

铅对雄性生殖毒性的研究进展

汪美贞 贾秀英*

(杭州师范学院生命科学学院 杭州 310036)

摘要:从铅对睾丸与附睾形态、精子生成和发育以及生殖内分泌功能等三方面的影响综述了铅对雄性生殖毒性的研究进展,并从铅对睾丸的脂质过氧化损伤、对睾丸标志酶活性的影响、对染色体、DNA及基因的影响以及对CaM、Ca²⁺-ATP酶活性的影响等方面探讨了铅对雄性生殖毒性作用机理。同时,提出了铅对雄性生殖毒性的研究中存在的若干问题和发展方向。

关键词:铅 雄性生殖毒性

中图分类号:Q494.X171.5 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)01-123-05

Reproductive Toxicity of Lead in Males

WANG Mei-Zhen JIA Xiu-Ying

(School of Life Sciences, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

Abstract: The paper summarizes the recent advances in reproductive toxicity of lead in males, including the effects of lead on morphology of testis and epididymis, spermatogenesis, and reproductive endocrine. Meanwhile, the mechanisms of male reproductive toxicity of lead are discussed. Lead may exert its toxic effect through influencing lipid peroxidation, marker enzyme activity, chromosomes, DNA and genes, as well as CaM and Ca²⁺-ATPase activity. Finally, some problems and research trend in the research of lead's male reproductive toxicity are raised.

Key words: Lead; Male reproductive toxicity

铅在工业生产中应用极为广泛,是一种重要的重金属污染物。作为一种重金属毒物,铅对机体具有毒性。随着生殖毒理学、生殖流行病学等学科的迅速发展,有关铅对生殖系统的毒性作用及其作用机理的研究日益受到重视,本文综述了有关铅对雄性生殖毒性的研究。

1 铅对雄性生殖毒性作用

1.1 铅对睾丸和附睾形态的影响 大量实验研究表明^[1,2],铅能引起睾丸退行性变化,使睾丸和附睾的平均重量明显减轻。铅能直接损伤生精上皮,使生精细胞层次减少、疏松甚至脱落。据报道^[3],成年雄性小鼠经不同浓度醋酸铅(250、500和1000 mg/kg)灌胃染毒停止1周后,进行组织学观察发现,250 mg/kg染毒组睾丸生精上皮细胞排列紊乱、疏松,随着剂量的增

加,初级精母细胞层和精原细胞层之间间隙加宽,生精细胞排列紊乱、层次不清甚至脱落;染毒停止3周后,1000 mg/kg染毒组睾丸生精上皮细胞大量脱落,仅剩2~3层或1~2层细胞,残留的生精细胞和支持细胞组成网状结构。电镜观察发现,染毒停止1周后,250 mg/kg组小鼠睾丸支持细胞核仁不明显,圆形线粒体增多,部分线粒体嵴消失,呈空泡样改变,胞质内脂滴增多;各级生精细胞内均可见到呈空泡样改变的线粒体;顶体帽期精子细胞顶体颗粒消失,顶

基金项目 浙江省自然科学基金资助项目(No.302056);

* 通讯作者, E-mail: XY_Jia@163.com;

第一作者介绍 汪美贞,女,硕士;研究方向:动物生态毒理学。

收稿日期:2005-05-20,修回日期:2005-11-17

体囊内出现空泡,细胞核缩小,核、质比例失调;1 000 mg/kg组除上述改变外,生精细胞核膜肿胀、弯曲,胞质内溶酶体增多,停止染毒3周后,1 000 mg/kg组顶体帽期精子细胞数量减少,残留的顶体帽期精子细胞顶体膜皱缩,结构不清,部分生精细胞坏死。Singh等^[4]在猕猴上亦发现用醋酸铅(1 500 mg/kg)染毒持续9年,生精上皮中大多数细胞出现扭曲,滋养细胞中脂滴(lipid droplet)和溶酶体数量增多,多数膜结构出现分层。

1.2 铅对精子生成和发育的影响 铅对精子发育和成熟有干扰和阻碍作用,而且对精子有直接毒性。Batra等^[5]研究表明,铅可导致精子减少、活力降低、畸形,且铅诱发的精子畸变主要在头部,诱发产生的无定形和香蕉形精子的作用比无钩、胖头及小头精子更明显,推测可能是铅与精子DNA作用并干扰有关基因表达,进而影响精子的形成和发育。

Marchlewicz等^[6]用精子光化学密度(chemiluminescence,CL)对附睾尾部、睾丸、附睾头部精子数量进行了研究,发现这三部分的光化学密度明显要比对照组高,且附睾尾部<睾丸<附睾头部(分别为19%、39%、51%),即铅对附睾头部精子数量影响最严重,睾丸次之,附睾尾部最轻。提示在睾丸的不同部位,铅对精子生成的影响不同。

有研究进一步表明^[7],铅致睾丸和附睾的损伤、支持细胞的变化、滋养细胞的改变等都可影响精子的发生,从而对精子的生成和发育起一定的干预作用。Hernandez-Ochoa等^[8]最近的研究表明,低铅暴露环境可改变精子的质量和精子染色体的凝聚,提示铅可能通过改变精子中铅的可利用率而影响精子染色体的凝聚,进而影响精子的生成和质量。

1.3 铅对生殖内分泌功能的影响 铅作为雄性生殖毒物,接触早期直接增加附睾的雄性激素结合蛋白(androgen binding protein,ABP),即增加附睾的雄性激素结合蛋白的异常物质,以及直接损伤间质细胞合成的睾酮(T)促卵泡生成激素(FSH)和促黄体生成激素(LH)的分泌

功能。多数文献报道铅能导致血清中T水平下降,且随着暴露时间的延长,血睾水平不会进一步降低^[9]。Weibe等^[10]报道了铅对17 β -羟基类固醇脱氢酶、17-20裂解酶、3 β -羟基类固醇脱氢酶的活性有较强的抑制作用,表明铅可能通过抑制与类固醇激素生物合成有关的某些酶活性而影响到T的合成和分泌。

铅影响LH和FSH水平的结论不一。例如,李国玉等^[11]报道,进行铅作业的男工与健康男性相比,FSH和LH水平高;李新建等^[12]却报道,低铅负荷组(25~40 μ g/dl)LH含量水平明显低于对照组,而高铅负荷组(>40 μ g/dl)与对照组无显著性差异;FSH接触组与对照组间均无显著性差异。这种差异可能与机体内分泌反馈机制的作用有关。

随着对铅对内分泌功能影响研究的深入,发现铅可影响FSH与支持细胞上的FSH受体之间的结合作用。在培养的支持细胞基质中加入醋酸铅($2.64 \times 10^{-12} \sim 2.64 \times 10^{-4}$ mol/L),在醋酸铅浓度为 10^{-4} mol/L时,培养24 h后,FSH与其受体结合作用开始受到抑制,随着培养时间的延长,其受抑制作用增强^[13]。但是,Wiebe研究却发现,铅不是直接抑制FSH与受体的结合,而是抑制了受体蛋白的合成^[14]。

此外,从下丘脑-垂体-睾丸轴角度观察铅对生殖内分泌水平的影响,国内外也开展了一些研究,但结论有一定的差别。何群^[15]等的研究结果提示铅可干扰下丘脑-垂体-睾丸轴的正常生理功能;Ronis等^[16]的研究结果表明,铅同时作用于大鼠下丘脑-垂体-性腺轴的多个位点上;Wadi等^[17]却发现,在成年雄性CF-1小鼠中,铅作用于睾丸中精子的形成以及附睾中的精子发育,而非下丘脑-垂体-睾丸轴的位点上。近年来,Ronis等^[18]于妊娠期第5 d开始用不同浓度的醋酸铅对Sprague-Dawley大鼠母本进行染毒,后对雄仔继续染毒直至性成熟,发现生殖轴只有在特定发育时期内才对铅特别敏感。

2 铅对雄性生殖毒性的作用机理

2.1 对睾丸的脂质过氧化损伤 经铅处理后,

睾丸的脂质过氧化物(LPO)明显升高。用不同浓度的醋酸铅(15、30 mg/kg)腹腔注射昆明种小鼠,隔日1次,共11次,结果发现睾丸组织中的T-SOD、GSH-Px酶活力下降,其中T-SOD酶活力与铅含量呈显著负相关^[19],说明铅可通过血睾屏障,在睾丸组织内产生活性氧自由基,使睾丸组织发生脂质过氧化作用,使LPO含量升高,抗氧化酶SOD和GSH-Px活力下降,由此导致生精上皮细胞膜、支持细胞和间质细胞受损。结果说明,铅对睾丸的脂质过氧化作用是使雄性生殖功能受损的重要机制之一。

2.2 对睾丸标志酶活性的影响 G-6-PD、 β -G、LDH和LDHx可分别作为睾丸间质细胞、支持细胞、生精上皮和精子的标志酶,它们活力的改变影响各细胞的生理、生化功能,导致睾酮分泌下降,精细胞生长因子减少,精子发生和发育受阻,生精功能受损^[20]。王薛君等^[21]报道,雄性小鼠经铅染毒后,睾丸组织中支持细胞标志酶 β -G和LDHx酶活性呈现出明显的剂量-反应关系。贾秀英等^[22]报道,用硝酸铅溶液对成年雄性蟾蜍进行腹腔注射染毒连续7d后,LDH、ALP的活性随剂量的增加而降低。用一定浓度的醋酸铅持续处理大鼠45d发现,SDH以及间质细胞受损标志酶G-6-PD的活性发生明显改变^[23]。马文领等^[24]研究发现,铅可使睾丸间质细胞中NOS活性明显降低,且有实验指出,其产物NO与阴茎勃起、睾丸微循环的调节、雌激素的分泌、精子的成熟、运动及获能均有密切关系^[25]。可见,睾丸标志酶活性下降,影响各细胞的功能是致雄性生殖功能受到损害的又一机制。

2.3 对染色体、DNA及基因的影响 铅可致染色体断裂、姐妹染色单体交换(SCE)、DNA单链或(和)双链断裂、DNA片段缺失等,还可损害精子的活性和诱发生殖细胞染色体的畸变^[26]。孙淑云等^[27]用不同剂量的醋酸铅对成年C57BL雄性小鼠腹腔注射,每4d一次,共10次,结果发现,最高剂量组精原细胞和初级精母细胞染色体畸变显著增加,且精原细胞染色体结构和数目畸变均高于初级精母细胞。最近,

Hernandez-Ochoa等^[28]研究提示,在睾丸和附睾中,精子吸收的铅可与染色质中的巯基结合,降低了染色质的解凝聚,进而可能对受精后染色质的解凝聚过程起一定的干扰作用,这可能是诱发染色体结构畸变的原因之一。

在DNA水平上,Corpas等^[29]研究表明:铅可使睾丸中DNA、RNA和蛋白内容物显著下降,但是DNA与RNA的比率不变。Hartwig等^[30]指出铅可能通过抑制修复机制,即可能与修复酶,如聚合酶或连接酶以及CaM相互作用而在DNA水平上产生毒性作用。徐德祥等^[31]发现人精子DNA 8-羟脱氧鸟苷(8-OH dG) 10^6 脱氧鸟苷(dG)与铅浓度呈明显的正相关,提示铅可致人类精子DNA氧化损伤。刘晓梅等^[32]用单细胞凝胶电泳技术进行了关于铅对雄性小鼠生殖细胞DNA损伤的研究,表明醋酸铅在一定浓度范围内可引起DNA断裂,从而导致小鼠生殖细胞DNA损伤。研究还指出,不同浓度的醋酸铅皆可引起DNA的损伤,且在无明显细胞毒性的浓度下也能致小鼠生殖细胞的DNA损伤,如果其损伤不能修复,或者不能通过凋亡等方式将受损细胞排除,则会对生殖细胞造成严重的损害。

在基因水平上,关于铅对雄性毒性机理的报道较少。丁斐等^[33]报道,铅中毒可以影响睾丸和附睾组织神经生长因子(NGF)基因的表达,曹铮等^[34]的研究提示,NGF在睾丸中具有自分泌与旁分泌的作用,可能与促进精子自身的成熟、维持精子的活力有关;叶细标等^[35]推测ALAD2对铅对生殖的毒性具有保护作用。铅作为一种弱致突变剂,对遗传过程或染色体的影响可能是通过间接作用机制来调节的,如铅对DNA的修复抑制、与其他化学物(钙、硒等)的相互作用、作为一个促癌因子等。可见,铅对染色体和DNA损伤的结论还很不一致,基因表达水平研究还不够深入,有待于进一步研究。

2.4 对CaM、Ca²⁺-ATP酶活性的影响 近年来,对铅毒性分子水平的研究发现其靶点是体内生物大分子,其作用方式之一是竞争某些生

物大分子,非正常地调节其活动,如对 CaM 的作用。用不同剂量铅对大鼠经饮水染毒 45、90 d,发现各剂量组大鼠下丘脑、睾丸和精子中 CaM 含量与对照组相比均有不同程度的降低,且在性腺轴的多个环节都存在铅对 CaM 的影响^[36]。项翠琴等^[37]研究进一步表明,铅不仅抑制睾丸组织中 CaM 的活性,同时也抑制了 CaM 活性所依赖的 Ca^{2+} -ATP 酶的活性,这可能是铅对雄性生殖毒性的主要生化机制。

3 展 望

尽管目前在铅对雄性生殖毒性研究方面取得了很大进展,但仍存在着很多尚未解决的问题,在很多方面还有待加强。(1)深化雄性生殖机理的研究。尽管已开展了不少研究,但单纯的某一机制并不能解释铅对性腺睾丸的毒性。应利用睾丸细胞体外培养技术和分子生物学的各种技术手段,展开更加全面、系统的研究,进一步揭示铅对睾丸的致毒途径及其机理。(2)需引入更多的研究方法。目前铅对雄性生殖毒性研究多以急性毒性实验、亚慢性实验为主,低剂量慢性实验和联合毒性方面较少。开展在较低剂量下铅对动物的雄性生殖毒性研究,其结果的现实指导意义更高。(3)进一步拓宽铅对雄性生殖毒性的研究对象:当前铅对雄性生殖毒性研究多以哺乳动物为实验对象,对其他动物的研究较少。当前面临全球生态环境的日益恶化,加强铅对其他动物雄性生殖毒性的研究,可为探索重金属污染引起自然种群繁殖率下降的原因及机制积累第一手资料。总之,随着环境重金属污染的日益加剧,人们对生殖毒理学的进一步关注和了解,以及研究手段和方法的不断进步和完善,对铅等重金属的生殖毒性研究必将取得更大的发展。

参 考 文 献

- [1] Gautam A K, Agarwal K, Shah B A, *et al.* Lead induced spermatotoxicity in mouse and MPG treatment. *Environ Biol*, 2001 **22**(4):287 ~ 291.
- [2] Acharya U R, Acharya S, Mishra M. Lead acetate induced cytotoxicity in male germinal cells of Swiss mice. *Ind Health*, 2003 **41**(3):291 ~ 294.
- [3] Murthy R C, Saxena D K, Gupta S K, *et al.* Ultrastructural changes in the testis of rats. *Exp Pathol*, 1994 **42**(2):95 ~ 100.
- [4] Singh A, Cullen C, Dykeman A, *et al.* Chronic lead exposure induces ultrastructural alterations in the monkey testis. *Submicrosc Cytol Pathol*, 1993 **25**(4):479 ~ 486.
- [5] Batra N, Nehru B, Bansal M P. Influence of lead and zinc on rat male reproduction at 'biochemical and histopathological levels'. *Appl Toxicol*, 2001 **21**(6):507 ~ 512.
- [6] Marchlewica M, Michalska T, Wiszniewska B. Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence. *Chemosphere*, 2004, **57**(10):1553 ~ 1562.
- [7] Bizarro P, Acevedo S, Nino-Cabrera G, *et al.* Ultrastructural modifications in the mitochondrion of mouse Sertoli cells after inhalation of lead, cadmium or lead-cadmium mixture. *Reprod Toxicol*, 2003, **17**(5):561 ~ 566.
- [8] Hernandez-Ochoa I, Garcia-Vargas G, Lopez-Carrillo L, *et al.* Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Reprod Toxicol*, 2005 **20**(2):221 ~ 228.
- [9] Sokol R Z. The effect of duration of exposure on the expression of lead toxicity on the male reproductive axis. *Androl*, 1990 **11**(6):521 ~ 526.
- [10] Wiebe J P, Barr K J, Buckingham K D. Lead administration during pregnancy and lactation affects steroidogenesis and hormone receptors in testes of offspring. *Toxicol Environ Health*, 1982 **10**(4~5):653 ~ 666.
- [11] 李国玉, 张巧. 铅对男性生殖功能影响的研究. 河南预防医学杂志, 1999, **10**(3):156 ~ 157.
- [12] 李新建, 唐琪妮, 刘春芳等. 男性铅作业工人生殖内分泌激素的变化. 劳动医学, 1997, **14**(4):193 ~ 194.
- [13] 周景明, 张文龙. 铅对动物的生殖毒性. 动物医学进展, 2000 **21**(4):126 ~ 127.
- [14] Wiebe J P, Salhanick A I, Myers K I. On the mechanism of action of lead in the testes: *in vitro* suppression of FSH receptors, cycle Amp and steroidogenesis. *Life Sci*, 1983, **32**(17):1997 ~ 2005.
- [15] 何群, 关喆, 刘树范等. 铅作业男工血中某些生殖激素水平的研究. 中国工业医学杂志, 1998, **8**(3):138 ~ 140.
- [16] Ronis M J, Badger T M, Shema S J, *et al.* Reproductive toxicity and growth effects in rats exposed to lead at different periods during development. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1996, **136**(2):361 ~ 371.
- [17] Wadi S A, Ahmad D. Effects of lead on the male reproductive system in mice. *Toxicol Environ Health*, 1999, **56**(7):513 ~

- 521.
- [18] Ronis M J , Gandy J , Badger T . Endocrine mechanisms underlying reproductive toxicity in the developing rat chronically exposed to dietary lead. *Toxicol Environ Health* , 1998 , **54**(2) : 77 ~ 99 .
- [19] 范广勤 朱建华 ,冯昶等. 铅对小鼠睾丸组织脂质过氧化作用及杭白菊对其保护作用的研究. 现代预防医学 , 1999 , **26**(3) : 308 ~ 309 .
- [20] Marchlewica M , Michlska T , Wiszniewska B . Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence. *Chemosphere* , 2004 , **57**(10) : 1 553 ~ 1 562 .
- [21] 王薛君 张玉敏 ,崔金山. 醋酸铅对雄性小鼠生殖功能的影响. 中国工业医学杂志 , 2004 , **17**(4) : 237 ~ 239 .
- [22] 贾秀英 董爱华. 镉、铅对蟾蜍精巢作用的酶学研究. 生态学报 , 2004 , **24**(10) : 2 329 ~ 2 333 .
- [23] Saxena D K , Lal B , Srivastava R S , *et al* . Lead induced testicular hypersensitivity in stressed rats. *Exp Pathol* , 1990 , **39**(2) : 103 ~ 109 .
- [24] 马文领 张峰 ,刘卫等. 雷公藤及铅、镉对小鼠睾丸间质细胞一氧化氮合酶活性的影响. 解剖学报 , 2004 , **31**(2) : 183 ~ 186 .
- [25] 陆金春 ,黄宇烽. 一氧化氮合成酶和一氧化氮对生殖活动的作用. 生殖与避孕 , 1996 , **16**(3) : 167 ~ 169 .
- [26] Curtis D K . *Toxicology : the Basic Science of Poison* . 6th . Beijing : People ' s Medical Publish 2002 : 674 .
- [27] 孙淑云 ,金玉珂. 醋酸铅诱发小鼠生殖细胞染色体畸变的研究. 白求恩医科大学学报 , 1994 , **16**(1) : 44 .
- [28] Hernandez-Ochoa I , Sanchez-Gutierrez M , Solis-Heredia M J , *et al* . Spermatozoa nucleus takes up lead during the epididymal maturation altering chromatin condensation. *Reprod Toxicol* , 2006 (in press) .
- [29] Corpas I , Gaspar I , Martinez S , *et al* . Testicular alterations in rats due to gestational and early lactational administration of lead. *Reprod Toxicol* , 1995 , **9**(3) : 307 ~ 313 .
- [30] Hartwig A , Schlegel R , Meyersmann D . Indirect mechanism of lead-induced genotoxicity in cultured mammalian cells. *Mutat Res* , 1990 , **241**(1) : 75 ~ 82 .
- [31] 徐德祥. 人类精子 DNA 氧化损伤与精子质量和精液中镉、铅浓度的关系. 中国公共卫生学报 , 1999 , **18**(5) : 269 ~ 271 .
- [32] 刘晓梅 ,石龙 ,金明华等. 铅和镉对雄性小鼠生殖细胞 DNA 损伤的研究. 中国公共卫生学报 , 2004 , **20**(3) : 311 ~ 312 .
- [33] 丁斐 ,顾晓松 ,王晓冬等. 实验性铅中毒对睾丸神经生长因子基因表达的影响. 解剖学报 , 2000 , **31**(4) : 313 ~ 317 .
- [34] 曹铮 ,陆璐 ,丁斐等. 神经生长因子 mRNA 水平与睾丸生精细胞成熟和功能的关系. 中国男性科学杂志 , 1996 , **10**(3) : 136 ~ 139 .
- [35] 叶细标 ,鲁翼雯 ,吴翠娥等. ALAD 基因多态性对男性铅作业工人性激素水平的影响. 环境与职业医学 , 2004 , **21**(2) : 101 ~ 103 .
- [36] 徐国刚 ,蒋学之. 醋酸铅对雄性大鼠生殖内分泌器官钙调素的影响. 工业卫生与职业病 , 1995 , **21**(3) : 139 ~ 141 .
- [37] 项翠琴 ,刘春芳 ,张云英等. 铅对大鼠睾丸钙调素、ATP 酶的抑制作用. 环境与职业医学 , 2002 , **19**(3) : 132 ~ 133 .