DOI:10.16016/j.2097-0927.202212004

军用密闭舱室噪声及 CO 联合染毒致大鼠生殖损伤效应

李迎庆,刘 畅,张中豪,王建康,孙 磊,韩 飞,曹 佳,刘晋祎 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系毒理学研究所

[**摘要**] **目的** 探讨密闭舱室噪声、一氧化碳(carbon monoxide,CO)单独和联合染毒对雄性大鼠生殖系统的损伤效应,评价二者是否具有联合效应以及损伤可能涉及的信号通路。**方法** 50 只雄性 SD 大鼠,采取随机数字表法分为空白对照组、阴性对照组(单纯束缚,不染毒)、噪声染毒组(噪声强度为 85 dB)、CO 染毒组(CO 浓度为 460 mg/m^3)、联合染毒组(CO 浓度 460 mg/m^3、噪声强度 85 dB),每组 10 只。大鼠固定于口鼻染毒杯并放置于联合模拟染毒舱中,按照染毒流程每天染毒 2 h,连续 30 d。染毒结束后分析精子质量,包括精子运动能力、精子密度等,通过 TUNEL 染色确定睾丸细胞凋亡水平。睾丸组织送样进行 circRNA 测序,测序数据行生物信息学富集分析。**结果** 与阴性对照组相比,噪声染毒组和联合染毒组精液密度均显著降低(P<0.05)。在精子运动能力方面,与阴性对照组相比,CO 组显著下降(P<0.05),联合染毒组精子运动能力下降更为显著(P<0.05)。噪声染毒组、CO 染毒组大鼠睾丸组织可见少量空泡形成,联合染毒组大鼠睾丸组织多处可见空泡形成,生精小管管腔内细胞排列紊乱。噪声染毒组和 CO 染毒组细胞凋亡增多,联合染毒组细胞凋亡数目最多。测序数据生物信息学分析结果提示,关键应答 circRNA 及其调控的关键分子可能参与噪声和 CO 染毒对大鼠睾丸的损伤效应,包括 *Smc*4、*Sycp*1、*Sycp*3、*Spag*17、*Mns*1、*Top*2*a* 和 *Rock*1 等,主要参与减数分裂、精子形成、细胞周期及凋亡通路。**结论** 噪声和 CO 可致雄性生殖损伤并存在典型的联合作用,且生殖损伤与 circRNAs 调控相关。

[**关键词**] 噪声;一氧化碳;联合染毒;生殖系统损伤;细胞凋亡;circRNA

[**中图法分类号**] R136; R698.2; R821.2 [**文献标志码**] A

Combined exposure to noise and CO induces adverse male reproductive effects in rats

LI Yingqing, LIU Chang, ZHANG Zhonghao, WANG Jiankang, SUN Lei, HAN Fei, CAO Jia, LIU Jinyi Institute of Toxicology, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the male reproductive toxicity in rats caused by single or combined exposure to noise and carbon monoxide (CO) in closed cabin, and evaluate the joint effects and associated signal pathways. **Methods** Fifty male SD rats were randomly divided into blank control group, restraint group (negative control group), noise exposure group, CO exposure group and combined group (n = 10). According to the poisoning procedure, the rats were fixed in the oral and nasal toxic cup and placed in the chamber and they were poisoned for 2 h per day for 30 consecutive days. The sperm quality, including sperm motility and sperm density, was analyzed after exposure, and the apoptosis of testicular cells was determined by TUNEL staining. The testicular tissues were harvested for circRNA sequencing, and the sequencing data were analyzed by bioinformatics enrichment. **Results** After exposure to noise and CO, the semen density of

[**基金项目**] 军队计划生育科研课题(16JS008);国家自然科学基金重点项目(82130097)

[**通信作者**] 刘晋祎,E-mail:jinyiliutmmu@163.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

the noise group and combine group was decreased significantly ($P<0.05$). The sperm motility was obviously lower in the CO group than the negative control group ($P<0.05$), and more serious decline was observed in the combined group ($P<0.05$). Morphological study showed that there were a few vacuoles in the testis of rats exposed to noise or CO and much more vacuoles in the testis of rats exposed to combination. Obvious pathological damage was found in the testis of rats combined exposed to noise and CO, and the cells in the seminiferous tubules were in a disordered arrangement. The number of apoptotic cells was increased in the noise and CO group, and the number was the largest in the combined group. The results of sequencing analysis suggested that key circRNA and their regulated key molecules might be involved in the reproductive damage effects of noise and CO exposure on rat testes, including *Smc*4, *Sycp*1, *Sycp*3, *Spag*17, *Mns*1, *Top*2a and *Rock*1, which played important roles in meiosis, spermatogenesis, cell cycle and apoptosis pathways. **Conclusion** Combined exposure to noise and CO shows typical joint effect on male reproductive damages, which are associated with circRNAs regulation.

[**Key words**] noise; carbon monoxide; combined intoxication; reproductive damage; apoptosis; circRNA

Supported by the Project of Scientific Research for Military Family Plan (16JS008) and the Key Program of National Natural Science Foundation of China (82130097). Corresponding author: LIU Jinyi, E-mail: jinyiliutmmu@163.com

男性不育作为一个常见的健康问题,可能受到环境多种有害因素的影响[1]。职业暴露和生活方式因素导致了日常工作生活中复杂的暴露情况[2]。对于某些有害因素联合暴露,对健康的影响可能超过单个有害因素影响的简单相加[3-5]。近年来,随着军事作业和战斗样式的变化,军用密闭舱室逐渐成为现代作战中最主要的作战环境之一。由于舱室环境特殊,存在多种有害因素,其中噪声、一氧化碳(carbon monoxide,CO)是军用密闭舱室中最主要的污染物,且浓度严重超标[6]。值得注意的是,噪声和CO也是职业和日常环境中常见的危险因素,比如冶金车间、交通繁忙道路、重型卡车等特殊作业环境中,噪声和CO的污染尤为严重。噪声、CO会对健康造成有害影响[7-8]。研究表明噪声与男性不育密切相关[9-10],CO暴露会对雄性生殖系统产生不利影响[11-12]。但是,目前的研究大多集中在噪声、CO单独暴露的健康危害,缺乏两种因素联合暴露的研究,难以真实反映密闭舱室的环境生殖损伤情况和开展准确的医学防护。为此,本研究采用本室自己设计和制作的联合暴露染毒实验装置,将噪声和CO两种理化性质不同的有害因素进行单独和联合染毒,构建两种有害因素的单独及联合暴露动物染毒模型,并进一步评价噪声和CO单独及联合染毒对大鼠生殖系统的具体损伤效应及可能涉及的信号通路,为后续防治措施的研究提供实验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

SUMMIT-708型烟气分析仪为韩国森美特公司产品,ASV5910$^+$型个人声染毒计为杭州爱华仪器有限公司产品,计算机辅助精子质量分析系统(Sperm Class Analyzer,SCA)为西班牙Microptic公司产品,电子秤为中国东兴兴业公司产品,恒温水浴箱为中国太仓公司产品,HTF为美国Millipore公司产品,bouin液为碧云天公司产品,TUNEL试剂盒购于德国罗氏公司。

1.2 动物分组及染毒

6~8周龄SD大鼠[陆军特色医学中心野战外科研究所实验动物中心提供,许可证号:SCXK(渝)2017-0006],体质量200 g左右。实验动物饲养在标准的大鼠饲养笼中,每日定时定量喂食,允许自由摄取水。动物房温度维持在20 ℃,湿度为50%,12 h光照/12 h黑暗。适应性喂养1周,称量后采用随机数字表法分为5组:空白对照组、阴性对照组、噪声染毒组、CO染毒组、联合染毒组,每组10只。实验前禁食12 h。实验时将大鼠固定于口鼻染毒杯并放置于联合染毒舱中,按照流程每天染毒2 h,连续染毒30 d,并在实验过程中连续监测并调节舱内CO、O_2、CO_2浓度及噪声强度。染毒结束后将动物取出呼吸新鲜空气。空白对照组:自由呼吸新鲜空气,不固定于口鼻染毒杯,置于联合染毒舱中,背景噪声强度为65 dB;阴性对照组(束缚):自由呼吸新鲜空气,置于联合染毒舱中,背景噪

声强度为 65 dB;噪声染毒组:自由呼吸新鲜空气,置于联合染毒舱中,通过蓝牙音响播放噪声录音,噪声强度为 85 dB;CO 染毒组:置于联合染毒舱中,持续吸入 CO,浓度为 460 mg/m^3,背景噪声强度为 65 dB;联合染毒组:置于联合染毒舱中,染毒条件为 CO 浓度 460 mg/m^3、噪声强度 85 dB。

1.3 动物取材

大鼠染毒 30 d 后,麻醉处死大鼠,剪开腹腔,取双侧附睾和睾丸,去除附着的脂肪组织,电子天平称量双侧睾丸和附睾质量,并记录。一侧睾丸 bouin 固定液固定,另外一侧睾丸立即放入液氮冻存备用。取附睾尾剪碎后制备精子悬液,吸取 10 μL 精子悬液加入专用的精液分析玻片,静置等精子游到玻片尽头后,采用西班牙 SCA 计算机精液分析系统分析精子质量。

1.4 大鼠精液质量分析

将分离的双侧附睾放入盛有 1 mL 生理盐水的小平皿中,用眼科剪将附睾剪成小块,用吸管将悬浮液轻轻吹打 4~5 次,吸取 10 μL 悬液加至一次性精液分析玻璃载片,采用计算机辅助 SCA 分析精子质量,包括精子运动能力、精子密度等。

1.5 睾丸组织病理学实验

解剖后,立即将睾丸固定于 bouin 液中并嵌入石蜡中。睾丸切片用苏木精和伊红(HE)染色,然后在光学显微镜下观察。在睾丸中鉴定为同一阶段生精小管中进行拍照分析。

1.6 TUNEL 实验

使用 TUNEL 检测试剂盒检查睾丸细胞凋亡水平。按照说明书标准步骤进行实验。在传统的脱蜡和水化过程之后,按照标准步骤处理睾丸切片并用染色工作溶液染色。然后使用光学显微镜观察,棕褐色深染的细胞为 TUNEL 阳性细胞。

1.7 circRNA 测序数据分析

利用 Illumina 平台对睾丸组织进行 circRNA 测序,之后进行不同分组差异表达 circRNA 分析。差异表达的输入数据为表达水平分析中得到的 readcount 数据。每组样品有 2 个生物学重复,采用 Quantile 的 Normalization 对数据进行归一标准化。采用 t 检验进行统计分析,选取 P 值小于 0.05,差异倍数在 1.5 倍以上的 circRNA 作为差异 circRNA。circRNA 的差异表达输入数据为 circRNA 表达水平分析中得到的 read count 数据。通过统计分析得到各组比较间的差异表达 circRNA 后,根据 circRNA 与其靶基因间的对应关系,对每组差异表达 circRNA 的靶基因的集合分别进行 GO 和 KEGG 富集分析。

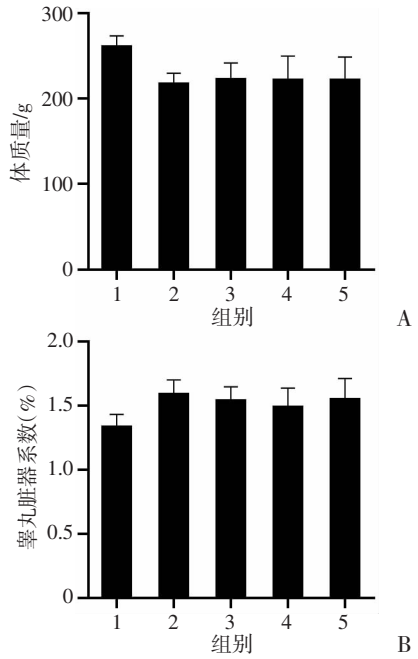
1.8 统计学分析

采用 SPSS 20.00 软件对实验数据进行统计学分析,组间比较采用 F 检验,两两比较采用 q 检验。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 噪声、CO 以及联合染毒对大鼠体质量和睾丸脏器系数的影响

与空白对照组相比,各染毒组和阴性对照组(即束缚组)大鼠体质量出现降低倾向,但各组间体质量无统计学差异,且各组间睾丸脏器系数也无统计学差异(图 1)。

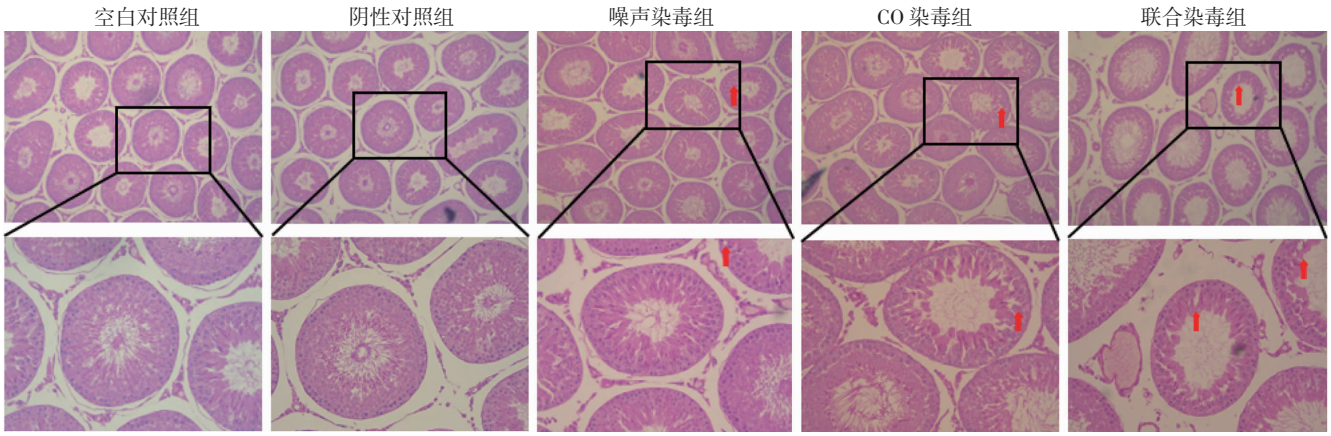


1:空白对照组;2:阴性对照组;3:噪声染毒组;4:CO 染毒组;5:联合染毒组

图 1 束缚、噪声、CO 及其联合染毒对大鼠体质量(A)及睾丸脏器系数(B)的影响

2.2 噪声、CO 以及联合染毒对大鼠睾丸病理结构的影响

为了进一步明确大鼠生殖系统是否受到影响,检测各组大鼠的睾丸组织病理学情况。观察发现,空白对照组和阴性对照组大鼠睾丸组织精小管形态规则、排列紧凑,组织切片内可见各级生精细胞由精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞依次排列至官腔,结构完整,未观察到炎症、出血等组织病理学变化;噪声染毒组大鼠睾丸组织可见少数空泡形成;CO 染毒组大鼠睾丸组织可见少量的空泡形成;联合染毒组大鼠



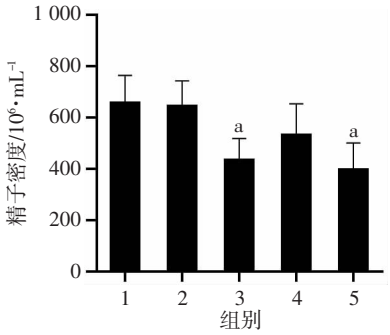
红色箭头示代表性受损生精小管;上排放大倍数为 100;下排为上排黑框区域放大,放大倍数为 200

图 2 束缚、噪声、CO 及其联合染毒对大鼠睾丸组织病理学结构的影响

睾丸组织出现较为明显的病理损伤,多处可见空泡形成,生精小管管腔内细胞排列紊乱(图 2)。病理结果显示,相对于噪声、CO 单独染毒组,联合染毒组大鼠睾丸组织损伤更为严重。

2.3 噪声、CO 以及联合染毒对大鼠精子密度影响

为了检测噪声、CO 及其联合染毒对大鼠精子数量的影响,采用西班牙 SCA 对大鼠精子数量进行分析。结果表明,与阴性对照组相比,噪声染毒组、联合染毒组均显著降低($P<0.05$),CO 染毒组虽有降低趋势,但差异无统计学意义(图 3)。根据精子密度结果显示,噪声单独暴露造成了精子密度的严重降低,联合暴露组大鼠精子密度显著降低,但与噪声单独暴露相比并未出现更为显著的下降。



1:空白对照组;2:阴性对照组;3:噪声染毒组;4:CO 染毒组;5:联合染毒组;a:$P<0.05$,与阴性对照组比较

图 3 束缚、噪声、CO 及其联合染毒对大鼠精子密度的影响

2.4 噪声、CO 以及联合染毒对大鼠精子运动能力的影响

采用西班牙 SCA 对大鼠精子运动能力进行分析,结果显示,噪声、CO 及其联合染毒会导致多项精子活力数据降低($P<0.05$)。在精子前向运动能力数据上,阴性对照组和空白对照组差异无统计学意义,与阴性对照组相比,联合染毒组显著降低($P<0.05$)。在精子非前向运动方面,CO 染毒组、联合染毒组与阴性对照组相比均有统计学差异($P<0.05$)。在精子速度值方面,阴性对照组与空白对照组相比均无统计学差异。快速运动精子比例中,与阴性对照组相比,联合染毒组显著降低($P<0.05$)。在中速运动和慢速运动精子比例上,各实验组与阴性对照组相比无统计学差异。在不动精子比例上,与阴性对照组相比,CO 染毒组以及联合染毒组显著升高($P<0.05$)。表明噪声、CO 及其联合染毒均显著损伤精子功能,且噪声和 CO 联合暴露相对于两种因素单独暴露对大鼠精子运动能力的影响更为明显。见图 4、5。

2.5 噪声、CO 以及联合染毒对大鼠血清激素水平的影响

雄性生殖系统中,精子发生和睾丸功能的正常维持均受 HPG 轴相关的性激素调控,因此,本研究检测了睾酮(testosterone, T)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)的水平。分析发现,与空白对照组相比,阴性对照组 T、LH 和 FSH 水平变化均无统计学差异。与阴性对照组相比,噪声染毒组、CO 染毒组以及联合染毒组大鼠血清 T 和 LH 水平均显著下降($P<0.05$)。与阴性对照组相比,噪声染毒组 FSH 水平显著降低,CO 染毒组与联合染毒组 FSH 水平出现下降趋势,但无统计学差异(图 6)。提示噪声和 CO 暴露可能通过影响下丘脑-垂体-性腺轴损伤雄性生殖系统。

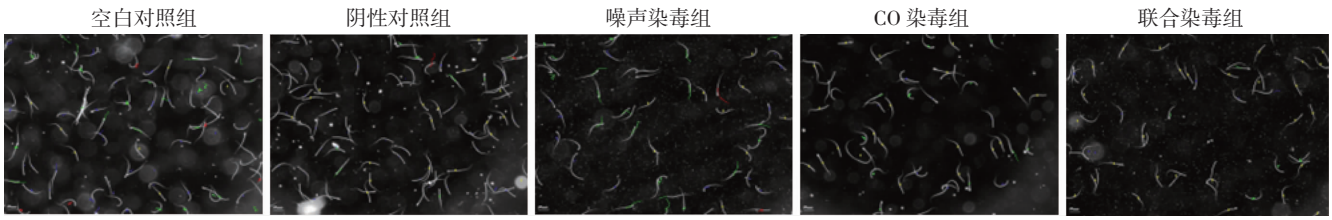
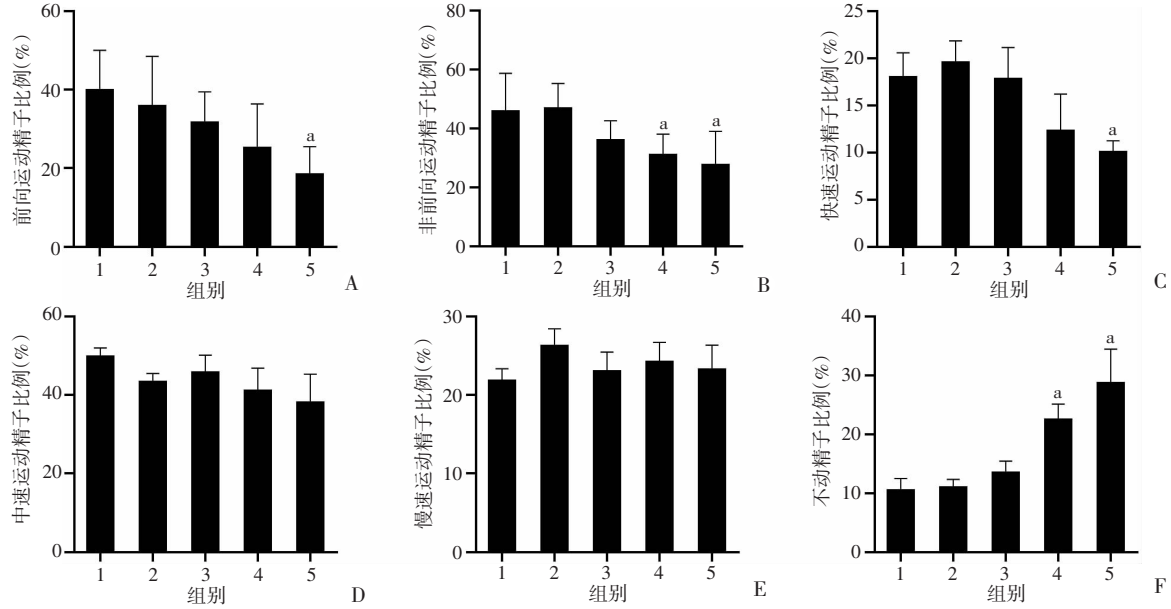


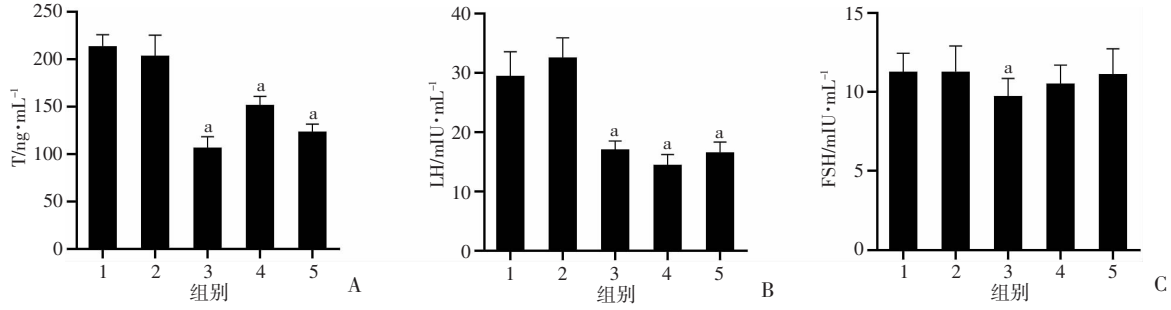
图 4 计算机辅助精液分析系统检测不同暴露组精子活力 (×40)



1:空白对照组;2:阴性对照组;3:噪声染毒组;4:CO 染毒组;5:联合染毒组; a:$P<0.05$,与阴性对照组比较

A:前向运动精子比例;B:非前向运动精子比例;C:快速运动精子比例;D:中速运动精子比例;E:慢速运动精子比例;F:不动精子比例

图 5 束缚、噪声、CO 及其联合染毒对大鼠精子运动能力影响



1:空白对照组;2:阴性对照组;3:噪声染毒组;4:CO 染毒组;5:联合染毒组; a:$P<0.05$,与阴性对照组比较

A:睾酮水平;B:黄体生成素水平;C:卵泡刺激素水平

图 6 束缚、噪声、CO 及其联合染毒对大鼠血清激素水平的影响

2.6 噪声、CO 以及联合染毒对大鼠睾丸组织细胞凋亡的影响

为了进一步确定精子数量和运动能力下降可能的原因,检测睾丸细胞的凋亡水平。通过 TUNEL 实验分析各组大鼠睾丸组织内凋亡细胞(TUNEL 阳性细胞呈棕褐色深染)发现,空白对照组、阴性对照组大鼠睾丸组织 TUNEL 阳性细胞数较少,生精细胞形态排列规则与 HE 染色一致,噪声染毒组、CO 染毒组 TUNEL 阳性细胞增多,联合染毒组 TUNEL 阳性细胞最多,且 TUNEL 阳性细胞多见于精原细胞以及睾丸间质细胞(图 7)。提示精原细胞的凋亡可能是噪声和 CO 暴露造成精子浓度下降的原因之一,睾丸间质细胞凋亡可能是导致睾酮水平下降的重要原因之一。联合染毒组睾丸细胞凋亡情况更为严重,提示凋亡可能是两种因素影响大鼠生殖系统共同作用途径。

2.7　circRNA 可能参与噪声、CO 及联合染毒导致生殖功能损伤过程

表观遗传的变化与生精过程密切相关,circRNA 的变化是表观遗传的关键指标之一,参与了睾丸功能、精子发生等调控过程。通过 circRNA 测序数据得到差异 circRNA 数据。噪声染毒组与阴性对照组相比共有 693 个差异 circRNA,其中 231 个上调,462 个下调;CO 染毒组与阴性对照组相比共有 633 个差异 circRNA,其中 268 个上调,365 个下调;联合染毒组与阴性对照组相比共有 570 个差异 circRNA,其中 190 个上调,380 个下调(图 8)。

通过对这些差异 circRNA 的靶基因进行 GO 和 KEGG 富集分析显示,circRNA 调控的主要生物过程包括 ATP 结合、精子发生等,circRNA 调控的信号通路主要有 PI3K-AKT、Cell cycle、p53 等细胞生长、周期和凋亡相关信号通路(图 9)。

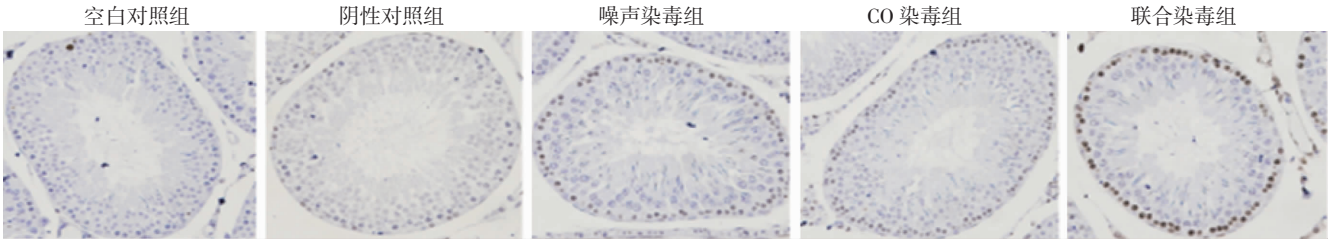
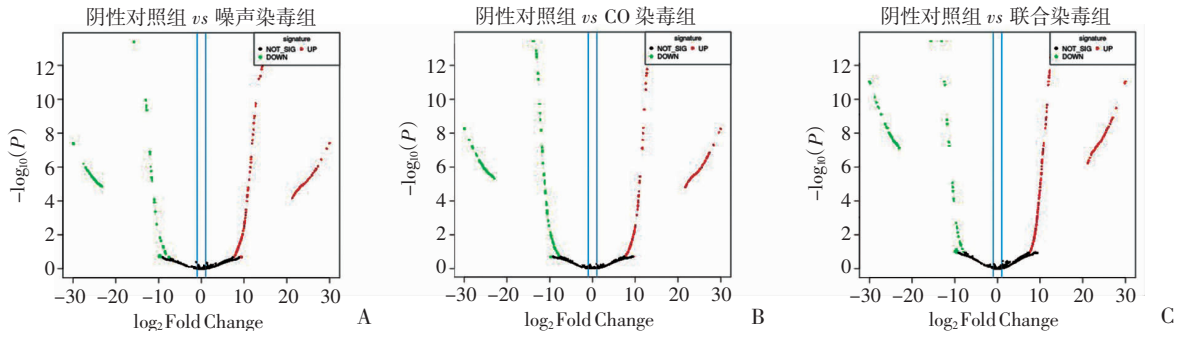
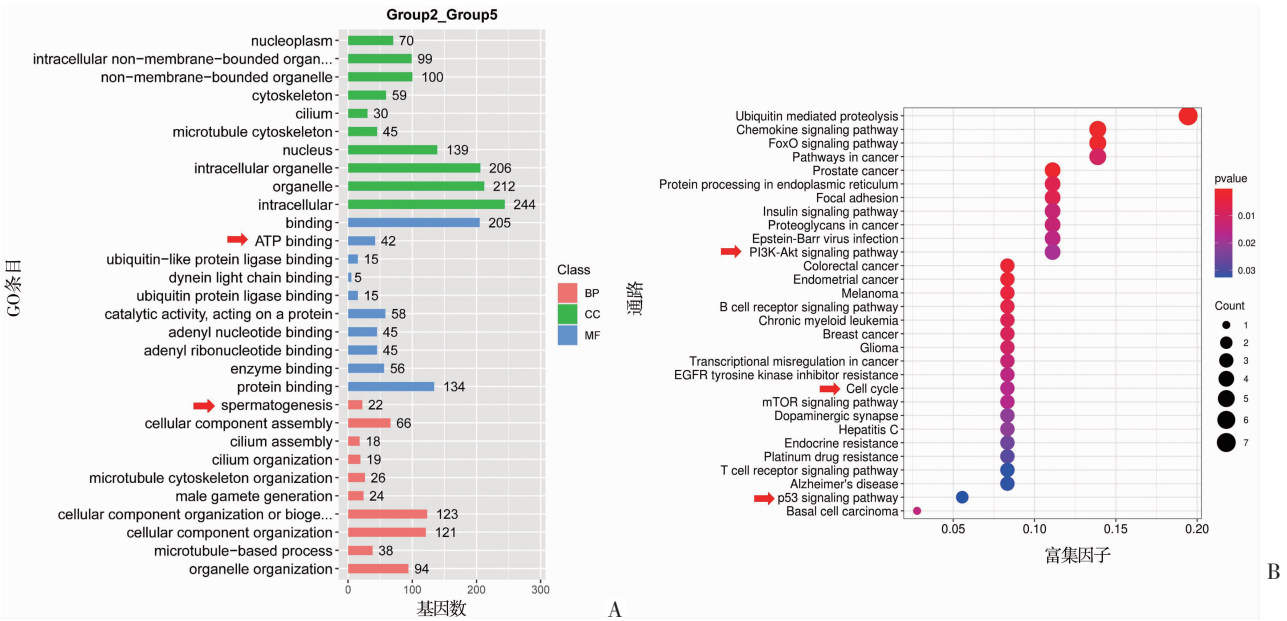


图 7　束缚、噪声、CO 及其联合染毒对大鼠睾丸组织细胞凋亡的影响　(×400)



A:噪声暴露差异 circRNA 火山图;B:CO 暴露差异 circRNA 火山图;C:联合暴露差异 circRNA 火山图

图 8　不同暴露组差异 circRNA 火山图



A:GO 富集分析;B:KEGG 富集分析

图 9　差异 circRNA 靶基因的 GO 和 KEGG 富集结果

表 1 关键 circRNA 及来源基因参与的主要生物过程

circRNA	名称	来源基因	$\log_2$FC	*P* 值	P_{adj}	参与的主要生物过程
rno-Smc4_0016	CIRC03005	ENSRNOG00000010274	23.10	<0.01	<0.01	减数分裂 细胞凋亡
rno-Amph_0001	CIRC02848	ENSRNOG00000016835	−11.78	<0.01	<0.01	减数分裂
rno-intergenic_001388	CIRC03961	ENSRNOG00000037196	13.55	<0.01	<0.01	上皮纤毛运动
rno-Serac1_0005	CIRC03442	ENSRNOG00000057867	−23.66	<0.01	<0.01	减数分裂
rno-Top2a_0007	CIRC03148	ENSRNOG00000053047	−23.99	<0.01	<0.01	减数分裂 凋亡正向调控
rno-Rock1_0018	CIRC03018	ENSRNOG00000031092	−9.64	0.04	0.23	胞质分裂 肌动蛋白细胞骨架

进一步筛选变化最为明显(差异倍数>10)的 circRNA 发现,rno-Smc4_0016、rno-Amph_0001、rno-intergenic_001388、rno-Serac1_0005、rno-Top2a_0007 和 rno-Rock1_0018 可能是参与生精损伤的关键 circRNA(图 9)。分析 circRNA 可能调控的主要关键分子包括 *Smc*4、*Sycp*1、*Sycp*3、*Spag*17、*Mns*1、*Top*2*a* 和 *Rock*1 等的功能显示,这些关键 circRNA 主要参与减数分裂、精子形成、细胞周期及凋亡调控等过程(表 1)。结果提示,circRNA 可能在噪声和 CO 暴露造成的生殖损伤中发挥重要作用。

3 讨论

现阶段,关于军用密闭舱室有害因素对军事健康及作业能力影响的研究相对较少,相关研究深度也不够,有害因素的具体作用及机制以及复合损伤的研究很少涉及。而且,由于某些理化性质不同的有害因素难以实现同时染毒,目前多采取先后染毒的模式染毒,难以模拟真实的染毒情况。本研究采用本室自主研发设计的联合染毒装置进行染毒,将噪声和 CO 两种理化性质不同的有害因素同时进行染毒,更好地模拟了复杂暴露环境中人员的实际暴露情况。

噪声和 CO 作为目前军用密闭舱室、普通职业和日常环境中污染相对严重的两个有害因素,对人类生殖健康存在严重危害。有研究表明存在噪声污染的环境会导致不良妊娠结局,比如早产儿、低出生体重儿等[13-14]。产后或子宫内汽车尾气染毒对哺乳动物雄性生殖系统具有显著的影响,而 CO 是汽车尾气的主要成分,表明噪声和 CO 对生殖系统具有危害作用。已有一些研究表明,多种压力源会作用于下丘脑通过影响激素水平抑制精子的发生[15-16]。强度为 100 dB 的交通噪声会导致雄性大鼠睾酮水平显著降低[17],而睾酮水平的下降往往伴随着精子数量的降低。另有研究表明,CO 可以通过抑制线粒体功能和糖酵解途径导致细胞能量耗竭[7]。本研究数据显示,在噪声及 CO 联合染毒 30 d 后,精子数量和精子运动能力显著降低,提示噪声和 CO 联合染毒可能会导致大鼠精子发生过程受损。噪声染毒对大鼠生殖系统的影响主要表现为精子密度的降低以及一定程度的精子运动能力的下降,而 CO 染毒后大鼠精子密度出现一定程度下降,更为明显的是精子运动能力的降低,这可能是由于噪声与 CO 对生殖系统的主要毒性作用途径不同所导致的。两者联合暴露后表现为较严重的精子密度的下降,以及更严重精子运动能力的降低,提示噪声和 CO 对生殖系统的毒性作用不是简单的单独毒性的相加,可能存在一定程度的联合作用。因此两种有害因素的共同毒作用途径是值得深入探讨的问题。

睾酮是影响精子发生和成熟的重要激素[18]。垂体产生和分泌卵泡刺激素和黄体生成素进入血液循环,前者对精原细胞的分化和增殖具有重要的作用,而后者作用于睾丸间质细胞分泌雄激素。睾酮在维持雄性生殖器官以及第二性征的发育中具有重要作用。基于先前已有的研究以及此次研究数据提示,本研究中精子数目的降低可能涉及睾酮水平的降低,精子运动能力的降低可能与精子线粒体功能受损、糖酵解异常等相关。然而,本研究发现噪声、CO 暴露并未造成睾丸脏器指数发生明显变化,与既往研究[19]不一致。这可能由于噪声、CO 暴露导致炎症效应的发生进而导致组织器官水肿。同时,目前的研究数据表明,噪声及

CO 联合染毒 30 d 后,大鼠精子的前向运动能力等多项运动能力数据出现显著性降低,这凸显了噪声和 CO 对大鼠精子运动能力的影响。

细胞凋亡是一种重要的生理过程,在精子发生的过程中同样发挥着极其关键的作用[20]。正常的细胞凋亡对于维持正常的精子数量至关重要。精子发生是一个涉及增殖、分化、凋亡的复杂过程,该过程任何一步的错误都可能导致雄性生殖障碍。生精细胞的过度凋亡可能会影响正常精子发生过程进而导致精子数量的下降及精子活力的降低[21]。本研究数据表明,噪声和 CO 单独暴露都会导致睾丸生精细胞的凋亡增加,并且噪声和 CO 联合暴露会造成更严重的睾丸生精细胞凋亡。同时值得关注的是,在精子密度以及精子运动能力的数据中,影响最为显著的是联合染毒组,这可能是由于生殖细胞的过度凋亡引起生精过程异常导致的。以上数据提示噪声和 CO 对大鼠生殖系统的损伤可能具有联合作用。

表观遗传变化被认为是环境影响最敏感的指标[22]。作为表观遗传的重要指标之一,非编码 RNA 的改变在男性生殖过程中发挥着重要作用[23-24]。报道表明,特定的 circRNA 在减数分裂和精子获能等精子发生关键步骤中起到重要作用[25]。基于本研究的数据,噪声和 CO 暴露后,根据差异 circRNA 靶基因富集分析,这些差异 cirRNA 调控的关键分子主要参与减数分裂、精子形成、细胞周期及凋亡通路。以上结果提示 circRNA 调控的表观遗传改变可能是噪声和 CO 暴露致雄性生殖损伤的关键机制。

本研究模拟军用舱室实时暴露评价了噪声和 CO 联合暴露生殖损伤效应,结果表明噪声和 CO 单独和联合染毒可导致大鼠睾丸结构、精子数量和功能损伤,生殖细胞凋亡和性激素分泌紊乱,初步解析发现 circRNA 可能参与了损伤过程,但还需要进一步开展深入的关键 circRNA 确定及调控基因解析,以阐明噪声和 CO 联合暴露的损伤机制。

参考文献:

[1] SHARPE R M. Lifestyle and environmental contribution to male infertility[J]. Br Med Bull, 2000, 56(3): 630-642. DOI: 10.1258/0007142001903436.

[2] BARANSKI B. Effects of the workplace on fertility and related reproductive outcomes[J]. Environ Health Perspect, 1993, 101 (Suppl 2): 81-90. DOI: 10.1289/ehp.93101s281.

[3] DAVIDSON C J, HANNIGAN J H, BOWEN S E. Effects of inhaled combined benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX): toward an environmental exposure model [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2021, 81: 103518. DOI: 10.1016/j.etap.2020.103518.

[4] SILINS I, HÖGBERG J. Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect[J]. Int J Environ Res Public Health, 2011, 8(3): 629-647. DOI: 10.3390/ijerph8030629.

[5] WANG Z S. Mechanisms of the synergistic lung tumorigenic effect of arsenic and benzo(a)pyrene combined- exposure [J]. Semin Cancer Biol, 2021, 76: 156-162. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.05.002.

[6] 赵晓龙, 李代波, 孙磊, 等. 坦克行驶训练时舱室内主要有害因素的测量与分析[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(3): 189-192. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2013.03.021.
ZHAO X L, LI D B, SUN L, *et al*. Measurement and analysis of main harmful factors in process of tank marching [J]. J Third Mil Med Univ, 2013, 35(3): 189-192. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2013.03.021.

[7] ROSE J J, WANG L, XU Q Z, *et al*. Carbon monoxide poisoning: pathogenesis, management, and future directions of therapy[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(5): 596-606. DOI: 10.1164/rccm.201606-1275CI.

[8] BASNER M, BABISCH W, DAVIS A, *et al*. Auditory and non-auditory effects of noise on health[J]. Lancet, 2014, 383(9925): 1325-1332. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61613-X.

[9] MIN K B, MIN J Y. Exposure to environmental noise and risk for male infertility: A population-based cohort study[J]. Environ Pollut, 2017, 226: 118-124. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.03.069.

[10] FARZADINIA P, BIGDELI M, AKBARZADEH S, *et al*. Effect of noise pollution on testicular tissue and hormonal assessment in rat[J]. Andrologia, 2016, 48(9): 869-873. DOI: 10.1111/and.12524.

[11] RENGARAJ D, KWON W S, PANG M G. Effects of motor vehicle exhaust on male reproductive function and associated proteins[J]. J Proteome Res, 2015, 14(1): 22-37. DOI: 10.1021/pr500939c.

[12] SHARMA R, HARLEV A, AGARWAL A, *et al*. Cigarette smoking and semen quality: a new meta-analysis examining the effect of the 2010 World Health Organization laboratory methods for the examination of human semen[J]. Eur Urol, 2016, 70(4): 635-645. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.04.010.

[13] RISTOVSKA G, LASZLO H E, HANSELL A L. Reproductive outcomes associated with noise exposure—a

systematic review of the literature[J]. Int J Environ Res Public Health, 2014, 11(8): 7931-7952. DOI: 10.3390/ijerph110807931.

[14] MEYER R E, ALDRICH T E, EASTERLY C E. Effects of noise and electromagnetic fields on reproductive outcomes [J]. Environ Health Perspect, 1989, 81: 193-200. DOI: 10.1289/ehp.8981193.

[15] HOU Y L, WANG X Y, LEI Z H, *et al*. Heat-stress-induced metabolic changes and altered male reproductive function[J]. J Proteome Res, 2015, 14(3): 1495-1503. DOI: 10.1021/pr501312t.

[16] NARGUND V H. Effects of psychological stress on male fertility[J]. Nat Rev Urol, 2015, 12(7): 373-382. DOI: 10.1038/nrurol.2015.112.

[17] SAHA I, CHATTERJEE A, CHATTERJI U, *et al*. Arecoline cannot alter testicular dysfunction and pineal activation caused by noise in wistar rat[J]. Arch Physiol Biochem, 2018, 124(1): 18-26. DOI: 10.1080/13813455.2017.1352605.

[18] DA SILVA S M, ANDERSON R A. Reproductive axis ageing and fertility in men[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2022, 23(6): 1109-1121. DOI: 10.1007/s11154-022-09759-0.

[19] JALALI M, SAKI G, SARKAKI A R, *et al*. Effect of noise stress on count, progressive and non-progressive sperm motility, body and genital organ weights of adult male rats [J]. J Hum Reprod Sci, 2012, 5(1): 48-51. DOI: 10.4103/0974-1208.97801.

[20] PRINT C G, LOVELAND K L. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis [J]. Bioessays, 2000, 22(5): 423-430. DOI: 10.1002/(SICI)1521-1878(200005)22:5<423:AID-BIES4>3.0.CO;2-0.

[21] SOFIKITIS N, GIOTITSAS N, TSOUNAPI P, *et al*. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2008, 109(3/4/5): 323-330. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2008.03.004.

[22] DONKIN I, BARRÈS R. Sperm epigenetics and influence of environmental factors[J]. Mol Metab, 2018, 14: 1-11. DOI: 10.1016/j.molmet.2018.02.006.

[23] SANTIAGO J, SILVA J V, HOWL J, *et al*. All you need to know about sperm RNAs[J]. Hum Reprod Update, 2021, 28(1): 67-91. DOI: 10.1093/humupd/dmab034.

[24] ZHOU G Q, ZHANG M M, ZHANG J Z, *et al*. The gene regulatory role of non-coding RNAs in non-obstructive azoospermia[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 959487. DOI: 10.3389/fendo.2022.959487.

[25] QUAN G B, LI J L. Circular RNAs: biogenesis, expression and their potential roles in reproduction[J]. J Ovarian Res, 2018, 11(1): 9. DOI: 10.1186/s13048-018-0381-4.

(**收稿**:2022-12-01;**修回**:2023-02-26)

(编辑 张 维)