

# 乙醇的雄性生殖毒性

解丽君<sup>1</sup>, 赵松<sup>2</sup>, 胡文媛<sup>2</sup>

(1. 河北省疾病预防控制中心药物研究室, 河北 石家庄 050021; 2. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017)

**摘要:** 40只健康雄性成年SD大鼠随机分为4组, 各组每日分别灌胃给予乙醇0、2.7、4.5、7.5 g/kg, 连续13周。测定各组大鼠血清睾酮(T)、促黄体生成素(LH)、促卵泡刺激素(FSH)含量, 光、电镜观察睾丸组织的形态学改变, 同时测定睾丸线粒体中丙二醛(MDA)的含量。结果显示各乙醇组动物血清T水平较对照组明显降低( $P<0.01$ ), 血清LH、FSH含量亦明显降低( $P<0.05$ )。睾丸的组织病理学观察显示染毒动物睾丸生精细胞核固缩、变性, 曲细精管腔中脱落细胞增多; 超微结构显示睾丸生精上皮结构破坏, 支持细胞和各级生精细胞均有退化变性, 且损伤程度与乙醇剂量明显相关。乙醇4.5、7.5 g/kg组动物睾丸线粒体MDA含量明显高于对照组( $P<0.05$ )。说明乙醇既可以直接作用于睾丸, 引起生精细胞损伤和睾丸类固醇合成抑制, 还可使下丘脑-垂体轴生殖内分泌功能受损。脂质过氧化可能是乙醇致睾丸损伤的机制之一。

**关键词:** 乙醇; 大鼠; 睾丸; 生殖毒性

中图分类号: R994.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2005)03-0172-02

## Effects of alcohol on reproductive system of male rats

XIE Li-jun<sup>1</sup>, ZHAO Song<sup>2</sup>, HU Wen-yuan<sup>2</sup>

(1. Hebei Provincial Center for Disease Prevention and Control, Shijiazhuang 050021, China; 2. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

**Abstract:** Forty healthy Sprague-Dawley adult male rats were randomly divided into four groups with varied doses of alcohol (0 g/kg, 2.7 g/kg, 4.5 g/kg and 7.5 g/kg) administrated for 13 weeks by gastric tubes. Serum sexual hormones testosterone (T), luteinizing hormones (LH) and follicle stimulating hormones (FSH) were determined. Pathological changes of testis tissue of the rats were simultaneously observed by light microscopy and electron microscopy. Malondialdehyde (MDA) content of testis mitochondria was determined as well. Result showed that Serum T level in all alcohol-treated groups was significantly lower than that in control group ( $P<0.01$ ). Serum levels of LH and FSH in alcohol-treated rats were also significantly lower than those in controls ( $P<0.05$ ). Light microscopic evaluation of the testis of the rats treated with alcohol revealed their germ cell nuclear pyknosis and degeneration, and increased exfoliated cells in tubular lumina. Electron microscopic analysis showed that seminiferous epithelium of alcohol-treated rats was disorganized and Sertoli cells and germ cells at all stages were degenerated, in a dose-dependent pattern. Content of MDA in the testis mitochondria of the rats treated with 4.5 g/kg and 7.5 g/kg was significantly higher than that in the controls ( $P<0.01$ ). It is suggested that alcohol is a known testis toxin which can directly act on the testis causing damage to germ cells and inhibition of synthesis of steroids as well as dysfunction of hypothalamic-pituitary axis in gonadotropin release. Lipid peroxidation may be a putative mechanism that contributes, at least in part, to the testis damage associated with chronic alcohol abuse.

**Key words:** Alcohol; Rat; Testis; Reproductive toxicity

研究表明, 乙醇是一种确认致畸物, 母亲孕期大量饮酒可致“胎儿酒精综合征”<sup>[1]</sup>; 男性酗酒可影响身体健康并引起后代发育和行为异常<sup>[2]</sup>。为提高人类生命质量和优生优育, 研究乙醇的生殖遗传毒性具有深远意义, 而国内在乙醇对雄性性腺的影响方面尚少见系统报道。本研究旨在观察乙醇对睾丸形态及生殖内分泌激素的影响, 并初步探讨了乙醇引起睾丸损伤的作用机制。

### 1 材料与方法

收稿日期: 2004-09-20; 修回日期: 2005-02-18

作者简介: 解丽君(1972-), 女, 硕士, 主管医师, 主要从事药物毒理学研究。

### 1.1 实验动物及分组

选体重180~220 g健康性成熟雄性SD大鼠40只(河北省实验动物中心提供), 随机分为4组: 0(对照组)、2.7、4.5、7.5 g/kg乙醇组(按等效剂量计算, 染毒乙醇剂量分别相当于体重60 kg的人饮用42度的白酒约135 ml、165 ml、250 ml), 每组10只。各乙醇处理组均用无水乙醇加入不同量蒸馏水灌胃, 灌胃量为1.5 ml/100 g。对照组给予等量蒸馏水, 每日1次, 连续13周。于末次染毒24 h后用乙醚麻醉动物, 眼眶采血后处死, 取双侧睾丸, 称重, 一侧待做睾丸线粒体MDA含量测定, 另一侧用于形态学观察。

### 1.2 观察指标及方法

1.2.1 睾丸光镜病理切片制作 取一侧睾丸部分组织 Bouine 氏液固定, 常规石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜下观察生精细胞形态结构。

1.2.2 睾丸超薄切片制作及观察 取一侧睾丸部分组织, 双蒸水冲洗, 在冰面上分别切割成  $2\text{ mm} \times 2\text{ mm} \times 4\text{ mm}$  小块, 4% 戊二醛固定, 环氧树脂包埋, 超薄切片, 醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重染色法染色, 于日本产 H-7500 型透射电镜下观察睾丸超微结构。

1.2.3 血清睾酮 (T)、促黄体生成素 (LH)、促卵泡刺激素 (FSH) 测定 采用放射免疫法。由北京核仪器厂产 F-646A 型微机单头放免仪进行测定, 试剂盒由中国原子能科学院同位素研究所提供。

1.2.4 睾丸线粒体 MDA 含量测定 取一侧睾丸, 摘除被膜后, 加入 6 倍体积的含  $0.25\text{ mmol/L}$  蔗糖、 $1\text{ mmol/L}$  氯化镁、 $10\text{ mmol/L}$  Tris-HCl 缓冲液 ( $\text{pH}=7.4$ ), 在冰浴下制成匀浆, 使用日本产 RP20 型高速冷冻离心机在  $4^\circ\text{C}$  条件下  $600\text{ g/min}$  离心得上清液, 再以  $9\,700\text{ g/min}$  离心  $30\text{ min}$ , 得沉淀氯化钾-磷酸钾 ( $0.15\text{ mol/L}$ ) 缓冲液 ( $\text{pH}=7.4$ ) 冲洗, 再以同样速度离心  $30\text{ min}$ , 最后得睾丸线粒体。MDA 的测定用南京建成生物研究所试剂盒, 严格按操作说明书进行; 考马斯亮蓝法测定蛋白含量。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS10.0 统计软件进行 Dunnett's 检验。

## 2 结果

### 2.1 睾丸组织病理切片观察

光镜下对照组睾丸生精上皮呈规则圆形, 排列紧密, 结构清晰, 层次分明, 精原细胞大而圆, 规则地紧贴曲细精管的基底膜, 向内依次为初级精母细胞、精子细胞、精子。乙醇组睾丸曲细精管有不同程度的损伤, 表现为生精细胞核固缩、变性。损伤程度与乙醇剂量密切相关, 低剂量组只有少量曲细精管受损, 变性的生精细胞少; 高剂量组几乎每个曲细精管均有核固缩、变性的生精细胞, 曲细精管腔中脱落细胞增多。

### 2.2 睾丸超薄切片观察

电镜下观察睾丸组织的超微结构, 对照组基膜平整, 支持细胞腔凹窝内嵌着各级处于不同时期的生精细胞, 有精原细胞、初级精母细胞和变态期精子细胞。各乙醇组大鼠生精上皮超微结构显示, 各级生精细胞和支持细胞均有损伤, 包括: (1) 支持细胞内溶酶体增多, 支持细胞滑面内质网变性退化; (2) 精原细胞核空泡化; (3) 初级精母细胞核变性溶解; (4) 精子细胞变态期核溶解, 局部核内陷, 核周隙扩大; (5) 变态期精子细胞移至基膜处, 示生精上皮紊乱。且随剂量加大, 损伤加重。

### 2.3 乙醇对血清睾酮、促黄体生成素、促卵泡刺激素及睾丸线粒体 MDA 含量的影响 (见表 1)

睾丸间质细胞的主要功能是分泌睾酮, 促黄体生成素、促卵泡刺激素是垂体分泌的两种促性腺激素, 如表 1 所示。

各乙醇处理组血清 T 水平均较对照组明显降低 ( $P<0.01$ ), 血清 LH 水平与对照组相比均明显下降 ( $P<0.05$ ), 高剂量组血清 FSH 含量明显低于对照组 ( $P<0.05$ )。

乙醇  $4.5$ 、 $7.5\text{ g/kg}$  组睾丸线粒体 MDA 含量明显高于对照组 ( $P<0.01$ ),  $2.7\text{ g/kg}$  组与对照组差异无显著性 ( $P>0.05$ )。

表 1 乙醇对血清 T、LH、FSH 及睾丸线粒体 MDA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	T (nmol/L)	LH (mIU/L)	FSH (mIU/L)	MDA (nmol/mg prot)
对照组	$13.25 \pm 3.48$	$1.42 \pm 0.14$	$1.74 \pm 0.54$	$12.7 \pm 4.5$
乙醇 $2.7\text{ g/kg}$ 组	$8.84 \pm 2.48^{**}$	$0.74 \pm 0.18^{*}$	$1.40 \pm 0.73$	$14.3 \pm 5.4$
乙醇 $4.5\text{ g/kg}$ 组	$6.52 \pm 2.98^{**}$	$0.61 \pm 0.34^{*}$	$1.11 \pm 0.31$	$17.7 \pm 3.2^{**}$
乙醇 $7.5\text{ g/kg}$ 组	$3.18 \pm 2.16^{**}$	$0.54 \pm 0.55^{*}$	$0.92 \pm 0.34^{*}$	$20.2 \pm 3.7^{**}$

与对照组相比,  $^{*}P<0.05$   $^{**}P<0.01$

## 3 讨论

本研究表明各乙醇组尤其是  $7.5\text{ g/kg}$  组大鼠睾丸生精细胞核固缩变性, 曲细精管腔中脱落细胞增多, 超微结构检查显示乙醇组动物睾丸生精上皮结构破坏, 支持细胞和各级生精细胞、精子均有退化变性。这与 El-Sokkary GH 的研究报道类似<sup>[3]</sup>。

结果还表明, 各乙醇组血清 T 水平均明显低于对照组, 说明乙醇可以抑制睾丸间质细胞合成睾酮。从而提示乙醇所致的睾丸损伤的另一特征是抑制睾丸类固醇合成<sup>[4,5]</sup>。乙醇抑制睾酮合成的机制可能为乙醇或其代谢产物影响了睾酮合成的酶。本研究显示各乙醇处理组大鼠血清 LH 均明显低于对照组, 高剂量组血清 FSH 水平也明显低于对照组。这说明乙醇可以直接或间接作用于下丘脑或垂体来干扰下丘脑-垂体-性腺轴的功能, 以进一步影响睾丸的结构和功能。

睾丸线粒体膜、精子均富含多不饱和脂肪酸, 易受过氧化攻击, 乙醇及其代谢物乙醛可以在体内产生自由基, 自由基攻击膜上的多不饱和脂肪酸即可诱发脂质过氧化。通常以丙二醛的生成判断脂质过氧化程度。本研究表明乙醇  $4.5$ 、 $7.5\text{ g/kg}$  组睾丸线粒体 MDA 含量明显高于对照组, 说明乙醇可以引起睾丸的过氧化损伤。

### 参考文献:

- [1] Abele Sokol. Incidence of fetal alcohol syndrome and economic impact of fetal alcohol syndrome related anomalies [J]. Drug Alcohol Depend, 1987, 19: 51-70.
- [2] Ledig M, Misslin R, Vogel E, et al. Paternal alcohol exposure: developmental and behavioral effects on the offspring of rats [J]. Neuropharmacology, 1998, 37 (1): 57-63.
- [3] El-Sokkary GH. Quantitative study on the effects of chronic ethanol administration on the testis of adult male rat [J]. Neuroendocrinol Lett, 2001, 22 (2): 93-99.
- [4] Kashko MF, Khokha AM, Antsulevich SN, et al. Influence of ethanol and ethanol-induced lipid peroxidation on the steroidogenic activity of testicles [J]. Ukr Biokhim Zh, 1993, 65 (2): 89-94.
- [5] Salonen I. Effects of chronic ethanol diet on pituitary-testicular function of the rat [J]. Biol Reprod, 1990, 42: 55-62.