乙醇对雄性生殖内分泌系统的损害及其机制

刘　艳[1]，马明月[1]，张玉敏[1]，李海山[1]，崔金山[1]，王旭薇[2]

（1. 沈阳医学院预防医学系，辽宁 沈阳 110031；沈阳市和平区卫生防疫站，辽宁 沈阳 110001）

摘要：目的　研究乙醇对雄性生殖内分泌系统损害机制。方法　测定饮酒和酒精中毒者血 T、LH、FSH、E_2、LDH、LDH-x、G-6-PD 水平和乙醇染毒大鼠血和睾丸匀浆 T、LH、FSH、MDA、SOD、GSH-Px、CAT、—SH 水平。结果　3 000、4 000mg/kg 染毒 70 天大鼠血 T 明显下降，LH、E_2、FSH 升高，血和睾丸匀浆 MDA 明显升高，而 SOD、GSH-Px、—SH 明显下降，饮酒和酒精中毒者血 T 明显下降，LH、E_2、FSH 升高，LDH x、G-6-PD 下降。结论　乙醇及其代谢产物对机体产生明显的脂质过氧化作用，损伤间质细胞、支持细胞、生精细胞生物膜上的受体、酶，从而产生损害作用。

关键词：乙醇；　生殖内分泌；　脂质过氧化作用；　酒精中毒

中图分类号：O623. 411　　文献标识码：A　　文章编号：1002-221X(2000)04-0206-04

Study on the damage of alcohol to reproductive and endocrinal systems and their mechanisms on males

LIU Yan[1]，MA Ming-yue[1]，ZHANG Yu-min[1]，LI Hai-shan[1]，CUI Jin-shan[1]，WANG Xu-wei[2]

（1. *Department of Preventive medicine，Shenyang Medical College，Shenyang* 110031，*China*；2. *Sanitation and Anti-epidemic Station of Shenyang* 110031，*China*）

Abstract：**Objective** To study the damage of alcohol on reproductive & endocrinal systems and their mechanisms on the males **Method** The levels of testosterone（T），luteinizing hormone（LH），follicle stimulating hormone（FSH），estradiol（E_2），lactic dehydrogenase（LDH），LDHx，glucose-6-phosphate dehydnogenase（G-6-PD）in the blood of alcohol-drinkers and alcoholism patients were measured. Besides，the T，LH，FSH，malondialdehyde（MDA），superoxide dismutase（SOD），glutathione peroxidase（GSH-Px），catabase（CAT），—SH contents in blood and testis hemogenates of alcohol-fed rats were determined. **Results** Blood T level in the rats given alcohol 3 000 and 4 000 mg/kg for 70 days were obviously decreased while the LH，E_2，FSH contents in blood increased. MDA in blood and testis hemogenates went up but the SOD，GSH-Px，—SH levels dropped. Blood T level of drinking alcohol for long time and alcoholic poisoning persons were also decreased and the LH，E_2，FSH level in blood went up too. At the same time，LDHx，G-6-PD activity was weakened. **Conclusion** Alcohol and its metabolites might induce lipid peroxidation in living body，which then could damage the biomembrane，acceptor and enzymes of Leydig's cells，supportive cells and spermatogenic cells.

Key words：Alcohol；Reproductive endocrine；Lipid peroxidation；Alcoholism

长期嗜酒可导致机体多系统损害[1]。乙醇对雄性生殖系统的损害近年引起人们极大的关注，国内外对此进行了一些研究[2~4]。但全面系统深入研究报道较少，特别是关于损伤机制的研究更少。为深入探讨乙醇对雄（男）性生殖内分泌系统的损伤机制，进行了本研究。

1　研究对象与方法

1.1　受试物

动物实验用乙醇购自安徽特级酒精总厂，分析纯，纯度≥99.9%，密度（20℃）0.789～0.791g/ml，甲醇≤0.05%，异丙醇≤0.01%，羰基化合物≤0.003%。

1.2　研究对象

从健康体检的行政人员、干部及不接触任何毒物和有害作业的 30～50 岁不吸烟男性工人中，随机选出 12 名不饮酒和 3 名偶有饮酒（＜3 次/月，＜50ml/次，38℃白酒）的男性为对照组，选年龄 30～50 岁长期饮酒且不吸烟的健康男性 45 名为饮酒组，据饮酒量和饮酒史分为 A、B、C 3 组，选市级医院确诊的慢性酒精中毒男性患者 9 人为中毒组，见表 1。

收稿日期：1999-09-02；修回日期：2000-03-06

作者简介：刘艳（1964—），女，辽宁营口人，实验师，主要研究生殖毒理。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表1　研究对象基本情况及分组（$\bar{x}\pm s$）

组　别	例数	年龄（岁）	饮酒史（年）	饮酒量（ml/d）	每月饮酒次数
对照组	15	43.9±6.4	—	—	—
实验A组	15	42.4±6.9	6.9±2.7	100～150	20～30
实验B组	15	43.9±6.1	13.2±2.5	100～150	20～30
实验C组	15	44.1±7.2	13.5±2.1	150～250	20～30
中毒组	9	45.2±4.7	16.4±6.4	＞250	20～30

1.3　实验动物与分组

选体重100～130g健康雄性Wistar大鼠100只，随机分为对照组、500、1 500、3 000和4 000mg/kg乙醇染毒组，每组20只。Wistar大鼠购自中国医科大学实验动物中心。

1.4　实验动物的处置

将乙醇用蒸馏水现用现配成相应浓度的溶液，按1.0ml/100g容积灌胃，对照组给予等容积的蒸馏水灌胃，1次/天，染毒70天。染毒第35天和第70天每组随机处死10只，经腹主动脉采血，并取同侧睾丸用生理盐水制成1∶10和1∶100的组织匀浆备检。

1.5　检测指标与方法

人测定血中睾酮（T）、黄体生成素（LH）、卵泡刺激素（FSH）、雌二醇（E_2）水平及血清中乳酸脱氢酶（LDH）、乳酸脱氢酶同功酶x（LDHx）和6-磷酸葡萄糖脱氢酶（G-6-PD）活力；大鼠测定血清中T、LH、FSH、E_2和睾丸匀浆中T、LH、FSH水平，内分泌激素水平用放射免疫法测定，试剂盒由天津九鼎医学生物工程有限公司提供，按试剂盒中提供的方法检测[5]。血清中LDH、LDHx、G-6-PD按李影林主编的《中华医学检验全书》中的方法进行检测[6]。同时测定大鼠血和睾丸匀浆中丙二醛（MDA）、总巯基（—SH）含量及超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的活力，测定所用试剂盒由南京建成生物工程研究所提供，按试剂盒中提供的方法测定[7]。第35天和第70天处死大鼠，每组随机抽取5只，取同侧睾丸进行光镜组织病理学检查，高剂量组抽取3只大鼠进行睾丸电镜检查。

1.6　统计方法

应用FoxBase软件建立数据库，以SAS软件进行相应的统计分析。

2　结果

2.1　人血中T、LH、FSH、E_2测定结果

血中T、LH、FSH、E_2各组间经F检验差异有显著意义（$P<0.01$），测定值及q检验结果见表2。

2.2　血清中LDH、LDHx和G-6-PD酶测定结果

见表3。经F检验，仅LDHx各组间差异有显著意义（$P<0.01$），q检验如表3所示。

表2　饮酒与非饮酒者血中T、LH、FSH、E_2测定结果（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	T（nmol/L）	LH（IU/L）	FSH（IU/L）	E_2（pmol/L）
对照组	15	45.91±10.34	35.03±7.92	26.87±9.41	50.12±9.83
实验A组	15	47.14±9.57	34.93±9.27	27.66±10.11	51.43±7.74
实验B组	15	45.47±8.83	36.75±10.30	27.89±9.73	57.00±7.88
实验C组	15	39.80±11.30*	40.82±11.37*	26.70±7.57	66.12±9.46*
中毒组	9	32.46±7.38**△	44.35±10.19**△	39.54±6.32**	73.40±10.32**

与对照组、实验A组、B组比较　*$P<0.05$　**$P<0.01$。△与实验C组比较$P<0.05$。

表3　血清中LDH、LDHx和G-6-PD活力测定结果

组别	例数	LDH（U/L）	LDHx（U/L）	G-6-PD（U/L，$\bar{x}\pm s$）
对照组	15	318.3（140～641）	111.3（93～202）	2.4±1.6
实验A组	15	310.2（132～650）	108.7（70～210）	2.6±1.8
实验B组	15	304.4（142～644）	114.5（68～224）	2.4±1.8
实验C组	15	309.7（140～644）	89.4（57～197）*	2.2±1.7
中毒组	9	308.4（142～643）	62.7（42～153）**	2.5±1.6

与对照组、A组、B组比较　*$P<0.05$，**$P<0.01$。

表4　染乙醇35及70天大鼠血清中内分泌激素水平测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

剂量组	35天大鼠血清中含量			70天大鼠血清中含量		
(mg/kg)	T（nmol/L）	LH（IU/L）	E_2（pmol/L）	T（nmol/L）	LH（IU/L）	E_2（pmol/L）
0	10.77±2.19	4.03±0.91	40.52±6.77	11.75±2.33	4.00±1.02	41.36±7.87
500	10.85±1.92	4.05±0.92	42.03±8.58	11.76±2.01	4.01±0.91	43.83±7.14
1 500	10.86±1.92	4.32±1.09	42.46±8.06	11.88±2.08	4.26±1.02	43.24±7.72
3 000	10.61±1.63	4.42±1.06	42.70±7.10	9.79±1.56*	5.05±0.88	47.86±5.84
4 000	8.26±1.52*	6.18±1.63**	54.08±6.21*	7.85±0.98**	6.60±1.53**	55.23±6.33**

与对照组比较　*$P<0.05$　**$P<0.01$。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2. 3　染毒 35 天、70 天大鼠血清和睾丸匀浆中内分泌激素测定结果

见表 4。染毒 35 天、70 天大鼠睾丸匀浆中 T、LH、FSH 和血清中 FSH 各指标经 F 检验各组间差异无显著意义（$P>0.05$）。染毒 35 天血清中 T 含量 3 000mg/kg 组与对照组差异有显著意义，4 000mg/kg 组与其他各组比较差异有显著意义（$P<0.05$），LH 和 E_2 与其他各组比较差异有显著意义（$P<0.01$）。染毒 70 天大鼠血清中 T、LH、E_2 值的变化存在明显剂量-反应关系，其相关系数依次为－0.6173、0.6391、0.5539（P 均小于 0.01）。T 与 LH 含量呈显著负相关，相关系数为－0.5256（$P<0.001$）。

2. 4　染毒 35 天、70 天雄性大鼠血中 MDA、SOD、CAT、GSH-Px、—SH 测定结果

表 5　染毒乙醇 35 天、70 天雄性大鼠血中 MDA、SOD、CAT、GSH-Px、—SH 测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别 (mg/kg)	MDA (nmol/ml)	SOD (NU/ml)	CAT (U/g)	GSH-Px [U/(min·ml)]	—SH (mg/g, $\times 10^{-2}$)
染毒 35 天结果					
对照	7.46±0.52	449.62±32.40	105.13±10.49	35.96±4.36	2.55±0.56
500	7.41±0.61	445.25±36.92	104.31±12.50	35.97±4.91	2.52±0.57
1 500	7.59±0.99	443.37±46.46	104.90±11.10	36.17±4.80	2.10±0.36
3 000	8.40±0.92	472.88±34.58	110.63±21.67	35.95±4.45	1.79±0.21**
4 000	9.12±1.65**	400.37±33.01*	118.07±13.15	30.23±4.52*	1.66±0.27**
染毒 70 天结果					
对照	9.33±0.73	441.91±38.33	97.14±10.35	34.15±3.53	2.52±0.49
500	9.24±0.95	443.06±38.08	98.05±12.32	34.38±4.12	2.54±0.60
1 500	10.67±1.27*	441.59±37.17	97.31±10.79	34.20±3.28	2.00±0.29**
3 000	11.32±1.31**	413.13±42.46	97.14±9.68	32.01±4.27	1.79±0.26**
4 000	11.16±1.67**	378.78±44.75**	88.80±9.71	28.46±4.30**	1.65±0.28**

与对照组比较 *$P<0.05$，**$P<0.01$。

染毒 35 天大鼠血中 MDA 和 —SH 含量差异有高度显著性（$P<0.01$），SOD 和 GSH-Px 经 q 检验差异有显著性（$P<0.05$）（见表 5）。

染毒 70 天大鼠血中各指标（除 CAT）经 F 检验各组间差异有高度显著性（P 均小于 0.01）。q 检验结果如表 5 所示。

2. 5　染毒 35 天、70 天大鼠睾丸匀浆 MDA、SOD、CAT、GSH-Px、—SH 含量测定结果

染毒 35 天大鼠睾丸匀浆中各指标各组间经 F 检验仅 —SH 差异有高度显著性（$P<0.01$）。q 检验结果见表 6。

表 6　染乙醇 35 天、70 天大鼠睾丸匀浆中 MDA、SOD、CAT、GSH-Px、—SH 测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别 (mg/kg)	MDA (nmol/ml)	SOD (NU/ml)	CAT (U/g)	GSH-Px [U/(min·ml)]	—SH (mg/g, $\times 10^{-2}$)
染毒 35 天结果					
对照	2.56±0.09	98.64±7.68	19.36±1.72	38.55±4.05	139.80±7.20
500	2.56±0.08	98.15±6.15	19.40±2.24	38.74±3.90	139.76±8.03
1 500	2.57±0.09	98.14±6.01	19.43±1.69	38.54±4.15	134.54±7.69
3 000	2.57±0.08	99.60±7.62	19.36±2.18	38.39±4.05	130.00±7.81*
4 000	2.64±0.07	104.72±8.42	17.51±1.56	35.38±3.38	124.80±8.25**
染毒 70 天结果					
对照	2.45±0.53	95.11±8.54	19.46±2.31	37.09±3.31	137.36±6.72
500	2.46±0.54	98.18±7.92	19.44±1.69	37.15±3.61	137.71±8.48
1 500	2.48±0.55	95.72±8.82	19.30±1.73	36.69±3.66	133.25±8.22
3 000	3.05±0.68	92.20±7.12	17.38±1.57	36.54±4.08	126.24±7.64**
4 000	3.56±0.77**	85.54±8.52*	15.94±2.41**	32.79±3.89	122.72±8.71**

与对照组比较 *$P<0.05$，**$P<0.01$。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

染毒70天大鼠睾丸匀浆中MDA、CAT和—SH各组间经 F 检验差异均有高度显著性（$P<0.01$），SOD各组间经 F 检验差异有显著性（$P<0.05$），q 检验结果见表6。

2.6　染毒大鼠睾丸组织的光、电镜组织病理学检查结果

光镜检查从3 000mg/kg组始可见睾丸及附睾组织明显的形态学改变。精子在曲精小管形成数目明显减少，精细胞减少最为显著。小管壁变薄，细胞层次变少。附睾内精子滞留，尾部卷曲、断裂，精子呈不活泼状。上述病理变化随染毒剂量增加而加重。4 000mg/kg组大鼠睾丸组织电镜检查见曲精小管内各层生精细胞及精子细胞核折屈皱缩，线粒体有空泡样变及基质颗粒，胞浆内出现空泡，内质网扩张成池状。支持细胞胞质疏松，线粒体未见减少，但多空化变性，有的甚至已呈空泡。成熟精子顶体周围细胞膜间隙扩张，有的呈囊状。

3　讨论

本研究结果表明大鼠按3 000、4 000mg/kg剂量，连续乙醇染毒70天可使血和睾丸组织脂质过氧化产物MDA明显升高，抗氧化酶系SOD、GSH-Px活力明显下降，抗氧化物质—SH明显减少，长期大量饮酒者血中LDH、LDHx和G-6-PD酶活力下降，说明乙醇及其代谢产物可致机体产生脂质过氧化作用，使体内参与内分泌激素和精子生成的能量代谢酶活力下降。光、电镜组织病理学检查亦证明由于乙醇的脂质过氧化作用使睾丸间质细胞、支持细胞和生精细胞膜受损。电镜发现线粒体和内质网膜肿胀，形成空泡，成熟精子顶体周间隙扩张；光镜下可见生精上皮细胞变性、坏死、脱落，上皮变薄，精子明显减少。上述病理改变进一步从组织学上证明了乙醇及其代谢产物产生的脂质过氧化作用，损伤了睾丸内各类细胞膜及膜上的酶，而使生殖内分泌激素的分泌、精子的生成受到损害，这是产生一切损伤的组织学基础。

睾酮的合成主要在间质细胞内质网和线粒体上进行，参与合成的酶，例如17、20-裂解酶、17β-羟类固醇脱氢酶、3β-羟类固醇脱氢酶、Δ^5-Δ^4异化酶等均位于内质网上[8]，内质网受损必然损伤其上酶的活性。睾丸内的G-6-PD酶主要存在于生精小管的间质细胞内，G-6-PD为睾酮合成提供还原型尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（NADPH），G-6-PD活性可间接反映间质细胞的功能[9]；另一方面，睾酮的合成亦受下丘脑-垂体-睾丸轴的调节，任何一个环节受损均可影响T的合成[8]。本研究结果表明，给大鼠染乙醇3 000和4 000mg/kg 70天，可见血清T明显下降，而LH和E_2明显升高，与对照组比较差异有高度显著性（$P<0.01$）。对长期饮酒者和酒精中毒者的研究表明，血中T水平明显低于对照组，而FSH、LH和E_2显著和非常显著高于对照组，而血清中的LDH、LDH-Px和G-6-PD酶活力明显低于对照组。上述损害作用是由于乙醇及其代谢产物使机体产生了脂质过氧化或其直接毒作用损伤了间质细胞和支持细胞使T合成酶和能量代谢酶活力下降，因而使T合成减少，血中T浓度下降。由于T的减少产生负反馈作用使LH升高，同时由于间质细胞受损，膜上的LH受体亦受损，不能有效地与LH结合，因而致使血中游离的LH增加，两者共同作用使LH升高[10]。血中FSH升高主要是由于T的下降通过下丘脑-垂体-睾丸轴的调节代偿性增高[10]。由于血和睾丸中内分泌激素水平的改变，长期饮酒者可表现为性功能低下，精液质量下降，甚至不育，严重影响健康，特别是危及子代的健康，因而应大力提倡戒酒，防止对雄（男）性生殖功能的损伤，保护子代健康。

参考文献：

〔1〕 王桂兰，刘双军，张剑. 乙醇的毒理学研究概况〔J〕. 解放军预防医学杂志，1993，11（5）：400.

〔2〕 Robert H，Kirkman S，Fink EB. Metablic effects of alcohol〔A〕. In Becker K1，Milford F. principles and practice of endocrinology and metabolism. Philadel-phia：Lippincott，1990. 1679-1684.

〔3〕 李曼，安劬. 酒精对男性生殖系统影响〔J〕. 国外医学计划生育分册，1990，（3）：156-159.

〔4〕 孟东升. 酒精对男性生殖的影响〔J〕. 男性学杂志，1991，5（3）：185-187.

〔5〕 天津九鼎医学生物工程有限公司. 放射免疫测定试剂盒使用说明书〔Z〕. 1997.

〔6〕 李影林. 中华医学检验全书〔M〕. 北京：人民卫生出版社，1996.

〔7〕 南京建成生物工程研究所. 测试试剂盒操作说明书. SOD. CAT. GSH-Px. MDA. —SH〔Z〕

〔8〕 丁训诚，蒋学之，顾祖维，等. 男性生殖毒理学〔M〕. 北京：中国人口出版社，1997. 37-65.

〔9〕 江泉观，于永强. 雄（男）性生殖毒理学〔M〕. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1994. 229-231.

〔10〕 张家驹. 临床内分泌生理学〔M〕. 北京：中国医药科技出版社，1990. 193.

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net