

肾虚对雄性小鼠及其雄性仔鼠精子 DNA 损伤的影响

孙 洁¹, 周安方², 周艳艳², 方 婷²

(1. 浙江省中医院泌尿外科, 浙江 杭州 310006; 2. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430061)

摘 要:目的:观察肾虚对雄性小鼠及其雄性仔鼠精子 DNA 损伤的影响。方法:将 30 只雄性昆明小鼠用计算机取随机数法随机分为正常对照组、模型组和补肾组 3 组。其中模型组和补肾组采用房劳加惊恐的复合伤肾法制造肾精亏虚模型。从造模结束次日起,所有小鼠与正常发情雌鼠配对饲养 5 天后,处死,取附睾精子,同时进行精子单细胞凝胶电泳 (Single cell gel electrophoresis, SCGE)、精子染色体结构分析 (sperm chromosome structure analysis, SCSA) 检测其精子 DNA 损伤。取出雌鼠待其分娩。仔鼠饲养至 6 周龄时每组随机取出 10 只雄性仔鼠,用 SCGE 和 SCSA 检测其精子 DNA 损伤。结果:模型组小鼠与正常组相比精子细胞拖尾率 (40.51 ± 11.21 vs 23.64 ± 9.86 , $P < 0.01$) 和 DFI (37.42 ± 7.19 vs 17.11 ± 4.98 , $P < 0.01$) 均明显升高,补肾组 (拖尾细胞率 25.31 ± 8.59 , DFI 24.31 ± 7.99 , $P > 0.05$) 虽然存在 DNA 损伤,但与正常组相比没有明显差异。模型组仔鼠精子细胞拖尾率 (24.59 ± 9.45 vs 18.53 ± 8.51 , $P < 0.05$) 及 DFI (32.18 ± 9.90 vs 17.29 ± 5.14 , $P < 0.01$) 亦明显较正常组高,但补肾组仔鼠精子 DNA 损伤程度较轻 (拖尾细胞率 20.61 ± 6.34 , DFI 15.22 ± 7.49 , $P > 0.05$),与正常组相比没有明显差异。结论:经“惊恐、房劳”方法造模后,模型组小鼠精子 DNA 损伤程度明显上升,而补肾疗法则能较好地保护精子 DNA 完整性。肾虚雄性仔鼠精子 DNA 完整性有类似于父代的改变,但程度较轻。说明肾虚造成的生殖系统损害,可能通过 DNA 损伤影响了其仔鼠的生殖健康。

关键词:肾精亏虚;疾病模型;子代;精子 DNA 损伤;补肾填精方

中图分类号: R - 33

文献标识码: A

文章编号: 1673 - 7717(2010)05 - 1044 - 04

The Effect of Kidney - jing Deficiency on the Sperm DNA Damage of the Male Mice and Their Offspring

SUN Jie¹, ZHOU An-fang², ZHOU Yan-yan², FANG Ting²

(1. Department of Urology, Zhejiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006,

笔者长期的临床实践证明:中西医结合,可以起到优势互补的效果。研究表明:中医辨证论治联合核苷(酸)类似物抗病毒治疗慢性乙肝在改善乏力、肝区疼痛、纳差、下肢酸软等临床症状具有明显优势,观察组与对照组相比恢复时间明显缩短,经统计学处理有明显差异 ($P < 0.05$);本研究还证实观察组虽然对肝功能、HBV - DNA 的恢复率无影响,但在恢复时间上明显缩短,在一定程度上提高了核苷(酸)类似物的疗效,经统计学处理有明显差异 ($P < 0.05$)。说明中医辨证施治对核苷(酸)类似物治疗慢性乙肝有增效作用。

近年来有研究认为慢性乙肝外周血调节性 T 细胞 (Treg) 存在异常,能够抑制 HBV 特异性的 CTL 反应^[3]和 Th 细胞反应^[4]。可能为乙肝病毒感染慢性化的因素之一。

收稿日期:2009 - 12 - 24

基金项目:湖北省自然科学基金资助项目 (2004ABA184)

作者简介:孙洁 (1975 -),男,湖北孝感人,主治医师,博士,主要从事中医男科研究。

通讯作者:周安方 (1948 -),男,湖北孝感人,教授、主任医师,硕士,研究方向:中医男科证治。E-mail:zhouanfang@21cn.com。

本研究表明:观察组与对照组经治疗前后组内比较 Treg 频率均明显降低,经统计学处理有明显差异 ($P < 0.05$);两组治疗后观察组与对照组相比 Treg 频率均明显降低 ($P < 0.05$)。证明随着治疗时间的延长,Treg 比例下降,减少了对效应 T 细胞的抑制作用,改善了患者机体免疫功能,促进了病毒的清除。中医中药对 Treg 有调节作用,可能是作用机理之一。

但单纯抑制作用似乎难以解释 Treg 的全部功能,中医中药的作用机理广泛,完全阐明尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学会,感染病学分会. 2005 年慢性乙型肝炎防治指南 [J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13 (12): 881 - 891.
- [2] 中国中医药学会内科肝病专业委员会. 病毒性肝炎中医辨证标准 (试行) [S]. 中医杂志, 1992, 5: 39 - 40.
- [3] Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, et al. Modulation of the CD8⁺ - T - cell response by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection [J]. J Virol, 2005, 79: 3322 - 3328.
- [4] Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, et al. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Hepatology, 2005, 41: 771 - 778.

Zhejiang, China; 2. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei, China)

Abstract Objective: Researched the affect of insufficient ShenJing on the sperm DNA damage of the male mice and their offspring. **Materials and methods Methods:** KunMing mice, 6 weeks old, 30 males and 330 females, were allocated to 3 groups (blank control group, model group, BuShen group) randomly. The mice of the model group and the BuShen group were processed by the "feamess combined with excessive sexual behavior" to made the model of. insufficient Shen-Jing. The mice in BuShen group were lavaged of concentrated solution of BuShenFang, the dosage is 0.16mL/10g based on their weigh. Other groups treat with physiological saline at the same dosage. This phase would continued 21 days. All of 3 groups were matched - pairs with health female mice for 5 days after model making. It was observed the tailed cell rate and DFI(DNA damage index) of male mice and their male offspring. **Results:** Compared with normal group, tailed cell rate and DFI of model group mice were increased significantly (40.51 ± 1.21 vs 23.64 ± 0.86 , $P < 0.01$, 37.42 ± 7.19 vs 17.11 ± 4.98 , $P < 0.01$). There is no significantly difference between normal group and BuShen group ($P > 0.05$). For offspring mice, tailed cell rate and DFI of model group were increased significantly (40.51 ± 1.21 vs 23.64 ± 0.86 , $P < 0.01$, 37.42 ± 7.19 vs 17.11 ± 4.98 , $P < 0.01$) compared with normal group, and there is no significantly difference between normal group and BuShen group ($P > 0.05$). **Conclusion:** Feamess combined with excessive sexual behavior could damage the sperm DNA of model mice, and these pathologic change could be transferred to their male offspring. BuShen could interrupt this effect.

Key words: kidney-jing deficiency; animal model offspring; DNA damage; kidney-tonifying recipe

祖国医学认为,肾藏精,为先天之本,主生长、发育、生殖,肾精是子嗣禀赋之源。如果男子肾中精气不足,则不仅自身生殖功能会受到影响,其子代亦可能因为禀受的先天之精不足而发生多种病症。恐为肾志,惊恐太过则伤肾,若此时合而有子则其子夭弱。现代医学认为情绪应激是自然界中常见的应激原之一,强烈而持久的情绪刺激会引起人体神经内分泌系统的紊乱并最终影响生殖系统。研究发现工作压力所带来的情绪压力与男性生育力下降有关^[1]。但是情绪影响男性生育力的机制以及不良情绪反应的生殖毒性是否会影响子代的健康尚不明确。笔者先期研究发现,用“惊恐复合房劳”的方法复制小鼠肾精亏虚模型,不但可以显著降低雄性小鼠生育力,其雄性仔鼠精子质量亦明显下降^[2]。精子 DNA 损伤与男性生育力及多种不良生育后果如流产、死胎均密切相关。本文观察“惊恐复合房劳”模型小鼠及其仔鼠的精子 DNA 损伤情况,以了解精子 DNA 损伤在雄性肾精亏虚小鼠引起仔鼠精子质量下降过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

6 周龄雄性昆明小鼠 30 只,雌性昆明小鼠 330 只,体重 (32 ± 2.5) g,均购自湖北省医学科学院。

1.2 药物及制备

1.2.1 补肾填精方 由熟地黄、制首乌、枸杞子、淫羊藿等组成。由湖北中医学院实验中心煎制成浓缩液,含生药量 0.8g/mL。

1.2.2 左炔诺孕酮炔雌醚片 北京紫竹药业有限公司生产(国药准字 H11021378,产品批号 20040111)。每次取 18mg 溶于 150mL 蒸馏水中,配成 0.12mg/mL 的长效避孕药混悬液,4℃冰箱保存。

1.3 造模与分组

1.3.1 动情雌鼠制作 将 300 只雌鼠用计算机取随机数

方法随机分为 5 组,每组 60 只,分别记为 A、B、C、D、E 组。按文献方法^[3],从 A 组开始,每天依次取 1 组雌鼠灌服长效避孕药左炔诺孕酮炔雌醚混悬液,灌胃剂量为 2.34mg/(kg·d),5 天 1 个循环。每组雌鼠在灌胃后的第 3 天正好处于动情期,可用于复制雄鼠肾精亏虚模型。

1.3.2 造模与分组 将 30 只雄性昆明小鼠用计算机取随机数法随机等分为正常对照组、模型组和补肾组 3 组。其中模型组和补肾组采用房劳加惊恐的复合伤肾法制造肾精亏虚模型。每天每只雄鼠按照 1:2 的比例与动情期雌鼠合笼,每天 20:00 投入动情期雌鼠,至次日 8:00 取出,20:00 再投入另一批动情期雌鼠,至次日 8:00 取出,如此反复,让其房劳伤肾;每日 8:00~20:00,将雄鼠放入特制的小铁丝笼内,再将此小笼固定在装有 1 只大家猫的大笼中,让猫与小鼠仅一网之隔,使猫爪能碰到但无法抓到小鼠,并每天 10:00、15:00 各另取 2 只活的小鼠喂猫示众,使其惊恐伤肾。连续 21 天,制造肾精亏虚模型。3 组实验小鼠均自由饮食。

1.3.3 给药剂量与方法 补肾组每天给予 0.16mL/10g 体重的补肾填精方浓缩液灌胃。正常对照组及模型组予等量生理盐水灌胃。自造模第 1 天起开始给药,共 21 天。

1.4 取材时间及方法

1.4.1 父代小鼠取材时间 从造模结束次日起所有小鼠均立即按照 1:1 比例与正常发情雌鼠配对饲养 5 天。于第 6 天处死父代小鼠,留取标本以备检测。取出雌鼠待其分娩。

1.4.2 子代小鼠取材时间 子代小鼠出生后,选出雄性仔鼠,饲养至 6 周龄时分别随机取出 10 只取材。

1.4.3 精子悬液制作方法 摘取双侧附睾尾,剪数剪,置于 6mL 1×TNE 溶液中,37℃水浴 30min,并轻轻振荡,制备精子悬液。将精子悬液均分为 2 份,用 1×TNE 缓冲液分别调节精子浓度至 1×10^6 /mL、 2×10^5 /mL,37℃温育备用。

1.5 检测方法

1.5.1 仪器设备 OLYMPUS BX60 光学复合显微镜, OLYMPUS 公司生产; 尼康 990 数码相机, 尼康光学; FACS-Calibur 流式细胞仪, BECTON DICKINSON 公司生产; DYY-4C 型电泳仪及 DYY-III 型电泳槽, 北京六一仪器厂生产。

1.5.2 检测方法 (1) 精子碱性单细胞凝胶电泳: 所有步骤应光线较暗处完成以免光线破坏 DNA。制片: 在冰冻玻片上铺上 100 μ L 0.75% 的正常溶点琼脂, 盖上盖玻片, 在室温下静置 5 min, 为底层凝胶。6 μ L 精子细胞悬液 (2 $\times$ 10⁵ 细胞/mL) 与 54 μ L 0.75% 的低溶点琼脂在 37 $^{\circ}$ C 条件下充分混匀, 并立即铺在底层凝胶上, 在 4 $^{\circ}$ C 静置 8 min。120 μ L 0.75% 低溶点琼脂铺在第 2 层凝胶上, 在 4 $^{\circ}$ C 静置 8 min, 为顶层凝胶。

精子细胞预处理: 玻片依次在 4 $^{\circ}$ C 弱碱性裂解液 (pH 10, NaCl 2.5 mmol/L, Na₂EDTA 100 mmol/L, Tris 10 mmol/L, 十二烷基肌氨酸钠 1%, Triton X-100 1%) 中作用 1 h; 4 $^{\circ}$ C 中性溶液 (pH 7.4, NaCl 2.5 mmol/L, Tris 5 mmol/L, 十二烷基肌氨酸钠 0.05%, DTT 10 mmol/L) 中作用 1 h; 37 $^{\circ}$ C 核糖核酸酶中性溶液 (pH 7.4, NaCl 2.5 mmol/L, Tris 5 mmol/L, 十二烷基肌氨酸钠 0.05%, 核糖核酸酶 10 μ g/mL) 中作用 4 h; 37 $^{\circ}$ C 蛋白酶 K 中性溶液 (pH 7.4, NaCl 2.5 mmol/L, Tris 5 mmol/L, 十二烷基肌氨酸钠 0.05%, 蛋白酶 K 200 μ g/mL) 中作用 15 h。然后将玻片置于弱碱性电解液中 (pH 10, 醋酸钠 300 mmol/L, Tris 100 mmol/L), 在 12 V (0.46 V/cm)、100 mA、4 $^{\circ}$ C 条件下电泳 60 min, 用 15 μ g/mL 的 EB 染色、封片。

镜检和计数: 使用蓝色激发光, 在 OLYMPUS BX60 光学复合显微镜油镜下选择无重叠, 荧光信号强的精子核计数。每次计数 100 个精子慧星细胞, 计数拖尾细胞率, 同时用 HMAS-2000 彩色医学图文分析系统 (武汉清平影像技术有限公司) 测量每个慧星细胞的头长 (短径) 和全长 (长径), 以计算慧星细胞尾长 (长径 - 短径) [4]。

(2) 精子染色体结构分析: 1 $\times$ TNE 缓冲液调节精子浓度至 1 $\times$ 10⁶ /mL。精子预处理: 精子悬液 37 $^{\circ}$ C 水浴备用。每份精子悬液取 200 μ L 加酸性裂解液 (pH 1.2, Triton X-100 0.1%, NaCl 0.15 M, HCl 0.08 M, 1M HCl 调节 pH 至 1.2, 现配现用) 400 μ L 作用 30 s。秒表精确计时 30 s 后, 立即加入 1.2 mL 吡啶橙染液 (pH 6.0, 柠檬酸 0.037 M, Na₂HPO₄ 0.126 M, Na₂EDTA 0.0011 M, NaCl 0.15 M, 吡啶橙 6 μ g/mL, 现配现用) 染色 3 min。用流式细胞仪检测, 用 488 nm 激光激发荧光, CELLQuest 软件分析数据。在 488 nm 激光激发下, 细胞中单链 DNA 发红色荧光, 双链 DNA 发绿色荧光。红色荧光 / (红色荧光 + 绿色荧光) 为总 DNA 断裂指数 (DNA Fragmentation Index, DFI), 根据文献记载方法 [5], 依红色荧光强度分别得出中度 DFI 和重度 DFI。第一通道 (绿色荧光) 强于 625 道者计为高染色细胞, 计算样本的高染色力 (high DNA stainability, HDS)。

1.6 统计学分析

计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验数据应用 SPSS 13.0 统

计包进行分析, 计量资料比较采用方差分析, F 值检验, 进一步多重比较采用 Turkey 分析, 计数资料用卡方检验, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 精子碱性单细胞凝胶电泳

父代各组精子细胞拖尾率比较: 模型组明显高于正常组, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$), 补肾组与正常组比较没有显著性差异 ($P > 0.05$), 与模型组比较明显较低, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。各组细胞尾长比较: 模型组明显比正常组长, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$), 补肾组也明显比正常组长, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$), 但比模型组短, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

仔鼠各组精子细胞拖尾率比较: 模型组仔鼠明显比正常组仔鼠高, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 补肾组仔鼠与正常组仔鼠比较没有显著性差异 ($P > 0.05$), 但比模型组仔鼠低, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。各组细胞尾长比较: 模型组仔鼠明显比正常组仔鼠长, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$), 补肾组仔鼠虽然比正常组仔鼠长, 非常显著的差异 ($P < 0.01$), 但是比模型组仔鼠短, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 肾虚对雄性小鼠精子拖尾细胞率和平均尾长的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	拖尾细胞率 (%)	平均尾长 (μ L)
正常组	11	23.64 $\pm$ 9.86 $\Delta\Delta$	6.15 $\pm$ 5.03 $\Delta\Delta$
模型组	9	40.51 $\pm$ 11.21 ***	30.38 $\pm$ 16.54 ***
补肾组	11	25.31 $\pm$ 8.59 $\Delta\Delta$	25.35 $\pm$ 8.38 $^{***}\Delta$

注: 与正常组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

表 2 肾虚雄性小鼠对其仔鼠精子拖尾细胞率和平均尾长的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	拖尾细胞率 (%)	平均尾长 (μ m)
正常组仔鼠	10	18.53 $\pm$ 8.51 Δ	7.72 $\pm$ 2.21 $\Delta\Delta$
模型组仔鼠	10	24.59 $\pm$ 9.45 *	21.38 $\pm$ 5.46 ***
补肾组仔鼠	10	20.61 $\pm$ 6.34 Δ	16.25 $\pm$ 4.51 $^{***}\Delta$

注: 与正常组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.2 SCSA

父代小鼠各组中度 DFI 比较: 模型组明显高于正常组及补肾组, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。父代小鼠各组重度 DFI 比较: 模型组重度 DFI 明显高于正常组, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$); 补肾组与正常组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 但明显比模型组低, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。父代小鼠各组 DFI 比较: 模型组 DFI 明显高于正常组, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$); 补肾组与正常组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$), 比模型组低, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。父代小鼠各组 HDS 比较: 模型组 HDS 明显低于正常组, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$); 补肾组与正常组和模型组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。结果见表 3。

各组仔鼠中度 DFI 之间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

各组仔鼠重度 DFI 比较:模型组仔鼠明显高于正常组与补肾组,有非常显著的差异 ($P < 0.01$);补肾组与正常组之间没有显著性差异 ($P < 0.05$)。各组仔鼠 DFI 比较:模型组 DFI 明显高于正常组与补肾组,有非常显著的差异 ($P < 0.01$);补肾组与正常组之间没有显著性差异 ($P < 0.05$)。各组仔鼠 HDS 比较:模型组 HDS 明显高于正常组,有非常显著的差异 ($P < 0.01$);补肾组与正常组之间无显著性差异 ($P > 0.05$),但明显比模型组高,有显著性差异 ($P < 0.01$)。结果见表 4。

表 3 肾虚对雄性小鼠精子 SCSA 结果的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	中度 DFI(%)	重度 DFI(%)	DFI(%)	HDS(%)
正常组	11	4.53 ± 1.14 $\Delta\Delta$	12.57 ± 3.89 $\Delta\Delta$	17.11 ± 3.98 $\Delta\Delta$	14.09 ± 3.31 $\Delta\Delta$
模型组	9	10.72 ± 5.51 $***$	26.7 ± 4.43 $***$	37.42 ± 7.19 $***$	30.37 ± 7.42 $***$
补肾组	11	5.74 ± 3.36 $\Delta\Delta$	18.55 ± 6.42 $***\Delta\Delta$	24.31 ± 7.99 $\Delta\Delta$	23.28 ± 7.19 $***$

注:与正常组比较, $***P < 0.05$, $**P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$, $\Delta P < 0.01$ 。

表 4 肾虚雄性小鼠对其仔鼠精子 SCSA 结果的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	中度 DFI(%)	重度 DFI(%)	DFI(%)	HDS(%)
正常组仔鼠	10	5.33 ± 3.85	11.96 ± 3.32 $\Delta\Delta$	17.29 ± 5.14 $\Delta\Delta$	14.77 ± 6.07 $\Delta\Delta$
模型组仔鼠	10	9.04 ± 3.86	23.14 ± 6.50 $***$	32.18 ± 9.90 $***$	28.60 ± 8.47 $***$
补肾组仔鼠	10	5.11 ± 2.55	10.11 ± 5.81 $\Delta\Delta$	15.22 ± 7.49 $\Delta\Delta$	20.64 ± 5.23 Δ

注:与正常组比较, $***P < 0.05$, $**P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

3 小结与讨论

人类精子质量正在逐年下降^[6],关于男性遗传损伤的证据越来越多。主要表现为未修复的 DNA 损伤或者是新的突变^[7]。因此近年来,精子 DNA 损伤对生育质量的影响已经越来越受到关注。

首先,精子 DNA 损伤与男性生育力密切相关,精子活力、密度、形态学损伤均与精子 DNA 损伤正相关^[8]。与正常生育者相比,先天性不育,以及接受人工授精治疗失败者人群中精子 DNA 损伤者明显增多^[9],但是即使是不育患者,其具有活动能力的精子 DNA 损伤水平也比较低,甚至低于正常对照组的平均水平^[10],说明精子 DNA 损伤与精子活动能力相关。

其次,精子 DNA 损伤还可能与许多不良生殖结局如自发性流产、畸胎、子代各种疾病(包括儿童期癌症)等有关^[11]。在精子活动力、细胞膜完整性、顶体以及线粒体都正常的男性精子中也可能存在比正常水平高的 DNA 损伤,这些具有正常受精能力的精子可以与卵细胞结合并形成胚胎,但是在受精后的第 2~3 次卵裂时开始影响胚胎发育并最终引起流产或者是异常子代^[12]。因此,精子 DNA 损伤对男性生殖健康有非常重要的意义,同时,它还是父源性遗传突变的来源之一^[13],是父亲影响子代健康的重要因素之一。

本实验综合使用 SCGE 和 SCSA 两种检测方法,从不同角度分析精子 DNA 损伤情况。实验结果显示,经“惊恐、房劳”方法造模后,模型组小鼠精子 DNA 损伤程度明显上升,而补肾疗法则能较好地保护精子 DNA 完整性。可见肾虚小鼠除了精子质量下降、生育力减退以外,精子 DNA 完整

性也遭到了破坏。损伤的精子 DNA 可能通过精子而把这种遗传损伤带给子代。实验发现,与雄性生殖系统的其它改变(如精子质量、睾丸组织病理学等)一样,其子代雄性小鼠精子 DNA 完整性也有类似于父代的改变,但程度较轻。说明肾虚造成的生殖系统损害,可能通过 DNA 损伤影响了其仔鼠的生殖健康。仔鼠也表现出一定程度的精子 DNA 损伤,尽管程度较其父代为轻,但不排除影响仔鼠后代的可能性。这种遗传损伤可能会随着世代的传递而逐渐减轻直至消失,但也有可能是某种新的遗传突变的起始。

参考文献

- [1] Einat K, Sheiner, Eyal Sheiner, Refael Carel, et al. Potential Association Between Male Infertility and Occupational Psychological Stress[J]. JOEM, 2002, 44(12): 1093 - 1100.
- [2] 孙洁,周安方,周艳艳,等. 肾精亏虚对雄性小鼠及其仔鼠生育力的影响[J]. 中华男科学杂志, 2007, 13(8): 754 - 757.
- [3] 陈英华,谢玲玲,杨华伟,等. 左炔诺孕酮炔雌醚片所致动情期同步的雌性小鼠的研制[J]. 中国实验动物学报, 2003, 11(1): 46 - 51.
- [4] M. S. Marty, N. P. Singh, M. P. Holsapple, et al. Influence of p53 zygosity on select sperm parameters of the mouse[J]. Mutation Research, 1999(427): 39 - 45.
- [5] Kjersten L. Larson - Cook, John D. Brannian, et al. Relationship between the outcomes of assisted reproductive techniques and sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay[J]. FERTILITY AND STERILITY, 2003, 80(4): 895 - 902.
- [6] Aitken RJ, Sawyer D. The human spermatozoon - not waving but drowning[J]. Adv Exp Med Biol, 2003, 518: 85 - 98.
- [7] Olsen AK, Lindeman B, Wiger R, et al. How do male germ cells handle DNA damage[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2005, 207(2 Suppl): 521 - 531.
- [8] Huang CC, Lin DP, Tsao HM, et al. Sperm DNA fragmentation negatively correlates with velocity and fertilization rates but might not affect pregnancy rates[J]. Fertil Steril, 2005, 84(1): 130 - 140.
- [9] Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility[J]. Fertil Steril, 2003, 79(3 Suppl): 1597 - 1605.
- [10] Ramos L, Kleingeld P, Meuleman E, et al. Assessment of DNA fragmentation of spermatozoa that were surgically retrieved from men with obstructive azoospermia[J]. Fertil Steril, 2002, 77(2): 233 - 237.
- [11] Marchetti F, Wytobek AJ. Mechanisms and consequences of paternally - transmitted chromosomal abnormalities[J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2005, 75(2): 112 - 129.
- [12] Fatehi AN, Bevers MM, Schoevers E, et al. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages[J]. J Androl, 2006, 27(2): 176 - 188.
- [13] Baker MA, Aitken RJ. Reactive oxygen species in spermatozoa: methods for monitoring and significance for the origins of genetic disease and infertility[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2005(3): 67.