中国药理学报　1986年7月；7（4）：340-342

氟碳代血液对雄性小鼠生殖细胞的遗传效应

钟宝珍、唐琪妮、忻佩君、王炳森　（上海市劳动卫生职业病研究所毒理研究室，上海 200003）

提要　A系♂小鼠一次静脉输注氟碳乳剂(FCE) 50和10 ml/kg后7 d，观察精原细胞及初级精母细胞畸变。睾丸光镜及电镜组织形态及成熟精子形态，以评价其对各期生殖细胞的损伤。结果表明精原细胞数目和结构畸变率，用药组和对照组均在3%以下。初级精母细胞总畸变率三组间亦无明显差异。成熟精子及睾丸组织结构及超微结构均未见异常。

关键词　氟碳；　精子生成；　精子；　染色体畸变；　电子显微镜检查

从基因及体细胞水平的诱变性检测结果，未见氟碳代血液 fluorocarbon emulsion (FCE)的诱变毒性[1]。为全面评价其安全性，进行潜在性危害的检测，不仅对体细胞而且对生殖细胞的遗传损伤作研究。本文对输注不同剂量FCE小鼠睾丸精原细胞和初级精母细胞，精子进行畸变分析，并对睾丸组织作光学及电子显微镜检查，以评价其对遗传影响。

材料和方法

FCE由中国科学院上海有机化学研究所提供。分子式为$(CF_3CF_2CF_2)_3N$，临床输注品，批号830241。

小鼠51只A系♂小鼠，由上海医科大学实验动物房供应。体重29±SD 6 g。随机分成FCE 50 ml/kg组，FCE 10 ml/kg组及生理盐水50 ml/kg对照组。iv 1次给药后7 d，颈椎脱臼处死，取睾丸，每组12只制备有丝分裂和减数分裂相中期细胞，5只取副睾制备精子标本并作睾丸组织病理学观察。

精原细胞和精母细胞制备　按照文献(2)方法略作改进。小鼠ip秋水仙素4 mg/kg 16 h后处死取睾丸。分离精曲小管。加0.05 *M* KCL低渗30 min，充份吹打，倾去上清液，加入甲醇：冰醋酸(3:1)固定，上层悬液倾入离心管。剩余精曲小管碎片以2 ml 60%冰醋酸软化3 min，加固定液5 min，200×*g*离心10 min，弃上清。两份液各重复固定2次，放4℃保存2 d后冰片制片，Giemsa液染色，空气干燥，镜检。

成熟精子制备　取一侧副睾放入生理盐水2 ml剪碎，以4层擦镜纸过滤，滤液以200×*g*离心5 min，取沉淀加适量盐水制成悬液，涂片，甲醇固定，2%伊红染色1 h，高倍镜下检查1000个精子，计数畸变率。

结　果

小鼠一次ip FCE 50及10 ml/kg后精原细

Tab 1.　Chromosomal aberrations in spermatogonia from mice 1 wk after infusion of fluorocarbon emulsion (FCE) 10 or 50 ml/kg

Doses ml/kg		Male mice	Cells scored	Type of chromosomal aberrations (%)				
				Aneuploid	Polyploid	Break	Translocations	Total
FCE	50	13	573	2	15(2.9)	2(0.2)	1(0.5)	3.4
FCE	10	13	640	2	15(2.6)	1(0.1)	-	2.8
Saline	50	10	500	3	4(1.4)	1(0.2)	-	1.6

1985年3月23日收稿　1985年8月15日修回

Tab 2. Chromosomal aberrations in spermatocyte I from mice 1 wk after infusion of FCE 10 or 50 ml/kg.

Doses (ml/kg)		Male mice	Cells scored	Types of chromosomal aberrations (%)					
				Tri-ploid	Tetra-ploid	X-Y univalent	Autosomal univalent	Ring quadrivalent	Total
FCE	50	13	571	-	4(0.7)	10(1.7)	-	-	2.4
FCE	10	13	630	1	1(0.1)	7(1.1)	1(0.1)	1(0.1)	1.7
Saline	50	10	500	-	1(0.2)	6(1.2)	-	-	1.4

胞的遗传损伤见表 1，各组均有染色体畸变，包括非整倍体及超二倍体(图 1A，见图版 1，以下各图同)。总畸变率分别为 3.4%及 2.8%，对照组为 1.6%。其中断裂、互换不超过 1%，均在正常范围，各组间无明显差异。

初级精母细胞中期分裂相染色体畸变结果见表 2。性染色体早熟分离见(图 1B)，二剂量组与对照组间发生率无明显差异。10 ml/kg 剂量组见到 1 例常染色体早熟分离及 1 例常染色体易位，具有 1 环状 4 价体及 18 个双价体(图 1C)。此外，在各组中尚见到 3 倍体和 4 倍体细胞(图 1D)。

精子及睾丸光镜检查形态正常。上皮层次正常。各期生殖细胞发育良好。电镜显示精母细胞及次级精子细胞成熟正常(图 1E，F)。

讨　论

性成熟后的♂哺乳动物生殖细胞始终处于分裂周期，其中包括不同发育阶段的精原细胞，初级精母细胞，次级精母细胞，精细胞及成熟精子。某些环境因素可引起各期细胞突变，造成配子死亡或子代遗传性状改变，如流产、死胎、不育、先天畸形和肿瘤形成等[3]。

精原细胞中期分裂相畸变，包括断裂和相互易位(reciprocal translocation)。本实验结果 FCE 50 ml/kg 输注小鼠仅出现 1 例易位，断裂频率与对照组无差别，未见 FCE 对精原细胞的明显损伤。

当精母细胞同源染色体的断片经减数分裂联会配对时，无着丝点断片可产生遗传性易位而形成环状或链状多价体。易位可发生在常染色体间或常-性染色体间。这种染色体结构异常，可造成配子紊乱及精子生成障碍。本实验结果 FCE 10 ml/kg 输注组 630 只细胞中仅出现 1 个常染色体易位的 4 价体环。高剂量组及对照组均未检得。尚难评价有遗传损伤。

初级精母细胞畸变的另一指标是观察常或性染色体的单价体。分别显示配对染色体的早熟分离。由于同源断片间缺失合子配对而不联会，亦可影响精子的生成。正常动物 X-Y 染色体早熟分离发生率有 6.7%，常染色体发生率有 3.6%[4]。本实验结果均低于 2%。

上述结果表明，小鼠经不同剂量 FCE 输注后，未见对精原细胞，初级精母细胞，成熟精子及睾丸组织的损伤作用。FCE 不诱发♂小鼠生殖细胞遗传损伤。

参 考 文 献

1 钟宝珍、唐琪妮、周永贵、忻佩君、丁训诚. 氟碳代血液的诱变性. 中国药理学报 1983; 4 : 35

2 Hoss SS, Bowles CA. An air-drying method for preparing metaphase chromosomes from the spermatogonia cells of rats and mice. *Mutat Res* 1971; 13 : 85

3 Léonard A. Observations on meiotic chromosomes of the male mouse as a test of the potential mutagenicity of chemicals in mammals. In: Hollaender A, ed. *Chemical mutagens*; vol 3. 1st ed. NY: Plenum, 1973 : 21-6

4 徐惟安、黄幸纾、张文泉. 除毒剂胺草灵毒性试验. 浙江医科大学学报 1979; 8 : 125

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jul; 7 (4) : 340-342

Genetic effects of fluorocarbon emulsion on germinal cells of male mice

ZHONG Bao-zhen, TANG Qi-ni, XIN Pei-jun, WANG Bing-sheng

(Dept Toxicology, Shanghai Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, Shanghai 200003)

ABSTRACT The A strain ♂ mice were infused with fluorocarbon emulsion (FCE) 50, 10 ml/kg and NS 50 ml/kg. Metaphase plates of spermatogonia and spermatocytes I were examined on d 7 after infusion and histological damage of the testes was studied by light and electron microscopes.

The frequencies of aneuploid and polyploid of spermatogonia were 2.9, 2.5 and 1.4%, respectively induced by FCE 50, 10 ml/kg and NS 50 ml/kg. While those of breaks and reciprocal translocations were 0.5, 0.1 and 0.2%, respectively. In spermatocytes I the frequency of X-Y univalent and autosomal univalent were 2% ($p<0.05$) and no morphological changes were found in spermatogonia developed from spermatogenic cells.

It may be concluded that no chromosomal aberrations were induced in germinal cells of ♂ mice by FCE.

KEY WORDS fluorocarbons; spermatogenesis; spermatozoa; chromosome aberrations; electron microscopy

* * * * * *

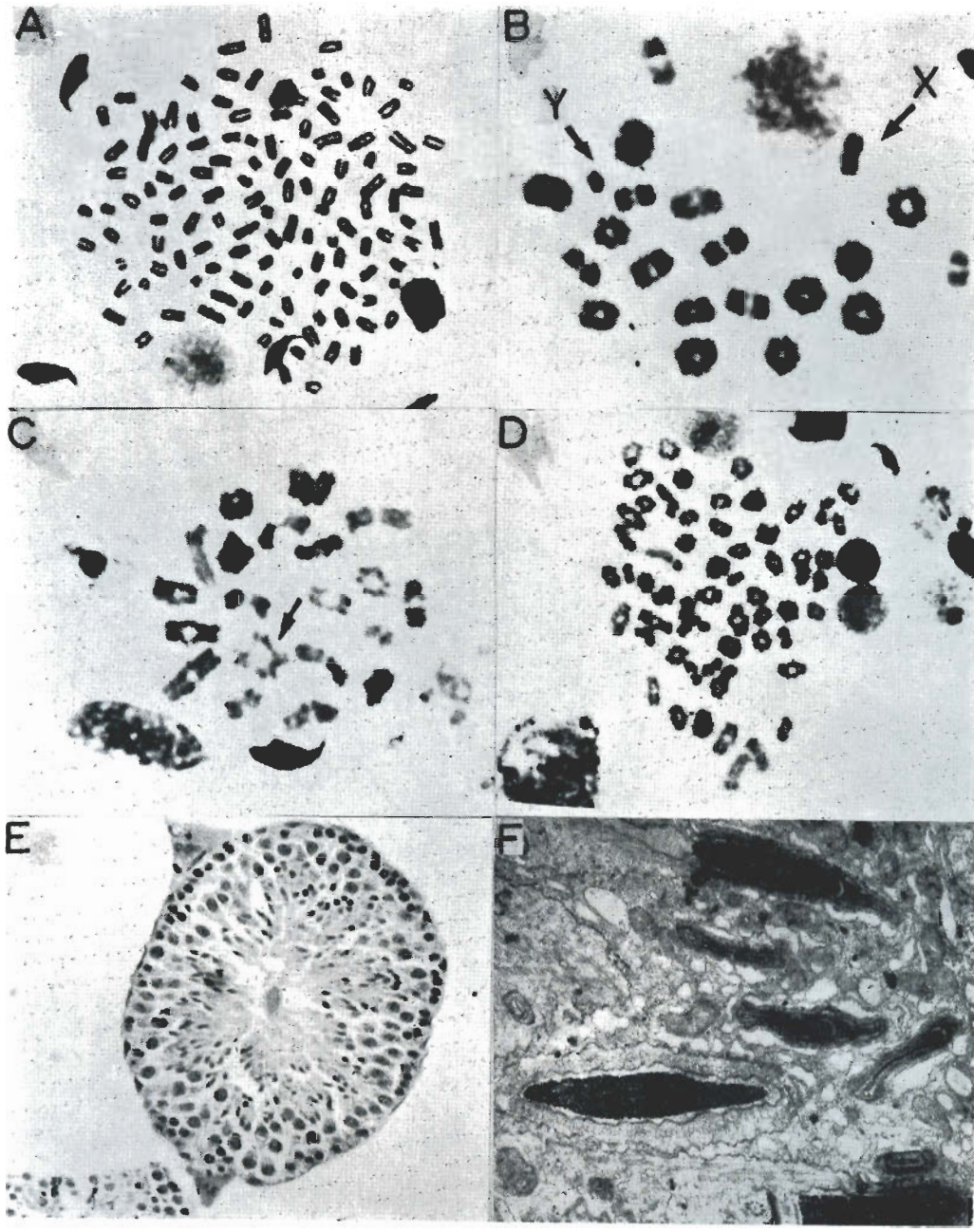

Fig 1. Genetic effects of fluorocarbon emulsion (FCE) infusion in mice. A) Metaphase spermatogonia with polyploid after FCE 10 ml/kg, × 1000. B) Metaphase spermatocyte I with X-Y univalents (arrow) after PCE 50 ml/kg, × 1200. C) Metaphase spermatocyte I with bivalents and ring quadrivalent (arrow) after FCG 10 ml/kg, × 1000. D) Metaphase spermatocyte I with a hexaploid cell after FCE 10 ml/kg, × 1000. E) Immature sperm cells were normal and spermatozoa was abundant in the testis after FCE 50 and 10 ml/kg infusion. F) Normal primary spermatocyte developed from spermatozoa. The chromatin was very abundant and dense mitochondria and endoplasmic reticulum were very prominent (partly dilated).

(See p 341)