

LD₅₀ 剂量芥子气中毒对大鼠生殖系统的影响

尚丽新¹*,裴丽鹏¹,张黎明²*,李 巨¹,申 健¹

(1. 解放军第 202 医院妇产科,沈阳 110003; 2. 第二军医大学海军医学系防化医学教研室,上海 200433)

[摘要] **目的:**评价芥子气中毒对大鼠生殖系统的影响。**方法:**成年 SD 大鼠 80 只,随机分为中毒组 and 对照组,每组 40 只,雌雄各半。中毒组背部皮下注射芥子气(5 mg/kg,LD₅₀,溶于丙二醇中),对照组注射等量丙二醇,分别于 1、3、5、7 和 28 d 每次取雌、雄各 3 只从眼球取静脉血,采用放免试剂盒检测血清中雌二醇、睾酮、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)的浓度。取血后处死动物,取其生殖器官(卵巢或睾丸)光镜下观察组织学改变。于中毒后第 4 天及第 5 天死亡雌鼠 2 只,雄鼠 3 只。**结果:**雌性大鼠的组织学及血清学改变均在一定时期内恢复正常。雄性大鼠在染毒后 1 个月,病理结果仍显示生精细胞大部分坏死脱落,曲细精管呈空网状;同时血清 FSH 水平从对照组的(1.210 0±0.354 6) mmol/L 升高至染毒 28 d 后的(1.475 0±0.045 1) mmol/L,差异具有显著性($P<0.01$)。**结论:**芥子气对雌性大鼠生殖系统的损害较轻,且恢复较快,而对雄性大鼠的生殖系统却存在着持久而不可逆的损害。

[关键词] 芥子气;卵巢;睾丸;性腺激素类

[中图分类号] R 827.174 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)06-0637-03

Effect of mustard gas at LD₅₀ dose on reproductive system of rats

SHANG Li-xin¹*, PEI Li-peng¹, ZHANG Li-ming², LI Ju¹, SHEN Jian¹ (1. Department of Obstetrics and Gynecology, No. 202 Hospital of PLA, Shenyang 110003, China; 2. Department of Chemical Defence Medicine, Faculty of Navy Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

[ABSTRACT] **Objective:** To evaluate the effect of mustard gas on reproductive system in rats. **Methods:** Forty male SD rats and 40 female rats were equally divided into mustard gas-treated group and control group. Animals in mustard gas-treated group were injected with 5 mg · kg body weight (LD₅₀) of mustard gas, and those in control group received propylene glycol injection. Serum hormonal determinations (estriol, testosterone, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone) were completed by collecting ocular vein blood at 1 day, 3 days, 5 days, 7 days and 28 days after injection. The rats were then killed were anatomized. Microscope was used to observe pathological changes in germ cells (ovary or testes). Two female rats and 3 male rats died during 4th and 5th day after injection. **Results:** The changes of serum hormone and pathology nearly restored to the normal levels in the female rats after injection of mustard gas for a short period. Most of the spermatogenic cells were still necrotic and seminiferous tubules still had hollow cross 1 month after injection in male rats. The FSH levels in the sera of male rats were significantly increased from (1.210 0±0.354 6) mmol/L in control group to (1.475 0±0.045 1) mmol/L 28 days after injection($P<0.01$). **Conclusion:** Mustard gas causes slight injury of ovary in female rats and the damage can recover in a short period, but it can cause long-time and unreversable injury to testes in male rats.

[KEY WORDS] mustard gas; ovary; testis; gonadal hormones

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(6): 637-639]

芥子气仍是列装的主要化学战剂, 尽管化学武器库不断更新, 但芥子气以其性质稳定、成本低廉、防护与消毒都比较困难的特点仍然占有十分重要的地位。对芥子气中毒机制的研究暂无突破性进展。目前芥子气中毒的防治是军事医学中的重要研究课题之一。芥子气能直接损伤组织细胞, 在局部引起皮肤、眼、呼吸道黏膜的炎症、坏死, 大剂量中毒时还能导致全身中毒, 但其对生殖系统的影响有待进一步探讨。本研究观察了芥子气对大鼠性激素水平及生殖器官功能结构的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 SD 大鼠 80 只, 雌雄各半, 体质量 200~300 g, 购自中国科学院上海实验动物中心; 芥

子气由第二军医大学海军医学系防化医学教研室提供, 芥子气纯度(97%, 密度为 1 : 27)用冰点法测定, 临用前丙二醇稀释成 0.12%(质量体积分数)溶液; 放免试剂盒购自上海麦莎生物科技有限公司。
1.2 动物分组及染毒 大鼠常规适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组和中毒组, 每组 40 只, 雌雄各半。中毒组背部皮下注射芥子气(5 mg/kg, LD₅₀), 对照组注射等量的丙二醇。

[基金项目] 全军“十五”指令性课题(01L054)。Supported by a Mandatory Project by the Tenth Five-Year Plan of PLA(01L054)。

[作者简介] 尚丽新, 主任医师, 硕士生导师。

* Corresponding author. E-mail: obstetricspengpeng@yahoo. com. cn; lmzhang1969@yahoo. com. cn

1.3 检测指标和方法 观察动物活动状态、食欲及腹泻情况,记录动物死亡时间。中毒组于中毒后 1、3、5、7 和 28 d 5 个时间点,将未死亡的大鼠雌、雄各取 3 只从眼球取血,室温放置 1 h,4℃ 放置 3 h,1 500 r/min($r=10\text{ cm}$)离心 10 min,取上清。采用放免试剂盒检测血清中雌二醇、睾酮、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)的浓度。将大鼠生殖器官(卵巢或睾丸)以 10% 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋。H-E 染色,树脂封片,Olympus 光学显微镜(BX4/TF 型)观察,DP12 显微数码摄影。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 12.0 软件,组间比较采用 χ^2 检验和单因素方差分析。

2 结 果

2.1 一般状况 染毒组自第 3 天起,食欲、活动均明

显减少,腹泻率为 80%,自第 3 天起口鼻出现血性分泌物。染毒后第 4~5 天为死亡高峰期,于中毒后第 4 天及第 5 天死亡雌鼠 2 只,雄鼠 3 只。除人为处死外,雌性与雄性分别死亡 4 只及 6 只。对照组动物在观察期内均未出现食欲、活动改变,无腹泻及死亡。

2.2 病理学检查 死亡的大鼠于死亡当日立即解剖,存活的大鼠分别于中毒 1、3、5、7 和 28 d 后乙醚麻醉,处死后取其生殖器官。病理结果显示:中毒 3 d 后大鼠卵巢颗粒细胞层出现点状坏死(图 1A);中毒 5 d 后,卵巢颗粒细胞点状坏死,同时间质纤维组织轻度增生,部分滤泡萎缩(图 1B);中毒 7 d 后,滤泡扩张,颗粒细胞散在坏死(图 1C)。中毒 3 d 后,各级生精细胞数量减少并有脱失(图 2A);中毒 5 d 及 7 d 后,生精细胞大部分脱失,细胞数量明显下降(图 2B);中毒 28 d 后生精细胞大部分坏死脱落,曲细精管呈空网状(图 2C)。

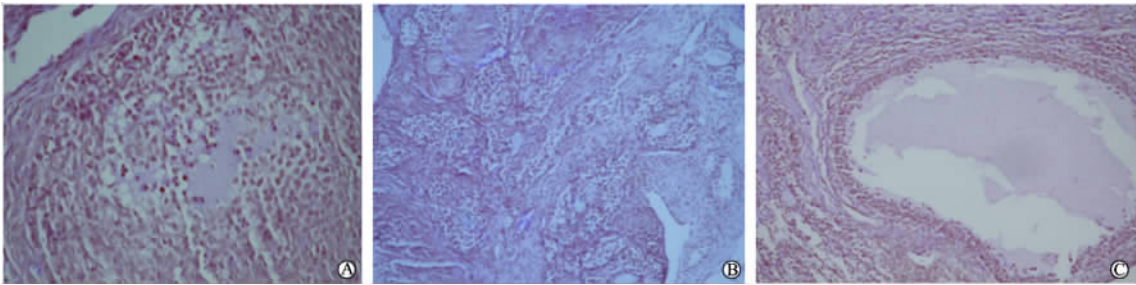


图 1 芥子气染毒后大鼠卵巢结构的改变

Fig 1 Pathological changes of rats' ovary after mustard gas treatment treatment

A: Dotted necrosis of granulosa cells 3 days after mustard gas treatment ($\times 400$); B: Dotted necrosis of granulosa cells; fibrous tissue and moderate hyperplasia; follicles atrophy was seen 5 days after contamination by mustard gas ($\times 200$); C: Follicles dilation and granular cells necrosis were seen 7 days after contamination by mustard gas ($\times 400$)

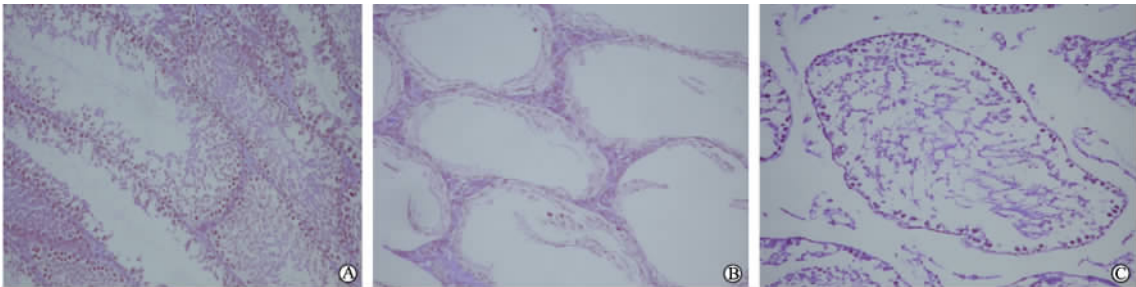


图 2 芥子气染毒后大鼠睾丸结构的改变

Fig 2 Pathological changes of rats' testis after mustard gas injection

A: Spermatogenic cells decreased and disappeared 3 days after contamination by mustard gas($\times 200$); B: Spermatogenic cells nearly disappeared, and the cell number decreased 7 days after contamination by mustard gas($\times 200$); C: Nearly all spermatogenic cells were necrotic and seminiferous tubule had hollow cross 28 days after contamination by mustard gas($\times 200$)

2.3 性激素水平的变化 由表 1 可见,雌性大鼠芥子气染毒后第 3 天开始 FSH 水平显著降低($P<0.01$),至第 5 天达到最低后又逐渐升高至染毒前水平,而雄性大鼠 FSH 水平在染毒最初(3~5 d)显著降低($P<0.01$),28 d 后仍存活的雄性大鼠 FSH 水

平显著高于对照组($P<0.01$)。雌激素与雄激素在中毒最初(1~5 d)均显著降低($P<0.01$),28 d 时均基本恢复中毒前水平。LH 水平在染毒大鼠中未见明显改变。对照组中各时点激素水平无明显差异(表中未列出)。

表 1 SD 大鼠染毒后性激素水平

Tab 1 Sex hormone of mice after mustard gas treatment							
(n=3, $\bar{x}\pm s$)							
Sex	Hormone	Control	Time after mustard gas treatment(t/d)				
			1	3	5	7	28
Female	FSH($c_B/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.250 0±	1.182 5±	0.876 3±	0.627 5±	0.757 5±	1.239 8±
		0.421 5	0.330 0*	0.077 6**	0.090 5**	0.065 4**	0.336 5
	LH($z_B/\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.170 0±	0.160 0±	0.166 3±	0.168 7±	0.168 7±	0.168 9±
		0.013 5	0.008 2*	0.021 1	0.013 5	0.018 1	0.024 5
	E2($c_B/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	62.795 0±	67.450 0±	55.817 5±	31.258 0±	70.06 5±	63.124 5±
		9.416 5	5.939 7**	5.544 6**	14.114 5**	7.615 5**	6.231 5
Male	FSH($c_B/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.210 0±	1.095 0±	0.923 8±	0.795 0±	1.061 3±	1.475 0±
		0.354 6	0.048 0*	0.054 5**	0.079 5**	0.073 7**	0.045 1**
	LH($z_B/\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.030 0±	0.982 5±	0.928 8±	0.893 8±	1.060 0±	1.047 5±
		0.125 4	0.137 2	0.060 6	0.037 4*	0.085 9	0.058 2
	Androgen($c_B/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	36.320 0±	34.215 0±	18.570 0±	11.943 8±	27.265 0±	35.352 5±
		2.504 3	2.504 3*	2.009 1**	2.271 9**	1.951 5*	3.043 8

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group

3 讨 论

芥子气进入人体后可迅速而广泛地分布到各种组织,通过烷化核酸等生物大分子的特异性作用^[1],对增殖迅速的组织产生明显的毒性^[2-3],如骨髓和胃肠道黏膜等。因此推测快速增殖的生殖细胞特别是雄性生殖细胞也必将受到严重的损伤。本实验病理结果显示,染毒后 1~3 d 的雌性大鼠,卵巢的卵泡组织已发生明显的病理改变,颗粒细胞层出现点状坏死;染毒后 7 d,卵巢颗粒细胞仍为点状坏死伴部分滤泡扩张;而染毒后 28 d 的雌鼠病理结构基本正常。说明芥子气对雌性大鼠的生殖系统在中毒的早期有明显的影响,但随之可以较快恢复。而雄性大鼠在染毒后 1 d 未见明显异常,染毒后 7 d,生精细胞大部分脱失,细胞数量明显下降;染毒后 28 d,生精细胞大部分坏死脱落,曲细精管呈空网状。有学者以家犬为模型也得出相同结论^[4]。说明芥子气对雄性大鼠生殖系统的影响是持久而不可逆的。

血清学检测结果显示,雌、雄大鼠在染毒后的早期各种激素水平均有所降低,而雌性大鼠激素水平在一过性降低后又逐渐恢复到染毒前水平,雄性大鼠的睾酮及 LH 水平逐渐恢复,而在染毒后 28 d,其血清 FSH 水平显著升高。FSH 和 LH 是脑垂体促性腺细胞分泌的重要性激素。FSH 在雌性可促进卵泡的发育,在雄性则刺激睾丸生精小管的支持细胞合成雄性激素结合蛋白,并促进精子的发生;LH 在雌性可促进排卵和黄体形成,在雄性则刺激睾丸间质细胞分泌雄性激素。FSH、LH 和睾酮是调控精子发生、发育的主要激素。在正常生理状态下,FSH 与支持细胞受体结合,使支持细胞内 cAMP 增

多,活性增强,并分泌多种活性物质,通过旁分泌作用或接触作用及其与睾酮的协同作用启动精子的发生^[5]。血清中 LH 作用于睾丸间质细胞合成分泌睾酮,而睾酮则对 LH 释放、下丘脑起反馈抑制作用;FSH 作用于睾丸支持细胞,促进精子成熟,而睾丸支持细胞本身产生的抑制素,对垂体分泌 FSH 和下丘脑起反馈抑制作用;FSH 水平高低是衡量睾丸生精功能是否正常的重要标志。本实验中 FSH 增高的可能因为生殖细胞及支持细胞的损伤,使其产生的抑制素水平降低,缺乏对 FSH 负反馈的抑制,致使其水平升高。同时也由于间质细胞产生的睾酮水平下降,影响支持细胞的功能,进一步使抑制素的水平降低,FSH 水平升高,与以往的研究结果相同^[6]。因此血清学检测结果进一步显示了芥子气对雄性大鼠的生殖系统存在着较严重而持久的损害。

[参 考 文 献]

[1] Azizi F, Keshavarz A. Reproductive function in men following exposure to chemical warfare with sulfur mustard[J]. Mes War, 1995, 11: 34-44.

[2] Smith W J, Gross C L. Sulfur mustard medical countermeasures in a nuclear environment[J]. Mil Med, 2002, 167(2 Suppl): 101-102.

[3] Kisby G E, Springer N, Spencer P S. *In vitro* neurotoxic and DNA-damaging properties of nitrogen mustard[J]. J Appl Toxicol, 2002, 20(Suppl 1): S35-S41.

[4] 蔡 芸, 马 骞, 张黎明, 等. 芥子气中毒对家犬生殖系统的影响[J]. 中国公共卫生, 2004, 20: 664-665.

[5] Niederberger C S, Shubhada S, Kin S I, et al. Paracrine factors and regulation of sperma-togenesis[J]. World Urol, 1993, 1: 120-125.

[6] Safarinejad M R. Testicular effect of mustard gas[J]. Urology, 2001, 58: 90-94.