

文章编号 1006-8147(2023)04-0413-05

论 著

维生素 D 干预对高盐高脂高糖饮食雄性小鼠的子代生育能力的影响

叶舒婷, 杜湧瑞, 王建梅

(天津医科大学第二医院计划生育科, 天津 300211)

摘要 目的:探讨维生素 D 干预对高盐高脂高糖饮食雄鼠子代生育能力的作用。方法:C57BL/6j 雄鼠随机分为 3 组:对照饮食组(CD)、高盐高脂高糖饮食组(HFSSD)、高盐高脂高糖饮食+维生素 D 组(HFSSD+D),喂养 9 周。不同饮食组雄鼠分别与对照饮食雌鼠交配,得到子代雄鼠,对照饮食喂养至 8 周龄,分别评估父系和子代雄鼠体重、生育能力、精子参数和睾丸形态学变化,统计并分析结果。结果:父系雄鼠 HFSSD 组 4、5 周龄体重与 CD 组相比差异无统计学意义,其他周龄雄鼠的体重均高于 CD 组(均 $P<0.05$),HFSSD 组 4、6、7、8 周龄体重高于 HFSSD+D 组(均 $P<0.05$),其他周龄雄鼠的体重与 HFSSD+D 组相比无统计学意义。HFSSD 组的子代雄鼠 5~8 周龄体重均高于 CD 组(均 $P<0.05$),与 HFSSD+D 组相比差异无统计学意义。父系和子代 HFSSD 组雄鼠精子总数、精子活力均低于 CD 组和 HFSSD+D 组(均 $P<0.05$),精子畸形率高于 CD 组($P<0.05$),但与 HFSSD+D 组相比差异无统计学意义。父系 HFSSD 组雌鼠受孕率和每窝产仔数均低于 CD 组和 HFSSD+D 组(均 $P<0.05$)。子代 HFSSD 组雌鼠受孕率和每窝产仔数均低于 CD 组(均 $P<0.05$),但与 HFSSD+D 组相比差异无统计学意义。与 CD 组相比,父系和子代 HFSSD 组雄鼠睾丸生精小管管壁变薄,细胞间排列松散、紊乱;HFSSD+D 组雄鼠睾丸生精小管管壁比 HFSSD 组细胞层数多,父系 HFSSD+D 组细胞间排列紊乱减少,子代 HFSSD+D 组未见紊乱。结论:维生素 D 干预可提高高盐高脂高糖饮食雄鼠子代精子质量,对子代生育能力具有潜在的改善作用,对优生优育具有指导意义。

关键词 维生素 D;高盐高脂高糖饮食;肥胖;雄性生殖

中图分类号 R711.6

文献标志码 A

Effect of vitamin D intervention on offspring fertility in male mice on a high-salt, high-fat, high-sugar diet

YE Shu-ting, DU Yong-rui, WANG Jian-mei

(Department of Family Planning, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of vitamin D intervention on the fertility of male rat offspring on a high-salt, high-fat, high-sugar diet. **Methods:** Male C57BL/6j rats were randomly divided into three groups: control diet group (CD), high salt, high fat and high sugar diet group (HFSSD), and high salt, high fat and high sugar diet + vitamin D group (HFSSD+D), and fed for 9 weeks. Male rats in the different diet groups were mated with females on the control diet to obtain offspring males, which were fed on the control diet until 8 weeks of age. Body weight, fertility, sperm parameters and testicular morphological changes were assessed in the sire and offspring males, respectively, and the results were counted and analyzed. **Results:** Body weights at 4 and 5 weeks of age were not statistically significant in the HFSSD group compared with the CD group for sire males, but were higher in all other weeks of age (all $P<0.05$), and were higher in the HFSSD group at 4, 6, 7 and 8 weeks of age compared with the HFSSD+D group (all $P<0.05$), but were not statistically significant in other weeks of age compared with the HFSSD+D group for offspring. The body weights of male rats from 5 to 8 weeks of age were higher in the HFSSD group than in the CD group (all $P<0.05$), but not statistically significant compared with the HFSSD+D group. The total sperm count and sperm motility of male rats in both the sire and offspring HFSSD groups were lower than those in the CD and HFSSD+D groups (both $P<0.05$), and the sperm malformation rate was higher than that in the CD group ($P<0.05$), but not statistically significant compared with the HFSSD+D group. The conception rate and litter size of females in the paternal HFSSD group were lower than those in the CD and HFSSD+D groups (both $P<0.05$). The conception rate and litter size of females in the offspring HFSSD group were lower than those in the CD group (both $P<0.05$), but not statistically significant compared with the HFSSD+D group. Compared with the CD group, the male testicular spermatogenic tubules in the sire and offspring HFSSD groups had a thinner wall and a looser and more disorganized intercellular arrangement; the male testicular spermatogenic tubules in the HFSSD+D group had more cell layers than those in the HFSSD group, and the intercellular arrangement in the sire HFSSD+D group was less disorganized than that in the offspring HFSSD+D group. **Conclusion:** Vitamin D intervention can improve the sperm quality of the offspring of male rats on a high-salt, high-fat, high-sugar diet, and has potential to improve offspring fertility, which has implications for eugenic reproduction.

Key words vitamin D; high-salt, high-fat, high-sugar diet; obesity; male reproduction

作者简介 叶舒婷(1995-),女,硕士在读,研究方向:生殖医学中的子代安全性,辅助生殖;通信作者:王建梅, E-mail: wangjianmei@tmu.edu.cn。

全世界大约 15%的夫妇受不孕不育的影响,其中男性不育占 50%^[1]。越来越多的证据表明男性不育与肥胖有关^[2],现代人以高盐高糖高脂肪饮食为主,因此饮食习惯导致的肥胖占多数。研究表明,肥胖引起的代谢紊乱会影响精子的表观遗传变化,从而影响后代的生殖能力^[3];父系年龄和环境暴露等因素可以通过诱导男性生殖系 DNA 损伤和基因突变直接影响后代基因型和表型^[4]。因此,改善生活环境或保持良好的生活方式对男性生殖能力具有积极作用。维生素 D 具有调节钙代谢以及其他多种功能,其中包括生殖系统调节^[5]。研究表明,1,25(OH)₂D₃ 通过抑制氧化应激影响睾酮和雌二醇的水平,最终影响精子生成和精子运动^[6]。维生素 D 在维持钙稳态方面的作用可能有助于精子运动和顶体反应,从而增强受精^[7]。目前有研究表明,维生素 D 干预可改善肥胖引起的雄性精子功能不良,但对于子代的研究较少。因此,本研究深入了解维生素 D 干预对高盐高脂高糖饮食雄鼠的子代生育能力的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器 酒精(天津美玉)、HE 试剂盒(北京索莱宝),中性树胶(天津索罗门)、维生素 D₃ 滴剂(中国星鲨)、二甲苯(天津化工)、精子冲洗培养液(美国 Cooper Surgical 公司)、血细胞计数板(美国赛默飞)、载玻片和盖玻片(江苏世泰)

1.2 方法

1.2.1 实验动物建模 健康 C57BL/6j 雄鼠(24 只)和雌性小鼠(48 只),SPF 级,4~5 周龄,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2021-0006。动物合格证编号:110011210110425427。对照饲料和高盐高脂高糖饲料购买于小泰有泰北京生物科技有限公司,不同饮食组营养成分表(表 1)。饲养条件:温度和湿度控制室[分别为(25±2)℃和(55±10)%],12 h 光照/黑暗循环,可自由获得水和食物。小鼠饲养严格按照 NIH《实验动物护理和使用指南》进行,所有实验方案均经过动物保护和使用委员会批准。雄鼠在喂养 1 周适应居住条件后开始建模,被随机分为 3 组:对照饮食组(CD,n=8);高盐高脂高糖饮食组(HFSSD,n=8);高盐高脂高糖饮食+维生素 D[(500 IU/(kg·d)灌胃]组(HFSSD+D,n=8),喂养 9 周。建模方法参照 Berthold Hochoer 等的研究^[8]。CD 组、HFSSD 组和 HFSSD+D 组雄鼠分别与对照饮食的雌鼠合笼(雄鼠:雌鼠,1:2),交配 2 周,将妊娠的雌鼠移到另一个笼子里,观察到子代出生。雄鼠的生育能力是根据精子质量、雌鼠受孕率

和每窝产仔数来评估的。在整个喂养期间,每周监测雄鼠的体重,同时也对其子代的体重进行统计分析。子代按照对照饮食喂养至 8 周龄,生育能力的评估同上所述,记录结果并统计分析。

1.2.2 附睾精液参数分析 在直径 3 cm 培养皿中加入 2 mL 精子冲洗培养液,将附睾置于培养皿中剪碎,37℃ 培养箱中孵育 15 min,使精子从附睾中游出。收集精子悬液放入 15 mL 离心管中,充分混匀。精液参数:计算精子密度:取 10 μL 精子悬液,在光镜下数血细胞计数板 4 个大方格中精子数,以×10⁶/mL 表示。精子运动:随机视野下观察至少 200 个精子,计数前向运动、非前向运动和不动精子,以百分率(%)表示。精子畸形:将精子悬液滴在载玻片上,均匀推片,随后对精子涂片进行染色,光镜下观察随机视野下至少 200 个精子,计数正常精子数和头部、中部、尾部缺陷精子数,用百分率(%)表示。

表 1 不同饮食组的营养成分表(%)

Tab 1 Nutrient composition of different dietary groups(%)

| 组成成分 | CD | HFSSD |
|-----------|--------|--------|
| 酪蛋白 | 20 | 23.3 |
| 玉米淀粉 | 39.8 | 8.7 |
| 麦芽糊精 | 13.2 | 10.5 |
| 蔗糖 | 10.0 | 20.1 |
| 植物纤维素 | 5.0 | 5.0 |
| 大豆油 | 7.0 | 2.9 |
| 猪油 | 0.0 | 20.7 |
| 食盐 | 0.3 | 3.7 |
| 矿物质 | 3.5 | 3.5 |
| 维生素 | 1.0 | 1.0 |
| 能量 | | |
| 热量(kJ/kg) | 16 736 | 19 539 |
| 脂肪 | 15.8 | 45.5 |
| 蔗糖 | 10.0 | 17.25 |
| 蛋白质 | 20.30 | 20.23 |

1.2.3 取材 建模完成后,称重,父系和子代雄鼠眼球取血,冰上凝固后,3 000 g,4℃,离心,5 min,分离血清,-80℃ 保存待检。仔细分离睾丸和附睾,称重,一侧睾丸 4%多聚甲醛固定用于组织病理检测。另一侧-80℃ 保存用于分子实验。附睾,用于精液分析。

1.2.4 睾丸组织形态学检测(HE 染色) 取 4%多聚甲醛固定的睾丸,石蜡包埋,4 μm 切片,烘干,备用。脱蜡,苏木素染色 5 min,流水冲洗,1%盐酸乙醇分化 15 s,水洗蓝化 15 min,脱水,中性树胶封片,晾干后显微镜下观察。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析。本研究数据均为计量资料,符合正态分布的,使用 $\bar{x} \pm s$ 多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 *P*<0.05 为差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 维生素D干预对高盐高脂高糖饮食诱导的父系和子代雄鼠体重的影响 多组间比较单因素方差分析显示,父系雄鼠 HFSSD 组 4、5 周龄体重与 CD 组相比无统计学意义,其他周龄雄鼠的体重均高于 CD 组(均 $P<0.05$),HFSSD 组 4、6、7、8 周龄体重高于 HFSSD+D 组(均 $P<0.05$),其他周龄雄鼠的体重与 HFSSD+D 组相比无统计学意义。HFSSD 组的子代雄鼠 5~8 周龄体重均高于 CD 组(均 $P<0.05$),与 HFSSD+D 组相比无统计学意义(表 2、3)。

表 2 不同饮食组父系雄鼠体重比较($\bar{x}\pm s$,g)

Tab 2 Comparison of body weight of sire rats in different dietary groups($\bar{x}\pm s$,g)

| 周龄 | CD 组(n=8) | HFSSD 组(n=8) | HFSSD+D 组(n=8) | F | P |
|------|------------|-------------------------|-------------------------|--------|-------|
| 4 周 | 18.98±0.63 | 19.82±0.90 | 18.58±0.31 [#] | 4.583 | 0.033 |
| 5 周 | 20.16±1.10 | 20.16±1.95 | 19.34±0.25 | 0.659 | 0.535 |
| 6 周 | 21.10±0.72 | 23.08±0.87 [*] | 21.40±0.82 [#] | 9.773 | 0.005 |
| 7 周 | 21.82±0.69 | 24.48±0.37 [*] | 22.46±1.23 [#] | 15.360 | 0.001 |
| 8 周 | 22.70±0.85 | 25.48±0.86 [*] | 23.80±1.27 [#] | 9.555 | 0.003 |
| 9 周 | 23.80±0.90 | 26.36±0.69 [*] | 24.96±1.61 | 6.318 | 0.013 |
| 10 周 | 24.82±1.23 | 27.92±1.01 [*] | 27.82±0.98 | 13.350 | 0.001 |
| 11 周 | 26.34±1.22 | 29.34±0.69 [*] | 29.06±1.05 | 13.400 | 0.001 |
| 12 周 | 27.74±0.87 | 30.58±0.49 [*] | 30.90±1.22 | 18.150 | 0.000 |
| 13 周 | 28.52±0.79 | 33.34±0.60 [*] | 32.78±0.85 | 61.240 | 0.000 |
| 14 周 | 29.50±1.05 | 36.38±1.20 [*] | 34.88±0.67 | 65.350 | 0.000 |

注:CD:正常饮食组;HFSSD:高盐高脂高糖饮食组;HFSSD+D:高盐高脂高糖饮食+维生素D组;与CD组相比, $^*P<0.05$;与HFSSD组相比, $^{\#}P<0.05$

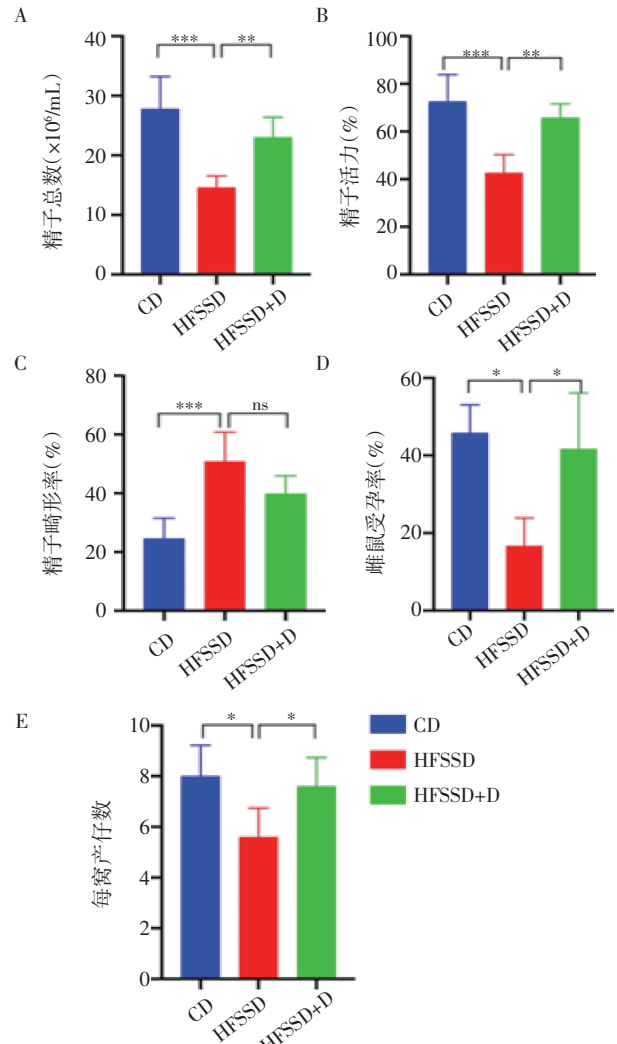
表 3 不同饮食组子代雄鼠体重比较($\bar{x}\pm s$,g)

Tab 3 Comparison of body weights of male offspring in different dietary groups($\bar{x}\pm s$,g)

| 周龄 | CD 组(n=3) | HFSSD 组(n=3) | HFSSD+D 组(n=3) | F | P |
|-----|------------|-------------------------|----------------|--------|-------|
| 4 周 | 16.37±0.55 | 17.07±1.01 | 15.67±0.83 | 2.194 | 0.193 |
| 5 周 | 17.53±0.49 | 19.97±0.78 [*] | 18.60±0.69 | 10.090 | 0.012 |
| 6 周 | 19.07±0.21 | 21.23±0.90 [*] | 21.30±0.78 | 9.907 | 0.013 |
| 7 周 | 20.17±0.21 | 22.73±0.49 [*] | 22.30±0.62 | 25.110 | 0.001 |
| 8 周 | 21.07±0.31 | 24.13±0.50 [*] | 23.47±0.55 | 36.020 | 0.001 |

注:CD:正常饮食组;HFSSD:高盐高脂高糖饮食组;HFSSD+D:高盐高脂高糖饮食+维生素D组;与CD组相比, $^*P<0.05$

2.2 维生素D可改善高盐高脂高糖饮食诱导的父系雄鼠的生育能力 HFSSD 组雄鼠精子总数低于 CD 组和 HFSSD+D 组(图 1A, $F=15.05$, $P<0.05$); HFSSD 组雄鼠精子活力低于 CD 组和 HFSSD+D 组(图 1B, $F=16.81$, $P<0.05$); HFSSD 组雄鼠精子畸形率高于 CD 组(图 1C, $F=14.06$, $P<0.05$),与 HFSSD+D 组相比无统计学意义($P=0.0828$)。HFSSD 组雌鼠受孕率低于 CD 组和 HFSSD+D 组(图 1D, $F=7.167$, $P<0.05$),每窝产仔数也均低于 CD 组和 HFSSD+D 组(图 1E, $F=6.049$, $P<0.05$)。



注:A:精子总数;B:精子活力;C:精子畸形率;D:雌鼠受孕率;E:每窝产仔数;CD:正常饮食组;HFSSD:高盐高脂高糖饮食组;HFSSD+D:高盐高脂高糖饮食+维生素D组; $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $^{ns}P>0.05$

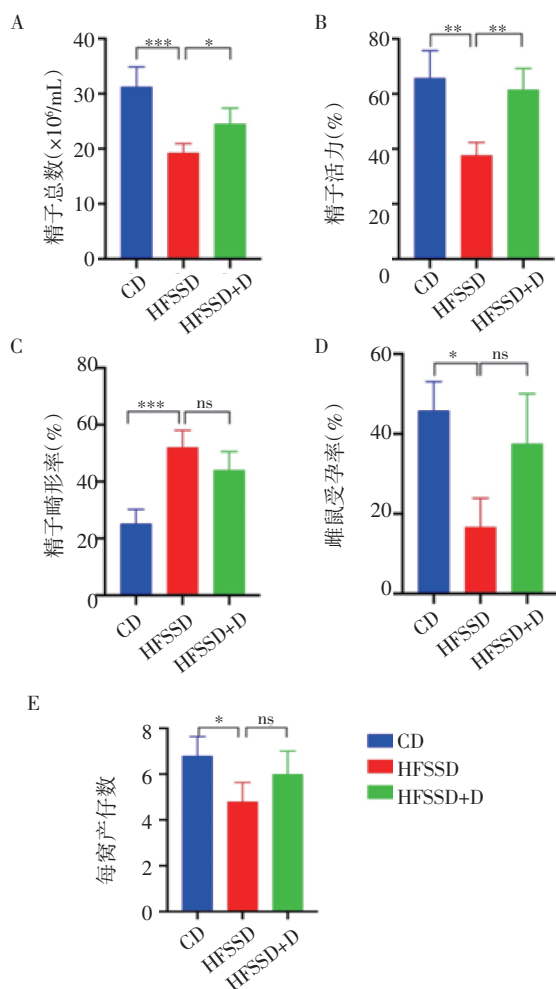
图 1 不同饮食组父系雄鼠的生育能力

Fig 1 Fertility of male rats of different dietary groups in the sire line

2.3 维生素D可改善高盐高脂高糖饮食诱导的子代雄鼠的生育能力 HFSSD 组雄鼠精子总数低于 CD 组和 HFSSD+D 组(图 2A, $F=17.97$, $P<0.05$); HFSSD 组雄鼠精子活力低于 CD 组和 HFSSD+D 组(图 2B, $F=11.58$, $P<0.05$); HFSSD 组雄鼠精子畸形率高于 CD 组(图 2C, $F=19.68$, $P<0.05$),与 HFSSD+D 组相比无统计学意义($P=0.1856$)。HFSSD 组雌鼠受孕率低于 CD 组(图 2D, $F=7.8$, $P<0.05$),与 HFSSD+D 组相比差异没有统计学意义($P=0.0587$);每窝产仔数低于 CD 组(图 2E, $F=6.333$, $P<0.05$),与 HFSSD+D 组相比差异没有统计学意义($P=0.0976$)。

2.4 维生素D干预改善高盐高脂高糖饮食诱导的雄鼠睾丸形态 父系和子代 HFSSD 组雄鼠睾丸组织与 CD 组相比,生精小管管壁变薄(细胞层数变

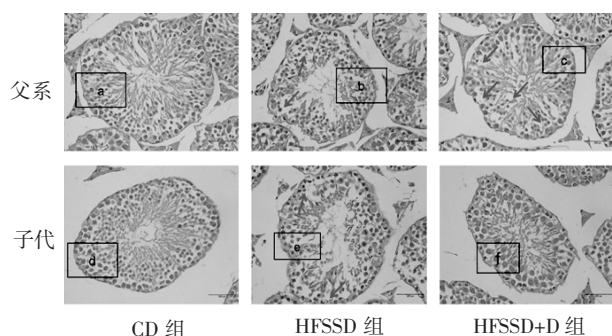
少),细胞间排列松散、紊乱;父系和子代 HFSSD+D 组雄鼠睾丸生精小管管壁比 HFSSD 组细胞层数多,父系 HFSSD+D 组细胞间排列紊乱减少,子代 HFSSD+D 组细胞间排列未见紊乱(图 3)。



注:A:精子总数;B:精子活力;C:精子畸形率;D:雌鼠受孕率;E:每窝产仔数;CD:正常饮食组;HFSSD:高盐高脂高糖饮食组;HFSSD+D:高盐高脂高糖饮食+维生素D组; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; ns $P > 0.05$

图2 不同饮食组子代雄鼠的生育能力

Fig 2 Fertility of male rats in the offspring of different dietary groups



注:图中矩形框中的a,b,c是父系雄鼠生精小管;d,e,f是子代雄鼠生精小管;红色箭头代表生精细胞排列松散、紊乱和大量脱落

图3 父系和子代雄鼠睾丸组织 HE 染色(400 \times)

Fig 3 HE staining of sire and offspring male rat testis tissues(400 \times)

3 讨论

不孕症影响着全球近 5 000 万对夫妇,其中男性因素占 40%~50%^[9]。糖皮质激素会影响男性睾丸激素的产生,从而影响男性生育能力^[10]。众所周知,营养状况会影响生殖的发育和功能,但其确切机制尚未完全阐明^[11]。研究表明,不良饮食和生活方式会影响男性和女性的生育能力^[12]。现代人的常见不健康饮食主要是高盐高脂高糖饮食,这在西方国家中最常见^[13]。长期不健康饮食可导致肥胖、内分泌紊乱、心脑血管疾病等。肥胖影响精子生成的机制包括炎症、热效应、高雌激素、性腺功能低下、糖尿病、性功能障碍和精子的遗传紊乱^[14]。目前有研究表明,维生素 D 对男性生育能力有积极作用^[15]。

维生素 D 可以通过饮食和暴露在阳光下获得,在男性生殖功能中具有关键的作用,主要包括影响精液质量和雄激素水平^[16]。研究表明,维生素 D 受体(VDR)和维生素 D 代谢酶同时在睾丸支持细胞、睾丸间质细胞、精子和男性生殖道内的上皮细胞中表达^[17]。维生素 D 代谢酶的存在表明,生殖器官可以调节动物和人类的局部维生素 D 反应,独立于系统性维生素 D 代谢,睾丸体细胞或生殖细胞可局部合成和降解维生素 D^[18]。此外,维生素 D 可能会起到自分泌和旁分泌作用,在调节睾丸功能方面发挥作用^[19]。

C57BL/6j 小鼠属于 DIO 小鼠,特别适合肥胖、代谢综合征和脂肪肝模型的研究和建模;对高脂饲料敏感,高脂饲料喂养后肥胖速度比较快,是公认的高脂模型鼠。为了研究维生素 D 对 HFSSD 雄鼠子代生育能力的作用,将雄鼠随机分为正常饮食组、高盐高脂高糖饮食组、高盐高脂高糖饮食+维生素 D 组,喂养 9 周,再将不同饮食组雄鼠分别与对照饮食的雌鼠交配,得到子代雄鼠,按对照饮食喂养至 8 周龄,对父系和子代雄鼠生育能力进行分析。通过对父系研究结果显示,HFSSD 组雄鼠体重绝大多数高于 CD 组,HFSSD 组低龄鼠 4、6、7、8 周龄体重高于 HFSSD+D 组,说明 HFSSD 易导致肥胖,动物模型建模成功。精子质量对于男性生育潜力评估最为重要,也是评估睾丸功能的核心指标^[20]。对精子参数和生育能力的分析结果显示:HFSSD 组雄鼠精子总数和活力低于 CD 组和 HFSSD+D 组;精子畸形率高于 CD 组;雌鼠受孕率和每窝产仔数均低于 CD 组和 HFSSD+D 组,这些表明 HFSSD 可导致雄鼠精子质量下降,维生素 D 干预可改善 HFSSD 诱导的雄鼠精子质量和生育能力。最近一项研究结果显示肥胖小鼠血清 25(OH) D_3 与睾酮水平和精子活力有关^[21],该结论与本文结果基本一致。最后进行睾丸形态学

分析结果显示:与CD组和HFSSD+D组相比,HFSSD组的睾丸组织生精小管管壁均变薄(细胞层数变少),细胞间排列松散、紊乱。初步研究表明,不良饮食习惯会对雄鼠的精子质量和生育能力产生不利影响,维生素D干预可改善高盐高脂高糖饮食诱导的雄鼠的精子质量和生育能力。

最近有一项研究表明,肥胖除了对男性有直接影响外,还可能通过生殖细胞DNA遗传和表观遗传学的改变传给后代^[22]。笔者对子代雄鼠进行相关研究结果显示,HFSSD组的子代雄鼠5~8周龄体重均高于CD组,但与HFSSD+D组相比差异没有统计学意义,和父系研究结果基本一致。HFSSD组子代雄鼠与雌鼠交配后,受孕率和每窝产仔数均低于CD组,但与HFSSD+D组相比差异无统计学意义,考虑雌鼠受孕率和每窝产仔数影响因素较多,如雄鼠勃起功能、精子质量、雌鼠卵巢功能和子宫状态等,还需进一步研究。精子参数分析结果显示:HFSSD组子代雄鼠精子总数和活力均低于CD组和HFSSD+D组;HFSSD组子代雄鼠精子畸形率高于CD组,但与HFSSD+D组相比差异无统计学意义,与父系研究结果基本一致。这些结果表明HFSSD可导致雄鼠子代精子质量和生育能力下降,维生素D可提高HFSSD诱导的雄鼠子代精子质量,对子代生育能力具有潜在的改善作用。子代雄鼠睾丸形态学分析结果显示:与CD组和HFSSD+D的子代相比,HFSSD组的子代雄鼠睾丸组织生精小管管壁变薄(细胞层数变少),细胞间排列松散、紊乱;HFSSD+D组子代雄鼠睾丸细胞间排列未见紊乱。

本研究表明,父系高盐高脂高糖饮食对子代精子质量和生育能力有跨代效应;维生素D干预可提高高盐高脂高糖饮食雄鼠子代精子质量,对子代生育能力具有潜在的改善作用。综上所述,维生素D有望改善肥胖男性生殖问题,对优生优育具有指导意义。

参考文献:

- [1] AGARWAL A, BASKARAN S, PAREKH N, et al. Male infertility[J]. *Lancet*, 2021, 397(10271): 319–333.
- [2] LWISEGANG K, SENGUPTA P, AGARWAL A, et al. Obesity and male infertility: mechanisms and management[J]. *Andrologia*, 2021, 53(1): e13617.
- [3] PINI T, RAUBENHEIMER D, SIMPSON S J, et al. Obesity and male reproduction: placing the western diet in context[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 622292.
- [4] BEAL MA, YAUK CL, MARCHETTI F. From sperm to offspring: assessing the heritable genetic consequences of paternal smoking and potential public health impacts[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2017, 773: 26–50.
- [5] CHEN Y, ZHI X. Roles of vitamin D in reproductive systems and assisted reproductive technology[J]. *Endocrinology*, 2020, 161(4): bqaa023.
- [6] HAMDEN K, CARREAU S, JAMOSSI K, et al. Inhibitory effects of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ and Ajuga iva extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes[J]. *J Physiol Biochem*, 2008, 64(3): 231–239.
- [7] ZANATTA L, ZAMONER A, GONCALVES R, et al. Effect of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ in plasma membrane targets in immature rat testis: ionic channels and gamma-glutamyl transpeptidase activity[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 515(1–2): 46–53.
- [8] LI J, LU YP, TSUPRYKOV O, et al. Folate treatment of pregnant rat dams abolishes metabolic effects in female offspring induced by a paternal pre-conception unhealthy diet[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(8): 1862–1876.
- [9] VANDER BORGHT M, WYNS C. Fertility and infertility: definition and epidemiology[J]. *Clin Biochem*, 2018, 62: 2–10.
- [10] HAMPL R, STARKA L. Glucocorticoids affect male testicular steroidogenesis[J]. *Physiol Res*, 2020, 69(Suppl 2): S205–S210.
- [11] GASKINS A J, CHAVARRO J E. Diet and fertility: a review[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2018, 218(4): 379–389.
- [12] CARSON S A, KALLEN A N. Diagnosis and management of infertility: a review[J]. *JAMA*, 2021, 326(1): 65–76.
- [13] ZINOCKER M K, LINDSETH I A. The western diet-microbiome-host interaction and its role in metabolic disease[J]. *Nutrients*, 2018, 10(3): 365.
- [14] AHMAD R, HAQUE M. Obesity: a doorway to a molecular path leading to infertility[J]. *Cureus*, 2022, 14(10): e30770.
- [15] BOSDOU J K, KONSTANTINIDOU E, ANAGNOSTI S P, et al. Vitamin D and obesity: two interacting players in the field of infertility[J]. *Nutrients*, 2019, 11(7): 1455.
- [16] TIRABASSI G, CUTINI M, MUSCOGIURI G, et al. Association between vitamin D and sperm parameters: clinical evidence [J]. *Endocrine*, 2017, 58(1): 194–198.
- [17] CITO G, COCCI A, MICELLI E, et al. Vitamin D and male fertility: an updated review[J]. *World J Mens Health*, 2020, 38(2): 164–177.
- [18] DE ANGELIS C, GALDIERO M, PIVONELLO C, et al. The role of vitamin D in male fertility: a focus on the testis[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2017, 18(3): 285–305.
- [19] VERSTUYF A, CARMELIET G, BOUILLON R, et al. Vitamin D: a pleiotropic hormone[J]. *Kidney Int*, 2010, 78(2): 140–145.
- [20] BISCONTI M, SIMON J F, GRASS I S, et al. Influence of risk factors for male infertility on sperm protein composition[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 13164.
- [21] FENG M, WANG K, WEI H, et al. Serum 25OHD₃ of obese mice is affected by liver injury and correlates with testosterone levels and sperm motility[J]. *Obes Facts*, 2021, 14(5): 559–567.
- [22] PORTHA B, GRANDJEAN V, MOVASSAT J. Mother or father: who is in the front line? Mechanisms underlying the non-genomic transmission of obesity/diabetes via the maternal or the paternal line[J]. *Nutrients*, 2019, 11(2): 233.

文章编号 1006-8147(2023)04-0418-04

论 著

牙髓电活力差值与不同类型的龋源性牙髓炎诊断的关系

裴海燕¹,周丽雯²,吕洋洋³,肖墨²,周琳²,吴丽更²

(1.天津市武清区人民医院口腔科,天津 301700;2.天津医科大学口腔医院牙体牙髓科,天津 300070;3.无锡市口腔医院牙体牙髓科,无锡 214000)

摘要 目的:探讨牙髓电活力差值对因深龋引起的可复性牙髓炎(RP)和有症状不可复性牙髓炎(SIRP)的诊断能力。方法:选取龋源性牙髓炎患者370例,记录一般信息和临床检查结果,将其分为两组:RP组202例,SIRP组168例。测试患牙和对照牙的牙髓电活力值并计算差值,单因素分析年龄、性别和牙齿类型是否为混杂因素,构建模型后采用Logistic回归及限制性三次立方样条函数分析牙髓电活力差值与牙髓炎诊断的关系。结果:单因素分析显示,年龄与牙髓电活力差值相关($P<0.05$),牙齿类型与牙髓炎诊断相关($P<0.05$),最终将年龄和牙齿类型纳入混杂因素。未校正混杂因素、依次校正年龄和牙齿类型后构建3个模型,RP组和SIRP组的电活力差值具有统计学意义($OR=1.041, 1.041, 1.041, 95\%CI: 1.017\sim 1.065, 1.018\sim 1.066, 1.017\sim 1.066$, 均 $P<0.05$)。限制性三次立方样条函数结果显示随着电活力差值增大,罹患SIRP的风险也随之增加($P<0.05$)。3种模型的曲线下面积分别为0.599、0.598、0.602。结论:牙髓电活力差值有助于RP和SIRP的鉴别诊断。

关键词 牙髓电活力差值;龋源性牙髓炎;可复性牙髓炎;有症状不可复性牙髓炎

中图分类号 R781.4

文献标志码 A

Relationship between the difference in electric pulp test values and the diagnosis of different types of cariogenic pulpitis

PEI Hai-yan¹, ZHOU Li-wen², LYU Yang-yang³, XIAO Mo², ZHOU Lin², WU Li-geng²

(1.Department of Stomatology, Wuqing District People's Hospital of Tianjin, Tianjin 301700, China; 2.Department of Endodontics, Hospital of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 3.Department of Endodontics, Wuxi Stomatology Hospital, Wuxi 214000, China)

Abstract Objective: To investigate the diagnostic ability of the difference in electric pulp test values for the reversible pulpitis (RP) and symptomatic irreversible pulpitis (SIRP) caused by deep caries. **Methods:** A total of 370 patients diagnosed with cariogenic pulpitis were selected. General information and clinical examination data were collected. The patients were divided into two groups: RP group (202 cases) and SIRP group (168 cases). The electrical pulp activity values of affected and control teeth were tested and the difference values were calculated. Univariate analysis was performed to determine whether age, sex and tooth type were confounding factors. After the three models were established, Logistic regression and restricted cubic spline function were used to analyze the relationship between the difference of pulp electrical activity and diagnosis of pulpitis. **Results:** Univariate analysis showed age was correlated with the difference in electric pulp test values ($P<0.05$), and tooth type was correlated with the diagnosis of pulpitis ($P<0.05$). Finally, age and tooth type were included as confounding factors. Three models were established without adjusting for confounding factors and after adjusting for age and tooth type in turn. The difference in electric pulp test values between the RP and SIRP groups was statistically significant ($OR=1.041, 1.041, 1.041, 95\%CI: 1.017\sim 1.065, 1.018\sim 1.066, 1.017\sim 1.066$, all $P<0.05$). The results of the restricted cubic spline function showed that the risk of SIRP increased with the increase of the electrical activity difference ($P<0.05$). The AUC of the three models were 0.599, 0.598, 0.602, respectively. **Conclusion:** The difference in electric pulp test values is helpful for the differential diagnosis of RP and SIRP.

Key words the difference in electric pulp test values; cariogenic pulpitis; reversible pulpitis; symptomatic irreversible pulpitis

牙髓感觉测试主要包括温度测试和电活力测试,是目前临床判断牙髓活力普遍使用的方法^[1]。其中温度测试又包括冷测试(CPT)和热测试(HPT),比较正常对照牙和患牙的不同感觉,可辅助临床医

生判断有无牙髓活力和牙髓状态^[2]。美国牙髓病学协会(AAE)的诊断标准阐述与对照牙相比患牙对冷和(或)热刺激的敏感反应可用于牙髓炎的诊断,如通过有无自发痛,以及冷和(或)热刺激延缓痛鉴别诊断可复性牙髓炎(RP)和有症状不可复性牙髓炎(SIRP)^[3]。然而牙髓电活力测试的诊断价值一直存在争议,目前的观点认为电活力仅能用于评估牙

基金项目 武清区科技发展计划(WQKJ202135)

作者简介 裴海燕(1977-),女,副主任医师,硕士在读,研究方向:口腔医学;通信作者:吴丽更, E-mail: lwu06@tmu.edu.cn。