 35 d 50 L/kg 组, 见核膜凹陷较深, 核仁似碎裂, 膜包颗粒较少。

精原细胞: 对照组, 精原细胞为圆形, 染色质分散, 细胞质疏松。染毒后 10 d, 50 L/kg 组精原细胞核染色质轻度凝聚。染毒后 35 d, 50 L/kg 组精原细胞核膜增厚, 染色质颗粒增多, 核仁变大。

精母细胞: 对照组, 精母细胞核大、圆形, 染色质均匀。染毒后 10 d 50 L/kg 组, 可见部分核膜溶解, 染色质凝聚; 染毒后 35 d 50 L/kg 组, 染色质呈絮状, 线粒体肿胀。

精子细胞及精子: 对照组, 可见早、中、晚期精子细胞及精子。早期精子细胞胞质中可见膜包颗粒; 中期精子细胞可见围绕细胞核的头帽; 晚期精子细胞可见线粒体聚集在伸长的轴丝周围, 轴丝由 9+2 微管对纤毛样复合体构成, 此外还可见精子细胞形成精子后丢下的胞质体。染毒后 10 d, 50 L/kg 组, 可见精子细胞和精子头部核外细胞质较厚。染毒后 35 d, 25 L/kg 组, 各期精子细胞轴丝外线粒体有溶解现象, 精子头部核外胞质较厚, 并出现空泡, 见图 4。50 L/kg 组, 可见早、中期精子细胞, 中期精子细胞核质有凝聚现象, 线粒体嵴紊乱或溶解, 胞质疏松, 晚期精子细胞少见, 镜下可见畸形精子头。



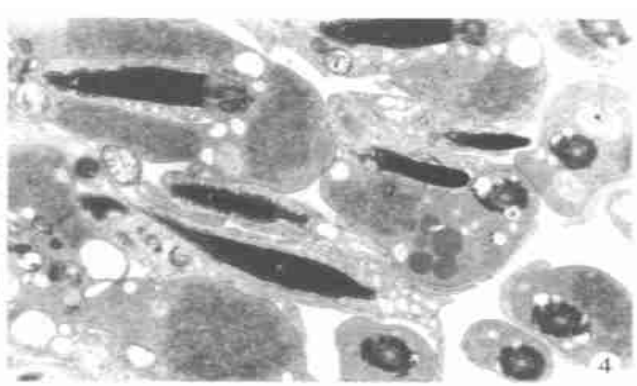


图 3　染毒后 **10 d, 50 L/kg** 组 **Leydig cell** (TEM× 5 000)

Fig 3　Leydig cell in 50 L/kg group on the 10 th day after treatment (TEM× 5 000)

图 4　染毒后 **35 d, 25 L/kg** 组精子细胞、精子 (TEM× 6 000)

Fig 4　Spermatozoa and spermatoblast in 25 L/kg group on 35 th day after treatment (TEM× 6 000)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 讨论

光镜观察显示：氯化饮用水有机提取物对附睾、精囊、前列腺未见病理损伤，但造成睾丸间质增生和曲细精管萎缩及生精细胞坏死。说明睾丸是有机污染物的作用靶器官，同时也表明有机提取物可通过血-睾屏障。Louis[4] 报道：受有机物污染的湖水可阻碍鳄鱼睾丸的细精管和细胞分化，从而对性腺产生永久性损伤。该结果与本次研究结果较一致。

电镜观察证明：Leydig 细胞和生精细胞是有机污染物作用的靶细胞；线粒体则是作用的靶点。睾丸 Leydig 细胞的功能是合成和分泌睾酮，以促进生精细胞发育和维持正常性功能；线粒体和滑面内质网则是睾酮合成部位。电镜所见，Leydig 细胞线粒体肿胀、嵴消失甚至空泡化，同时伴随着细胞质中脂滴的数量增加和体积增大，表明睾酮合成和分泌严重受阻。有研究证实饮用水有机提取物可致使雄性小鼠畸形精子数增加，精子质量和数量下降，血清睾酮含量下降[5]。由此可见，Leydig 细胞受损可能是睾酮含量下降的重要原因。

线粒体是生精细胞能量代谢场所，线粒体受损将影响生精细胞发育和成熟；电镜观察发现，生精细胞受损以精子细胞为重，晚期精子细胞极少见，表明精子细胞发育成精子时受阻，从而导致精子数量下降；此外，睾酮合成和分泌受阻也可间接导致精子质量和数量下降。

精子生成的调节是复杂的，除了睾丸自身的调节，还可通过神经-体液调节。外源性化学物可引起神经-体液调节紊乱，而间接影响性腺的结构和功能[6]。有机污染物是否对下丘脑、垂体有影响还有待进一步研究。

饮用水有机物污染具有种类多、含量低的特点，并具有环境滞留性和生物富集性。本研究表明，饮用水有机物污染可导致雄性性腺的不可逆损伤，对生殖系统存在着潜在危害性。吴坤等[7]应用小鼠整体试验对自来水中有机污染物潜在危害进行评价时发现：生殖细胞比体细胞对自来水中有机污染物更为敏感，相同剂量下生殖细胞可能首先受到损害。因此，应重视饮用水中有机污染物对生殖健康的潜在危害。

（致谢：该研究得到华西医科大学法医系官鹏副教授和毒理教研室王文东老师的指导、帮助，在此表示感谢！）

参考文献：

[1] Jean G. Environmental oestrogens[J]. Lancet, 1994, 343: 284－285.
[2] Swan SH. Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data [J]. Environ Health Perspect, 1997, 105(11): 1 228－1 232.
[3] 田怀军，吴德生，黎源倩，等. 某市饮用水源水、出厂水中有机污染物 GC/MS 定性分析[J]. 现代预防医学，1999, 26(2): 133－136.
[4] Louis J, Guillette Jr, Timothy S, *et al*. Developmental abnormalities in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida[J]. Environ Health Perspect, 1994, 102(8): 680－688.
[5] 田怀军，吴德生，李荣江，等. 某市自来水有机提取物对小鼠精子及血清睾酮含量影响的研究[J]. 环境与健康杂志，1999, 16(2): 74－76.
[6] 郑志仁，王炳森，蒋学之，等 主编. 环境病理学[M]. 山东：山东科学技术出版社，1990. 79－81.
[7] 吴 坤，宋春华，刘 芳，等. 应用小鼠整体试验对自来水中有机污染物潜在危害的评价[J]. 中华预防医学杂志，1999, 33(3): 149－151.

（编辑 薛国文）

（上接 1075 页）

（训练）条件下，基本规律是 TG 餐后 2～4 h 达高峰，4 h 后开始下降，6～8 h 降至空腹水平。

本实验脂肪量约 1 g/kg 体重，其 TG 及血清浊度餐后测定值明显升高（$P<0.05$），4 h 内 TG 与平原比较亦存在着明显差别（$P<0.05$），但曲线回复较快，TG6～8 h 几乎恢复到空腹水平（$P>0.05$），血清浊度 6 h 后逐渐恢复到空腹水平（$P>0.05$），提示高原正常人血脂代谢规律与平原相同，但本实验结果显示高原人群血清浊度和 TG 餐后不同时间的平均值均较平原为高，此现象是否与高原缺氧环境有关，有待进一步探讨。

TG 反应曲线不仅与脂肪负荷量、脂肪餐性质及受试者平时的饮食习惯有关[3]，还与各种环境因素有关，本实验结果可为制定高原环境条件下脂肪耐量试验曲线提供参考依据。

（致谢：本资料为 1998 年在西藏山南 41 医院换岗所做的实验，为此特别感谢西藏山南 41 医院领导的大力支持和 56302 部队全体官兵的协助。）

关键词：甘油三酯；胆固醇，代谢；脂肪耐量试验；高原
中图法分类号：R151.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] Wilbert S Aronow. MD management of old persons after myocardial infarction journal of the American[J]. Geriatrics Society, 1998, 46(11): 1 459－1 468.
[2] Groot P H, van Stiphout W A, Krauss X H, *et al*. Postpandial lipoprotein metabolism in normolipipidemic men with and without coronary artery disease[J]. Arterio sclera Thromb, 1991, 11(8): 653－654.
[3] Roche H M, Gibney M J. Postprandial triacyglycerdaemia nutritional implications[J]. Prog Lipid Res, 1995, 34(10): 249－250.

（编辑 谢义霞）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net