

服醋酸棉酚男子精液脱落细胞的分析

石其贤 (浙江卫生实验院, 杭州 310007)

裘金贤 (宁波市第一医院, 宁波 315001)

张国仪 (绍兴第二医院, 绍兴 312150)

摘要 对75例服醋酸棉酚(20 mg/d)男子精液脱落细胞的组比进行了分析。服药后人睾丸生精上皮细胞脱落的顺序是: 精子细胞→精母细胞→精原细胞。在达到抗生育作用时, 精液脱落细胞主要是精子细胞, 其次是精子细胞和精母细胞混合型。服维持量的精液脱落细胞以精母细胞为主, 精母细胞和精子细胞混合型次之, 少数是精原细胞。停药后, 精子数及其活动力的恢复程度, 似乎与精原细胞的受损程度有关。

关键词 醋酸棉酚; 人精液脱落细胞; 精子细胞; 精母细胞; 精原细胞。

醋酸棉酚对♂性大鼠具有明显的抗生育作用⁽¹⁻³⁾临床试用亦表明有可靠的节育效果⁽¹⁾。但醋酸棉酚对人睾丸精子发生的作用过程和环节以及停药后的恢复情况报道尚少。本文试图通过宁波和绍兴地区部分服醋酸棉酚男子精液脱落细胞的动态观察及其组比分析, 以期了解醋酸棉酚对人精子发生过程的作用环节和停药后的恢复情况, 从而为控制用药时间或用药量和予示生育力的恢复等提供资料。

材料与方 法

健康有生育能力的志愿服药男子 75 人, 在达到抗生育指标后, 其中继续服维持量 4—36 个月的 42 人和服维持量 4—24 个月后停药者 13 人。年龄 30—42 岁, 每 d 服醋酸棉酚 20 mg (浙江省粮食科学研究所提供, 纯度为 99%, 熔点 178—184℃), 服至精子数降到 4 百万/ml (以下简称“起效”)后, 解除避孕措施, 继续服维持量(周服 40 mg)。于服药前、服药后 15, 30, 50, 60, 70, 90 d 和此后不同时间内(详见图 1 及表 1), 取新鲜标本(通常在射

精后 1 h 左右镜检)涂片, 并结合精液常规检查。涂片标本置室温干燥, 甲醇固定 10 min, 然后用甲苯胺兰——亮绿染色 5 min, 封固后, 作显微镜规定。人精子发生依文献⁽⁴⁾分期法。

结果与讨论

一、服药男子的精子数及其活动力 从图 1 可以看出, 精子数及其活动力, 随服药时间的延长而逐渐下降, 两者似呈平行关系, 但并不完全一致。精子活动力的下降比精子数快, 亦即精子活动力先受到棉酚的影响, 这与某些甾体化合物(如甲孕酮)和非甾体化合物 W18446 抑制精子发生有类似之处⁽⁵⁾。与此同时, 不活动和死精子率(%)随服药时间增加, 它与活精子率(%)成对应关系。起效时间约在 50—70 d, 90 d 即可达到无精子状态。最近, 作者之一观察到在服醋酸棉酚的大鼠中, 附睾精子失活和恢复呈现“循序”现象, 推测棉酚不仅作用于睾丸精子发生过程, 而且还可能影响附睾精子的成熟过程⁽⁹⁾。在人类服棉酚后是否也存在类似机理, 尚不清楚。

从 75 例服药男子达到抗生育指标的时间分析看, 其中 51 人(占 68%)在服药后 50—70 d 内, 精子数下降至 4 百万/ml 以下或精子活动力显著下降或为零, 就这一点而论, 棉酚较国外现有的一些男用避孕药为优。

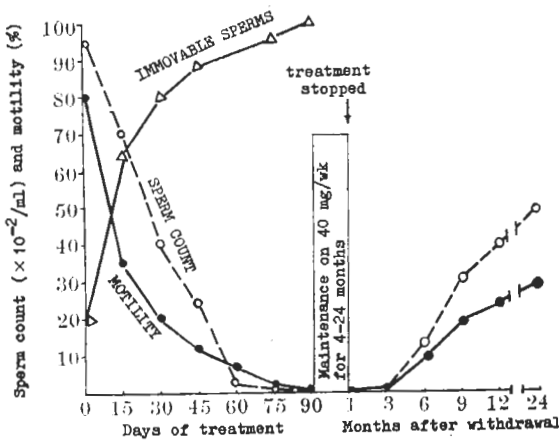


图 1. Effect of gossypol acetic acid (20 mg/d) on sperms of 13 men

二、精液脱落细胞动态观察

服药前精液为正常精子,几无脱落细胞(图 2A)。服药 35 d 后,尾部弯曲的和头尾断裂的精子数明显增加(图 2B)。服药 50—60 d,正常精子数明显减少,脱落细胞增多,主要为早期精子细胞(图 2C)。精子细胞核相对缩小,胞浆膨胀,将核挤向一边,染色性能也发生改变,或深或浅。涂片中还可见到核已经分裂而胞浆尚未分开的双核精子细胞(图 2D)。此外,部分涂片为精子细胞和初级精母细胞的混合型(图 2E)。少数初级精母细胞核固缩。双核精子细胞的脱落表明棉酚对生殖细胞的分裂可能也有一定的影响。关于人双核精子细胞的形成机理,目前尚不完全了解。文献报道⁽⁶⁾,人服棉酚后脱落的生精细胞大部分是发育受阻的精子细胞,棉酚主要是抑制精子细胞的变态。也可能是由于次级精母细胞在第二次成熟分裂时,核分裂而胞浆未分裂或延迟分裂所引起⁽⁷⁾。有的认为,在哺乳动物睾丸中,精子细胞是借细胞间桥互相沟通的⁽⁸⁾,由于药物(如棉酚)和其他因子的影响,使连接精子细胞的细胞间桥断裂,导致细胞间桥扩大,核通过间桥汇集起来形成共质体(symplasts)或称为多核精子细胞⁽⁹⁾,是否亦有可能有待证明。服药 70 d 后,精子很少,脱落细胞大致可归纳如下几种类型: 1. 以精

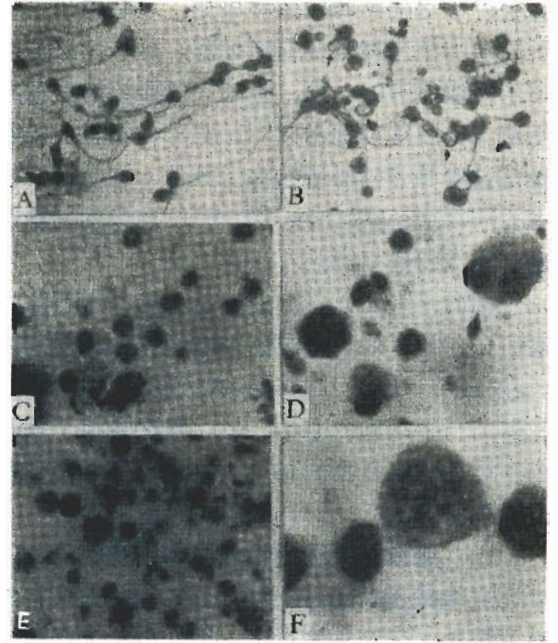


图 2. Semen smears of healthy volunteers treated with gossypol acetic acid 20 mg/d. Toluidine blue brilliant green stain

- (A) Normal spermatozoa before treatment, $\times 400$
 (B) After 35 d showing decapitated and tail-bent spermatozoa, $\times 400$
 (C) After 67 d showing exfoliated early stage spermatids, $\times 400$
 (D) Same semen in C, showing binucleate-spermatid, $\times 1000$
 (E) After 74 d showing spermatocytosis and spermatids, $\times 400$
 (F) Same semen in E, showing pachytene spermatocytes, $\times 1000$

子细胞为主的精液,主要是早期精子细胞(图 2C); 2. 以初级精母细胞为主的精液,主要是粗线期和细线期初级精母细胞,其他脱落细胞很少; 3. 早期精子细胞和初级精母细胞混合型精液,两者比例不等; 4. 无细胞或少细胞精液,精子计数为零,脱落细胞未见或偶见精原细胞,但可见细胞碎片。从上述生殖上皮细胞脱落过程的动态观察表明,随服药时间延长,精子数减少,脱落细胞增加。最早脱落的是晚期和早期精子细胞,以后依次波及初级精母细胞,最后脱落的是精原细胞。表明人精子

发生过程对棉酚的敏感顺序是：成熟精子→精子细胞→精母细胞→精原细胞。这一结果与宗书东报道(1979)一致，也与大鼠服棉酚后睾丸生殖上皮脱落过程相似⁽³⁾。此种生精上皮细胞脱落过程并非棉酚所特有，其他一些抗精子发生的药物如 AF/1312/TS 和 5-硫代葡萄糖等也有类似的作用⁽¹⁰⁻¹²⁾。

棉酚对人睾丸精子发生过程的作用环节，还可从起效时的精液脱落细胞组比分析得到进一步证明。从随机搜集的 53 人精液标本中，主要为精子细胞的有 24 人，其次是精子细胞和精母细胞混合型的 18 人，以精子为主 6 人，精母细胞 5 人。

三、服维持量期间精液脱落细胞组比 由于在服维持量期间，精子数已降至零，或仅有少数死精子，在这种情况下，睾丸生殖上皮细胞必然长期在药物控制下，因此，了解此时脱落细胞的情况，对于预示停药后生育力的恢复，具有重要意义。服维持量醋酸棉酚(40 mg/周) 42 例男子精液标本，以精母细胞为最多(14 人)，其次是精子细胞(12 人)，最后为精原细胞和

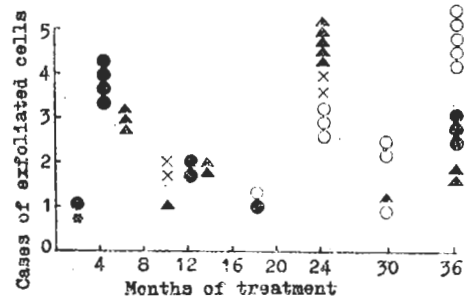


图 3. Exfoliated cells in 42 human ejaculates during maintenance with gossypol acetic acid 40 mg/wk

* abnormal spermatozoa; x sperm; ● spermatid; ▲ spermatocytes; ○ spermatogonia

精母细胞混合型(16 人)。可见精液脱落细胞的数量和种类与服维持量棉酚时间的长短密切相关。即精子细胞、精母细胞和精原细胞的脱落率分别在服维持量 6, 24 及 36 个月时达到高峰。以精原细胞为主的人数随服药时间的延长明显增加。提示棉酚对人睾丸生殖上皮细胞的损伤程度可能随服药时间的延长而加剧。

四、停药后生育力的恢复 为了探讨脱落

表 1. Effect of gossypol acetic acid on exfoliated cells of 13 men

Man	Age	Months of treatment	Sperm count/ml	Motility (%)	Exfoliated cells*	Months after withdrawal	Sperm count/ml	Motility (%)
CYJ	39	24	100	0	C	10	8900	30
JYL	34	24	100	0	C	3	105	0
LJC	31	24	0	0	C	3	80	0
YJL	35	24	82	0	C	12	490	5
YQC	38	20	0	0	G	20	0	0
LXZ	37	14	0	0	G	24	400	70
CYB	37	20	0	0	C	12	255	20
XKQ	32	20	0	0	G	12	0	0
ZSX	36	20	0	0	C	20	0	0
ZXH	31	20	0	0	C	10	1980	70
ZJM	39	10	0	0	C	24	4120	70
WWD	30	15	0	0	C	3	870	20
FRL	41	20	200	0	C, T	6	3700	10

* C) spermatocytes; G) spermatogonia; T) spermatid

细胞类型与生育力恢复之关系, 从继续服维持量棉酚 4—24 个月的男子中选择 13 人, 观察停药后不同时间内, 精子及其活动力的恢复情况。表 1 指出, 停药时精液脱落细胞主要是精母细胞(8 人), 精原细胞为主 4 人。精母细胞和精子细胞混合型 1 人。在停药后 3 个月, 其中 10 人精子发生可逐渐恢复。恢复时间因人而异。快者 3 个月, 慢者 1 年, 但至停药后 1 年, 仍未恢复到服药前水平; 而以精原细胞为主的 4 人, 其中 3 人在停药后 2 年, 其精子数及其活力仍为零。由此可见, 停药后精子数及其活动力的恢复能力, 似与精原细胞受损程度密切相关。至于服药时间多长合适? 由于各个体对棉酚的敏感性不尽相同, 很难作出统一规定; 但我们倾向于连续服药时间不宜超过 1.5 年。当然, 尚待累积更多的资料。通过脱落细胞的检查似可作为是停否用棉酚以防止绝育的一种手段。

致 谢 承朱恒璧教授审阅文稿, 工作开始前曾得到宗书东副教授指教

参 考 文 献

1 全国男用避孕药协作组. 中华医学杂志 1978 年

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Dec; 2 (4) : 262—266

ANALYSIS ON EXFOLIATED CELLS IN HUMAN SEMEN AFTER ORAL ADMINISTRATIONS OF GOSSYPOL ACETIC ACID

SHI Qi-xian (Zhejiang Institute of Experimental Medicine and Hygiene, Hangzhou 310007)

QIU Jin-xian (Ningbo First Hospital, Ningbo 315001)

ZHANG Guo-yi (Shaoxing Second Hospital, Shaoxing 312150)

ABSTRACT The sperm count and motility gradually decreased in 75 healthy men given po daily 20 mg gossypol acetic acid. The effect became apparent within 50—70 d. A virtual azoospermia attained in about 90 d. The exfoliated cells were spermatids (45.3%), a mixture of spermatids and

- 8 月; 58(8):455
 2 王月娥、罗英德、唐希灿. 药学学报 1979 年 11 月; 14(11):662
 3 石其贤、张寅恭、袁玉英. 动物学报 1981 年 3 月; 27(1):22
 4 Clermont Y. *Am J Anat* 1963 Jan; 112(1):35
 5 Macleod J. Human seminal cytology following the administration of certain anti-spermatogenic compounds. In: Austin CR, Perry JS, eds. *A symposium on agents affecting fertility*. London: Churchill, 1965:63—123
 6 童凤明、周孝瑚、周云霞. 上海第一医学院学报 1980 年 1 月; 7(1):19
 7 Matane Y. *J Ultrastruct Res* 1971 Jan; 34(1):123
 8 Dym M, Fawcett DM. *Biol Reprod* 1971 Apr; 4(2):195
 9 Loir M, Lanneau M. Separation of mammalian spermatids. In: Prescott DM, ed. *Methods in cell biology*, vol 15. London: Academic Press, 1977:55—77
 10 Zysk JK, Bushway AA, Whistler RL, Carlton WW. *J Reprod Fertil* 1975 Oct; 45(1):69
 11 Silvestrini B, Burberi S, Catanese B, Cioli V, Coulston F, Lisciani R, Barcellona PS. *Exp Mol Pathol* 1975 Oct; 23(2):288
 12 Roy S, Chatterjee S, Prasad MRN, Poddar AK, Pandey DC. *Contraception* 1976 Oct; 14(4):310

spermatocytes (34.0%), sperms (16.9%, including abnormal sperms) and spermatocytes (3.8%). The sequence on exfoliation of immature cells of the germinal line was: spermatid-spermatocyte-spermatogonium.

After a maintenance dose of 40 mg/

week for 4—24 months, the cells in the semen from 42 men were spermatocytes (33.3%), spermatids (28.7%) and a mixture of spermatocytes and spermatogonia (38.0%).

In 13 men after a continuous medication for 10—24 months, 8 showed spermatocytes, 4 spermatogonia and 1 a mixture of spermatocytes and spermatids. After cessation of the gossypol for 3 months spermatogenesis in 10 men was gradually restored, but was not restored to the original number and activity after withdrawal of gossypol for 12 months; while

in 3 men out of 4 spermatogonia remained the same even after cessation of gossypol for 24 months. The above findings suggested that ability of restoration in sperm count and activity bore some relation to the spermatogonia damaged by gossypol.

KEY WORDS gossypol acetic acid; human semen exfoliated cells; spermatids; spermatocytes; spermatogonia

This work was partly supported by grants H9/135/2 from WHO Small Supplies Programme