

动式吸入甲醛对雄性小鼠生殖系统的影响

李诗宇¹, 宫磊^{2,3}, 何连君¹, 陈宇佛¹, 钟静¹, 张梦怡¹, 陆晓华⁴

(皖南医学院 1. 临床医学院; 2. 医学生物学教研室; 3. 医学遗传学研究室; 4. 机能学实验中心, 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的: 探讨吸入不同浓度的气态甲醛对雄性小鼠生殖系统的影响。方法: 将 30 只性成熟期健康雄性小鼠随机分为对照组、甲醛染毒 1~4 组, 每组 6 只。对照组小鼠吸入空气, 其他 4 组小鼠吸入的空气中甲醛的浓度分别为 (0.18 ± 0.06) mg/m³、(0.55 ± 0.13) mg/m³、(1.08 ± 0.27) mg/m³、(4.14 ± 1.68) mg/m³, 每天染毒 8 h, 共 30 d。染毒结束后检测小鼠血清性激素水平、计算睾丸脏器系数、进行精子计数和精子畸形率检测。结果: 各剂量甲醛染毒组小鼠与对照组相比, 在血清性激素水平、睾丸脏器系数以及精子数量上无明显差异, 但在精子形态上甲醛染毒 3 组、4 组小鼠精子畸形率明显高于对照组 ($P < 0.05$ $P < 0.01$)。相关性检验显示, 甲醛染毒剂量与精子畸形率呈显著正相关 ($r_s = 0.784$, $P < 0.05$)。结论: 亚急性吸入 1 mg/m³ 或以上浓度的甲醛可能造成雄性小鼠生殖系统损伤。

【关键词】动式吸入; 甲醛; 雄性小鼠; 生殖系统

【中图分类号】R 114 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2017.03.002

Effects of dynamic inhalation of formaldehyde on the reproductive system of male mice

LI Shiyu, GONG Lei, HE Lianjun, CHEN Yufo, ZHONG Jing, ZHANG Mengyi, LU Xiaohua

School of Clinical Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To observe the effects of inhaling different concentrations of gaseous formaldehyde on the reproductive system of male mice. **Methods:** Thirty healthy adult male mice were randomized into 5 groups ($n = 6$ for each). Four groups were exposed to gaseous formaldehyde inhalation in different dosage [(0.18 ± 0.06) mg/m³, (0.55 ± 0.13) mg/m³, (1.08 ± 0.27) mg/m³, and (4.14 ± 1.68) mg/m³, respectively] 8 h daily for consecutive 30 days and another group was included as controls treated with normal air exposure. Then serum sex hormone levels, organ coefficients of testis, sperm count and abnormality rate were measured and calculated in all mice. **Results:** There was no significant difference in serum sex hormone levels, organ coefficients of testis and sperm count between formaldehyde exposure groups and control group, and yet mice treated with higher formaldehyde dose (group 3 and 4) had significantly higher sperm abnormality rate than the controls ($P < 0.05$, $P < 0.01$, respectively). Correlation test indicated significantly positive correlation of formaldehyde exposure dose with sperm abnormality rate ($r_s = 0.784$, $P < 0.05$). **Conclusion:** Subacute inhalation of formaldehyde in dose of 1 mg/m³ or over may cause damage to the reproductive system of male mice.

【Key words】dynamic inhalation; formaldehyde; male mouse; reproductive system

人们在生产生活中经常接触到甲醛, 甲醛 (HCHO) 为无色、具有强烈气味的刺激性气体, 其用途非常广泛, 造纸、染料、塑料、橡胶、皮革、建筑材料以及消毒、熏蒸和防腐过程中均要用到甲醛^[1-2]。随着人造木质板材、粘合剂等材料的使用, 甲醛更是广泛地进入人类家居和办公环境中, 成为我国主要的环境污染物之一。甲醛的释放是一个持续的过

程, 释放时间可持续 3~15 年^[3-4]。许多研究显示甲醛可以对人体眼、呼吸道、肝脏、肾脏、血液等多个器官造成损害^[4-5], 但甲醛对生殖系统的影响尚不明确, 特别是低浓度气态甲醛吸入对生殖系统影响的研究较少, 本研究对性成熟期雄性小鼠予以亚急性动式吸入甲醛染毒, 以探讨低浓度气态甲醛对雄性小鼠生殖系统可能存在的影

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201410368038)

收稿日期: 2016-09-30

作者简介: 李诗宇 (1994-), 女, 2011 级临床医学本科生, (电话) 18355317708, (电子信箱) 734487006@qq.com;

宫磊, 女, 副教授, (电子信箱) leigong03@126.com, 通信作者。

1 材料与方法

1.1 实验试剂 37% ~ 40% 甲醛溶液(天津市百世化工有限公司生产), 0.25% 伊红染液, 99.5% 甲醇溶液, 75% 乙醇。小鼠血清性激素(睾酮、卵泡刺激素、黄体生成素)ELISA 检测试剂盒(深圳子科生物科技有限公司)。

1.2 实验器材 PPM Formaldemeter™ 400 型甲醛分析仪(英国 PPM 公司), 圆柱形带风扇气体染毒罐(定制、圆柱形、体积 0.066 m³、顶端圆形开口直径 2.7 cm)、F50 酶标仪(Tecan 公司), Olympus CX23 光学显微镜, 低速离心机, 细胞计数板(上海求精生化试剂仪器有限公司)。

1.3 实验动物分组与染毒 取 30 只性成熟期健康清洁级雄性小鼠(皖南医学院动物中心提供), 6 ~ 8 周龄, 体质量(35.4 ± 5.2) g。将小鼠随机分为甲醛染毒 1、2、3、4 剂量组和对照组, 每组 6 只。将甲醛染毒 1、2、3、4 剂量组的小鼠分别放入盛有液体甲醛、挥发后气态甲醛平均浓度分别为(0.18 ± 0.06) mg/m³、(0.55 ± 0.13) mg/m³、(1.08 ± 0.27) mg/m³、(4.14 ± 1.68) mg/m³ 的 4 个染毒罐中, 每天染毒 8 h, 连续 30 d, 对照组置于无甲醛的染毒罐中, 吸入正常空气, 每天 8 h, 连续 30 d。

1.4 血清性激素的测定 小鼠眼眶取血, 室温静置 2 h, 3000 r/min 离心 20 min, 吸取上清, ELISA 法检测血清中睾酮(testosterone, T)、卵泡刺激素(luteotrophic hormone, LH)、黄体生成素(follicle-stimulating hormone, FSH) 的浓度。

1.5 脏器系数观察与计算 小鼠称取质量, 颈椎脱臼法处死后, 立即取出双侧睾丸, 称重后计算脏器系数。

1.6 精子计数及精子形态检测 颈椎脱臼法处死小鼠后取单侧附睾, 放入盛有 2 mL 生理盐水(事先 37 °C 恒温水浴)的培养皿中, 用眼科剪充分剪碎, 吸管轻打匀, 制成精子悬液, 四层擦镜纸过滤入 10 mL 离心管中, 37 °C 水浴 20 min, 使其充分游离。吸取少量滤液注入计数板中, 按红细胞计数法, 计算出每毫升精子悬液中精子数。剩余滤液 1000 r/min 离心 5 min, 弃大部分上清液, 剩余少许上清液与沉淀混匀, 滴于载玻片上, 涂片。待玻片干燥后用甲醇固定 5 min, 伊红溶液染色 1 h, 自来水冲去余液, 干燥后于高倍镜下观察, 计算精子畸形率, 小鼠精子畸形的判定参考中华人民共和国国家标准(GB15193.7-2003)。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。各组间的比较采用单因素方差分析, 气态甲醛的染毒浓度与各指标之间的相关性分析采用 Spearman 相关检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

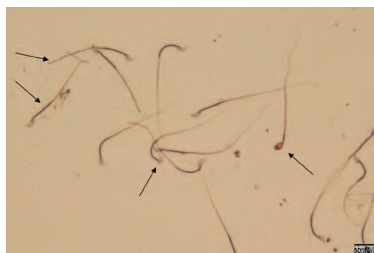
2 结果

2.1 甲醛对血清性激素水平、睾丸脏器系数和精子数量的影响 对小鼠血清性激素水平、睾丸脏器系数和精子数量的检测结果显示, 各甲醛染毒组的小鼠血清性激素水平、睾丸脏器系数和精子数与对照组相比, 差异均无统计学意义(表 1)。

表 1 甲醛对血清性激素水平、睾丸脏器系数和精子数量的影响

组别	n	FSH/(mIU/mL)	LH/(pg/mL)	T/(ng/mL)	睾丸脏器系数/(mg/g)	精子数/(×10 ⁶ /mL)
对照组	6	59.68 ± 8.83	1038.83 ± 140.61	7.83 ± 1.39	6.47 ± 3.14	2.97 ± 1.70
甲醛染毒 1 组	6	59.64 ± 8.29	1067.40 ± 130.55	9.56 ± 2.70	7.95 ± 1.49	3.75 ± 1.98
甲醛染毒 2 组	6	53.85 ± 12.68	1068.00 ± 103.76	8.26 ± 3.41	7.40 ± 2.24	2.17 ± 0.86
甲醛染毒 3 组	6	50.30 ± 15.92	1103.83 ± 95.39	9.50 ± 3.34	5.84 ± 2.16	2.45 ± 1.23
甲醛染毒 4 组	6	47.73 ± 9.17	1128.20 ± 98.26	9.84 ± 3.37	7.60 ± 2.04	2.65 ± 0.89
F		1.18	0.51	0.52	0.87	1.13
P		0.35	0.73	0.72	0.50	0.37

2.2 甲醛对精子畸形率的影响 对小鼠精子形态的检测结果显示(表 2, 图 1)显示, 甲醛染毒 3、4 组与对照组相比精子畸形率显著增加(P < 0.05, P < 0.01)。Spearman 相关检验显示甲醛染毒浓度与精子畸形率呈强正相关(r_s = 0.784, P < 0.05)。



0.25% 伊红染色, 放大倍数 10 × 40, 箭头指示处是形态畸形的精子。

图 1 甲醛对小鼠精子形态的影响

表2 甲醛对精子畸形的影响(n=6)

组别	观察精子数/个	畸形类型												畸形率/%
		头部畸形/个				颈部畸形/个			尾部畸形/个					
		无钩	无定形	其他	合计	颈部弯曲	颈短	颈细	合计	断尾	尾部弯曲	尾部卷曲	合计	
对照组	3102	29	99	42	170	151	6	2	159	21	0	125	146	15.31 ± 3.31
甲醛染毒1组	3045	7	78	27	112	264	3	1	268	9	46	76	131	17.52 ± 3.65
甲醛染毒2组	3055	40	208	27	275	186	5	2	193	4	33	80	117	19.15 ± 6.67
甲醛染毒3组	3070	26	55	27	108	273	1	4	278	10	181	162	353	24.04 ± 3.55*
甲醛染毒4组	3015	27	121	27	168	241	2	5	248	15	187	369	571	32.70 ± 3.65**

与对照组比较,* P<0.05,** P<0.01。

3 讨论

甲醛是室内空气的主要污染物之一,易从家具与装饰材料中释放而污染室内空气。中华人民共和国国家标准《居室空气中甲醛的卫生标准》(GB/T 16127-1995)中规定室内空气中甲醛的最高允许浓度为0.08 mg/m³,但不少新装修居室空气中甲醛的浓度都存在超标现象,严重的可以达到1 mg/m³以上^[6],其对人类健康的潜在影响不容忽视。目前,甲醛吸入对生殖系统的影响尚无定论,一些动物实验研究显示腹腔或皮下注射一定浓度的甲醛或静式吸入高浓度的甲醛可引起雄性大鼠或小鼠生殖系统的损伤^[7-11],但低浓度甲醛吸入对生殖功能影响的研究较少,国内王晓平等^[12]曾以0.5 mg/m³、1.0 mg/m³、3.0 mg/m³浓度的气态甲醛对小鼠进行急性吸入式染毒72 h,结果发现各染毒组早期精细胞微核率均高于对照组,微核率与染毒剂量呈正相关。本研究欲模拟实际环境中气态甲醛对人体污染的形式,采用动式吸入甲醛的染毒方式,以国家规定限制值以上浓度的甲醛对性成熟期雄性小鼠给予亚急性染毒一个月,以探讨其对生殖系统潜在的影响。结果发现各剂量甲醛染毒组小鼠与对照组小鼠相比在血清性激素水平、睾丸脏器系数以及精子数量上均无明显差异,但当气态甲醛的平均浓度为(1.08 ± 0.27) mg/m³时,精子畸形率显著增高,并随甲醛浓度的进一步增高,精子畸形率增加。精子的形态结构与精子的功能密切相关,异常形态的精子可导致精子活动度下降或失去受精能力^[13],本实验研究结果提示亚急性吸入1 mg/m³或以上浓度的甲醛对雄性小鼠的生殖细胞可能有一定的毒害作用,长期吸入低浓度甲醛是否与部分男性不育相关值得进一步研究。在对甲醛的测定中,我们还发现空气中甲醛的浓度受温度、湿度、通风量等因素的影响处于动态

变化之中,实际生活中对甲醛浓度的测定应多时、多点、多次进行,从而能更准确地反映室内甲醛的污染程度。居室装修结束半年内应注意通风换气,避免高温环境下关闭门窗所致室内甲醛浓度升高。

【参考文献】

- [1] 闫金萍. 甲醛及其对人体健康的危害[J]. 化学世界, 2004, 45(10): 558-559.
- [2] BACHAND AM, MUNDT KA, MUNDT DJ, et al. Epidemiological studies of formaldehyde exposure and risk of leukemia and nasopharyngeal cancer: a meta-analysis[J]. Crit Rev Toxicol, 2010, 40(2): 85-100.
- [3] TANG X, BAI Y, DUONG A, et al. Formaldehyde in China: production, consumption, exposure levels, and health effects[J]. Environ Int, 2009, 35(8): 1210-1224.
- [4] CHUBIRKO MI, STEPKIN IUI, PICHUZHKINA NM, et al. Risk factors of the intra-housing environment to human health[J]. Gig Sanit, 2005, 1(1): 11-12.
- [5] 王南南, 叶琳. 甲醛暴露的生物标志物研究现状[J]. 中国公共卫生学报, 2004, 20(8): 1004-1006.
- [6] 迟欣, 石玉琴, 颜进, 等. 武汉市室内装修后甲醛浓度动态变化规律研究[J]. 环境与健康杂志, 2007, 24(2): 81-83.
- [7] 邱曙东, 周党侠. 男性不育机制部分研究热点的探讨[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2007, 28(4): 349-352.
- [8] 王海旭, 周党侠, 李视, 等. 甲醛急性染毒对性成熟期雄性大鼠精子质量、血清性激素及睾丸间质细胞结构及功能的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2012, 33(4): 413-425.
- [9] 汤其宁, 郝敬贡, 杨黎明, 等. 甲醛-苯联合染毒对小鼠的致突变作用[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(5): 323-324.
- [10] 余黎, 谢颖, 唐明德, 等. 甲醛对小鼠睾丸各阶段生殖细胞致突性的研究[J]. 实用预防医学, 2003, 10(5): 646-647.
- [11] 邢沈阳, 叶琳, 王南南, 等. 甲醛对雄性小鼠的生殖遗传毒性[J]. 吉林大学学报(医学版), 2007, 33(4): 716-718.
- [12] 王晓平, 段丽菊, 严彦, 等. 甲醛对雄性小鼠生殖细胞毒作用的研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2005, 39(3): 373-378.
- [13] 李晋军, 周新华. 男性生殖损害及评价[J]. 遵义医学院学报, 2004, 27(5): 502-505.