DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.07.006

高脂饮食诱导肥胖对雄性大鼠生殖能力影响的研究

李湛民,孙智,刘铁军,胡世隆,肖尧
(辽宁中医药大学附属医院,辽宁 沈阳 110032)

摘要:目的 探讨高脂饮食诱导肥胖对雄性大鼠生殖能力的影响。方法 高脂饮食建立肥胖大鼠模型,观察肥胖大鼠精子浓度、精子活力、精子形态、精子碎片率指数(DFI)及睾丸组织病理学的变化。结果 与空白组相比,造模组的精子活力、精子形态及精子碎片率指数显著下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);与空白组相比,造模组的精子浓度无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$);病理学变化:造模组较空白组间质水肿、间质细胞减少,生精小管间隔增宽,精原细胞间距增大,各级生精细胞和支持细胞大量减少,管腔内精子细胞大量减少。结论 高脂饮食诱导肥胖可降低雄性大鼠的生殖能力,尤其对精子活力、精子形态、精子碎片率指数及睾丸组织病理学等方面具有显著影响。

关键词:高脂饮食;肥胖大鼠;生殖能力;大鼠精子
中图分类号:R21 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)07-0026-04

Effect of Obesity Induced by High - Fat Diet on Reproductive Ability of Male Rats

LI Zhanmin, SUN Zhi, LIU Tiejun, HU Shilong, XIAO Yao
(Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, Liaoning, China)

Abstract: *Objective* To explore the effect of high - fat diet induced obesity on the reproductive ability of male rats. *Method* A high - fat diet was used to establish an obese rat model, and changes in sperm concentration, sperm motility, sperm morphology, sperm DNA fragmentation index (DNA fragmentation index, DFI) and testicular tissue pathology were observed in obese rats. *Result* Compared with those of the blank group, the sperm motility, sperm morphology and DFI of the modeling group significantly decreased ($P<0.05$). Compared with those of the blank group, there was no significant change in sperm concentration in the modeling group ($P>0.05$). In the modeling group, there was interstitial edema and fewer interstitial cells compared to the blank group. The interstitial space between the seminiferous tubules widened, and the distance between spermatogonial cells increased. There was a significant decrease in various levels of spermatogenic cells and supporting cells, as well as a significant decrease in sperm cells in the lumen. *Conclusion* The obesity induced by high fat diet can reduce the reproductive ability of male rats, especially in terms of sperm motility, sperm morphology, DFI and testicular tissue pathology.

Keywords: high - fat diet; obese rats; reproductive ability; rat sperm

研究表明,在15%的不孕不育发病率中,男性因素占50%左右[1]。遗传因素、职业因素、环境因素、肥胖可损伤男性生精功能、内分泌功能等,进而影响男性的精液参数,从而导致男性不育的发生[2]。近年来随着生活质量不断改善,食物结构中高脂比重不断上升,肥胖人群的数量急剧增长,2020年的《中国居民营养与慢性病状况报告》中显示,我国居民中普遍存在超重/肥胖的现象,这一比例超过50%[3]。肥胖会引起身体代谢紊乱,是糖尿病、高血压病、冠状动脉疾病等代谢性疾病的重要诱发因素,肥胖导致性激素紊乱、睾丸生精功能异常、精液质量下降、性功能障碍,进而引发男性不育[4-6]。本研究旨在通过建立高脂饮食诱导的肥胖大鼠模型来探讨肥胖对生精细胞和精子质量的影响。

基金项目:国家自然科学基金项目(81973845);辽宁中医药大学自然科学类重点项目(2021LZY043)
作者简介:李湛民(1963-),男,辽宁沈阳人,主任医师、教授,博士,研究方向:中医药治疗男性不育症。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *实验动物* 80只8周龄SPF级SD雄性大鼠,体质量(360±15)g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司[许可证号:SCXK(辽)2020-0001]。饲养于辽宁中医药大学动物实验中心屏障环境中,室温为(24±2)℃,空气相对湿度为(50±10)%,每12 h光照,饮水自由。适应性喂养1周。

1.1.2 *药物与试剂* 普通饲料(27%粗蛋白、13%粗脂肪、60%碳水化合物),45%脂供能高脂饲料(D12451)[7],购自沈阳茂华生物科技有限公司;精子DNA碎片染色试剂盒购于安徽安科生物工程;精子形态学染色液试剂盒购于天津瑞爱金生物科技有限公司。

1.1.3 *主要仪器* 电子秤(万特制药海南有限公司)、离心机(上海舜制仪器制造有限公司)、光学显微镜(OLYMPUS-CX21)、石蜡切片机(美国Thermo公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 *动物模型建立和分组* 将80只雄性SD大鼠随机分为

两组，普通饲料组（空白组）20 只，喂养普通饲料，高脂饮食组（造模组）60 只，喂养 45% 脂供能高脂饲料，共 12 周。每天定时换水、换食，每周称大鼠体质量 1 次。SD 大鼠肥胖模型成功的判断标准：与空白组相比体质量超 20%。造模成功后，两组随机各取 10 只进行实验研究。

1.2.2 取材 采用失血法处死大鼠，快速摘取大鼠的附睾和睾丸。采用扩散法收集大鼠附睾尾精子。将摘取的大鼠附睾尾部放入 3 mL 37 ℃生理盐水中，剪碎并静置 1 min，制成精子混悬液，取 50 μL 精子混悬液置于 1 mL M199 培养基中，37 ℃恒温水浴 5 min。将睾丸组织用 10% 甲醛固定。

1.2.3 检测方法 （1）精液质量检测：从精子混悬液中取出 20 μL，使用血细胞计数板进行精子浓度及活力分析。精子形态使用 Diff－Quik 方法染色，精子碎片率指数（DFI）检测使用瑞－吉染色法。

（2）睾丸组织病理学检查：取固定后的睾丸组织，经常规脱水后用石蜡包埋、切片、HE 染色、光学显微镜下进行组织病理学检查。

1.3 统计学方法

采用 Excel 表格收集整理数据，统计学处理采用 SPSS 26.0 统计软件。进行分析造模组与空白组大鼠的体质量、精子浓度、精子活力、精子形态及精子 DFI。计量资料以平均值 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，计量资料采用 t 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模前后大鼠体质量对比

喂养 12 周后，空白组大鼠体质量为（424.02 ± 15.49）g，造模组大鼠体质量为（613.17 ± 35.42）g，造模组大鼠平均体质量比空白组大鼠重 20%，造模组大鼠的体质量显著提高，两组大鼠体质量比较差异具有统计学意义（$P < 0.05$）。

2.2 造模前后大鼠精子质量对比

与空白组相比，造模组大鼠的精子活力、精子形态及精子碎片率指数显著升高，差异具有统计学意义（$P < 0.05$）；与空白组相比，造模组大鼠的精子浓度无明显变化，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。见表 1。

表 1 两组大鼠精子浓度、精子活力、精子异常形态率、碎片率指数 DFI 比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	浓度/（$\times 10^6$/mL）	活力/（%）	异常形态/（%）	DFI/（%）
空白组	10	56.40 ± 3.39	31.11 ± 2.83	8.42 ± 0.76	21.70 ± 4.43
造模组	10	55.94 ± 2.69	19.30 ± 2.29	21.05 ± 2.26	34.85 ± 5.37
t 值		0.335	10.260	－16.742	－5.975
P 值		> 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

在光镜下，可见空白组大鼠的精子头部呈镰刀状、颈部细长连接于腹侧、中段粗细均匀、主段长、逐渐变细，无弯折现象；造模组大鼠精子可见尾部呈卷曲状、颈部有断裂、头部为小头及无钩等形态异常精子。见插页Ⅷ图 1。

在光镜下，空白组大鼠的精子瑞－吉染色后可见没有碎片的大晕环及中晕环精子；造模组大鼠的精子瑞－吉染色后可见没有晕环及退化的精子。见插页Ⅷ图 2。

2.3 造模前后大鼠睾丸组织病理学检查

HE 染色后，光镜下显示，空白组睾丸间质正常，管间大量间质细胞，生精小管整齐，管腔内有多层各发育阶段的生精细胞，支持细胞较多，各种细胞致密、层次清楚、结构完备，管腔中可见大量成熟精子；造模组较空白组间质水肿、间质细胞减少，生精小管间隔增宽，精原细胞间距增大，各级生精细胞和支持细胞大量减少，管腔内精子细胞大量减少。见插页Ⅷ图 3。

3 讨论

中医认为肥胖属男性不育症中湿热、痰湿等诱发因素[8]。脾虚是肥胖症发生的基础[9]，也是男性不育症发生和发展的中心环节，肥胖型不育症是以脾肾虚为本、痰湿盛为标的一类疾病。这些与脾的运化功能密切相关，脾的运化功能包括两个方面：一是运化水谷，表现在对水谷精微的吸收和输布。水谷精微为气血生化之源，因此脾被古代医家称为后天之本，气血生化之源。肾藏精，主生殖，调天癸。肾所藏之精分“先天之精”和“后天之精”，“先天之精”需“后天之精”所滋养，这样才能“肾气盛，天癸至，精气溢泻，阴阳和，故能有子”；二是运化水液，脾有吸收、输布水液的功能，可防止过多水液在体内停留。如果脾运化水湿功能失常就能产生湿、痰、饮等病理产物，痰饮则易阻滞气机，阻碍气血，导致肾的功能异常而不能有子。陈士铎《石室秘录·卷五》云：“男不能生子者有六病，一精寒，二气衰，三精少，四痰多，五相火盛，六气郁”，《辨证录·种嗣门》[10]曾有对肥胖男性不育的论断，“男子身体肥大，必多痰涎，往往不能生子”。所以“脾虚湿盛”是引起精子质量下降的重要原因。

本课题研究成功地建立了高脂饮食诱导的雄性肥胖大鼠模型，研究发现高脂饮食诱导的肥胖大鼠精子活力、精子形态、精子碎片率指数与空白组有显著差异，但精子的浓度无显著差异。睾丸组织病理学检查显示肥胖大鼠的睾丸间质水肿，间质细胞减少，生精小管间隔增宽，精原细胞间距增大，各级生精细胞和支持细胞大量减少，管腔内精子细胞大量减少。肥胖大鼠睾丸病理显示虽然大鼠睾丸的生精上皮结构紊乱，但依然存在可以产生足够数量精子的各级生精细胞，因此，精子浓度无显著差异，这与彭媛红的研究相一致[11]。

肥胖大鼠精子活力下降可能与氧化应激反应增强相关。肥胖常伴随活性氧（ROS）的增加，氧化应激反应增强与很多因素有关，尤其是线粒体功能的改变起决定性作用[12]。在正常生理条件下，氧化应激处于动态平衡，当机体处于多糖、多脂水平时便会受到损伤，其 ROS 就会增加，从而造成精子损伤。精子膜富含多聚不饱和脂肪酸且抗氧化酶水平相对较低，容易受到 ROS 的攻击影响精子膜结构。另外过多的 ROS 也会攻击精子线粒体 DNA，使精子线粒体功能受损，从而导致精子运动能力的下降，是精子活力和前向运动精子百分比明显下降的原因。

肥胖大鼠精子畸形率与 DFI 增高可能与氧化应激反应增强、炎症反应增高和精子表观遗传修饰等因素相关。氧化应激反应增强，ROS 增加，ROS 是强氧化剂，会对侵入循环系统的细菌和正常人体组织发起无差别化攻击，会导致一定程度的激素分泌异常、生精功能障碍以及精子畸形率增加[13]。肥胖会导致体内产生和分泌大量的脂肪因子，如肿瘤坏死因子－α（TNF－α）、瘦素、干扰素、白细胞介素等均属于促炎性细胞因子。这些促炎性因子能介导炎症反应导致巨噬细胞增加，损害睾丸中的生精细胞，致使精子发生生精上皮紊乱，导致精子质量降低[14]。肥胖可能通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、单链非

编码 RNA 等机制影响男性生殖细胞的表观遗传[15]。DNA 甲基化与转录抑制相关,启动子区域 5′ - 胞嘧啶鸟嘌呤 - 3′(CpG)的甲基化增强促进基因转录抑制。肥胖者体内生殖细胞多呈现甲基化和乙酰化的状态,抑制转录影响后代谢表型。组蛋白可被甲基化、乙酰化、磷酸化和泛素化修饰,组蛋白赖氨酸去甲基酶在肥胖的发生中发挥作用。肥胖男性精子 piRNA 的表达水平发生改变表现在精原细胞减数分裂 I 期 piRNA 含量丰富,而在精子成熟的前期出现一定程度的消失。piRNA 基因突变会引起反转录转座子的过度表达,导致生殖细胞 DNA 损伤[16]。

肥胖大鼠的睾丸组织间质水肿,间质细胞减少,生精小管间隔增宽,精原细胞间距增大,各级生精细胞和支持细胞大量减少,管腔内精子细胞大量减少可能与生殖内分泌紊乱、氧化应激反应增强和炎症反应增强相关。肥胖可影响下丘脑 - 垂体 - 性腺轴(HPG)的功能,导致促性腺激素释放激素(GnRH)分泌减少、睾酮和雌二醇比例失衡,瘦素和其他激素水平发生改变,降低精液质量,最终影响男性生育力[17-18]。肥胖机体的白色脂肪组织中细胞色素 P450 芳香化酶活性高于正常水平,使得睾酮向雌二醇的转化增加,造成较高的雌二醇水平[19]。高水平的雌二醇负反馈给下丘脑,导致 GnRH - LH/FSH 脉冲幅度减少,促黄体激素(LH)和促卵泡激素(FSH)分泌降低,继而进一步降低睾酮水平,最终导致男性生育力下降[20-21]。氧化应激反应增高,ROS 增加,会对侵入循环系统的细菌和正常人体组织发起无差别化攻击,其中就包括曲细精管、生精上皮、精子细胞和睾丸间质细胞(Leydig cell)。研究发现瘦素是调节能量稳态的关键脂肪因子[22],改变睾丸质量和体积、生精小管直径外,还可影响各级生精细胞的数量[23]。肥胖导致体内产生和分泌大量的促炎性细胞因子,这些促炎性细胞因子在参与炎症免疫反应中发挥重要作用,因此这些炎症因子是引起肥胖发生发展的重要病理机制[24]。炎症反应引起了组织血管的扩张和通透性的增加,使得血液中的液体和溶质可以渗透到组织间隙中,从而形成水肿。炎症反应也可导致组织间隙的渗出液增加,从而形成水肿。睾丸间质水肿,间质细胞增殖受到抑制,损伤细胞线粒体,引起线粒体肿胀,内质网扩张,从而抑制睾酮的合成。睾酮在胎儿性别分化和精子成熟过程中发挥着十分重要的调控作用,因此睾丸间质细胞正常的睾酮分泌功能对于雄性保持生殖健康是不可缺少的[25]。

综上所述,高脂饮食诱导的雄性肥胖大鼠生殖能力下降可能与肥胖导致的生殖内分泌轴紊乱、氧化应激反应增强、炎症反应增强和精子表观遗传修饰改变,导致内分泌激素异常、睾丸组织间质水肿,曲细精管、生精上皮、精子细胞和 Leydig 细胞等细胞受到破坏,最后影响精子质量等因素有关。目前中医药治疗肥胖导致不育的研究是本领域研究的热点。我们将进一步开展中药多靶点干预肥胖而致生育能力下降作用机制的研究,为临床提供可靠的治疗依据。

参考文献

[1] 李宏军, 张建中. 肥胖与男性不育的相关研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(4): 329 - 332.
[2] 吴霞, 高选, 刘雯, 等. 4366 例不育男性体质量指数与精液质量的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(6): 737 - 739, 744.
[3] 中国居民营养与慢性病状况报告(2020 年)[J]. 营养学报, 2020, 42(6): 521.
[4] 秦文会, 管庆波. 肥胖对生殖系统影响的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(58): 78 - 80, 84.
[5] 刘占刚, 李湛民. 肥胖影响男性生育的研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2022, 36(4): 22 - 25.
[6] 赵赢, 刘铁军, 孙智, 等. 芪精方治疗痰湿内阻型肥胖男性不育症的临床疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(8): 154 - 158.
[7] 朱磊, 路瑛丽, 冯连世, 等. 不同配方高脂饲料构建 SD 大鼠肥胖模型的实验研究[J]. 中国运动医学杂志, 2016, 35(7): 642 - 647.
[8] 李湛民, 胡世隆, 刘铁军, 等. 益肾活血方治疗高龄肾虚血瘀型男性不育的疗效观察[J]. 中华男科学杂志, 2021, 27(6): 530 - 534.
[9] 陈颖, 徐军青, 吴巧萍, 等. BMI 正常老年腹型肥胖人群脂代谢异常及中医辨证治疗的研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2020, 44(5): 467 - 471.
[10] 陈士铎. 辨证录[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2020.
[11] 彭媛红, 敬佳, 胡燕琴, 等. 高脂饮食诱导的肥胖对小鼠精子线粒体及活动力损伤的机制研究[J]. 中国男科学杂志, 2019, 33(3): 3 - 9.
[12] 千丽, 郭艺红. 腹型肥胖对精液参数影响的研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(6): 481 - 485.
[13] 牟珍妮, 孙振高, 宋景艳, 等. 肥胖对精子发生机制影响的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(6): 591 - 594.
[14] 夏东儿, 杨夕, 王琇, 等. 肥胖对生殖系统影响的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2017, 38(2): 135 - 137.
[15] DU PLESSIS S S, CABLER S, MCALISTER D A, et al. The effect of obesity on sperm disorders and male infertility[J]. Nat Rev Urol, 2010, 7(3): 153 - 161.
[16] REY R A, GRINSPON R P, GOTTLIEB S, et al. Male hypogonadism: an extended classification based on a developmental, endocrine physiology - based approach[J]. Andrology, 2013, 1(1): 3 - 16.
[17] 许鹏, 蒋云山, 贺桑, 等. 肥胖对不育男性精子染色质结构、顶体功能及精液参数的影响[J]. 中国性科学, 2021, 30(8): 14 - 17.
[18] 吴骏, 贾占东, 冯奕, 等. 肥胖对男性不育症患者精液质量与精子 DNA 完整性的影响[J]. 中国现代医生, 2020, 58(27): 25 - 28, 33.
[19] 焦瑞宝, 唐吉斌, 姚余有. 超重、肥胖与男性不育相关研究进展[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(5): 598 - 600, 604.
[20] 阮衍泰, 郜亮, 姜霞, 等. 不同肥胖指标对孕前男性精液质量影响的研究[J]. 中国男科学杂志, 2023, 37(3): 53 - 57.
[21] 龚志忠, 高勇, 韩冬, 等. 超重或肥胖对男性精子活力影响研究现状的 Meta 分析[J]. 中国性科学, 2023, 32(11): 13 - 17.
[22] 文海燕, 方今女, 王舒然. 肥胖对男性生殖细胞功能的影响及其机制研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(35): 109 - 112.
[23] 刘春辉, 朱晨, 陕文生, 等. 肥胖相关代谢性内毒素血症对精子畸形率的影响因素分析[J]. 河北医药, 2023, 45(7): 981 - 985.
[24] 韩瑞钰, 马婧, 马姣英, 等. 肥胖男性精液参数与精浆炎性因子的相关性分析[J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(10): 894 - 898.
[25] 韩超逸. JEV 感染睾丸间质细胞模型建立及其对睾酮分泌的影响[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.

高脂饮食诱导肥胖对雄性大鼠生殖能力影响的研究

（正文见 26－28 页）

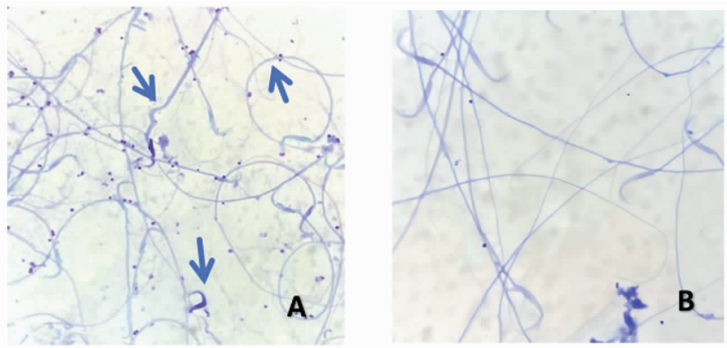


图 1　两组大鼠精子形态学染色结果（Diff－Quik 法染色）

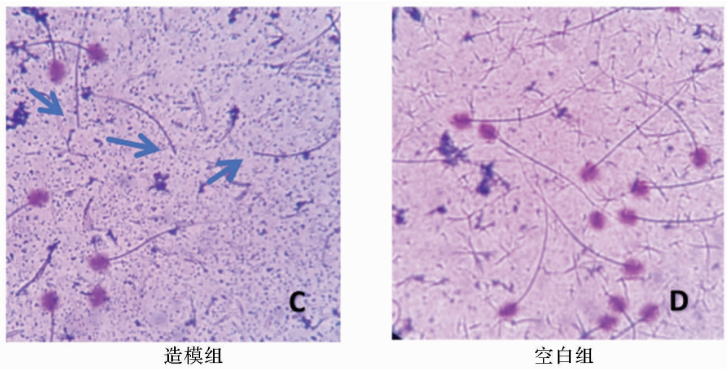


图 2　两组大鼠精子碎片率指数染色结果（瑞－吉法染色）

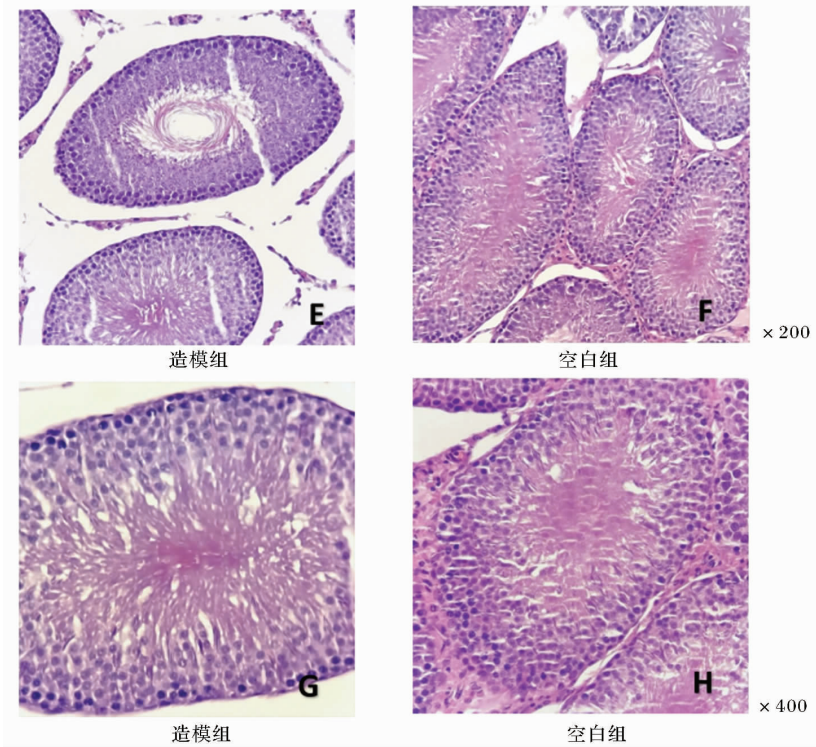


图 3　两组大鼠睾丸组织病理（HE 染色）