DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.18.005
文章编号：1005-8982（2024）18-0025-08

实验研究·论著

高脂饮食诱导肥胖大鼠生精障碍及睾丸支持细胞线粒体和内质网结构功能的改变*

刘伟伟，李锡晶，刘大卫，崔晓雪，高瑞芳，王莲，顾娜
（天津市医药科学研究所，天津 300020）

摘要：目的 观察高脂饮食诱导肥胖对大鼠生精功能的影响及睾丸支持细胞线粒体和内质网结构功能改变，探讨肥胖致生精障碍的可能机制。**方法** 将32只雄性SD大鼠随机分为对照组和模型组，对照组给予普通饮食，模型组给予高脂饲料喂养。20周模型复制成功后解剖，取附睾进行精子功能分析；血清酶联免疫吸附试验分析性激素水平变化；苏木精-伊红染色观察肝脏和睾丸组织病理改变；油红O染色观察肝脏和睾丸组织脂质沉积情况；免疫荧光染色法检测睾丸闭锁小带蛋白1（ZO-1）、葡萄糖调节蛋白78（GRP78）及线粒体融合蛋白2（Mfn2）的定位及表达；Western blotting检测睾丸组织GRP78、Mfn2蛋白相对表达量；透射电镜观察睾丸支持细胞紧密连接及线粒体和内质网结构改变。**结果** 模型组体重较对照组重（$P<0.05$），雌二醇较对照组高（$P<0.05$），睾酮较对照组低（$P<0.05$）。两组孕酮、泌乳素、促黄体生成素、卵泡刺激素比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。模型组肝细胞脂肪变性明显，睾丸生精细胞排列稀疏，细胞变性，油红O染色均可见脂质沉积。对照组精子活力率高于模型组（$P<0.05$），畸形率低于模型组（$P<0.05$）。两组精子密度，直线速率和曲线速率比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。模型组GRP78蛋白相对表达量较对照组高（$P<0.05$），Mfn2蛋白相对表达量较对照组低（$P<0.05$）。模型组睾丸支持细胞间紧密连接分离，紧密连接蛋白ZO-1表达较对照组减少；内质网和线粒体肿胀，呈空泡状，部分网膜断裂。**结论** 高脂饮食诱导肥胖可引起大鼠生精障碍，其机制可能与睾丸支持细胞线粒体和内质网结构功能改变导致紧密连接损伤有关。

关键词： 肥胖；精子发生；睾丸；支持细胞；紧密连接；线粒体；内质网；大鼠
中图分类号： R588.1　　**文献标识码：** A

Impairment of spermatogenesis and alterations in the structure and function of mitochondria and endoplasmic reticulum in Sertoli cells of high-fat diet-induced obese rats*

Liu Wei-wei, Li Xi-jing, Liu Da-wei, Cui Xiao-xue, Gao Rui-fang, Wang Lian, Gu Na
(Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China)

Abstract: Objective To observe the effects of obesity induced by high-fat diet on spermatogenic function and the structural and functional changes of mitochondria and endoplasmic reticulum in Sertoli cells of rats, and to explore the possible mechanism of impairment of spermatogenesis caused by obesity. **Methods** Thirty-two male SD rats were divided into the control group and the model group randomly. The control group was fed with normal diet, and the model group was fed with high-fat diet. After 20 weeks of modeling, the rats were sacrificed, and sperms in the epididymis were collected for the function analysis. The enzyme-linked immunosorbent assay was used to analyze the changes of sex hormone levels. The pathological changes of liver and testes were observed by hematoxylin-eosin staining. Lipid deposition in liver and testes was observed by oil red O staining. The localization

收稿日期：2024-03-08
* 基金项目：天津市卫生健康科技项目（No：TJWJ2022MS048）

and expressions of ZO-1, GRP78 and Mfn2 in the testes were detected by immunofluorescence staining. The relative protein expressions of GRP78 and Mfn-2 in testes were detected by Western blotting. Transmission electron microscopy (TEM) was used to observe the alterations in tight junctions between Sertoli cells and the structural changes of mitochondria and endoplasmic reticulum in Sertoli cells. **Results** The body weight in the model group was higher than that in the control group ($P < 0.05$). The estradiol level in the model group was higher than that in the control group ($P < 0.05$), while the testosterone level in the model group was lower than that in the control group ($P < 0.05$). There was no difference in the levels of the progesterone, prolactin, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone between the two groups ($P > 0.05$). In the model group, the steatosis of hepatocytes was obvious, the arrangement of spermatogenic cells in the testes was sparse, cellular degeneration was observed, and lipid deposition was observed with oil red O staining. The sperm motility in the control group was higher than that in the model group ($P < 0.05$), and the malformation rate of sperms in the control group was lower than that in the model group ($P < 0.05$). There was no difference in the sperm density, straight-line velocity, and curvilinear velocity between the two groups ($P >0.05$). The relative protein expression of GRP78 in the model group was higher than that in the control group ($P <0.05$), whereas the relative protein expression of Mfn2 in the model group was lower than that in the control group ($P <0.05$). The tight junctions between Sertoli cells were disrupted in the model group, and the protein expression of ZO-1 was lower in the model group than in the control group. Besides, endoplasmic reticulum and mitochondria were swollen and vacuolar, and some of the membranes were ruptured in the model group. **Conclusions** Obesity induced by high-fat diet can cause impairment of spermatogenesis in rats, and its mechanism may be related to the damage of tight junctions caused by the structural and functional changes of mitochondria and endoplasmic reticulum in Sertoli cells.

Keywords: obesity; spermatogenesis; testis; Sertoli cells; tight junctions; mitochondria; endoplasmic reticulum; rat

肥胖目前已成为全世界范围的公共卫生问题，累及超6.5亿成年人[1]，可引发心血管疾病、2型糖尿病、恶性肿瘤等[2-3]，同样也会对男性的生殖功能产生影响[4]。研究发现肥胖男性精子数量、质量下降、精子DNA损伤增加，无精子症和少精子症更为普遍[5]，已成为男性不育症的主要原因之一。当前对于肥胖生精障碍的研究多集中于睾丸生精细胞的异常改变，而睾丸支持细胞之间紧密连接与精子发生过程关系密切，但其体内研究较少。最近研究表明肥胖可引起小鼠支持细胞紧密连接功能蛋白表达异常，从而引起生精障碍[6]。对于从大鼠支持细胞紧密连接和超微结构改变方面共同探讨肥胖致生精障碍鲜有报道。

线粒体（Mitochondrion, Mi）和内质网（endoplasmic reticulum, ER）是细胞内参与细胞能量代谢和蛋白合成等必不可少的细胞器，葡萄糖调节蛋白78（GRP78）作为ER上的应激蛋白，是ER应激状态标志分子，线粒体融合蛋白2（Mfn2）是Mi动力学的调控分子，影响Mi的形状及其与ER的相互作用。Mi和ER改变在肥胖症中发挥重要作用，对其结构和功能的调控已成为治疗相关疾病的重要靶点[7-8]。本研究观察高脂喂养肥胖大鼠生精功能的变化，睾丸支持细胞紧密连接及Mi和ER的超微结构和功能变化，探讨肥胖致生精障碍的可能机制，为临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、材料及仪器

SPF级雄性SD大鼠[实验动物生产许可证号：SCXK（京）2019-0008，实验动物使用许可证号：SYXK（津）2021-0005]32只，体重100～120 g，4～5周龄，购自北京华阜康生物科技股份有限公司。大鼠自由饮水，饲养环境温度（25±2）℃。

高脂饲料（70%基础饲料+15%猪油+15%蔗糖）购于北京科澳协力饲料有限公司[许可证号SCXK（京）2019-0003]。兔抗ZO-1（批号：21773-1-AP）、GRP78（批号：11587-1-AP）均购自美国Proteintech公司，Mfn2单克隆抗体（批号：#9482）购自美国CST公司，Dylight488羊抗兔免疫球蛋白G（immunoglobulin G, IgG）（批号：RS23220）购自美国Immunoway公司，抗体稀释液（批号：AR1016）购自武汉博士德生物工程有限公司，含DAPI封片剂（批号：S2110）购自北京索莱宝科技有限公司，苏木精-伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色染液（批号：BA4025）

购自珠海贝索生物技术有限公司，其他试剂均为国产或进口分析纯。

ASP200S 全自动组织脱水机、EG1150H 组织包埋机、RM2255 全自动切片机均购自德国徕卡公司，Ci-L 图像采集显微镜、NIS-BRML 图像分析系统均购自日本尼康株式会社，JEM1200EX 透射电子显微镜购自日本 JEOL 株式会社，冰冻切片机购自美国赛默飞公司，迈朗全自动精子分析仪购自南宁松景天伦生物科技有限公司。本实验经天津市医药科学研究所实验动物福利伦理委员会批准同意（No：IMPS-EAEP-ZKTSB-202216）。

1.2　方法

1.2.1　动物分组及模型复制　将大鼠按随机数字表法分为对照组和模型组，每组 16 只。对照组给予普通饮食，模型组给予高脂饲料喂养，自由进食饮水，两组除饮食外其他饲养条件均一致。两组每周称重，并于第 12、16 和 20 周各随机处理 2 只大鼠，评价模型是否复制成功。模型评价：模型组动物体重超过对照组体重 10% ~ 25% 为中度肥胖，> 40% 为重度肥胖[9]，并结合肝脏组织进行 HE 染色，显微镜观察组织病理变化情况，评价模型复制是否成功。

1.2.2　标本采集　大鼠禁食 24 h 后，麻醉，仰卧位固定开腹，腹主动脉采血，室温静置 2 h，以 3 000 r/min 离心 10 min，收集血清。取肝脏和睾丸部分新鲜组织冰冻，部分 10% 甲醛固定；部分睾丸组织 2.5% 戊二醛固定；取附睾尾储存于生理盐水，用于检测精子活力。

1.2.3　精子功能分析　附睾尾经 37 ℃生理盐水洗涤，置于 2 mL 冻存管中剪碎，加入精子洗涤液中，37 ℃水浴箱中轻微震荡孵育 30 min。取 10 μL 精子悬液加到精子计数板上，采用迈郎精子分析系统观察精子形态并检测参数。主要检测指标：精子密度、精子活力、畸形率及直/曲线速率等。

1.2.4　油红 O 染色　取肝脏和睾丸新鲜组织，冰冻切片，切片厚度为 10 μm，油红 O 工作液浸染 10 min，37 ℃温水洗 20 s，复染液染 4 min，水洗 30 s，晾干，水性封固剂封片。光学显微镜下观察脂质沉积。

1.2.5　性激素指标测定　酶联免疫吸附试验测定雌二醇、孕酮、睾酮、泌乳素、促黄体生成素、卵泡刺激素，具体操作方法依据试剂盒中说明书。

1.2.6　HE 染色观察肝脏和睾丸组织病理改变　肝脏和睾丸组织固定 48 h 后取材，切取 5 mm 厚的组织块，进行常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片，切片厚度为 3 μm。切片依次经二甲苯脱蜡，梯度乙醇水化，放入苏木精染液 4 min，盐酸乙醇分化，氨水返蓝，伊红染色 1 min，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树脂封片。显微镜下观察组织病理改变。

1.2.7　免疫荧光染色观察检测睾丸紧密连接 ZO-1、GRP78 及 Mfn2 的定位及表达　常规石蜡切片脱蜡至水，滴加体积分数为 3% 的过氧化氢，室温孵育 10 min 以阻断内源性过氧化物酶；枸橼酸缓冲液微波加热修复抗原，用质量分数为 50 g/L 的牛血清白蛋白封闭 20 min；滴加兔抗 ZO-1、GRP78 或 Mfn2 抗体工作液（1∶100），4 ℃过夜；PBS 冲洗后加入荧光生物素化山羊抗兔 IgG 抗体，避光室温孵育 1 h；PBS 冲洗后加入含 DAPI 的防淬灭封片剂封片。于暗室条件下显微镜下观察。

1.2.8　Western blotting 检测睾丸组织 GRP78、Mfn2 蛋白表达　两组各取 3 只大鼠，将睾丸近基底部组织切成小块，加入 RIPA 裂解液匀浆，裂解 30 min，4 ℃、12 000 r/min 离心 5 min，提取样品中总蛋白，蛋白变性，转膜，封闭 2 h，加入一抗 GRP78（1∶5 000）、Mfn2（1∶1 000），置于 4 ℃条件下孵育过夜。加入二抗（1∶50 000），孵育 2 h 后洗膜。添加 ECL 工作液，待荧光带明显后，吸去多余的底物液，覆上保鲜膜，X 线片压片后依次放入显影液显影、定影液定影，冲洗晾干后扫描胶片。用 Image-Pro Plus 软件分析胶片灰度值，以 GRP78、Mfn2 与 Actin 的灰度比值反映蛋白相对表达量。

1.2.9　透射电镜观察睾丸支持细胞紧密连接及 Mi 和 ER 结构改变　新鲜组织于 2.5% 的戊二醛 4 ℃固定 6 h 后漂洗，置于 1% 锇酸固定 2 h，丙酮梯度脱水、浸透、包埋、聚合、切片、染色后用显微镜观察。

1.3　统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，比较用 t 检验。P <0.05 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　两组肝脏、睾丸组织形态学改变及脂质沉积变化

对照组肝小叶结构清晰，肝细胞索排列整齐，

肝窦无明显扩张；油红 O 染色未见明显脂滴。模型组肝小叶结构紊乱，肝细胞大小不一，脂肪变性明显，肝组织可见散在炎症细胞浸润；油红 O 染色见肝细胞大量脂滴沉积。对照组睾丸组织各曲细精管结构完整，细胞排列紧密有序，生精上皮未见明显改变；油红 O 染色未见明显脂滴。模型组睾丸生精细胞排列稀疏，细胞层数减少，呈“空泡样”改变，支持细胞变性，相邻细胞间隔增宽。油红 O 染色可见睾丸曲细精管内少量脂质聚集。见图 1 ~ 2。

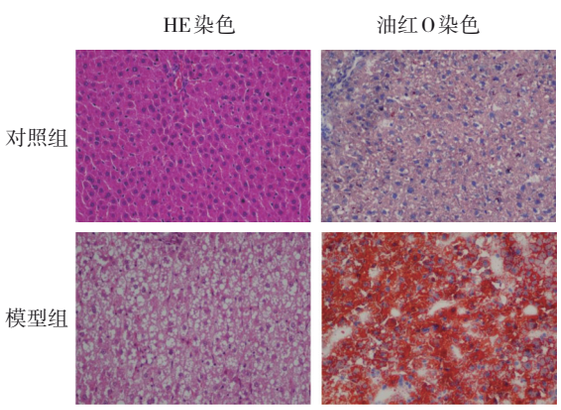


图 1　两组肝脏组织形态学改变及脂质沉积变化　（× 200）

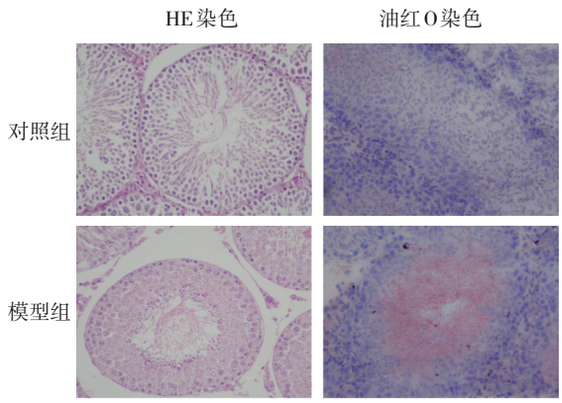


图 2　两组睾丸组织形态学改变及脂质沉积变化　（× 200）

2.2　两组体重、性激素水平比较

模型组喂养 20 周后模型复制成功，大鼠体重超对照组 22%，属于中度肥胖。两组体重、雌二醇、睾酮水平比较，差异均有统计学意义（P <0.05），模型组体重较对照组重，雌二醇较对照组高，睾酮较对照组低。两组孕酮、泌乳素、促黄体生成素、卵泡刺激素比较，差异均无统计学意义（P >0.05）。见表 1。

表 1　两组体重、性激素水平比较　（n =10，$\bar{x} \pm s$）

组别	体重/g	雌二醇/（pg/mL）	孕酮/（ng/mL）	睾酮/（ng/mL）	泌乳素/（ng/mL）	促黄体生成素/（mIU/mL）	卵泡刺激素/（mIU/mL）
对照组	541.73 ± 17.91	2.96 ± 0.43	5.33 ± 0.87	2.98 ± 0.55	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
模型组	664.58 ± 43.61	4.99 ± 0.93	5.21 ± 0.98	1.81 ± 0.35	0.05 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00
t 值	8.240	6.264	–0.298	–5.642	1.800	1.567	1.095
P 值	0.000	0.000	0.769	0.000	0.089	0.135	0.288

2.3　两组精子功能比较

两组精子活力率、畸形率比较，差异均有统计学意义（P <0.05），对照组精子活力率高于模型组，畸形率低于模型组。两组精子密度、直线速率和曲线速率比较，差异无统计学意义（P >0.05）。见表 2 和图 3。

表 2　两组精子功能比较　（n =10，$\bar{x} \pm s$）

组别	精子密度/（亿/mL）	精子活力率/%	畸形率/%	直线速率/（μm/s）	曲线速率/（μm/s）
对照组	0.29 ± 0.08	57.37 ± 13.44	8.20 ± 2.68	22.40 ± 6.55	57.35 ± 10.47
模型组	0.24 ± 0.08	42.09 ± 15.40	13.79 ± 2.30	21.13 ± 4.48	49.82 ± 11.46
t 值	–1.459	–2.365	4.999	–0.507	–1.553
P 值	0.162	0.029	0.000	0.618	0.143

2.4　高脂饮食诱导肥胖大鼠睾丸紧密连接改变

模型组 ZO–1 表达较对照组减少，荧光强度明显减弱。透射电镜观察可见支持细胞间紧密连接分离，多处出现空隙。见图 4 ~ 5。

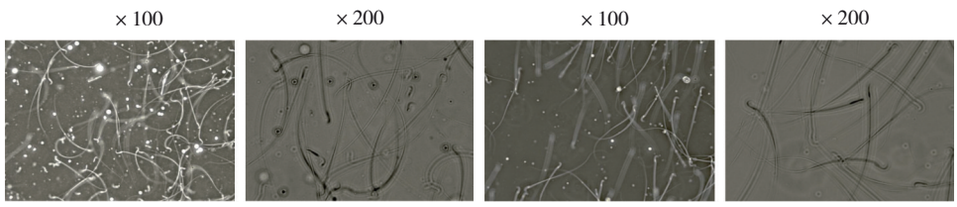


图 3　两组精子密度及形态结构

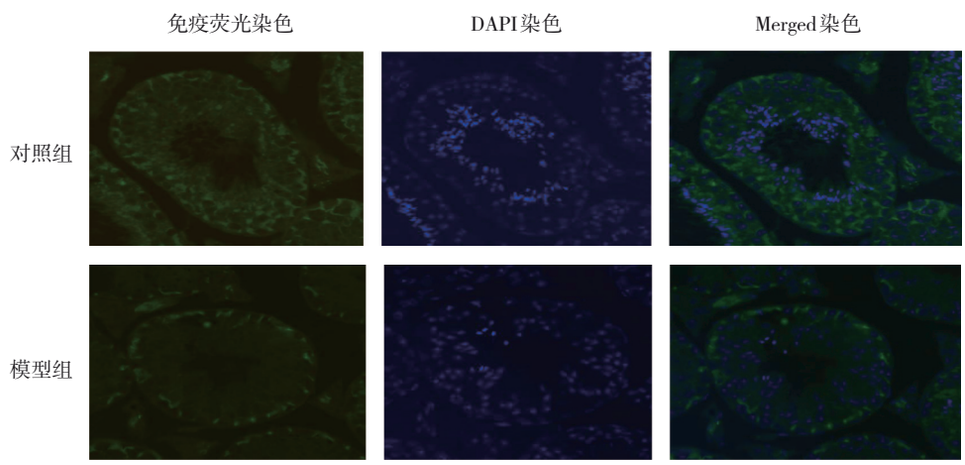
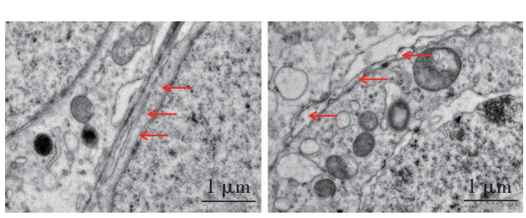


图 4　两组睾丸 ZO-1 蛋白的表达　（× 400）



红色箭头示支持细胞间紧密连接。

图 5　两组睾丸支持细胞紧密连接超微图像　（× 4 000）

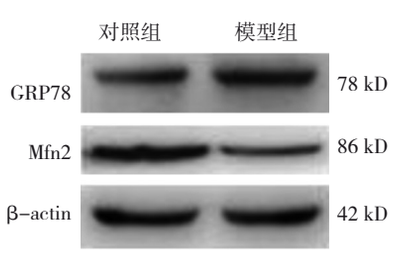


图 6　两组睾丸 GRP78、Mfn2 蛋白条带

2.5　两组睾丸 GRP78、Mfn2 蛋白相对表达量比较

两组 GRP78、Mfn2 蛋白相对表达量比较，差异均有统计学意义（P <0.05），模型组 GRP78 蛋白相对表达量较对照组高，Mfn2 蛋白相对表达量较对照组低。见表 3 和图 6。

表 3　两组睾丸 GRP78、Mfn2 蛋白相对表达量比较

（$\bar{x} \pm s$）

组别	GRP78 蛋白	Mfn2 蛋白
对照组	0.533 ± 0.161	0.946 ± 0.036
模型组	0.932 ± 0.113	0.601 ± 0.035
t 值	3.507	−4.718
P 值	0.025	0.009

2.6　高脂饮食诱导肥胖大鼠睾丸支持细胞 Mi、ER 结构及相关蛋白表达变化

对照组支持细胞内 Mi 呈圆形，内外膜结构完整，Mi 嵴密集，排列整齐、清晰；ER 结构正常，排列成扁囊状。模型组 Mi 显著肿胀，嵴断裂，缺失，呈空泡状；ER 扩张肿胀，部分网膜断裂。见图 7 ~ 9。

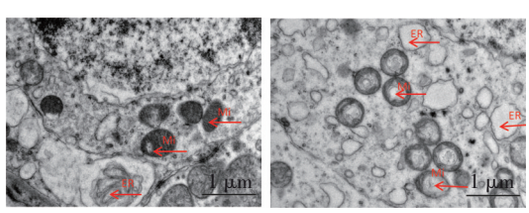


图 7　两组 Mi、ER 超微图像　（× 4 000）

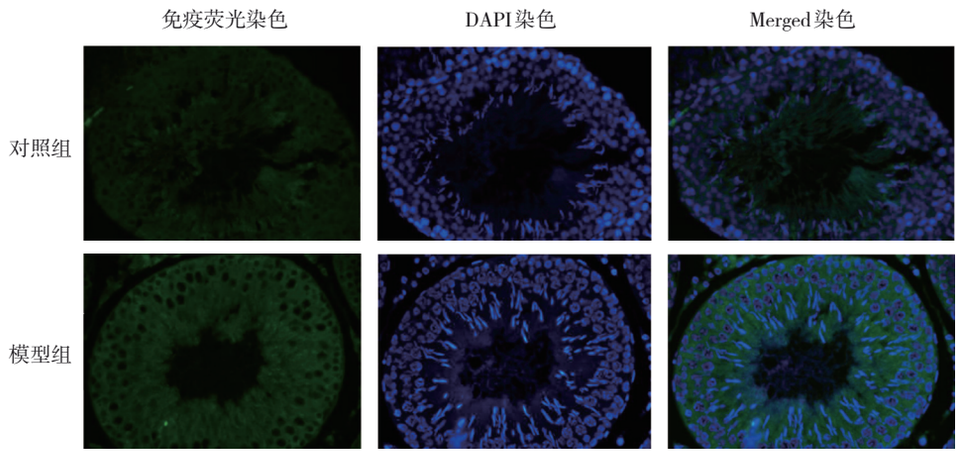


图8 两组睾丸GRP78蛋白的表达 （×400）

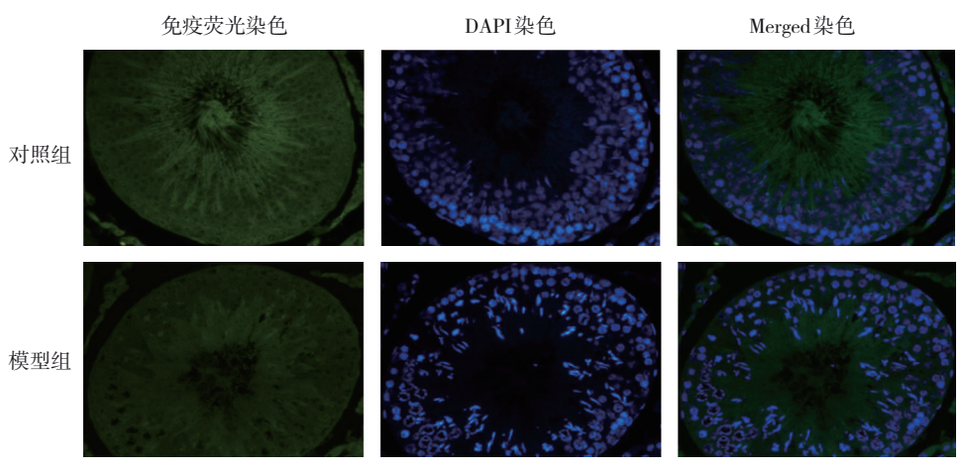


图9 两组睾丸Mfn2蛋白的表达 （×400）

3 讨论

随着社会发展，人们的生活习惯和饮食结构发生了显著变化，肥胖率也随之急剧升高。肥胖对睾丸精子发生功能的影响深远，流行病学研究证明肥胖可以引起男性不育率上升[10]。实验研究表明，肥胖不仅在代谢上改变性激素的分泌，也影响睾丸的组织结构，破坏血睾屏障，造成精子发生受损[11-12]。本研究结果发现，高脂饮食喂养后大鼠体重较对照组明显增加，精子活力明显降低，精子畸形率明显升高，血清雌二醇水平明显升高，睾酮水平明显降低。正常的睾酮水平是维持精子正常发生的前提条件，肥胖影响下丘脑-垂体-睾丸轴激素的分泌，造成男性血液与睾丸中睾酮水平显著降低，雌激素水平显著升高，从而引起性腺功能减退症[13-14]。除激素水平变化外，本研究中组织病理学发现肥胖大鼠肝细胞脂肪变性明显，可见明显的脂滴空泡，睾丸生精细胞排列稀疏紊乱，细胞变性，油红O染色均可见脂质沉积，表明长期高脂饮食诱导的肥胖可引起组织器质性改变。

睾丸支持细胞是生精小管内唯一与生精细胞直接接触的体细胞，被称为生精细胞的“保姆细胞”，为精子发生提供营养、骨架和免疫屏障，发挥重要作用[15]。支持细胞形成的紧密连接是血睾屏障的主要部分，其连接异常导致生精细胞在生精小管内的移行受阻，可能是少精子症的原因之一。本研究中超微病理发现肥胖大鼠睾丸支持细胞紧密连接受损，结构不完整，可见分离和空隙形成。ZO-1属于膜结合鸟苷酸激酶家族，是细胞骨架与跨膜蛋白间重要的连接蛋白之一。当ZO-1完整性或数量出现异常时，细胞紧密连接功能也将随之发生变化，所以ZO-1常作为反映紧密连接间屏障作用及物质转运的重要指标[16]。本研究中免疫荧光染色观察到肥胖大鼠睾丸支持细胞内ZO-1表达降低，荧光强度减

弱。提示ZO-1表达下调可能是肥胖引起睾丸支持细胞损伤，破坏紧密连接，导致生精功能受损的重要位点。

Mfn2是定位于Mi外膜上的跨膜动力蛋白，不仅能调控Mi融合，还在细胞能量代谢、细胞凋亡、细胞增殖、Mi与ER连接、ER应激及Mi自噬等过程中发挥重要作用[17-18]。本研究结果发现，模型组大鼠支持细胞Mi结构受损，显著肿胀，嵴断裂，缺失，呈空泡状；Mfn2表达减少，表明其功能亦受到影响。GRP78又称为免疫球蛋白重链结合蛋白，是热休克家族的成员，作为一种ER应激的关键伴侣蛋白，主要参与蛋白质的合成、转运、折叠，维持蛋白质的正确构象，在ER应激反应中发挥重要作用[19-20]。研究发现GRP78蛋白的异常表达与生殖系统疾病的发生、发展密切相关[21]。ER应激与高脂饮食密切相关，持续过度的ER应激会诱导睾丸生精细胞凋亡，导致睾丸生殖功能受损，影响正常的精子发生。最近研究表明高脂饮食可诱导小鼠睾丸生精细胞凋亡，GRP78蛋白表达水平明显上调，其机制与激活ER应激相关信号通路有关[22]。但高脂饮食对睾丸支持细胞ER的影响少有报道。本研究中透射电镜发现肥胖大鼠支持细胞ER明显扩张肿胀，部分网膜断裂，GRP78表达明显增加，提示高脂饮食对大鼠睾丸支持细胞ER结构功能产生影响，并可能与ER应激有关。细胞内Mi和ER之间不是孤立存在的细胞器，两者之间形成动态膜偶联结构，线粒体相关内质网膜（mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes, MAM）控制细胞内脂质交换、钙信号传导、细胞存活和细胞代谢的稳态[23-24]。Mfn2作为MAM束缚蛋白，是MAM结构和功能维持的关键，一旦耗竭会引起MAM数量增加，导致ER应激和细胞损伤[25-26]。本研究结果中，模型组大鼠紧密连接的改变可能是由于高脂饮食诱导的肥胖引起大鼠睾丸支持细胞Mfn2表达降低，ER和Mi结构改变，致使GRP78表达升高，处于ER应激状态，从而引起支持细胞损伤，紧密连接破坏，最终导致生精障碍。但Mfn2对睾丸支持细胞Mi内质网结构偶联影响的具体机制及内质网应激的具体表现未来将进一步进行实验验证。

综上所述，高脂饮食诱导肥胖可引起大鼠生精障碍，其机制可能与睾丸支持细胞线粒体和内质网结构功能改变导致紧密连接损伤有关。

参 考 文 献：

[1] BLÜHER M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis[J]. Nat Rev Endocrinol, 2019, 15(5): 288-298.

[2] CHOOI Y C, DING C, MAGKOS F. The epidemiology of obesity[J]. Metabolism, 2019, 92: 6-10.

[3] LAM B C C, LIM A Y L, CHAN S L, et al. The impact of obesity: a narrative review[J]. Singapore Med J, 2023, 64(3): 163-171.

[4] LEISEGANG K, SENGUPTA P, AGARWAL A, et al. Obesity and male infertility: mechanisms and management[J]. Andrologia, 2021, 53(1): e13617.

[5] 苏亚珊, 王强强, 王春红, 等. 肥胖2型糖尿病导致小鼠睾丸生精功能障碍的研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2022, 44(5): 499-504.

[6] 周本文, 张长城, 邓何, 等. 竹节参总皂苷减轻高脂饮食诱导的小鼠睾丸支持细胞连接功能损伤[J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(7): 1145-1154.

[7] LUO D, FAN N, ZHANG X Y, et al. Covalent inhibition of endoplasmic reticulum chaperone GRP78 disconnects the transduction of ER stress signals to inflammation and lipid accumulation in diet-induced obese mice[J]. Elife, 2022, 11: e72182.

[8] HU L, DING M G, TANG D S, et al. Targeting mitochondrial dynamics by regulating Mfn2 for therapeutic intervention in diabetic cardiomyopathy[J]. Theranostics, 2019, 9(13): 3687-3706.

[9] HARIRI N, THIBAULT L. High-fat diet-induced obesity in animal models[J]. Nutr Res Rev, 2010, 23(2): 270-299.

[10] ZHANG Y R, QI J, ZHAO J, et al. Effect of dietetic obesity on testicular transcriptome in cynomolgus monkeys[J]. Genes (Basel), 2023, 14(3): 557.

[11] PEPIN A S, LAFLEUR C, LAMBROT R, et al. Sperm histone H3 lysine 4 tri-methylation serves as a metabolic sensor of paternal obesity and is associated with the inheritance of metabolic dysfunction[J]. Mol Metab, 2022, 59: 101463.

[12] RIBEIRO L M, SASAKI L M P, SILVA A A, et al. Overweight, obesity and assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2022, 271: 117-127.

[13] MANCINI M, PECORI GIRALDI F, ANDREASSI A, et al. Obesity is strongly associated with low testosterone and reduced penis growth during development[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2021, 106(11): 3151-3159.

[14] 张振刚, 李晓娜, 王文娟, 等. 甲状腺激素和性激素对男性生育能力的影响[J]. 天津医药, 2023, 51(5): 518-522.

[15] PETERSEN C, SODER O. The Sertoli cell--a hormonal target and 'super' nurse for germ cells that determines testicular size[J]. Horm Res, 2006, 66(4): 153-161.

[16] STEVENSON B R, SILICIANO J D, MOOSEKER M S, et al. Identification of ZO-1: a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction (zonula occludens) in a variety

of epithelia[J]. J Cell Biol, 1986, 103(3): 755-766.

[17] ZACHARIOUDAKIS E, AGIANIAN B, KUMAR MV V, et al. Modulating mitofusins to control mitochondrial function and signaling[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 3775.

[18] ZHOU H Y, SUN Y Y, CHANG P, et al. Curcumin inhibits cell damage and apoptosis caused by thapsigargin-induced endoplasmic reticulum stress involving the recovery of mitochondrial function mediated by mitofusin-2[J]. Neurotox Res, 2022, 40(2): 449-460.

[19] TSAI Y L, HA D P, ZHAO H, et al. Endoplasmic reticulum stress activates SRC, relocating chaperones to the cell surface where GRP78/CD109 blocks TGF- β signaling[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(18): E4245-E4254.

[20] LI J Y, YANG K Y, DAI S S, et al. ERS mediated by GRP-78/PERK/CHOP signaling is involved in fluoride-induced ameloblast apoptosis[J]. Biol Trace Elem Res, 2024, 202(3): 1103-1114.

[21] QIN H M, WANG R, PANG X X, et al. Association of GRP78 promoter polymorphisms and serum GRP78 level with risk of asthenozoospermia[J]. J Assist Reprod Genet, 2018, 35(12): 2223-2231.

[22] 周本文, 张长城, 邓何, 等. 从内质网应激研究高脂饮食对小鼠睾丸生精细胞凋亡的影响[J]. 中国药理学通报, 2023, 39(12): 2346-2353.

[23] TOWNSEND L K, BRUNETTA H S, MORI M A S. Mitochondria-associated ER membranes in glucose homeostasis and insulin resistance[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2020, 319(6): E1053-E1060.

[24] YANG M, LI C R, YANG S K, et al. Mitochondria-associated ER membranes - the origin site of autophagy[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 595.

[25] ADELMANN C H, RACHMIN I, FISHER D E. MFN2 stabilization: a bridge for endoplasmic reticulum stress sensitivity in melanoma[J]. J Invest Dermatol, 2021, 141(12): 2782-2784.

[26] MUÑOZ J P, IVANOVA S, SÁNCHEZ-WANDELMER J, et al. Mfn2 modulates the UPR and mitochondrial function via repression of PERK[J]. EMBO J, 2013, 32(17): 2348-2361.

（李科 编辑）

本文引用格式：刘伟伟, 李锡晶, 刘大卫, 等. 高脂饮食诱导肥胖大鼠生精障碍及睾丸支持细胞线粒体和内质网结构功能的改变[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(18): 25-32.

Cite this article as: LIU W W, LI X J, LIU D W, et al. Impairment of spermatogenesis and alterations in the structure and function of mitochondria and endoplasmic reticulum in Sertoli cells of high-fat diet-induced obese rats[J]. China Journal of Modern Medicine, 2024, 34(18): 25-32.