

· 论 著 ·

不育症患者精浆金属雌激素与精子质量的关联

徐维海¹, 骆文龙², 张岭¹, 高方¹, 吴丽梅¹, 邹玲莉³

1. 浙江省人民医院(杭州医学院附属人民医院)生殖内分泌科, 浙江 杭州 310014;

2. 杭州市富阳区妇幼保健院生殖中心; 3. 空军杭州特勤疗养中心疗养三区

摘要: **目的** 分析不育症患者精浆金属雌激素(MEs)水平与精子质量的关联, 为研究MEs对精子质量的影响提供依据。**方法** 选择2020年3—4月在浙江省人民医院生殖中心确诊的不育症男性患者, 检测精子浓度、前向活动率(PR)、正常形态率(NMR)和DNA碎片指数(DFI); 采用电感耦合等离子体质谱法测定精浆中的砷(As)、镉(Cd)、钴(Co)、铬(Cr)、铜(Cu)、汞(Hg)和镍(Ni)等MEs, 分析精子质量异常患者精浆MEs分布以及不同MEs浓度组(按四分位数分组)精子参数。**结果** 纳入男性不育症患者105例, 其中精子质量正常组28例; 精子质量异常组77例, 包含少精子症、弱精子症、畸形精子症和DFI异常, 分别为22、47、54和30例。精子质量正常组和异常组精浆As、Cr、Cu、Hg和Ni检出率均为100%, Cd、Co检出率为78.57%~90.91%。与正常组比较, 少精子症组As含量较高[(18.96±12.56) μg/L vs. (13.67±4.19) μg/L, $P < 0.05$], 弱精子症、畸形精子症和DFI异常组的Cr含量较高[(386.62±81.92)、(378.02±81.46)、(393.88±77.03) μg/L vs. (343.12±55.08) μg/L, P 均 < 0.05]。精浆Cr含量 Q_3 和 Q_4 组精子PR低于 Q_2 组[(32.95±18.22)%、(27.74±22.77)% vs. (54.18±24.64)%, P 均 < 0.05], Q_3 和 Q_4 组DFI高于 Q_2 组[(26.91±14.77)%、(29.91±16.93)% vs. (9.87±10.93)%, P 均 < 0.05], Q_4 组NMR低于 Q_2 组[1.00% (2.50%) vs. 4.00% (4.00%), $P < 0.05$]。Cu含量 Q_3 组精子浓度高于 Q_2 组[(115.87±88.22) × 10⁶/mL vs. (61.91±66.16) × 10⁶/mL, $P < 0.05$]。**结论** 不育症患者精浆中As和Cu与精子浓度异常有关, Cr与精子形态、PR及DFI异常有关。

关键词: 不育症; 精子质量; 金属雌激素; 精浆

中图分类号: R321.1

文献标识码: A

文章编号: 2096-5087(2021)07-0679-06

The association between metalloestrogens in seminal plasma and sperm quality in infertile patients

XU Weihai*, LUO Wenlong, ZHANG Ling, GAO Fang, WU Limei, ZOU Lingli

**Department of Reproductive Endocrinology, Zhejiang Provincial People's Hospital (People's Hospital of Hangzhou Medical College), Hangzhou, Zhejiang 310014, China*

Abstract: Objective To analyze the association between the concentration of metalloestrogens (MEs) in seminal plasma and sperm quality in infertile patients, so as to provide the basis for the study of MEs on human sperm quality. **Methods** The spermatozoa concentration, progressive rate (PR), normal morphology rate (NMR) and DNA fragmentation index (DFI) were determined in the infertile male patients from Zhejiang Provincial People's Hospital from March to April, 2020. The contents of As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg and Ni in seminal plasma were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The distribution of MEs in seminal plasma and the sperm quality in different concentration of MEs (grouped by quartiles) were analyzed. **Results** Among 105 cases recruited, 28 cases were normal in sperm parameters and 77 cases were abnormal, including 22 cases of oligospermia, 47 cases of asthenospermia, 54 cases of dysspermia and 30 cases of abnormal DFI. As, Cr, Cu, Hg and Ni were detected in all samples, the detec-

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.07.007

基金项目: 浙江省自然科学基金(LGF21H040008)

作者简介: 徐维海, 硕士, 副主任技师, 主要从事生殖医学实验工作

通信作者: 邹玲莉, E-mail: 575723407@qq.com

tion rates of Cd and Co were 78.57%–90.91%. Compared with the normal group, the concentration of As in oligospermia group was higher [(18.96±12.56) $\mu\text{g/L}$ vs. (13.67±4.19) $\mu\text{g/L}$, $P<0.05$], the concentration of Cr was higher in asthenospermia, dysspermia and abnormal DFI in Q_3 and Q_4 groups [(386.62±81.92), (378.02±81.46), (393.88±77.03) $\mu\text{g/L}$ vs. (343.12±55.08) $\mu\text{g/L}$, $P<0.05$]. The PRs in Q_3 and Q_4 groups of Cr were lower than that in Q_2 group [(32.95±18.22)%, (27.74±22.77)% vs. (54.18±24.64)%, $P<0.05$], the DFI in Q_3 and Q_4 groups was higher than that in Q_2 group [(26.91±14.77)%, (29.91±16.93)% vs. (9.87±10.93)%, $P<0.05$], and the NMR in Q_4 group was lower than that in Q_2 group [(1.62±1.72)% vs. (3.36±1.97)%, $P<0.05$]. The concentration of sperm in Q_3 group of Cu was higher than that in Q_2 group [(115.87±88.22)×10⁶/mL vs. (61.91±66.16)×10⁶/mL, $P<0.05$]. **Conclusion** As and Cu in seminal plasma are associated with abnormal sperm concentration, and Cr is associated with NMR, PR and DFI.

Keywords: infertility; sperm quality; metalloestrogen; seminal plasma

我国育龄人群不育症发生率为 15%~20%，其中约 50% 与男性有关^[1]。由于行为习惯、生存环境影响等多种因素的累积效应，人类精子数量呈下降趋势^[2]，金属雌激素 (metalloestrogens, MEs) 作为异源性环境干扰物是重要的影响因素之一^[3]。MEs 是一类广泛存在于环境中的具有异源性雌激素活性的金属和类金属元素，如砷 (As)、镉 (Cd)、钴 (Co)、铬 (Cr)、铜 (Cu)、汞 (Hg) 和镍 (Ni) 等，其中多数为重金属元素，在环境中的含量随着人类活动增加显著升高，对人类健康的影响日益凸显。

MEs 可通过多种途径进入人体，影响正常生殖。MEs 进入机体后通常与红细胞结合，因此血清或尿液 MEs 含量不能准确反映其在机体中的实际暴露状况^[4]。精浆是与精子发生和生存直接相关的体液，被认为是目前研究 MEs 对男性生殖影响有效的生物材料^[5]。本研究分析男性不育症患者精浆 MEs 与精子质量的关联。现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 选择 2020 年 3—4 月在浙江省人民医院生殖中心确诊为不育症进行辅助生殖治疗的男性为研究对象，排除有主动吸烟史、酗酒史、吸毒史、重金属相关职业暴露史、放射线接触史、精索静脉曲张病史、泌尿生殖系统炎症和生殖系统手术史者。该研究通过浙江省人民医院医学伦理委员会审查 (批准号: 2021QT119)。

1.2 主要试剂与仪器 试剂: 精子 DNA 碎片试剂盒 (深圳博锐德生物科技有限公司), 精子形态染色试剂盒 (珠海贝索生物技术有限公司), As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg 和 Ni 标准品 (国药集团化学试剂有限公司), 钇 (Y) 和铑 (RH) 标准溶液 (美国 Perkin Elmer 公司), 68% 硝酸 (苏州晶瑞化学股份有限公司); ClinChek® I 级和 II 级人血浆质控 (RECIPE, 德国)。仪器: 精子质量分析仪 (SCA,

Version 1.1.1.5, 西班牙 Microptic S.L), 流式细胞仪 (深圳迈瑞 Bricyte E6), 电感耦合等离子体质谱仪 (NexION300D, 美国 PerkinElmer 公司)。

1.3 精液样本采集和保存 研究对象禁欲 3~7 d, 采用手淫法采集精液于无菌广口样品杯, 过程中避免污染。用于 MEs 测定的精液置于离心管中, 3 000×g 离心 15 min, 取上层精浆放入冷冻管, -80 °C 冰箱保存备用。实验用品均为无 MEs 污染的聚乙烯材料制成。

1.4 方法

1.4.1 精液质量检测 按照《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册 (第五版)》^[6] 要求, 采用 SCA 检测精子浓度、前向活动率 (progressive rate, PR) 等。将精液标本涂片后固定, 经改良巴氏法染色, 在 1 000× 的放大倍数下观察精子形态, 计算正常形态率 (normal morphology rate, NMR)。

1.4.2 精子 DNA 碎片指数 (DNA fragmentation index, DFI) 分析 根据精子浓度吸取一定体积的精液加入酸化试剂, 使精子浓度为 (2~3) ×10⁶/mL, 经酸处理、吖啶橙染色后, 在流式细胞仪上检测至少 5 000 个精子, 获得精子的 DFI 结果。

1.4.3 精浆 MEs 测定 将冷冻精浆融化后充分混匀, 取 0.4 mL 移至聚乙烯管中, 用 1.4% HNO₃ (v/v) 酸化, 置于 4 °C 冰箱中过夜消化, 然后用纯水以 1:25 比例稀释样本。采用电感耦合等离子体质谱法检测精浆中 As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg 和 Ni, 以 10 $\mu\text{g/L}$ Y 和 RH 标准溶液进行内部在线校准, I 级和 II 级人血浆质控材料进行每日实验室质控。研究期间质控品的回收率为 82%~113%, 日内变异系数 <10%。

1.5 评价指标定义 根据《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册 (第五版)》^[6], 精子浓度 <15×10⁶/mL 为少精子症, PR <32% 为弱精子症, NMR <4% 为畸形精子症, 精子 DFI ≥25% 为精子 DFI 异常。出现至少 1 项指标异常的研究对象纳入异常组,

无任何指标异常者纳入正常组。精浆 MEs 含量采用四分位数分为 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 和 Q_4 组, 通过比较各组精子浓度、PR、NMR 和 DFI, 分析精浆 MEs 与精子质量的关联。

1.6 统计分析 采用 SPSS 19.0 软件统计分析。定性资料采用相对数描述, 组间比较采用 χ^2 检验。服从正态分布的定量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述, 满足方差齐性的两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 Tukey 法; 方差不齐资料两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。不服从正态分布的定量资料采用中位数和四分位数间距 [$M(Q_R)$] 描述, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, 进一步两两比较采用 Nemenyi 法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 纳入研究对象 105 例。精子质量异常组 77 例, 其中少精子症、弱精子症、畸形精子症和 DFI 异常组分别为 22、47、54 和 30 例, 年龄为 (33.0 ± 5.8) 岁; 配偶有妊娠史 15 例, 占 19.48%;

其中有过不良妊娠 11 例, 包括不良妊娠 1 次 2 例, 2 次 4 例, ≥ 3 次 5 例。正常组 28 例, 年龄为 (32.6 ± 4.7) 岁; 配偶有妊娠史 14 例, 占 50.00%; 其中有过不良妊娠 12 例, 包括不良妊娠 1 次 4 例, 2 次 5 例, ≥ 3 次 3 例。两组患者配偶有妊娠史比例差异有统计学意义 ($\chi^2=9.567, P=0.003$), 年龄 ($t=0.311, P=0.757$)、配偶有过不良妊娠比例 ($\chi^2=0.676, P=0.651$) 和不良妊娠次数构成 ($\chi^2=3.748, P=0.586$) 差异均无统计学意义。

2.2 精子质量异常组与正常组精浆 MEs 检出率比较 精子质量异常组与正常组精浆 As、Cr、Cu、Hg 和 Ni 检出率均为 100.00%。异常组 61 例检出 Cd, 检出率为 79.22%; 70 例检出 Co, 检出率为 90.91%。正常组 22 例检出 Cd, 检出率为 78.57%; 25 例检出 Co, 检出率为 89.28%。两组患者 Cd ($\chi^2=0.005, P>0.999$) 和 Co ($\chi^2=0.063, P=0.724$) 检出率差异均无统计学意义。

2.3 精子质量异常组与正常组精浆 MEs 含量比较 少精子症组的 As ($t=2.091, P=0.042$)、弱精子症组的 Cr ($t=2.745, P=0.008$)、畸形精子症组的 Cr ($t=2.295, P=0.025$) 和精子 DFI 异常组的 Cr ($t=2.901, P=0.005$) 含量均高于正常组。见表 1。

表 1 5 组不育症患者精浆 MEs 含量比较 ($\mu\text{g/L}$)

组别	As	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Ni
正常组 ($n=28$)	13.67 \pm 4.19	0.85 \pm 0.72	1.02 \pm 0.70	343.12 \pm 55.08	163.41 \pm 72.07	1.42 (0.29)	12.12 \pm 9.64
少精子症组 ($n=22$)	18.96 \pm 12.56 ^a	0.72 \pm 0.42	0.95 \pm 0.46	380.96 \pm 85.53	149.84 \pm 54.44	1.46 (0.63)	11.45 \pm 7.62
弱精子症组 ($n=47$)	15.35 \pm 8.77	0.70 \pm 0.47	0.94 \pm 0.47	386.62 \pm 81.92 ^a	151.40 \pm 48.74	1.43 (0.31)	11.06 \pm 8.48
畸形精子症组 ($n=54$)	14.09 \pm 5.82	0.67 \pm 0.63	0.90 \pm 0.44	378.02 \pm 81.46 ^a	146.52 \pm 42.55	1.43 (0.21)	10.48 \pm 6.79
精子 DFI 异常组 ($n=30$)	14.13 \pm 7.33	0.62 \pm 0.42	0.96 \pm 0.52	393.88 \pm 77.03 ^a	151.70 \pm 46.22	1.45 (0.31)	11.78 \pm 8.40

注: Hg 浓度采用 $M(Q_R)$ 描述, 其他均采用 $\bar{x}\pm s$ 描述; a 表示与对照组比较, $P<0.05$ 。

2.4 不同 MEs 含量组精子质量参数比较 Cr 含量 Q_3 组 ($t=3.440, P=0.001$) 和 Q_4 组 ($t=3.861, P<0.001$) 的 PR 均低于 Q_2 组; Q_4 组的 NMR 低于 Q_2 组 ($\chi^2=23.724, P=0.003$); Q_3 组 ($t=4.140, P<0.001$)

和 Q_4 组 ($t=3.920, P=0.001$) 的 DFI 均高于 Q_2 组。Cu 含量 Q_3 组的精子浓度高于 Q_2 组 ($t=2.526, P=0.015$)。其他组间比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同 MEs 含量组精子质量参数比较

MEs 分组	精子浓度 ($\times 10^6/\text{mL}$)	PR (%)	NMR (%)	DFI (%)
As				
Q_1	93.78 \pm 68.88	38.90 \pm 25.10	2.72 \pm 1.99	22.04 \pm 15.73
Q_2	91.66 \pm 83.72	39.81 \pm 26.50	2.29 \pm 1.82	22.04 \pm 21.35
Q_3	74.77 \pm 54.52	41.77 \pm 22.76	2.52 \pm 1.97	17.55 \pm 15.61
Q_4	71.99 \pm 87.20	39.55 \pm 24.43	2.36 \pm 2.06	22.05 \pm 17.69

表 2 (续)

MEs 分组	精子浓度 (×10 ⁶ /mL)	PR (%)	NMR (%)	DFI (%)
<i>F</i> 值	0.593	0.063	0.222	0.316
<i>P</i> 值	0.621	0.979	0.881	0.813
Cd				
<i>Q</i> ₁	74.75 (113.20) ^a	42.26±25.90	2.21±1.93	22.25±19.77
<i>Q</i> ₂	44.40 (72.50) ^a	37.54±23.76	1.88±1.60	20.40±16.04
<i>Q</i> ₃	68.25 (156.25) ^a	41.08±24.32	3.00±2.05	20.92±17.90
<i>Q</i> ₄	37.85 (47.58) ^a	39.37±24.60	2.95±2.06	19.60±16.37
<i>F</i> /χ ² 值	2.122	0.170	1.935	0.070
<i>P</i> 值	0.548	0.916	0.130	0.976
Co				
<i>Q</i> ₁	79.83±57.84	41.79±25.81	2.30±2.03	20.83±20.84
<i>Q</i> ₂	79.57±85.09	38.61±22.44	2.30±1.79	22.05±15.70
<i>Q</i> ₃	81.60±72.79	41.00±23.74	2.70±2.08	17.72±16.45
<i>Q</i> ₄	91.66±82.05	38.77±26.50	2.64±1.94	22.34±17.24
<i>F</i> 值	0.151	0.102	0.261	0.268
<i>P</i> 值	0.929	0.959	0.853	0.848
Cr				
<i>Q</i> ₁	64.85±51.72	45.78±23.50	1.00 (4.00) ^a	15.69±18.90
<i>Q</i> ₂	99.53±86.23	54.18±24.64	4.00 (4.00) ^a	9.87±10.93
<i>Q</i> ₃	93.32±82.44	32.95±18.22 ^b	2.00 (2.50) ^a	26.91±14.77 ^b
<i>Q</i> ₄	74.18±70.53	27.74±22.77 ^b	1.00 (2.50) ^{ab}	29.91±16.93 ^b
<i>F</i> /χ ² 值	1.259	7.034	9.661	6.253
<i>P</i> 值	0.293	<0.001	0.022	0.001
Cu				
<i>Q</i> ₁	68.44±58.58	37.65 (39.97) ^a	2.29±1.76	23.75±18.51
<i>Q</i> ₂	61.91±66.16	46.00 (36.07) ^a	2.17±1.93	15.16±15.59
<i>Q</i> ₃	115.87±88.22 ^b	34.95 (42.37) ^a	2.87±1.98	20.90±17.18
<i>Q</i> ₄	87.11±73.49	27.05 (56.07) ^a	2.61±2.10	22.13±17.62
<i>F</i> /χ ² 值	2.930	1.185	0.614	0.696
<i>P</i> 值	0.037	0.756	0.608	0.558
Hg				
<i>Q</i> ₁	76.03±76.33	37.78±24.99	2.78±1.98	22.05±20.18
<i>Q</i> ₂	76.62±70.92	40.18±25.11	2.24±2.13	14.96±13.60
<i>Q</i> ₃	102.30±78.03	42.48±20.44	2.32±1.86	23.04±16.72
<i>Q</i> ₄	79.80±74.04	39.88±27.46	2.62±1.83	23.73±18.45
<i>F</i> 值	0.696	0.148	0.393	1.011
<i>P</i> 值	0.557	0.931	0.758	0.393
Ni				
<i>Q</i> ₁	71.94±71.15	34.85±23.70	2.09±1.87	29.24±21.66
<i>Q</i> ₂	90.74±77.25	42.42±25.33	2.39±1.95	17.45±15.65
<i>Q</i> ₃	86.82±78.78	45.88±21.88	3.00±2.02	17.52±16.28
<i>Q</i> ₄	82.72±72.98	36.94±26.03	2.41±1.92	21.75±15.49
<i>F</i> 值	0.306	1.040	0.892	1.580
<i>P</i> 值	0.831	0.379	0.449	0.202

注: a表示采用*M* (*Q_n*) 描述, 其他项均采用 $\bar{x}±s$ 描述; b表示与*Q*₂比较, *P*<0.05。

3 讨论

本研究纳入了 105 例男性不育症患者, 分别有 22、47、54 和 30 例检出少精子症、弱精子症、畸形精子症和 DFI 异常等精子质量异常, 与 28 例精子质量正常者比较, 年龄、配偶不良妊娠比例和次数差异均无统计学意义。患者精浆 MEs 检测结果显示, As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg 和 Ni 均存在较高的检出率, 均超过 78%, 且精子质量异常组和正常组检出率无明显差异。现有研究表明, 环境中的 MEs 可通过多种途径进入人体^[4, 7-9], As^[8]、Cd^[10] 和 Cr^[11] 可穿过血睾屏障进入睾丸, 或蓄积于附睾、精囊和前列腺中, 使精子暴露于 MEs 环境中, 尤其是有毒重金属 Cd、As 等造成的男性生殖风险需持续关注。Cd 暴露可影响精子质量, 尤其对精子活力损害明显^[12], 当其浓度达 0.085 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 时, 可造成 50% 的个体精子活力降低^[13]。本研究中不育症患者精浆的 Cd 水平均在 0.6 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以上, 应充分评估其与不育症发病的关系。

本研究显示, 少精子症患者精浆 As 含量比正常组高。As 含量升高可以通过多种机制影响人类精子数量和质量。REHMAN 等^[14] 发现 As 可通过氧化应激损伤睾丸组织, 造成生精小管萎缩以及生殖细胞减少; ZUBAIR 等^[15] 证实机体内高含量的 As 作用可通过升高血浆糖皮质激素水平, 抑制促性腺激素细胞对促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 的敏感性和促性腺激素的分泌, 对正常的生殖内分泌产生干扰作用, 最终造成性腺毒性, 导致精子数量减少。

弱精子症、畸形精子症和精子 DFI 异常患者精浆中 Cr 含量较高, 且 Cr 含量高组精子的 PR 更低, DFI 和 NMR 更高, 提示 Cr 含量升高与精子参数的异常变化存在关联。Cr 对精子的影响通过氧化应激损伤和内分泌干扰实现。六价 Cr 是一种强氧化剂, 可透过血睾屏障^[11] 进入睾丸和其他附属性腺, 造成细胞氧化损伤^[16-17] 和精子 DNA 结构改变。MARZEC-WRÓBLEWSKA 等^[18] 发现人类精浆中 Cr 浓度与 PR 存在负相关关系。动物实验结果也表明, 机体暴露于高浓度 Cr 明显增加异常形态精子的比例^[19], 降低精子的前向活动能力^[20]。此外, Cr 暴露的大鼠血清中卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 和黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 水平升高, 睾酮水平降低, 并且这些激素的变化与睾丸组织 Cr 含量呈剂量依赖性^[21], 表现出明显

的异源性雌激素干扰效应。

Cu 是人体必需的微量元素, 附睾和前列腺液中存在大量的 Cu^[7]。较高的 Cu 浓度可造成生殖系统的铜毒性损伤, 但适当的 Cu 浓度对于引发生殖细胞减数分裂是必需的^[7, 13]。已有研究表明 Cu 缺乏与精子浓度降低有关, 主要原因是 Cu 不足造成睾丸中支持细胞功能失活、生精小管发育不良^[22]。尽管目前对于维持正常生精功能的 Cu 阈值不明, 但本研究中 Cu 含量 Q₃ 组的精子浓度较高, 说明适当 Cu 含量对于维持正常生精功能的重要性。

本研究显示精浆中 As、Cu 与精子浓度关联, Cr 与精子 NMR、PR 和 DFI 关联。未来将针对 MEs 在体内的存在形式、个体对 MEs 的敏感性差异以及多种 MEs 协同作用对生殖的干扰开展研究, 揭示 MEs 对男性生殖能力的复杂影响机制。

参考文献

- [1] 曹佳. 环境有害因素对男性生殖健康的影响及其机制 [J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52 (7): 681-684.
- [2] REN J C, CUI J P, CHEN Q, et al. Low-level lead exposure is associated with aberrant sperm quality and reproductive hormone levels in Chinese male individuals: results from the MARHCS study low-level lead exposure is associated with aberrant sperm quality [J/OL]. *Chemosphere*, 2020, 244 [2021-05-19]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125402>.
- [3] JURKOWSKA K, KRATZ E M, SAWICKA E, et al. The impact of metal loestrogens on the physiology of male reproductive health as a current problem of the XXI century [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2019, 70 (3): 337-355.
- [4] UPADHYAY M K, SHUKLA A, YADAV P, et al. A review of arsenic in crops, vegetables, animals and food products [J]. *Food Chem*, 2019, 276: 608-618.
- [5] ZHANG G, YAN H, CHEN Q, et al. Effects of cell phone use on semen parameters: results from the MARHCS cohort study in Chongqing, China [J]. *Environ Int*, 2016, 91: 116-121.
- [6] 世界卫生组织. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册 (第五版) [M]. 国家人口和计划生育委员会科学技术研究所, 中华医学会男科学分会, 中华医学会生殖医学分会精子库管理学组, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 5-86.
- [7] OGÓREK M, GASIOR Ł, PIERZCHAŁA O, et al. Role of copper in the process of spermatogenesis [J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2017, 71: 663-683.
- [8] SOUZA A, BASTOS D, SERTORIO M, et al. Combined effects of arsenic exposure and diabetes on male reproductive functions [J]. *Andrology*, 2019, 7 (5): 730-740.
- [9] ALVAREZ C C, BRAVO-GÓMEZ M E, HERNÁNDEZ-ZAVALA A. Hexavalent chromium: regulation and health effects [J/OL]. *J Trace Elem Med Biol*, 2021, 65 [2021-05-19]. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126729>.

- [10] CALDERÓN B, HEVIA V, VEGA-PIÑERO B, et al. Serum retinol, folic acid, and copper are associated with sperm abnormalities in men with obesity [J]. *J Am Coll Nutr*, 2018, 37 (3): 194-200.
- [11] DALLAGO B S, LIMA B A, BRAZ S V, et al. Tissue accumulation and urinary excretion of Cr in chromium picolinate (CrPic) - supplemented lambs [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2016, 35: 30-35.
- [12] KUMAR S, SHARMA A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility [J]. *Rev Environ Health*, 2019, 34 (4): 327-338.
- [13] HERMAN S, LIPÍŃSKI P, OGÓREK M, et al. Molecular regulation of copper homeostasis in the male gonad during the process of spermatogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (23): 9053.
- [14] REHMAN K, FATIMA F, WAHEED I, et al. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119 (1): 157-184.
- [15] ZUBAIR M, AHMAD M, QURESHI Z I. Review on arsenic-induced toxicity in male reproductive system and its amelioration [J]. *Andrologia*, 2017, 49 (9): e12791.
- [16] AMMAR O, HOUAS Z, MEHDI M. The association between iron, calcium, and oxidative stress in seminal plasma and sperm quality [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, 26 (14): 14097-14105.
- [17] MAROUANI N, TEBOURBI O, HALLÈGUE D, et al. Mechanisms of chromium hexavalent-induced apoptosis in rat testes [J]. *Toxicol Ind Health*, 2017, 33 (2): 97-106.
- [18] MARZEC-WRÓBLEWSKA U, KAMINSKI P, ŁAKOTA P, et al. Human sperm characteristics with regard to cobalt, chromium, and lead in semen and activity of catalase in seminal plasma [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2019, 188 (2): 251-260.
- [19] MAMINA V P, ZHIGALSKY O A. Influence of β -carotene on the spermatogenic epithelium and output dominant lethal mutations in rats under the exposure to hexavalent chromium [J]. *Gig Sanit*, 2016, 95 (7): 682-685.
- [20] POKHREL G, SHI Y, WANG W, et al. Correlation between urinary chromium level and semen quality in men attending an andrology laboratory [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27 (18): 23301-23308.
- [21] NAVIN A K, ARULDHAS M M, NAVANEETHABALAKRISHNAN S, et al. Prenatal exposure to hexavalent chromium disrupts testicular steroidogenic pathway in peripubertal F1 rats [J]. *Reprod Toxicol*, 2021, 101: 63-73.
- [22] TVRDA E, PEER R, SIKKA S C, et al. Iron and copper in male reproduction: a double-edged sword [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32 (1): 3-16.

收稿日期: 2021-04-14 修回日期: 2021-05-19 本文编辑: 徐文璐

(上接第 678 页)

- [16] LE T M, BORGHI J A, KUJAWA A J, et al. Alterations in visual cortical activation and connectivity with prefrontal cortex during working memory updating in major depressive disorder [J]. *Neuroimage Clin*, 2017, 14: 43-53.
- [17] SMITH J, BROWNING M, CONEN S, et al. Vortioxetine reduces BOLD signal during performance of the N-back working memory task: a randomised neuroimaging trial in remitted depressed patients and healthy controls [J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23 (5): 1127-1133.
- [18] 简炜颖, 关力杰, 黄建伟, 等. 难治性抑郁症与首发抑郁症患者认知功能的对比研究 [J]. *天津医药*, 2017, 45 (12): 1275-1278.
- [19] 刘治港, 赵晓峰, 张会杰, 等. 反复发作抑郁症患者认知功能损害研究 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28 (7): 636-641.
- [20] 娄乐. 抑郁症患者认知功能损害及其影响因素初步研究 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2015.
- [21] 谢慧, 罗跃嘉, 张丹丹. 基于 N-back 任务的抑郁群体工作记忆更新研究进展和展望 [J]. *心理学通讯*, 2019, 2 (1): 43-49.

收稿日期: 2021-01-27 修回日期: 2021-05-21 本文编辑: 吉兆洋