

- 2 Crowley LJ, Buggy DJ. Shivering and neuraxial anesthesia [J]. Reg Anesth Pain Med, 2008, 33(3):241–252
- 3 Chun DH, Kil HK, Kim HJ, et al. Intrathecal meperidine reduces intraoperative shivering during transurethral prostatectomy in elderly patients [J]. Korean J Anesthesiol, 2010, 59(6):389–393
- 4 候琳琳, 李艳萍, 杨庆玺. 全身麻醉手术患者体温降低的原因分析及护理对策[J]. 泰山医学院学报, 2012, 33(1):56–58
- 5 张睿, 顾小萍, 张娟, 等. 椎管内麻醉后寒战发生的危险因素及预防的回顾性研究[J]. 中国医师进修杂志, 2012, 35(27):20–22
- 6 孟庆花. 椎管内麻醉后寒战的影响因素及治疗[J]. 重庆医学, 2012, 41(13):1335–1338
- 7 Kim YA, Kweon TD, Kim M, et al. Comparison of meperidine and nefopam for prevention of shivering during spinal anesthesia[J]. Korean J Anesthesiol, 2013, 64(3):229–233
- 8 冯星梅, 夏引芳, 王玉瑛, 等. 输液加温对全身麻醉手术患者术中体温的影响[J]. 上海护理, 2012, 12(3):22–24
- 9 冯雷, 邓丽娜, 张桂荣. 术中加温输液对患者体温的影响[J]. 中国医药导报, 2010, 7(10):157–158
- 10 李娟, 侯炯, 曹文婷, 等. 加温输液对骨科手术患者中心体温和寒颤的影响[J]. 护理管理杂志, 2011, 11(5):312–313
- 11 李娟, 侯炯, 曹文婷, 等. 加温输血对全身麻醉骨科手术患者术中中心体温的影响[J]. 解放军护理杂志, 2010, 27(21):1613–1615
- 12 陈铁军. 加温输液对老年人长时间开腹手术全麻苏醒的影响[J]. 中国医学创新, 2013, 10(8):130–131
- 13 陈远珍, 梁永涛. 加温输液复合术中镇静对腰硬联合麻醉下剖宫产术中寒战反应的临床研究[J]. 医学综述, 2013, 19(1):179–181
- 14 成健, 杨洋, 吕晓娇. 综合保温干预对食管肿瘤切除术患者的保护作用[J]. 解放军护理杂志, 2012, 29(21):33–34
- 15 夏玲, 姜云, 肖美云, 等. 复合保温对高危患者胸科手术中低体温影响的研究[J]. 护士进修杂志, 2012, 27(16):1448–1450

(收稿日期: 2014-12-02)

(修回日期: 2012-12-19)

高脂饮食诱导大鼠生精功能障碍

穆杨 闫文杰 尹太郎 杨菁

摘要 目的 观察给予高脂饮食对大鼠生精功能的影响。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 20 只随机分为正常对照组和高脂饮食模型组。正常对照组给予正常饮食喂养, 高脂饮食模型组大鼠给予高脂饮食喂养, 8 周后观察其生精功能的变化。**结果** 与正常组大鼠相比, 高脂饮食组大鼠的睾丸重量/体重下降, 组织学分析显示睾丸生精小管直径、生精细胞计数、间质细胞计数均下降, 血清性激素水平明显异常。同时, 高脂饮食组大鼠睾丸凋亡增强。**结论** 高脂饮食可诱导大鼠生精功能障碍。

关键词 高脂饮食 生精障碍 凋亡

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.024

High-fat Diet Induces Spermatogenesis Dysfunction in Male Rats. Mu Yang, Yan Weijie, Yin Tailang, et al. Reproductive Medical center, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430071, China

Abstract Objective To investigate the effects of high-fat diet on spermatogenesis function in male rats. **Methods** Twenty adult male rats were randomly divided into control group and high-fat diet (HFD) group. Rats in control group were given ad libitum feeding and rats in HFD group were given high-fat diet. Permatogenesis function was measured 8 weeks after treatments. **Results** Rats in HFD group had decreased testis weight/body weight and abnormal serum sex hormone levels. Histological analysis showed that the diameter of seminiferous tubules, spermatogenetic cells and interstitial cells in the testis were reduced. Meanwhile, apoptosis of testicular cells was increased after HFD treatment. **Conclusion** High-fat diet induces spermatogenesis dysfunction in male rats.

Key words High-fat diet; Spermatogenesis dysfunction; Apoptosis

不育是指夫妻双方没有采用避孕措施性生活 1 年仍未怀孕。随着社会的不断发展, 不育的发生率显著升高, 而男性单独因素引起的不育占 25%~30%^[1]。肥胖与男性不育密切相关, 肥胖男性的不育

发生率明显高于正常男性^[2,3]。研究发现, 饱和脂肪酸摄入较多的男性, 其精子浓度和精子总数均明显降低, 且两者之间存在剂量效应关系^[4]。本研究通过给予健康成年雄性大鼠为期 8 周的高脂饮食, 探究高脂饮食对大鼠生精功能的影响。

对象与方法

1. 动物分组及处理: 健康雄性 SD 大鼠 20 只随机分为两

作者单位: 430071 武汉大学人民医院生殖中心

通讯作者: 杨菁, 教授, 博士生导师, 电子信箱: dryangqing@hotmail.com

组;正常对照组和高脂饮食模型组。正常对照组给予正常饮食喂养;高脂饮食模型组给予高脂饮食喂养(表 1)。大鼠喂养 8 周后采用 45mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,称重后腹主动脉采血备用。最后 200mg/kg 戊巴比妥钠处死,留取睾丸组织进行下一步实验。

表 1 SD 大鼠饲料成分

成分	正常组		高脂饮食组	
	质量比(%)	热量比(%)	质量比(%)	热量比(%)
蛋白质	20	19	20	14
碳水化合物	76	72	45	31
饱和脂肪酸	4	9	35	55
热量(kJ)/质量(g)	17.5		24.1	

2. 组织学分析:收集的睾丸组织用 4% 的甲醛固定,脱水,石蜡包埋后切片。睾丸组织切片采用苏木素 - 伊红(HE)染色后观察其组织形态学的改变。切片(5μm)置于显微镜下观察后拍照。采用 Image-Pro Plus 6.0 测量生精小管的直径及计数生精细胞、间质细胞。每组随机选取 5 只大鼠测量 50 个生精小管直径,同时每组选取 5 只大鼠随机选取 30 个视野计数生精细胞及间质细胞。

3. 血清激素水平的测定:腹主动脉采血留取血液标本。3000r/min 离心 10min 后,吸取上层血清进一步测定血清激素水平。血清雌激素(E₂, 伊莱瑞特, E-EL-R0065c)、睾酮(T, 伊莱瑞特, E-EL-R0072c)、卵泡刺激激素(FSH, 伊莱瑞特, E-EL-R0391c) 和 黄体生成素(LH, 伊莱瑞特, E-EL-R0026c) 均采用酶联免疫试剂盒测定,实验步骤及方法按照试剂盒说明书完成。

4. 实时定量 PCR: 取冻存的睾丸组织, 用 TRIzol 提取总 RNA, 而后计算浓度与纯度, 利用反转录试剂盒将提取的 RNA 反转录成 cDNA。每管取 2 μg, 加入上下游引物、MIX 和灭菌去离子水等, 离心混匀后进行定量反应。Bcl-2 引物(购自上海生物工程股份有限公司), 其上游引物: 5' - TGGTGGACAA-CATCGCCCTGTC - 3'; 其下游引物: 5' - GGTCCGCATGCT-GGGGCCATATA - 3'。Bax 引物(购自上海生物工程股份有限公司), 其上游引物: 5' - TGAGCGAGTGTCTCCGGCGAAT - 3'; 其下游引物: 5' - GCACTTAGTGCACAGGGCCTTG - 3'。caspase-3 引物(购自上海生物工程股份有限公司), 其上游引物: 5' - ACTCTTCATCATTCAGGCCTGGCG - 3'; 其下游引物: 5' - TGGATGAACCACGACCCGTCT - 3'。

5. 统计学方法:所有检测结果均采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,所有数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间比较采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 高脂饮食降低睾丸重量/体重:与正常对照组相比,高脂饮食模型组大鼠睾丸重量/体重下降,高脂

饮食可以引起睾丸萎缩(图 1)。

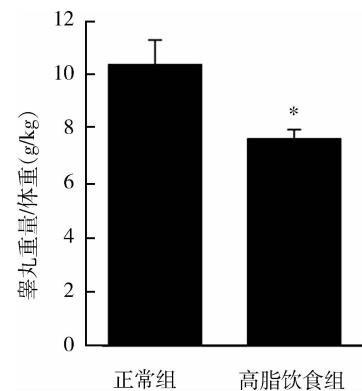


图 1 高脂饮食对睾丸重量/体重的影响

与正常组相比, * $P < 0.05$

2. 高脂饮食对睾丸组织形态学的影响:与正常对照组相比,给予高脂饮食后大鼠睾丸生精小管直径,生精细胞及间质细胞计数均降低(图 2)。

3. 高脂饮食对血清性激素水平的影响:与正常对照组相比,高脂饮食模型组大鼠血清性激素水平明显受损,表现为血清睾酮(T)、促卵泡成熟激素(FSH)及黄体生成素(LH)均降低,血清雌二醇(E₂)水平升高(图 3)。

4. 高脂饮食可诱导睾丸细胞凋亡:与正常对照组相比,给予高脂饮食后,大鼠睾丸凋亡水平增强,表现为 Bcl-2 下降, Bax 和 caspase-3 表达升高(图 4)。

讨 论

本研究通过给予健康雄性成年大鼠为期 8 周的高脂饮食来观察其对生精功能的影响。结果发现,高脂饮食后,大鼠发生睾丸重量/体重下降;生精小管直径下降,睾丸生精细胞及间质细胞计数均下降;血清性激素水平发生异常,睾丸细胞凋亡增加。这些结果都证明了高脂饮食能够诱导健康成年雄性大鼠生精功能障碍。

随着社会的进步和人们生活水平的提高,不育症的发生率逐渐上升。肥胖已被证实为女性不孕的危险因素^[5, 6]。近年来,肥胖亦被认为是导致男性不育的原因之一,随着体重指数的增加,精液质量各项指标发生异常^[7]。目前认为,肥胖导致生精功能障碍主要与下丘脑-垂体-性腺轴(HPG 轴)的改变及睾丸细胞凋亡增加密切相关。相对于雄激素,雌激素在较低水平亦能发挥生物活性。男性肥胖患者体内升高的雌激素负反馈作用于下丘脑和垂体导致 HPG 轴受限,表现为促性腺激素和雄激素低下,从而出现

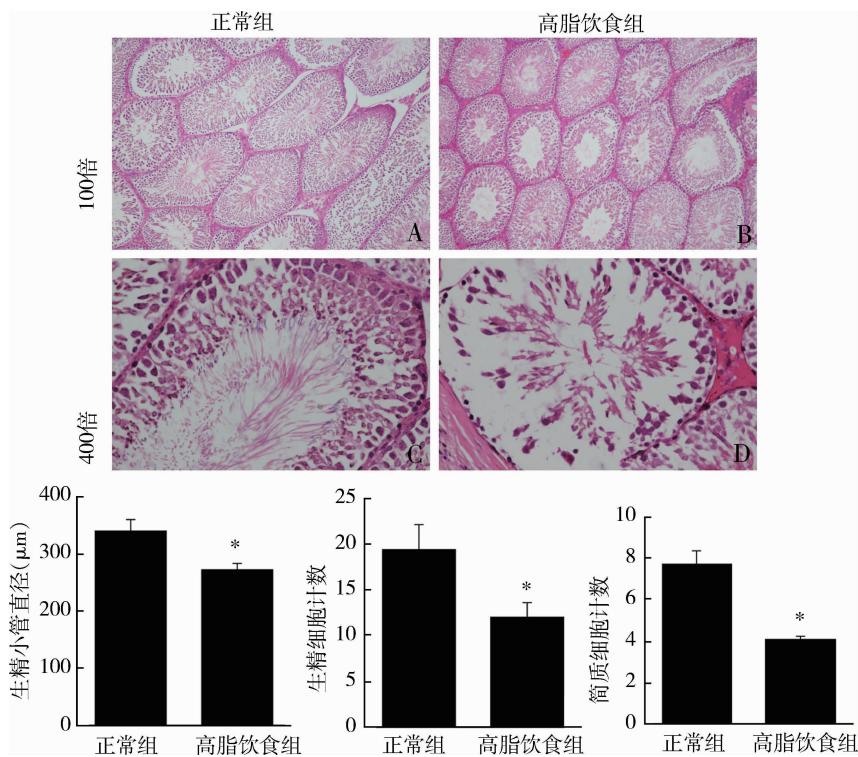


图 2 高脂饮食降低生精小管直径、生精细胞和间质细胞数目

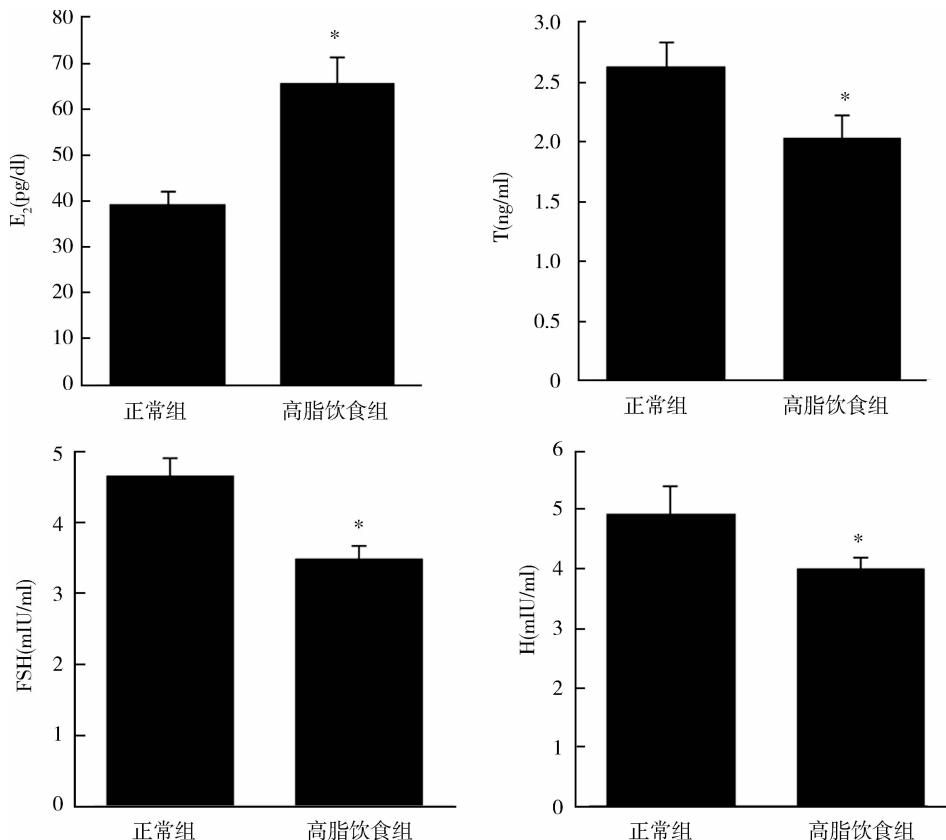
与正常组相比, * $P < 0.05$; A ~ D. HE 染色

图 3 高脂饮食对血清性激素水平的影响

与正常组相比, * $P < 0.05$

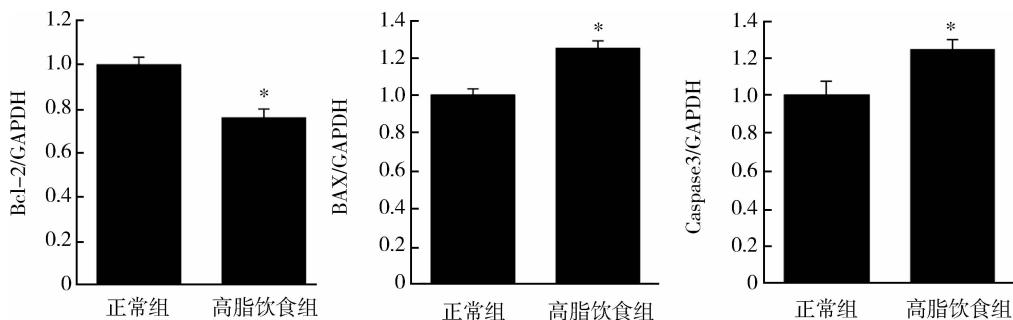


图 4 高脂饮食对睾丸凋亡标志物的影响

与正常组相比, * $P < 0.05$

生精障碍^[8]。本研究发现,高脂饮食 8 周后,雄性大鼠表现为 LH/FSH/T 激素水平下降, E_2 水平升高。细胞凋亡是程序性控制的调控生存和死亡之间稳态的细胞主动性死亡的过程。细胞凋亡主要由凋亡诱导基因 Bax 和凋亡抑制基因 Bcl - 2 等共同调控,两者的稳态保证细胞数目的稳态,Bcl - 2/Bax 比例失衡后可激活下游 caspase 信号通路导致凋亡的发生^[9]。睾丸组织中存在生精细胞的凋亡,但是过度的凋亡导致生精功能的障碍^[10]。本研究发现,高脂饮食可以导致睾丸局部 Bax 和 caspase - 3 表达升高,Bcl - 2 表达降低,这提示高脂饮食导致大鼠睾丸细胞凋亡增加。

国内外研究发现,多种方法都可建立生精障碍动物模型^[11]。高温、电离辐射等物理因素均可改变睾丸局部温度,形成热效应致生精障碍模型^[12]。以环磷酰胺、白消安、乙醇和甲醛等化学因素可通过干扰精子的分裂、发育和成熟导致生精障碍^[11]。此外,手术方法和部分基因编辑也可诱导生精障碍的发生。但这些造模方法都不能模拟肥胖导致的生精功能障碍。本研究高脂饮食 8 周,睾丸的病理生理性改变与临幊上肥胖患者的生精障碍相似。

综上所述,高脂饮食可导致大鼠生精功能障碍。高脂饮食所致生精障碍可成为研究肥胖患者生精功能障碍的动物模型,然而其具体的机制仍需要开展进一步研究。

参考文献

1 Hammoud AO, Gibson M, Matthew Peterson C, et al. Obesity and

- male reproductive potential [J]. J Androl, 2006, 27(5):619 – 626
- 2 Jensen TK, Andersson AM, Jørgensen N, et al. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men[J]. Fertil Steril, 2004, 82(4): 863 – 870
- 3 Sermonade N, Faure C, Fezeu L, et al. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(3): 221 – 231
- 4 Jensen TK, Heitmann BL, Blomberg Jensen M, et al. High dietary intake of saturated fat is associated with reduced semen quality among 701 young Danish men from the general population [J]. Am J Clin Nutr, 2013, 97(2):411 – 418
- 5 Pantasri T1, Norman RJ. The effects of being overweight and obese on female reproduction: a review [J]. Gynecol Endocrinol, 2014, 30(2):90 – 94
- 6 Jungheim ES1, Travieso JL, Hopeman MM. Weighing the impact of obesity on female reproductive function and fertility [J]. Nutr Rev, 2013, 71(Supplement S1):S3 – S8
- 7 Macdonald AA1, Stewart AW, Farquhar CM. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones in New Zealand men: a cross-sectional study in fertility clinics [J]. Hum Reprod, 2013, 28(12):3178 – 3187
- 8 Pasquali R, Patton L, Gambineri A. Obesity and infertility [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2007, 14(6):482 – 487
- 9 Nagata S. Apoptosis by death factor [J]. Cell, 1997, 88(5203): 355 – 365
- 10 Russell LD, Chiarini-Garcia H, Korsmeyer SJ, et al. Bax-dependent spermatogonia apoptosis is required for testicular development and spermatogenesis[J]. Biol Reprod, 2002, 66(4):950 – 958
- 11 范红艳,王艳春,顾饶胜,等. 生精障碍动物模型的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(2): 1673 – 2995
- 12 Kim JS, Heo K, Yi JM, et al. Genistein mitigates radiation-induced testicular injury [J]. Phytother Res, 2012, 26(8): 1119 – 25

(收稿日期:2015-04-07)

(修回日期:2015-05-04)

关于审稿专家、作者提供银行卡号的启事

由于本单位财务管理规定,今后发放稿费、审稿费要通过银行转账,希望审稿专家和发表论文的作者及时登录医学研究杂志网页(www.yxyjzz.cn),进入到专家审稿或者作者投稿版块,在个人介绍栏中提供银行卡号、开户行名称、卡主姓名以及身份证号,以便及时为您发放审稿费或稿费,或者将银行卡信息发送到编辑部邮箱yxyjzz@imicams.ac.cn。联系电话:010-52328678(尹老师)。