

文章编号 :1001-5914(2005)05-0348-03

氯化甲基汞染毒对大鼠后代发育的影响

任锐¹, 范春², 刘延丽²

摘要 :目的 探讨甲基汞对雄性大鼠生殖功能的影响和通过父系传播对后代的影响。方法 将 20 只 Wistar 雄性大鼠随机分为 4 组,分别给予 0、0.058、0.580、1.170 mg/kg 体重的氯化甲基汞,以隔日经口灌胃的方式染毒,持续染毒 2 个月,将其与健康雌性大鼠交配,观察仔鼠的生长发育与神经行为发育情况。结果 1.170、0.580 mg/kg 组仔鼠体重低于对照组,其早期生长发育指标落后于对照组仔鼠,染毒组仔鼠转体时间延长、前肢悬挂时间缩短,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组仔鼠平面翻正、断崖回避、空中翻正的正确率与对照组相比,也明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 雄鼠甲基汞染毒后,可以影响仔鼠的生长发育和神经行为发育。

关键词 :汞;甲基汞;发育障碍;神经行为

中图分类号 :R994.6

文献标识码 :A

Effects of Methyl Mercury on the Development of Rat Offspring REN Rui, FAN Chun, LIU Yan-li. *Public Health College, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China*

Abstract: Objective To study the effect of methyl mercury on the development of rat offspring. **Methods** The male Wistar rats were divided into four groups randomly, each group was administrated methyl mercury by gavage every two days for two months, then, the rats were mated with healthy female rats. The development, growth and behaviors of offspring were investigated. **Results** Compared with the control, the body weights of offspring in groups of 1.170 mg/kg and 0.580 mg/kg were less and the development was tardy. The indexes that can reflect the level of development showed that the behaviors of offspring in experimental groups were damaged. **Conclusion** The male rats exposed to methyl mercury may produce an adverse effect on the development, growth and behaviors of their offspring.

Key words: Mercury; Methyl mercury; Developmental disabilities; Behaviors

甲基汞是一种神经毒物,它可以通过母体传播而严重影响后代的生长发育,对胎儿的损害更为严重^[1]。目前,对甲基汞的行为致畸已经较为肯定^[2],但是关于甲基汞通过父系传播对后代的影响国内外尚未见报道,本研究采用氯化甲基汞对雄性大鼠持续染毒,观察其对雄鼠的生殖能力和通过父系传播对后代的生长发育和神经行为发育的变化情况。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

F-732 型双光路测汞仪(江苏亿通电子公司)。氯化甲基汞(纯度 98%,德国 Merck 公司生产)。

1.2 动物分组与染毒

断乳二级 Wistar 雄性大鼠 20 只(哈尔滨医科大学动物室提供),体重 80~100 g,适应 1 周后,按体重随机分为 4 组,每组 5 只。采用氯化甲基汞隔日经口灌胃的方式持续染毒,染毒剂量分别为 1/50 LD₅₀、1/100 LD₅₀、1/1 000 LD₅₀,大鼠经口 LD₅₀ 为 58.0 mg/kg 体重,则染毒剂量分别是 1.170 mg/kg 体重、0.580 mg/kg 体重、0.058 mg/kg 体重,阴性对照组给予生理盐水(2 ml/kg),染毒 2 个月后,将其按照 1:2 比例与健康雌

性大鼠合笼,次日通过阴道涂片检查雌性大鼠是否受孕,连续 2 周。对雄鼠进行腹主动脉采血,并取其睾丸和脊背部体毛。饲养受孕大鼠至其正常产仔。观察各组雌鼠受孕及仔鼠生长发育情况与神经行为指标。

1.3 观察指标

父系大鼠体重增长量的计算方法为,分别计算在第 30、45 和 60 天父系大鼠的体重增长,计算式为:体重增长量=(各时期体重-染毒前体重);父系大鼠全血和睾丸中汞含量检测,采用加氧燃烧-冷原子吸收法应用 F-732 型双光路测汞仪测定父系大鼠血、睾丸和背毛中总汞含量;雌鼠受孕率,记录各组雌鼠的受孕率和妊娠率;仔鼠数量、成活率和性别;仔鼠体重,仔鼠出生后每 3 d 测定一次体重。早期生长发育指标:分别记录各组仔鼠出生后张耳、门牙萌出、开眼、睾丸下降、阴道开启的时间,并进行各组之间的比较。神经行为发育指标:对仔鼠进行断崖回避、平面翻正、转体时间、前肢悬挂、空中翻正实验,分别在仔鼠出生后 4、6、6、10、12 d 进行。

1.4 统计方法

采用 SPSS 10.0 软件分别进行 *t* 检验,方差分析和 *H* 检验。

2 结果

2.1 父系大鼠体重增长和汞蓄积情况

大鼠体重增长近似正态分布,经方差分析,染毒

作者单位:1.哈尔滨医科大学公共卫生学院(黑龙江 哈尔滨 150086);

2.厦门大学医学院(福建 厦门 361005)

作者简介:任锐(1975-),女,助教,博士研究生,从事神经毒理学研究。

30 d 时, 只有 0.580 mg/kg 组动物体重增加量低于对照组 ($P<0.05$), 染毒 45 d、60 d 时, 1.170 mg/kg 组动物体重增加量低于对照组 ($P<0.01$), 其他各实验组动物体重增加量与对照组比较, 差异无统计学意义。各染毒组父系大鼠血、睾丸和背毛中总汞含量高于对照组 ($P<0.01$)。见表 1、2。

2.2 与氯化甲基汞染毒的雄鼠交配的雌鼠受孕率、妊娠率和产仔情况

与各组雄鼠交配的雌鼠受孕率之间差异有统计学意义 ($P<0.05$); 其中 1.170 mg/kg 组雌鼠受孕率低于对照组 ($P<0.05$), 与 0.580 mg/kg 组雄鼠交配的雌鼠的妊娠率低于对照组 ($P<0.01$)。各染毒组雌鼠产仔情况与对照组相比差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 与氯化甲基汞染毒的雄鼠交配的雌鼠受孕、妊娠和产仔情况

剂量 (mg/kg)	交配数 (只)	受孕		妊娠		产仔数 (只)	产仔情况			成活率 (%)
		受孕数 (只)	受孕率 (%)	妊娠数 (只)	妊娠率 (%)		成活数			
							雌性 (只)	雄性 (只)	合计 (只)	
0	10	8	80.0	30	87.5	30	14	16	30	100
0.058	10	5	50.0	12	40.0	12	7	5	12	100
0.580	10	6	60.0	10	16.7**	10	4	4	8	80
1.170	10	3	30.0*	15	100.0	15	6	8	14	93.3

注: 经 H 检验, 与 0 mg/kg (对照) 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

2.3 仔鼠生长发育情况

2.3.1 仔鼠体重增长情况

由图 1 可见, 1.170、0.580 mg/kg 两组仔鼠在发育过程中体重偏低, 而且随着时间延长而越明显。0.058 mg/kg 组与对照组相比, 体重差异不明显。在第 18 天、21 天, 0.058 mg/kg 组动物仔鼠体重高于对照组仔鼠。

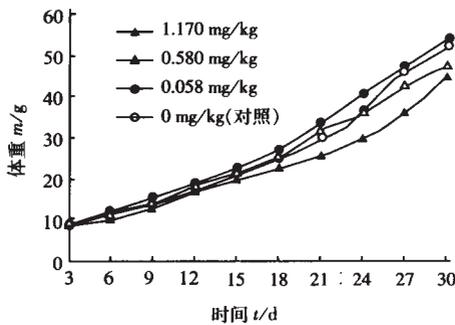


图 1 不同时间的仔鼠体重变化曲线 (n=5)

表 1 氯化甲基汞染毒父系大鼠体重增长量的情况 (n=5, $\bar{x}\pm s, g$)

剂量 (mg/kg)	30 d	45 d	60 d
0	32.0±13.8	59.4±15.1	109.6±18.0
0.058	42.6±17.0	45.8±10.7	90.6±19.8
0.580	7.8±2.4*	32.4±13.4	85.0±14.8
1.170	12.6±8.4	25.0±10.0**	49.2±20.2**

注: 经方差分析, 与 0 mg/kg (对照) 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

表 2 氯化甲基汞染毒父系大鼠血、睾丸和背毛中总汞含量 (n=5 $\bar{x}\pm s \mu g/g$)

剂量 (mg/kg)	血液	睾丸	背毛
0	0.087±0.013	0.085±0.013	0.093±0.005
0.058	0.293±0.022**	0.313±0.033**	0.414±0.044**
0.580	0.862±0.028**	1.095±0.116**	1.335±0.160**
1.170	2.776±0.036**	3.039±0.050**	2.549±0.115**

注: ** 经方差分析, 与 0 mg/kg (对照) 组比较, $P<0.01$ 。

2.3.2 仔鼠早期生长发育

由表 4 可见, 1.170 mg/kg 组与对照组相比, 除张耳和睾丸下降差异无统计学意义外, 开眼时间提前, 门牙萌出与阴道开启时间均滞后。0.580 mg/kg 组各项生长发育指标均滞后于对照组, 而 0.058 mg/kg 组与对照组相比只有开眼时间滞后, 其他指标差异无统计学意义。

2.3.3 仔鼠神经行为发育

染毒组转体时间与对照组相比, 明显延长 ($P<0.01$)。1.170、0.580 mg/kg 两组的前肢悬挂时间明显短于对照组 ($P<0.01$), 而 0.058 mg/kg 组与对照组相比, 差异无统计学意义。在平面翻正与断崖回避指标中, 1.170 mg/kg 组平面翻正、断崖回避的正确率均低于对照组 ($P<0.01$)。0.580 mg/kg 组仔鼠的平面翻正、断崖回避均低于对照组 ($P<0.01$, $P<0.05$); 在空中翻正这一指标中, 1.170 mg/kg 组动物实验正确率低于对照组, 0.058 mg/kg 组仔鼠平面翻正、断崖回避、空中翻正的正确率与对照组相比, 差异无统计学意义。见表 5。

表 4 仔鼠早期生长发育情况比较

($\bar{x}\pm s$)

剂量 (mg/kg)	张耳		开眼		门牙萌出		睾丸下降		阴道开启	
	幼仔数 (只)	时间 (d)	幼仔数 (只)	时间 (d)	幼仔数 (只)	时间 (d)	幼仔数 (只)	时间 (d)	幼仔数 (只)	时间 (d)
0	30	5.3±0.1	30	15.5±0.2	30	12.8±0.2	16	30.1±0.3	14	31.4±0.7
0.058	12	5.0±0.2	12	17.0±0.5*	12	12.8±0.2	5	31.5±0.6	7	31.2±1.3
0.580	8	7.0±0.2**	8	17.0±0.5*	8	15.0±0.2**	4	36.0±0.7**	4	40.0±1.3**
1.170	14	5.0±0.2	14	14.0±0.4**	14	16.0±0.2**	8	31.0±0.6	6	39.8±1.2**

注: 经 t 检验, 与 0 mg/kg (对照) 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

表 5 仔鼠神经行为发育指标

剂量 (mg/kg)	幼仔数 (只)	前肢悬挂 ($G \pm s$)	转体时间 ($G \pm s$)	平面翻正		断崖回避		空中翻正	
				正确数(个)	正确率(%)	正确数(个)	正确率(%)	正确数(个)	正确率(%)
0	30	1.3±0.3	0.7±0.3	30	100.0	30	100.0	30	100.0
0.058	12	1.2±0.2	1.2±0.2**	12	100.0	12	100.0	11	91.7
0.580	8	0.8±0.3**	1.3±0.4**	6	75.0 [#]	7	87.5 [#]	5	62.5
1.170	14	0.9±0.3**	1.4±0.2**	8	57.1 [#]	10	71.4 [#]	8	57.1 [#]

注: 经 t 检验, 与 0 mg/kg(对照)组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 经 H 检验, 与 0 mg/kg(对照)组比较, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ 。

3 讨论

甲基汞的生殖毒性已经被证实, 但是国内研究主要局限于现场水体甲基汞污染的现状分析和利用现有标准而进行的健康效应评价。目前, 研究均集中在甲基汞暴露对个体的危害以及通过母体胎盘屏障而引起的胎儿甲基汞危害方面。研究表明, 甲基汞不仅可以作用于雌性生殖系统进而通过胎盘直接造成对胎儿的损伤, 也可能对卵细胞造成遗传损伤从而危害子代^[3]。动物实验的结果显示, 甲基汞能够作用于雄性生殖系统, 影响雄性动物的交配能力, 也可能作用于雄性生殖细胞 DNA, 造成遗传损伤从而影响子代生长发育^[4]。通过本实验结果可见, 甲基汞可以通过损害父体生殖系统而造成对后代的生长发育和神经行为产生不良影响。与甲基汞介母系传播引起后代健康损害不同的是, 甲基汞经胎盘屏障进入胎儿体内, 危害胎儿健康^[5]; 而甲基汞介父系损伤后代则是通过破坏雄性生殖系统而引起的, 后代体内的汞负荷不高, 但却可以引起个体损伤, 这与在汞污染区现场调查时得出的结果是一致的, 即在松花江汞污染区居民出现汞负荷不高, 但却出现诸多临床症状和体征的情况^[6]。

甲基汞神经行为毒性研究表明, 动物妊娠期暴露于甲基汞后, 子代可产生明显的行为改变, 并具有剂量-效应关系^[7]。本实验发现, 在 Wistar 雄性大鼠甲基汞染毒后也可产生同样的后果。可见, 甲基汞的生殖毒性是双方面的, 雌、雄个体在甲基汞染毒后对后代的影响上具有同等重要的意义。尤其是在相对高剂量情况下(1.170、0.580 mg/kg 组)对后代生长发育和神经行为发育的影响更为严重, 而低剂量(0.058 mg/kg)组与对照组比较, 后代生长发育指标和神经行为指标未见显著性差异。通过本研究发现, 甲基汞可在雄性体内蓄积, 损伤了雄性的生殖系统, 破坏了雄性生殖细胞的正常结构和生精过程, 使得父系把甲基汞的毒作用“传递”给了后代, 从而对后代的神经行为功能产生了影响。可见, 甲基汞对后代的隐性影响是不可忽视的。

通过本实验可见, 相对较高剂量染毒组(1.170、0.580

mg/kg 组)动物的后代的体重的增长相对于对照组缓慢, 而低剂量组(0.058 mg/kg 组)动物后代在生长发育阶段体重增长相对快于对照组, 有些阶段甚至超过对照组动物后代体重增长。一般情况下, 体重是反应动物健康状况的基本指标之一, 而生长发育期动物年龄与体重的动态关系即生长曲线是判定发育期动物健康状况的基本指标之一。所以, 关于低剂量汞暴露后对后代生长发育的影响的机制仍需要深入的研究。

对于本次实验所选择的神经行为指标, 都是经典的反射指标, 可以反映中枢神经系统的发育情况。同时, 先天反射行为具有高度的发育规律性和重复性, 对于断乳前仔鼠的反射行为发育的观察, 往往为一系列神经机能发育情况提供了重要资料。通过本研究可见, 甲基汞的遗传毒性是很显著的, 它不仅可以通过母体的胎盘屏障传递给后代, 还可能通过父代暴露而对后代产生影响, 对于其作用机制是一个有待研究的课题。近年来, 人们对甲基汞的关注重点移向了它的敏感效应, 如与中枢神经系统功能有关的行为和认知改变。并且, 人们也认识到胎儿比成人对甲基汞更为敏感。所以, 本实验对通过雄性甲基汞染毒对后代神经行为影响给予了很好的诠释, 可以为今后的研究提供一个全新的领域。

参考文献:

- [1] Shimai S, Satoh H. Behavioral teratology of methylmercury[J]. J Toxicol Aci, 1985, 10:199.
- [2] 安笑兰, 符绍莲. 环境优生学[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995:36-37.
- [3] Verschaeve L, Leonard A. Dominant lethal test in female mice treated with methylmercury chloride[J]. Mutat Res, 1984, 136:131-136.
- [4] 李志超, 王立华, 凌翎, 等. 氯化甲基汞对小鼠器官氟标胸腺嘧啶核苷掺入的影响[J]. 白求恩医科大学学报, 1988, 14(5):402.
- [5] 蔡宏道. 现代环境卫生学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1995:25.
- [6] Fan C, Shigeru T, Wang WG, et al. The effect of mercury pollution in the Songhua river on the sensory disturbance of residents at Zhaoyuan section in China[R]. 6th International Conference in Mercury as a Global Pollutant(HE-127), Japan:2001:9.
- [7] 王蓂兰, 蒋学之, 顾祖维. 环境与生殖[M]. 上海:上海医科大学出版社, 1994:122-123.

(收稿日期:2004-09-17 修回日期:2005-01-04)

(本文编辑:王亭)