

微波对小白鼠精巢生殖细胞分裂和染色体的影响

王 浩

(南京大学生物系)

微波作为透热疗法在医疗上已广泛应用, M. S. Fahim(1975年)^[1]报道过微波用于男性避孕。该文作者用频率2450兆周/秒的微波透热机,照射雄性大白鼠5分钟或15分钟后,温度即上升为63—65℃。照射后10个月再与雌鼠交配时未能受孕,但该文作者没有进一步探讨微波对雄性哺乳类动物睾丸作用的机制。我们在设计这个实验时,考虑到微波对小白鼠精巢生殖细胞各个分裂时期的影响与各个时期细胞对微波敏感性的问题,因为微波在军事和民用方面越来越广泛使用。在实验中发现小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相对微波是很敏感的,而有丝分裂相比减数中期分裂相还要敏感。此项科研为研究微波对哺乳类动物作用机制和合理应用方面提供一些实践和理论的可靠的资料。

材 料 和 方 法

实验材料选用24只性成熟的雄性昆明种小白鼠,分成四组(见表1):(1)对照组,共观察了三只小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相,每只小白鼠精巢制成片后,各观察200个视野。(2)试验I组电流强度为50毫安照射30分钟。(3)试验II组同样强度照射5分钟,这两组各有小白鼠6只,照射24小时后,取出精巢制片。(4)试验III组为微波照射低剂量组,电流强度为30毫安,照射5分钟,共照射9只小白鼠,照射后分别在24小时,48小时,72小时取出小白鼠精巢制成片。实验中将每只小白鼠以每克体重腹腔注射秋水仙素4微克(也可以不预先注射秋水仙素),注射后5—8小时,用断颈椎法杀死小白鼠,取出精巢,用生理盐水洗去污血,移入盛1毫升0.4%的KCl低渗溶液

的圆玻璃皿内,轻轻地剥去精巢外的白膜,取出一只精巢的 $\frac{1}{2}$ 的曲精小管放到盛有4毫升0.4%的KCl低渗溶液的离心管内,低渗处理5—10分钟,勿使离心管摇动,以免曲精小管的内含物移出,轻轻地将上层低渗溶液倒弃,加入新配的甲醇:冰醋酸(3:1)固定液,立即用滴管反复吹吸曲精小管约1分钟,使单个细胞游离出来。最后做成细胞悬液,放置3分钟后,将上层含细胞的固定液吸到另一只离心管中,再重复一次,把两次所得的细胞悬液混合在一起,以900转/分的速度离心沉淀5分钟,倾去上清液,再用吸管加2毫升甲醇:醋酸(3:1)固定液使细胞悬浮,制成均匀的细胞悬液,用滴管吸到载物片上,用温火烤干,用pH6.9磷酸盐缓冲液配制的Giemsa染液染5—7分钟,在室温及37℃温箱干燥,然后再用光学显微镜观察及照相,每只小白鼠精巢制片均观察200视野。小白鼠的另一只精巢用甲醇:醋酸(3:1)固定,在80%酒精保存,以便于醋酸——洋红压片。(进行染色体对比观察)。

本实验所用的照射源是WBT³²²—1型微波治疗机,照射源离精巢的距离为12厘米(指照射源距小白鼠精巢外皮的距离)。输出功率为30—50瓦,工作频率2450兆周/秒,局部精巢温度分别达到36℃和41℃。

实 验 结 果

(一)微波对小白鼠精巢生殖细胞分裂的影响:(1)对照组共观察了三只小白鼠精巢的生殖细胞中期分裂相,为了便于对比起见,在表中以对照组的生殖细胞中期分裂相为100,算出照射组的分裂相有多少%。(2)和(3)组照

射中等剂量微波,照射后24小时取睾丸制成片子,在显微镜下观察200个视野,没有发现有中期分裂相,第(4)组照射弱剂量,共照射9只小白鼠。照射后24小时小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相为30%(与对照组比较)见表I,减少70%,照射48小时后小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相为17%,减少83%,照射72小时生殖细胞中期分裂相为8%,减少92%。通过生物统计学方法分析,全部试验组比对照组减少81%,试验组生殖细胞中期分裂相明显的下降,计算的t值为2.9,自由度为10,查t表 $0.01 < P < 0.05$,本试验组和对照组差异显著。

(4)组中还观察到小白鼠精巢生殖细胞有丝分裂中期相对微波很敏感,照射72小时后,观察了三只小白鼠生殖细胞的制片,其中两只

小白鼠的精巢生殖细胞有丝分裂中期相为零,一只小白鼠只有一个有丝分裂相。而减数分裂相分别为4, 8, 3(见表I),由此证明有丝分裂相比减数中期分裂相敏感,同时照射72小时精母细胞和精细胞的染色体的形态变化都不明显,从这一实验可以证明精原细胞比精母细胞敏感。同时作者经过重复试验,也证明了照射后生殖细胞有丝分裂中期相下降的指数比减数分裂中期相下降的明显,(见表1试验组III)

(二)微波对小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相染色体形态的影响:被微波照射后的小白鼠精巢生殖细胞的染色体有明显的变化,如试验组III,照射后24小时染色体出现粘连(图4),照射48小时后染色体出现固缩或成团(图5),照射72小时后染色单体出现空化(图3)。

表1 微波照射对小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相的影响

实验组别	照射的条件	照射后取精巢的间隔时间(小时)	小白鼠数	生殖细胞中期分裂相总数	有丝分裂中期数	减数分裂中期数	畸形中期分裂数	平均数	精巢生殖细胞中期分裂相百分比率(%)
对照组(1)			1	153	52	101		145	100
			1	165	60	105			
			1	117	35	81	1		
试验组I(2)	电流强度50毫安照射30分钟	24	6	0	0	0		0	0
试验组II(3)	电流强度50毫安照射5分钟	24	6	0	0	0		0	0
试验组III(4)	电流强度30毫安照射5分钟	24	1	37	7	27	3	44.6	30
			1	34	4	28	2		
			1	63	8	50	5		
		48	1	20	1	15	4	24	17
			1	31	3	22	6		
			1	21	2	14	5		
72	1	17	1	4	12	12	8		
	1	4	0	3	1				
	1	15	0	8	7				

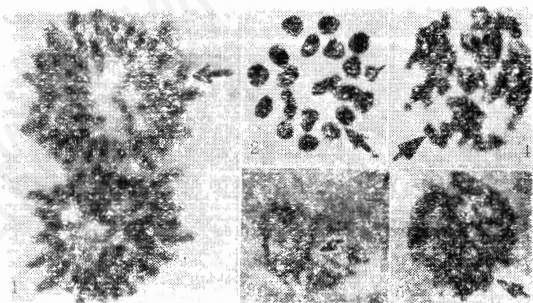


图 版 说 明

1. 小白鼠精巢生殖细胞正常中期有丝分裂相($\times 1600$)。
2. 小白鼠精巢生殖细胞正常中期减数分裂相($\times 1600$)。
3. 微波照射后 48 小时有丝分裂中期相染色体空化($\times 1600$)。
4. 微波照射后 24 小时有丝分裂中期染色体粘连($\times 1600$)。
5. 微波照射后 72 小时, 有丝分裂中期染色体固缩($\times 1600$)。

讨 论

微波对小白鼠生殖细胞中期分裂相及其染色单体的影响, 能引起染色单体畸形及抑制生殖细胞的分裂, 在实验中还发现有丝分裂比减数分裂更敏感。

一、微波照射后能抑制小白鼠生殖细胞的分裂, 在实验中, 首先发现被微波照射 24 小时后小白鼠生殖细胞中期分裂相减少, 进而引起染色单体断裂及畸形, 作者还观察到有丝分裂相比减数分裂相敏感, 根据 Bergonie Tribondeau (1906)^[7] 定律“细胞对辐射作用的敏感性是与细胞的繁殖能力成正比, 而与细胞的分化程度成反比”。本实验应用的微波是属于电磁波的非离子辐射, 看来它作用于生殖细胞的效果与电离辐射有些相似^[4,7]。

二、小白鼠精巢生殖细胞对微波的敏感性, 小白鼠精巢生殖细胞中期分裂相对微波很敏感, 而有丝分裂相又比减数分裂相敏感, 小白

鼠的有丝分裂相大部分为精原细胞的分裂相, 其中也有些为精原细胞到初级精母细胞的分裂相, 而减数分裂为初级精母细胞到次级精母细胞的分裂相, 照射后 72 小时有丝分裂相就很难观察到, 而减数分裂相却是很容易看到, 这说明了初级精母细胞还可以分裂成次级精母细胞。而有丝分裂中期相受阻, 抑制了精原细胞的分裂。这也证明了精原细胞比初级精母细胞敏感, 初级精母细胞比次级精母细胞敏感, 这个结果与作者用 X-射线照射猕猴生殖细胞结果也有些相似^[4]。

三、生殖细胞中期分裂相作为微波损伤的指标还是可靠的, 而且用生物统计学方法计算结果差异显著。

参 考 文 献

- [1] 王浩等: 1960 年 X-射线对雄性猕猴生殖细胞的影响 精原细胞的敏感性 科学记录新辑 第四卷第一期 25-28。
- [2] 何适国、郝水: 1974 年用苏木压片法研究小白鼠精子发生过程中细胞核的变化。遗传学报 1(1): 69-81。
- [3] 汪德耀等: 1964 年 小白鼠精子发生过程中细胞核变化规律的研究。动物学报 16(4): 505-514。
- [4] 中国人民解放军广州部队总医院主编: 1974 实用理疗学 人民卫生出版社 第 115 页。
- [5] 余渭江: 1977 年 畜牧实验与生物统计学。科学出版社。
- [6] 徐风早: 1960 年 电离辐射对生殖细胞的影响 动物学报 12(1) 16-30。
- [7] 杨纪柯: 1965 年 数理统计方法在医学科学中的应用。上海科学技术出版社。
- [8] Zuans, E. P. et al. 1964 *Cytogenetics* 3: 289-297.
- [9] Дыбан, АП., 1970, Цитология., 12(5); 687-690.
- [10] HOO, S. S. et al., 1971, *Mutation Res.*, 13(1): 85-88.
- [11] Eahim, M. S. 1975 *Contraception.*, 2(5): 549-562.
- [12] Otto Glarser, 1961, *Physical Medicine* 3: 454.