

本文引文格式:农威华,杨凤莲,李红阁,等.慢性铝暴露对小鼠精子质量及睾丸细胞焦亡的影响[J].右江民族医学院学报,2023,45(2):230-236.

【论著与临床报道】

## 慢性铝暴露对小鼠精子质量及睾丸细胞焦亡的影响

农威华<sup>1,3</sup>,杨凤莲<sup>2</sup>,李红阁<sup>3</sup>,窦晟<sup>3</sup>,董明右<sup>2</sup>,王俊利<sup>3</sup>

(1. 右江民族医学院附属医院妇产科,广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院生物医药与大健康现代产业学院,广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院附属医院,广西医疗卫生重点学科生殖医学,广西 百色 533000)

**摘要:**目的 研究铝暴露对小鼠精子质量及睾丸细胞焦亡的影响。方法 将12只成熟雄性c57bl/6j小鼠分为两组:对照组( $n=6$ )、铝模型组( $n=6$ ),对照组用蒸馏水灌胃,铝模型组采用 $10\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})\text{ AlCl}_3$ 灌胃,8周后,获取小鼠睾丸组织、附睾组织及附睾精子。对附睾精子进行精子质量分析,对睾丸及附睾HE染色进行病理检测;运用PCR、免疫组化检测睾丸组织细胞焦亡关键基因的mRNA和蛋白表达。结果 与对照组相比,铝暴露的小鼠睾丸重量、附睾重量、精子活力、精子数量均显著下降( $P<0.01$ ),精子畸形率显著增加( $P<0.01$ )。睾丸形态学观察结果显示,铝暴露小鼠睾丸生精小管中细胞排列紊乱,生精小管的面积和直径减小,管内精子减少。PCR及免疫组化结果显示,铝暴露小鼠睾丸组织中焦亡关键基因Nlrp3、Caspase-1、Gsdmd和IL-1b的mRNA及蛋白表达均上调( $P<0.01$ )。结论 铝暴露可降低小鼠的精子质量,促进睾丸细胞焦亡,从而损伤雄性生殖系统。

**关键词:**铝;精子质量;器官重量;生精小管;细胞焦亡

中图分类号:R135 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2023)02-0230-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.011

## Effects of chronic aluminum exposure on sperm quality and testicular cell pyroptosis in mice

Nong Weihua<sup>1,3</sup>, Yang Fenglian<sup>2</sup>, Li Hongge<sup>3</sup>, Dou Sheng<sup>3</sup>, Dong Mingyou<sup>2</sup>, Wang Junli<sup>3</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Modern Industrial College of Biomedicine and Great Health, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 3. The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Guangxi Key Medical and Health Discipline Reproductive Medicine, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effects of chronic aluminum exposure on sperm quality and testicular cell pyroptosis in mice. **Methods** Twelve mature male c57bl/6j mice were divided into control group ( $n=6$ ), and aluminum model group ( $n=6$ ). The mice in the control group were gavaged with distilled water, and the mice in the aluminum model group were gavaged with  $10\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})\text{ AlCl}_3$ . Eight weeks later, testicular tissue, epididymal tissue and epididymal sperms of mice were obtained. The quality of the epididymis sperms was analyzed, and HE staining of the testis and epididymis was performed for pathological detection. PCR and

**基金项目:**国家自然科学基金项目(82060293);广西自然科学基金项目(2019GXNSFBA245034);百色市科学研究与技术开发计划项目(百科20212316)

**第一作者简介:**农威华(1987-),女,在读硕士研究生,主治医师,研究方向:配子损伤的基础与临床研究, E-mail: nongweihua666@163.com

**通讯作者简介:**王俊利(1979-),男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:分子遗传、生殖免疫, E-mail: baisewangjunli@163.com

immunohistochemistry were employed to detect the mRNA and protein expressions of key pyrogenic genes in testicular tissue. **Results** Compared with the control group, the testicular weight, epididymal weight, sperm motility, and sperm number of mice exposed to aluminum significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and the sperm malformation rate significantly increased ( $P < 0.01$ ). The morphological observation of testis showed that the cells in the seminiferous tubules of aluminum-exposed mice were disordered, the area and diameter of the seminiferous tubules were reduced, and the sperms in the tubules were reduced. The results of PCR and immunohistochemistry showed that the mRNA and protein expressions of Nlrp3, Caspase-1, Gsdmd and IL-1b were up-regulated in the testicular tissue of aluminum-exposed mice ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Aluminum exposure can reduce sperm quality and promotes testicular cell pyroptosis in mice, thereby damaging the male reproductive system.

**Key words:** aluminum; sperm quality; organ weight; spermatogenic tubules; pyroptosis

铝是一种在自然环境中丰富存在且使用广泛的金属元素,可以通过皮肤、呼吸道、消化道、肌肉注射等途径进入人体。人类接触铝的来源主要包括食物、空气传播的微粒和烟雾、药物、化妆品等<sup>[1]</sup>。铝在体内积累将对男性精子质量产生负面的影响,包括降低精子数量、活力及存活率,增加精子畸形率等<sup>[2]</sup>。目前已发现多种途径参与铝诱导的男性生殖毒性,如氧化应激、炎症、DNA损伤和线粒体功能障碍,其中炎症是早期的标志性损伤<sup>[3-5]</sup>。

焦亡是由某些炎症小体引发的细胞程序性死亡的一种炎症形式<sup>[6]</sup>,可导致细胞肿胀、质膜溶解、染色质碎裂、细胞内促炎内容物如 IL-18 和 IL-1 $\beta$  的释放<sup>[7]</sup>, Gasdermin D(GSDMD)是 Caspase-1(CASP1)的一种蛋白底物,是细胞焦亡过程中的执行分子,其裂解可导致 N-结构域寡聚化和质膜孔形成,是细胞死亡的破裂形式<sup>[8]</sup>。在探讨铝对神经系统影响的研究中发现,铝可以刺激核苷酸寡聚结构域样受体家族 pyrin 结构域,炎症小体 NLRP3 组装并激活 CASP1,诱导 GSDMD 介导的细胞焦亡信号,释放细胞因子 IL-1b 和 IL-18,放大神经炎症反应<sup>[9]</sup>。对来自病原体感染、组织损伤和毒物反应,机体促炎细胞因子激活,如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和白介素-6 (IL-6),从而对 HPG 轴、睾丸组织、精子质量产生负面影响<sup>[10-11]</sup>。多项研究发现,铝可以诱发睾丸炎症和精子质量下降,基于炎症与焦亡的发生密切相关,认为焦亡是铝对男性生殖毒性的潜在机制。

本研究通过分析铝暴露对小鼠精子质量的影响,结合铝暴露组与对照组睾丸细胞焦亡关键基因(Nlrp3、Caspase-1、Gsdmd 和 IL1b)mRNA 和蛋白的表达差异,探讨铝通过睾丸细胞焦亡影响精子质量的潜在机制。

## 1 实验材料和方法

1.1 铝暴露小鼠模型的构建 12 只成熟雄性 c57bl/6j 小鼠,8 周龄,购买于斯莱克景达动物公司,许可证

号:SCXK(湘)2019-0004。在实验开始前进行 1 周的适应性饲养。饲养条件为室温(25 $\pm$ 2)℃、相对湿度 50%~70%、12 h : 12 h 明暗交替光照,实验期间小鼠可自由摄食及饮水。随后,将小鼠随机分为两组:对照组( $n = 6$ )、铝模型组( $n = 6$ )。铝模型组采用 10 mg/(kg·d) AlCl<sub>3</sub> (AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O,上海阿拉丁生化科技公司,批号:A112509)灌胃,每天 1 次<sup>[12]</sup>。对照组用铝暴露组 AlCl<sub>3</sub> 等体积的蒸馏水灌胃,每天 1 次。模型构建持续 8 周,取小鼠睾丸组织、附睾组织及附睾精子进行分析。精子质量及睾丸组织形态是评估铝暴露小鼠模型建造成功的重要指标,精子质量下降及睾丸组织形态受损说明实验组小鼠生殖系统成功因铝暴露而受损<sup>[13]</sup>。

1.2 精子质量检测 取一侧附睾组织,置于 1.5 mL 37℃的生理盐水中,剪碎、混匀,37℃水浴箱中温育 15 min,取得附睾精子滤液。取 10  $\mu$ L 精子滤液滴入预热的 Makler 精子计数板,利用计算机辅助精液分析仪(CASA),参照 WHO 精子运动分类标准<sup>[14]</sup>,将精子活动力分为 PR(前向运动精子)、NP(非前向运动精子)和 IM(不动精子)三级,对精子进行分类计数,显微镜下计数 200 个精子,分析前向运动精子百分比,精子活力检测工作于 3 min 内完成。采用 Diff-Quik 快速染色法试剂盒(北京索莱宝科技公司,批号:G2572)进行精子形态学检查,统计异常精子数,计算异常精子率。

1.3 睾丸组织病理学、生精小管面积和直径测量 取左侧睾丸固定于 4% 聚甲醛 24 h,进行脱水、石蜡包埋,切割成 5  $\mu$ m 的石蜡切片。石蜡切片进行苏木精-伊红染色,于蔡司显微镜下分析睾丸、附睾组织病理学。于显微镜下每组随机筛选 50 个圆形生精小管进行直径和面积测量。

1.4 定量实时聚合酶链反应(qRT-PCR) 采用 Trizol(美国英杰生命科技有限公司)法提取睾丸总 RNA,测定总 RNA 浓度及纯度,按逆转录试剂盒 the

PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit [宝生物工程(大连)有限公司]说明书步骤将 mRNA 逆转录成 cDNA,使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司)在

A28132 PCR 系统下进行实时荧光定量 PCR 扩增。以 Gapdh 为内参基因,数据采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法进行分析。使用引物序列如表 1 所示。

表 1 qPCR 实验相关基因的引物序列

Gene	Sequence of forward and reverse primers	GeneBank No.
Nlrp3	F:ATCAACAGGCGAGACCTCTG R:GTCCTCCTGGCATACCATAGA	NM_145827.2
Caspase-1	F:TCATCTATGATGGCAAGGAGTG R:CAAAGTCAATCATGCGGACATC	NM_009807.3
Gsdmd	F:CGATGGGAACATTCAGGGCAGAG R:ACACATTCATGGAGGCACTGGAAC	NM_026960.4
IL-1b	F:ACCTTCCAGGATGAGGACATGA R:GATTCTTTCTTTGAGGCCCA	NM_008361.1
Gapdh	F:ATTGTCAGCAATGCATCCTG R:ATTGTCAGCAATGCATCCTG	GU214026.1

1.5 免疫组织化学检测 石蜡切片用酒精梯度进行水化,用 pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液高压孵育 3 min 修复抗原,滴加内源性过氧化物酶阻断剂,PBS 清洗,滴加非特异染色阻断剂,滴加对应的一抗液,盖上湿盒盖,放入 4 °C 冰箱内过夜,PBS 冲掉切片内的一抗液,加入

二抗,孵育 20 min,用 PBS 冲掉切片内的二抗液,使用 DAB 显色液显色,水洗尽 DAB 液后,放入苏木素中染色、水洗、返蓝、脱水、封片,显微镜下分析染色结果。使用抗体如表 2 所示。

表 2 免疫组化中相关抗体信息

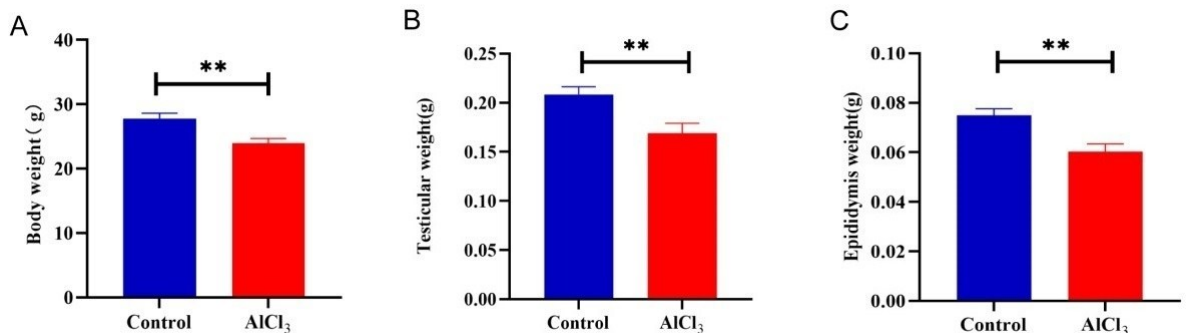
Antibody	Accession No.	Company	Concentration of antibodies in immunohistochemistry
Nlrp3	A5652	爱博泰克生物科技有限公司	1:100
Caspase-1	M025280	艾比玛特医药科技(上海)有限公司	1:200
Gsdmd	# AF4012	Affinity BioReagents	1:100
IL-1b	A16288	爱博泰克生物科技有限公司	1:100
Biotin-conjugated afinipure Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)	SA00004-2	武汉三鹰生物科技有限公司	1:200

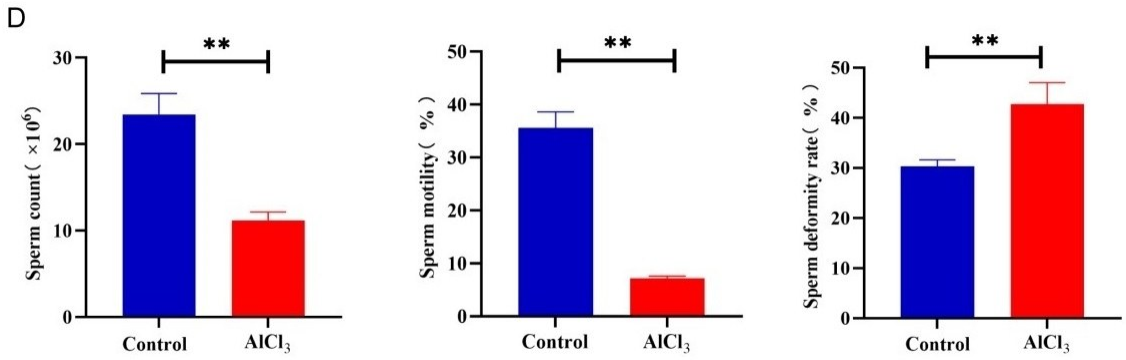
1.6 统计学方法 使用 GraphPad Prism 8.0 版软件,对数据进行统计分析,计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,采用两个独立样本的  $t$  检验。以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 实验结果

### 2.1 铝暴露对小鼠体重、睾丸重量、附睾重量及精子

质量的影响 与对照组相比,铝暴露小鼠体重、睾丸重量及附睾重量均明显下降 ( $P < 0.01$ )。与对照组相比,铝暴露小鼠附睾精子数量、精子活力均显著下降 ( $P < 0.01$ ),精子畸形率显著增加 ( $P < 0.01$ )。结果见图 1。



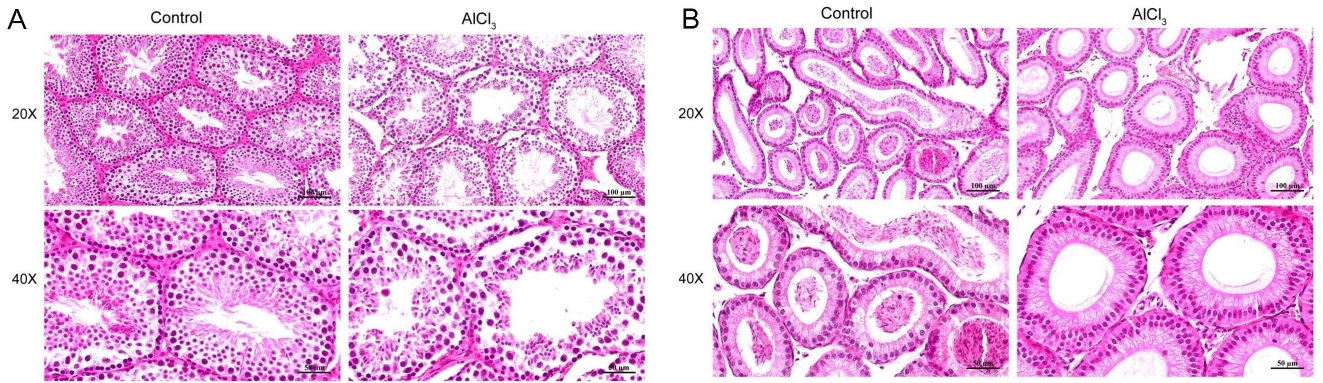


注:A. 对照组与铝暴露小鼠体重; B. 对照组与铝暴露小鼠睾丸重量; C. 对照组与铝暴露小鼠附睾重量; D. 对照组与铝暴露小鼠精子质量。n = 6, \*\* P < 0.01。

图 1 铝暴露对小鼠体重、睾丸重量、附睾重量及精子质量的影响

2.2 铝暴露对小鼠睾丸、附睾病理形态的影响 对照组小鼠睾丸组织学正常形态,有组织良好的生精小管,管内包含不同成熟阶段的生精细胞,细胞排列整齐,管内精子数量多(见图 2A),同样的在附睾中精子数量多

(见图 2B)。然而在铝暴露小鼠中,部分睾丸生精小管萎缩,直径及面积减小,生精细胞层数及数量减少,细胞排列紊乱,管内精子数量明显减少(见图 2A),在附睾中精子数量明显减少(见图 2B)。

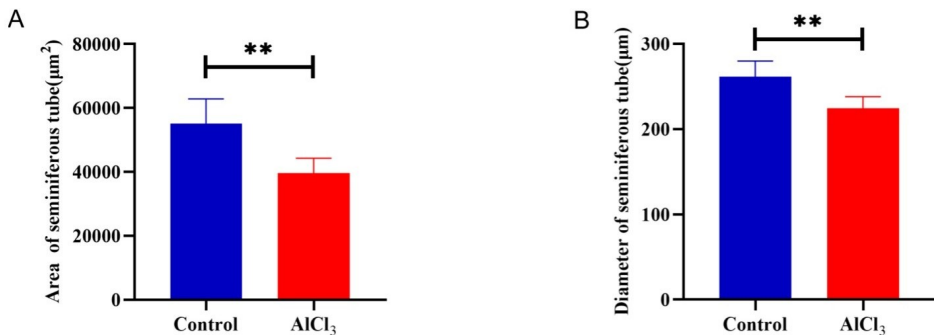


注:A. 对照组与铝暴露小鼠睾丸 HE 染色; B. 对照组与铝暴露小鼠附睾 HE 染色。

图 2 铝暴露对小鼠睾丸、附睾病理形态的影响(放大 200 倍及 400 倍)

2.3 铝暴露对小鼠生精小管直径及面积的影响 与对照组大鼠生精小管的平均面积(55968.42 ± 7420.05) μm<sup>2</sup> 相比,铝暴露小鼠生精小管平均面积(39255.70 ± 2647.92) μm<sup>2</sup> 缩小(见图 3A)。与对照

组生精小管直径(266.69 ± 11.76) μm 相比,铝暴露小鼠生精小管直径(223.95 ± 10.45) μm 也是减小(见图 3B)。

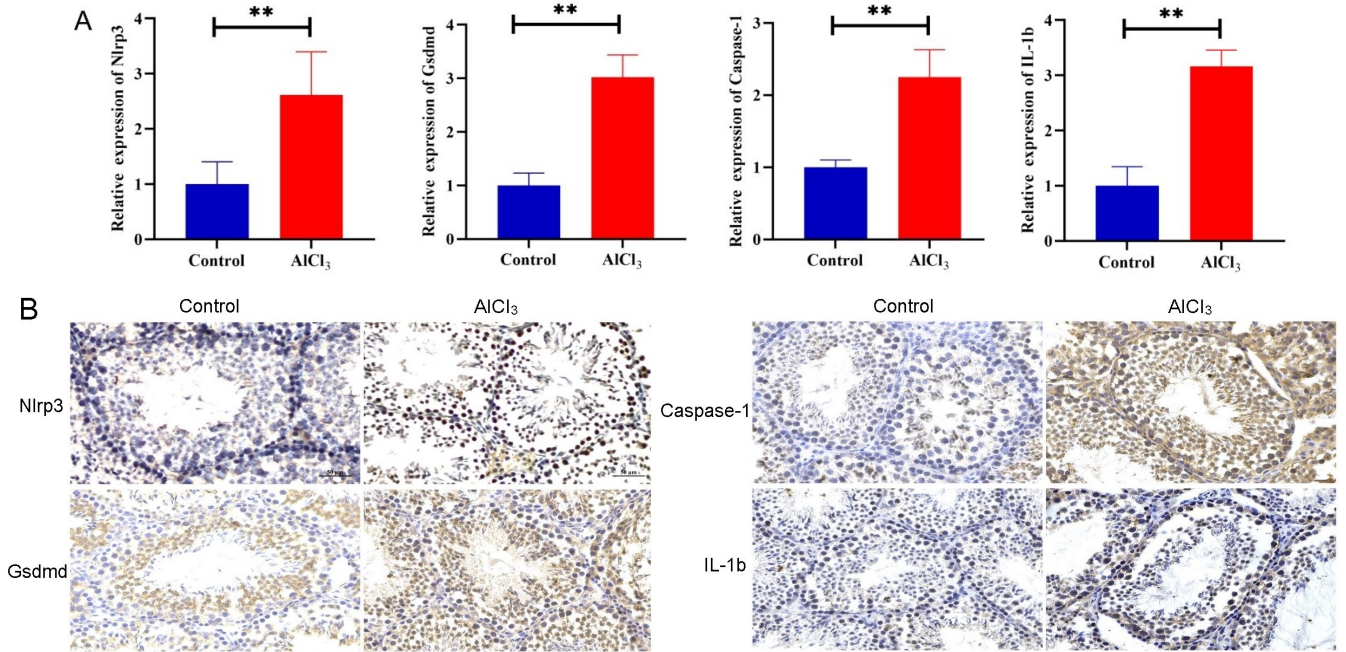


注:A. 对照组与铝暴露小鼠生精小管面积; B. 对照组与铝暴露小鼠生精小管直径; n = 6, \*\* P < 0.01。

图 3 铝暴露对小鼠生精小管面积及直径的影响

2.4 铝暴露对小鼠睾丸组织中焦亡关键基因表达的影响 qRT-PCR 检测显示,与对照组相比,铝暴露小鼠睾丸组织中焦亡关键基因 Nlrp3、Caspase-1、Gsdmd 和 IL-1b mRNA 表达均上调(见图 4A)。免疫组化结

果显示,与对照组相比,铝暴露小鼠睾丸组织中焦亡关键基因 Nlrp3、Caspase-1、Gsdmd 和 IL-1b 的蛋白表达均上调(见图 4B)。



注: A. qRT-PCR 检测铝暴露对小鼠睾丸组织中焦亡关键基因 Nlrp3、Caspase-1、IL-1b、Gsdmd mRNA 表达的影响; B. 免疫组化检测铝暴露对小鼠睾丸组织中焦亡关键基因 Nlrp3、Caspase-1、IL-1b、Gsdmd 蛋白表达的影响。\*  $P < 0.01$

图 4 铝暴露对小鼠睾丸组织中焦亡关键基因表达的影响

### 3 讨论

本研究旨在探讨铝暴露对小鼠精子质量及睾丸组织细胞焦亡的影响,研究结果发现,与对照组相比,铝暴露组小鼠体重、睾丸重量、附睾重量均显著下降,与以往的研究相一致<sup>[15]</sup>。本研究中观察到铝暴露小鼠进食量下降,这是导致其体重下降的重要原因,过往文献也有类似发现<sup>[16]</sup>。睾丸重量是男性生育能力的关键,睾丸重量下降可致生精数量减少<sup>[17]</sup>。研究认为铝暴露小鼠睾丸、附睾重量下降可能是由于铝的作用引起组织坏死和萎缩<sup>[18]</sup>。另一种可能是在铝诱导下产生自由基,导致蛋白质、脂质和 DNA 氧化损伤,最终出现蛋白质消耗<sup>[19-20]</sup>。

精子质量下降是男性生殖毒性的标志之一<sup>[21]</sup>,男性暴露于有毒物质的环境是导致精子质量下降和不孕不育的主要原因之一<sup>[22-23]</sup>。精子活力、精子数量、精子畸形率是精子质量的重要参数,本次研究结果显示铝暴露小鼠精子数量、活力显著下降,精子畸形率显著升高,这与先前的研究报道相一致<sup>[24]</sup>。精子质膜中多不饱和脂肪酸的含量极高,极易受到氧化应激的影响<sup>[25-26]</sup>。铝是一种促氧化剂,它可以通过增强氧自由

基和改变酶活性对睾丸及精子产生氧化应激损伤<sup>[27]</sup>,这可能是精子质量下降的主要原因。

睾丸的组织形态学特征是男性生育能力评估和生殖毒性评估的关键指标<sup>[28]</sup>。在本研究中,铝暴露小鼠睾丸组织形态学观察显示,生精小管缩小,生殖细胞滑脱、排列紊乱、层数减少,精子发生中断,管腔内精子数量减少,在附睾中成熟精子数量减少。之前的研究也报道了暴露于不同环境毒物后,睾丸的结构发生了类似的变化<sup>[29-30]</sup>。金属毒物对睾丸组织形态的改变可能是由于氧化应激引起的,睾丸组织学这些改变预示着精子发生和类固醇生成等重要过程受到干扰,上皮细胞的退化是睾丸损伤的主要原因<sup>[31-32]</sup>。有研究表明,铝暴露大鼠睾丸组织形态学观察证实了精原细胞、细线前精母细胞、粗线精母细胞减少,提示生精活性下降<sup>[33]</sup>。此外,暴露于毒物环境后,生精小管直径减小,同时伴有精子质量下降<sup>[34-35]</sup>,本研究结果显示铝暴露小鼠生精小管面积及直径均减小,同样伴有精子质量下降。因此,认为生精小管直径及面积的减小可能是精子发生缺陷的一个评价指标。

细胞焦亡是近年来发现并证实的一种新的程序性

细胞死亡方式,其特征为依赖于炎症半胱天冬酶,主要是 Caspase-1、Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11,并伴有大量促炎症因子的释放。焦亡经典途径是炎症小体 NLRP3 激活 Caspase-1, Caspase-1 将 GSDMD 裂解形成 N-GSDMD,还能将 IL-1b、IL-18 前体加工成成熟的 IL-1b、IL-18,成熟的 IL-1b、IL-18 并通过 N-GSDMD 形成的孔释放出,导致细胞焦亡<sup>[36]</sup>。在非经典焦亡途径中, Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11 直接结合胞质脂多糖,靶向和激活 GSDMD,切割 GSDMD,并间接激活 Caspase-1,引发细胞焦亡<sup>[37-38]</sup>。铝引发炎症反应, nod 样受体 pyrin 结构域介导的炎症小体 NLRP3 被激活<sup>[39]</sup>。细胞膜膜孔存在及焦亡小体的形成是细胞焦亡的重要标志。有研究报道,铝可引起小鼠神经元细胞膜孔及焦亡小体的形成,同时引起小鼠大脑皮层 Nlrp3、Caspase-1、IL-1b 和 Gsdmd 等焦亡关键蛋白水平的升高,导致神经元细胞焦亡<sup>[40]</sup>。同样,本研究发现在铝暴露小鼠睾丸组织中焦亡关键基因 Nlrp3、Caspase-1、IL-1b 和 Gsdmd 的 mRNA 及蛋白表达均显著升高,推测铝可导致睾丸细胞焦亡,但睾丸细胞膜膜孔和焦亡小体是否形成需要进一步研究。有研究表明,暴露于有毒重金属或其他有毒环境,睾丸及间质细胞发生焦亡,睾丸组织 DNA 断裂及类固醇的生成降低,影响精子的发生<sup>[41-42]</sup>。因此,推测铝暴露可能诱发睾丸细胞焦亡,导致精子质量下降,其发生机制尚不清楚,这将是下一步研究的内容。

铝暴露促进小鼠睾丸细胞焦亡关键因子的表达,降低小鼠精子质量,推测铝暴露诱发的睾丸细胞焦亡是雄性生殖系统损伤的潜在机制。

#### 参考文献:

- [1] YOKEL R A. Aluminum reproductive toxicity: a summary and interpretation of scientific reports [J]. Crit Rev Toxicol, 2020, 50(7): 551-593.
- [2] 李春丽, 梁仲城, 兰贵斌, 等. 铝暴露工人精子线粒体 PARL 与精子质量的相关性及 PARL 下调的分子机制 [J]. 重庆医学, 2019, 48(14): 2407-2411.
- [3] OGUNLADE B, ADELAKUN S, ITEIRE K. Sulforaphane response on aluminum-induced oxidative stress, alterations in sperm characterization and testicular histomorphometry in Wistar rats [J]. Int J Reprod Biomed, 2020, 18(8): 611-624.
- [4] AHMED S A, MOHAMMED W I. Carvedilol induces the antiapoptotic proteins Nrf<sub>2</sub> and Bcl<sub>2</sub> and inhibits cellular apoptosis in aluminum-induced testicular toxicity in male Wistar rats [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 139: 111594.
- [5] 元辉雄, 庞艳芳, 王俊利, 等. 铝对大鼠精子质量及精子线粒体的影响 [J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(7): 579-585.
- [6] COOKSON B T, BRENNAN M A. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. Trends Microbiol, 2001, 9(3): 113-114.
- [7] FANG Y, TIAN S W, PAN Y T, et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109595.
- [8] DING J J, WANG K, LIU W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family [J]. Nature, 2016, 535(7610): 111-116.
- [9] HAO W D, HAO C Y, WU C R, et al. Aluminum impairs cognitive function by activating DDX3X-NLRP3-mediated pyroptosis signaling pathway [J]. Food Chem Toxicol, 2021, 157: 112591.
- [10] DARBANDI M, DARBANDI S, AGARWAL A, et al. Reactive oxygen species and male reproductive hormones [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 87.
- [11] LOKMAN M, ASHRAF E, KASSAB R B, et al. Aluminum chloride-induced reproductive toxicity in rats: the protective role of zinc oxide nanoparticles [J]. Biol Trace Elem Res, 2022, 200(9): 4035-4044.
- [12] CAO C Y, ZHANG H J, WANG K, et al. Selenium-rich yeast mitigates aluminum-mediated testicular toxicity by blocking oxidative stress, inhibiting no production, and disturbing ionic homeostasis [J]. Biol Trace Elem Res, 2020, 195(1): 170-177.
- [13] 元辉雄. 基于线粒体损伤研究铝暴露对精子质量的影响 [D]. 百色: 右江民族医学院, 2019.
- [14] WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [M]. Switzerland: WHO Press, 2010: 21-36.
- [15] LLOBET J M, COLOMINA M T, SIRVENT J J, et al. Reproductive toxicology of aluminum in male mice [J]. Fundam Appl Toxicol, 1995, 25(1): 45-51.
- [16] GOLUB M S, Germann S L. Long-term consequences of developmental exposure to aluminum in a suboptimal diet for growth and behavior of swiss webster mice [J]. Neurotoxicol Teratol, 2001, 23(4): 365-372.
- [17] FRANCA L R, GODINHO C L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*) [J]. Biol Reprod, 2003, 68(5): 1554-1561.
- [18] ABDEL-MONEIM A M. Effects of taurine against histomorphological and ultrastructural changes in the testes of mice exposed to aluminium chloride [J]. Arh Hig Rada Toksikol, 2013, 64(3): 405-414.
- [19] JEBUR A B, EL-DEMERDASH F M, KANG W Y. Bromelain from ananas comosus stem attenuates oxidative toxicity and testicular dysfunction caused by aluminum in rats [J]. J Trace Elem Med Biol, 2020, 62: 126631.
- [20] NEHRU B, ANANDD P. Oxidative damage following chronic aluminium exposure in adult and pup rat brains [J]. J Trace Elem Med Biol, 2005, 19(2-3): 203-208.

- [21] BOEKELHEIDE K, CHAPIN R, HOYER P, et al. Comprehensive toxicology[M]. New York: Pergamon Press, 1997.
- [22] NORDKAP L, JOENSEN U N, JENSEN M B, et al. Regional differences and temporal trends in male reproductive health disorders; semen quality may be a sensitive marker of environmental exposures[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 355(2): 221-230.
- [23] MEHRPOUR O, KARRARI P, ZAMANI N, et al. Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: a review[J]. Toxicol Lett, 2014, 230(2): 146-156.
- [24] MAGHRAOUI S, FLOREA A, AYADI A, et al. Changes in organ weight, sperm quality and testosterone levels after aluminum (Al) and indium (In) administration to wistar rats[J]. Biol Trace Elem Res, 2023, 20(2): 766-775.
- [25] KOKSAL I T, USTA M, ORHAN I, et al. Potential role of reactive oxygen species on testicular pathology associated with infertility. [J]. Asian J Androl, 2003, 5(2): 95-99.
- [26] AITKEN R J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function[J]. Reprod Fertil Dev, 1995, 7(4): 659-668.
- [27] OGUNLADE B, ADELAKUN S, ITEIRE K. Sulforaphane response on aluminum-induced oxidative stress, alterations in sperm characterization and testicular histomorphometry in wistar rats[J]. Int J Reprod Biomed, 2020, 18(8): 611-624.
- [28] TURNER O, REGINA M. Pathogenesis, diagnosis, and management of testicular degeneration in stallions[J]. Clin Tech Equine Pract, 2007, 6(4): 278-284.
- [29] MOWAAD N A, ASAAD G F, EL-SHAMARKA M E A, et al. Cross-talk between down-regulation of steroidogenic genes expression and oxidative and apoptotic biomarkers in testes induced by administration of tramadol and boldenone and their combination in male albino rats [J]. Iran J Basic Med Sci, 2022, 25(7): 808-815.
- [30] YANG Y C, ZUO Z, YANG Z Z, et al. Nickel chloride induces spermatogenesis disorder by testicular damage and hypothalamic-pituitary-testis axis disruption in mice. [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2021, 225: 112718.
- [31] MARTINEZ C S, ESCOBAR A G, URANGA-OCIO J A, et al. Aluminum exposure for 60 days at human dietary levels impairs spermatogenesis and sperm quality in rats[J]. Reprod Toxicol, 2017, 73: 128-141.
- [32] CHEN H M, KANG Z L, QIAO N, et al. Chronic copper exposure induces hypospermatogenesis in mice by increasing apoptosis without affecting testosterone secretion[J]. Biol Trace Elem Res, 2020, 195(2): 472-480.
- [33] OGUNLADE B, ADELAKUN S, ITEIRE K. Sulforaphane response on aluminum-induced oxidative stress, alterations in sperm characterization and testicular histomorphometry in wistar rats. [J]. Int J Reprod Biomed, 2020, 18(8): 611-624.
- [34] PIRES V C, GOLLUCKE A P B, RIBEIRO D A, et al. Grape juice concentrate protects reproductive parameters of male rats against cadmium-induced damage: A chronic assay[J]. Br J Nutr, 2013, 110(11): 2020-2029.
- [35] WANG J Y, MA D, LUO M, et al. Effect of spermidine on ameliorating spermatogenic disorders in diabetic mice via regulating glycolysis pathway[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2022, 20(1): 45.
- [36] YU P, ZHANG X, LIU N, et al. Pyroptosis: mechanisms and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 128.
- [37] FRANK D, VINCE J E. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk[J]. Cell Death Differ, 2019, 26(1): 99-114.
- [38] 黄兰松, 刘燕, 黄表华, 等. 龙血竭总黄酮预处理对心肌缺血再灌注损伤大鼠细胞焦亡的影响[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(3): 309-314.
- [39] LIANG H P, GAO J, ZHANG C, et al. Nicotinamide mononucleotide alleviates aluminum induced bone loss by inhibiting the TXNIP-NLRP3 inflammasome [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 362: 20-27.
- [40] HAO W D, HAO C Y, WU C R, et al. Aluminum impairs cognitive function by activating DDX3X-NLRP3-mediated pyroptosis signaling pathway[J]. Food Chem Toxicol, 2021, 157: 112591.
- [41] ZHOU J Z, ZENG L, ZHANG Y W, et al. Cadmium exposure induces pyroptosis in testicular tissue by increasing oxidative stress and activating the AIM2 inflammasome pathway[J]. Sci Total Environ, 2022, 847: 157500.
- [42] LI M Y, ZHU X L, ZHAO B X, et al. Adrenomedullin alleviates the pyroptosis of Leydig cells by promoting autophagy via the ROS-AMPK-mTOR axis[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(7): 489.

收稿日期: 2022-11-21; 修回日期: 2022-12-20