

To Heat Stress Model of Mouse Researching Global Warming On Human Reproductive Capacity Of Experimental Studies

ZHAO Jun¹, HAO Lin-lin², ZHANG Ying², WANG Jia², MA Yue³, LIU Song-cai^{2*}

1.ChangChun University, Changchun, China, 130022

2.Jilin University, Changchun, China, 130062,

3.Northeast Forestry University, Haerbin, China, 150040

Email:zhaojun_1989@tom.com

Abstract: We set up a heat stress model using the mouse to study the impact of global warming and local extreme torridity on the reproductivity of human. The mice were divided into 5 groups and exposed to 5 temperature gradients, respectively including 28°C, 31°C, 34°C, 37°C, and 40°C, of which 28°C group was the control group. Parameters indicating sperm quality namely viability, acrosome integrity and abnormality were examined every 24 h in the first week and on the 10th and 14th day after treatment. Results demonstrated that sperm quality declined with elevation of temperature. Sperm quality declined continuously in the first week and recovered slightly sine the 7th day after treatment when exposing temperature changed within a moderate range (from 31°C to 37°C). The extreme exposing temperature (40°C) resulted in unrecoverable decline of sperm quality. The results suggested that male mice experienced a physiological regulation phase after exposed to high temperatures, but physiological regulation might not prove the sperm quality impacted by high temperature exposure, at least within short time (seven days). It implied that human reproductive capacity will be subject to the gradually increased temperature.

Keywords: Global warming; mouse; sperm quality; reproductivity

以热应激小鼠模型探讨全球变暖对人类生殖能力影响的实验研究

赵珺¹, 郝琳琳², 张莹², 王佳², 马跃³, 刘松财^{2*}

1、长春大学, 长春, 中国, 130022

2、吉林大学, 长春, 中国, 130062

3、东北林业大学, 哈尔滨, 中国, 150040

Email:zhaojun_1989@tom.com

摘要: 为了研究全球变暖和局部极端高温气候对人类生殖能力的影响, 建立小鼠热应激模型。设立 5 个温度组 28°C、31°C、34°C、37°C 和 40°C, 其中 28°C 组为对照组。在 14d 内分别在第 1、2、3、5、7、10 和 14d 检测小鼠的精子活力、精子顶体完整率、精子畸形率。结果显示, 温度越高, 精液质量下降越快; 温度在较温和的范围内变动时, 精液质量随温度的升高而呈现下降的趋势, 但经过一段时间的适应, 有所回升; 在极端温度 (40°C) 胁迫下, 小鼠的精液质量持续下降而不能得到恢复。这说明, 高温影响下, 雄鼠的繁殖能力存在适应性生理调节过程, 但影响是相当明显的, 至少在短期内不能恢复到原来水平。由此可以推断, 人类的生殖能力将受到环境温度持续升高的影响。

关键词: 全球变暖; 小鼠; 精液品质; 繁殖能力

气候作为人类赖以生存的自然环境中一个重要组成部分, 它的任何变化都会对自然生态系统以及人类生活产生影响。全球气候变化的影响将是全方位、多尺度和多层次的。气候变化对人类健康最直接的影响之一是极端高温引起的热效应。高温能使病菌、细菌、寄生虫、敏感原更为活跃, 流行性疾病盛行, 同时也

会损害人的精神、免疫力和疾病抵抗力, 气候变化问题正在成为深刻影响 21 世纪人类健康和全球发展的一个重大国际问题。过去的 100 年中, 全球平均温度升高了大约 0.6°C, 并且据预计还将以更快的速度持续升高^[1]。有研究报道, 环境温度的变化对哺乳动物精子的质量有一定程度的影响^[2-4]。由此可以推测, 人类的生殖能力也将受到全球变暖的影响。

为探讨环境温度升高对人类生殖能力的影响, 本

国家科技支撑计划 (2007BAD55B03) 资助项目。

研究选择了与人类同为哺乳种类、且个体小、饲养管理方便、易控制实验条件的小鼠 (*Mus musculus*) 为研究对象, 在实验室内建立其他因素不变, 只有温度变化的热应激对小鼠精液品质影响的动物模型, 通过检测不同温度条件下小鼠附睾精子的活力、顶体完整性及精子畸形率等指标, 研究热应激状态与小鼠精液品质的相关性, 从而为进一步探讨环境温度升高对人类生殖能力的影响奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康性成熟、25 g 左右的雄性昆明小鼠, 由吉林大学医学部实验动物中心提供。

1.2 热应激小鼠动物模型的建立

将小鼠随机分成对照组和热应激组, 每组 20 只。利用光照培养箱模拟夏日高温天气进行热应激处理 (最高温度处理 1~2h, 其他时间均模拟自然天气温度光照变化)。设置 28℃、31℃、34℃、37℃、40℃ 五个温度梯度, 其中 28℃ 组为对照组。每个温度梯度分别设置 1d、2d、3d、5d、7d、10d、14d 处理组。

1.3 小鼠精液品质的检测

在每个实验组热应激处理完后, 利用乙醚中度麻醉小鼠并立即从附睾组织采集精液, 取 40 μL 精液置于载玻片上加盖玻片立即在显微镜下观察精子活力。按照精液中运动精子占全部精子数的大致比例把精液活力从高到低分为四个等级 (+++, ++, +, +/-)。将每份样品制作 2 个抹片, 用 1~2 mL 中性福尔马林固定, 风干后用姬母萨染液染色 1~2h, 随即用清水冲洗, 然后利用显微镜进行观察。计算精子顶体完整率和畸形率。计算方法为:

$$\text{顶体完整率 (\%)} = \frac{\text{顶体完整精子数}}{\text{精子总数}} \times 100\%$$

$$\text{顶体畸形率 (\%)} = \frac{\text{畸形精子数}}{\text{精子总数}} \times 100\%$$

1.4 统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计软件中对立样本 t 检验, 将试验组和对照组各时期精子顶体完整率、顶体畸形率、精子活力进行比较, 检验 $\alpha = 0.05$ 时的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 热应激小鼠动物模型的建立

通过不同温度、不同时间处理, 成功构建了小鼠热应激动物模型。为研究小鼠在高温引发的热应激条件下, 热应激蛋白的表达变化规律以及精液品质变化规律奠定基础。

2.2 小鼠精液品质的检测

2.2.1 精子活力检测结果

从表 1 可以看出, 对照组小鼠精子活力比较高, 且呈现稳定状态, 无明显变化。31℃、34℃、37℃ 处理组随着处理时间的增加小鼠精子活力呈现先降低, 后回升的趋势, 且回升趋势与温度变化趋势成反比。40℃ 处理组随着处理时间的增加精子活力呈现一直降低的趋势。

Table 1. Effects of heat stress on the sperm motility in the epididymis of heat stressed mice

表 1. 不同高温热应激处理小鼠精子活力变化

组别	1d	2d	3d	5d	7d	10d	14d
对照组	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
31℃组	+++	+++	+++	++	++	+++	+++
34℃组	+++	++	++	++	++	++	+++
37℃组	++	++	+	+	+	+	++
40℃组	++	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-

2.2.2 精子顶体完整率检测结果

从表 2、图 1 可以看出, 对照组小鼠精子顶体完整率较高, 且呈现稳定状态, 无明显变化。31℃、34℃、37℃ 处理组随着处理时间的增加, 小鼠精子顶体完整率呈现先降低, 至 7~10d 左右达到最小值随后开始回升, 且回升趋势与温度成反比。40℃ 处理组随着处理时间的增加精子顶体完整率呈现一直降低的趋势, 但前期下降趋势明显大于后期。其中对照组与 34℃、37℃ 组差异显著 ($P < 0.05$), 与 40℃ 差异极显著 ($P < 0.01$)

2.2.3 精子畸形率检测结果

从表 3、图 2 可以看出, 对照组小鼠精子畸形率较低属正常水平, 且呈现稳定状态, 无明显变化。31℃、34℃、37℃ 处理组随着处理时间的增加小鼠精子畸形率呈现先升高, 至 7~10d 左右达到最大值, 随后开始

Table 2. Effects of heat stress on the percentage of integrity in the epididymis of heat stressed mice

表 2. 不同高温热应激处理小鼠精子顶体完整率 %

组别	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d
对照组	88.13±2.88	90.27±3.11	89.68±3.16	91.05±2.43	90.54±3.19	89.7±3.25	92.11±2.52
31℃组	86.61±4.23	84.33±2.69	82.74±3.55	81.43±3.86	81.02±1.98	83.69±3.65	86.92±2.62
34℃组	82.48±3.56	76.32±3.73	72.16±2.36	68.27±3.93*	67.55±3.44*	71.21±2.91	75.37±3.32
37℃组	78.06±2.94	67.53±1.98*	59.36±2.71*	52.53±3.02*	51.46±2.92*	54.39±2.65*	58.71±3.03*
40℃组	70.22±2.86	54.19±3.25*	42.66±1.88**	34.18±3.45**	28.56±2.84**	25.16±3.74**	22.31±2.92**

注：组间比较，*表示差异显著 ($P<0.05$)，**表示差异极显著 ($P<0.01$)，下同。

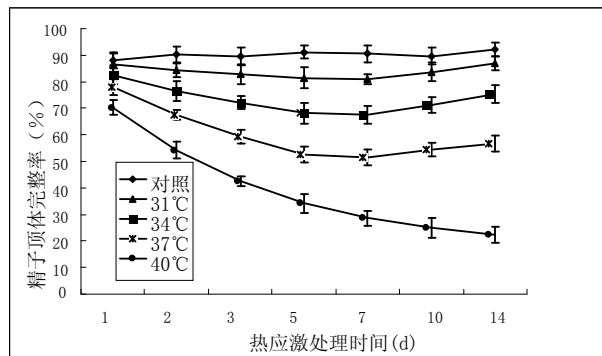


Figure 1. Effects of heat stress on the percentage of integrity in the epididymis of heat stressed mice

图 1. 不同高温热应激处理小鼠精子顶体完整率的变化情况

回落，且回落趋势与温度成反比。40℃处理组随着处理时间的增加精子畸形率呈现一直升高的趋势，但前期的上升趋势明显大于后期。其中对照组与34℃、37℃组差异显著 ($P<0.05$)，与40℃差异极显著 ($P<0.01$)。

3 讨论

大多数哺乳动物精子在睾丸曲细精管内形成并进入附睾，经过大约10~15d转变为成熟精子，最终获得运

动和受精能力。在这个过程中适宜的温度对精子的产生和成熟具有重要影响。睾丸和附睾位于体外的阴囊内，阴囊具有温度调节能力，如果环境温度升高超出阴囊的调节能力，就会对睾丸内精子形成和附睾内精子成熟产生影响。

研究发现，温度升高对小鼠的精液品质的影响有如下特点：第一，温度越高，精液质量下降越快。实验室中，小鼠没有到凉爽的地方活动等行为调节的机

Table 3. Effects of heat stress on the percentage of abnormal sperm in the epididymis in heat stressed mice

表 3. 不同高温热应激处理小鼠精子畸形率 %

组别	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d
对照组	8.72±3.13	10.18±2.45	11.06±1.68	9.78±2.17	11.16±3.26	9.38±2.28	10.47±2.09
31℃组	12.31±2.79	15.28±2.36	17.69±4.11	19.43±3.25*	20.45±2.74*	21.64±1.98*	20.33±2.04*
34℃组	15.27±3.29	18.46±3.67*	21.53±2.85*	25.19±4.23*	29.23±2.61*	31.49±2.78*	29.18±3.29*
37℃组	16.41±3.74*	20.37±2.46*	24.81±3.28*	31.64±3.56*	39.13±2.19**	44.08±3.44**	43.27±2.82**
40℃组	19.34±3.28*	23.51±3.49*	32.07±2.76**	42.58±1.75**	53.26±3.12**	58.62±4.31**	65.08±2.94**

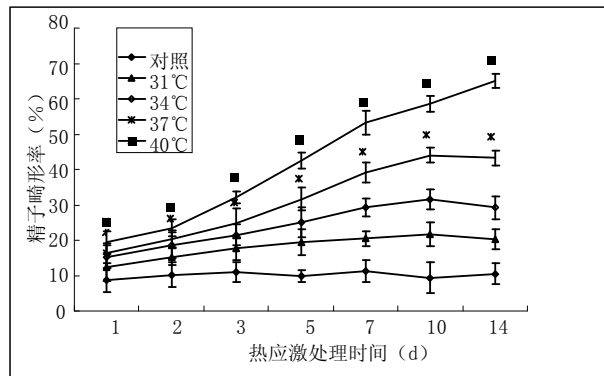


Figure 2. Effects of heat stress on the percentage of abnormal sperm in the epididymis of heat stressed mice

图 2. 不同高温热应激处理小鼠精子畸形率的变化情况

会，而是完全依赖生理性调节。如图 1、2 显示，当温度升高时，有的小鼠 1d 精液质量就开始有了明显的反应；温度越高，质量下降越明显。这种反应一直线性地持续 1 周左右，才能逐渐恢复。这表明，温度变化的剧烈程度，即小鼠经受的温度胁迫越强烈，其生理反应效果越不明显。这预示着鼠类对温度上升的幅度非常敏感。

第二，温度在较温和的范围内变动时，精液质量随温度的升高而呈现下降的趋势，但经过一段时间的适应，有所回升。这说明，雄鼠生殖系统对高温的适应期在 1 周左右。但实验各组的精液品质 1 周内都没有恢复到初试的水平，且在极端高温（40°C）的情况下，没有适应并恢复的迹象。这表明，高温影响下，雄鼠的繁殖能力虽有适应性调节，但影响是相当明显的，至少在短期内不能恢复到原来水平。

近年来全球温度的升高是一个总的趋势^[5]，从上述实验看到在没有行为调节的情况下，仅仅通过生理性调节，小鼠的精液品质很难保持良好的水平，这必将对小鼠的繁殖造成影响。而在畜牧业生产中，高温对公牛精液质量的负面影响也得到了验证。那么精子

生成方式相同，且同属于哺乳种类的人类，在高温环境中，尤其长期处于高温工作环境中的人群的生殖能力是否会受到影响，将有待进一步研究。

References (参考文献)

- [1] Houghton, J. T. et al. Climate Change 2001: The Science of Climate Change [M]. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2001
- [2] Brito L F, Silva A E, Rodrigues L H, et al. Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos Taurus* A I bulls in Brazil [J]. Animal Reproduction Science, 2002, 70 (324), 181-190
- [3] Li Junjie, Sang Runzi, Ni Junqing, et al. The high temperature plants the bull seminal fluid quality and the fine clear biochemistry target influence research to the Dutch Stan [J]. Raising livestock and veterinarian, 2005, 37(11), 10-12
李俊杰, 桑润滋, 倪俊卿, 等. 高温对荷斯坦种公牛精液品质及精清生化指标的影响研究[J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(11), 10-12
- [4] Li Yinghua, Yu Xieli, Yang Lifeng, et al. The seasonal variation comes the kind of bull seminal fluid quality to the summer Luo river the influence[J]. Chinese agronomy notification, 2007, 23(11), 1-3
栗颖华, 禹学礼, 杨利锋, 等. 季节变化对夏洛来种公牛精液品质的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(11), 1-3
- [5] Cox P M, Betts R A, Jones C D, et al. Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model[J]. Nature, 2000, 408; 184-187