

精杞胶囊对大鼠生精功能损伤的保护作用

万 芳¹, 马 红^{1*}, 吕 晔², 韦 敏²

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: **目的** 探讨精杞胶囊(蛹虫草、熟地、枸杞子,等)对环磷酰胺诱导大鼠生精功能损伤的保护作用。**方法** 精杞组和丙酸睾酮组先期给药2周后,除正常组外,均腹腔注射环磷酰胺25 mg/(kg·d)连续造模5 d,与此同时精杞组和丙酸睾酮组延续给药,造模结束后次日处死全部动物。放射性免疫法检测血清睾酮含量;称取大鼠体质量、睾丸、附睾、前列腺质量,计算脏器指数;HE染色观察大鼠睾丸组织形态;CASA仪检测精子密度与精子活率;TUNEL检测细胞凋亡。**结果** 精杞组与模型组比较,血清睾酮含量升高;睾丸、附睾、前列腺脏器指数增加;生精上皮损伤减轻,各级生精细胞数量增多;精子密度与精子活率增高;TUNEL显示细胞凋亡率降低。**结论** 精杞胶囊对环磷酰胺所致大鼠生精功能损伤有保护作用。

关键词: 精杞胶囊;环磷酰胺;生殖损伤保护;生精功能

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2017)04-0672-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.04.002

Protective effects of Jingqi Capsules on damage to rat reproductive system

WAN Fang¹, MA Hong^{1*}, LÜ Ye², WEI Min²

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Institute of Botany, Jiangsu Provincial and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

ABSTRACT: AIM To study the protective effects of Jingqi Capsules (*Cordyceps Militaris*, *Rehmanniae Radix Praeparata*, *Lycii Fructus*,) on the damage to rat reproductive system induced by cyclophosphamide. **METHODS**

After low and high dose groups of Jingqi Capsules and positive group were administered for two weeks in advance, cyclophosphamide [25 mg/(kg·d)] modeling was conducted consecutively by intraperitoneal injection for five days except the normal group, while the treatment groups were administered consecutively. All the rats were executed the day after the end of the modeling. Serum testosterone content was measured by radioimmunoassay; body weight, testis, epididymis and prostate of rats were weighed and organ coefficient was calculated; morphology of testis was observed by HE; sperm count and sperm motility were detected by CASA; apoptosis of cells was observed by TUNEL. **RESULTS** Compared with the model group, each dose group of Jingqi Capsules increased in the level of serum testosterone and organ coefficient of testis, epididymis and prostate. The damage to seminiferous epithelium relieved and the number of all spermatogenic cells increased. Sperm count and sperm motility increased. Decrease in apoptosis of cells was demonstrated by TUNEL. **CONCLUSION** Jingqi Capsules has protective effects on damage to rat reproductive system induced by cyclophosphamide.

KEY WORDS: Jingqi Capsules; cyclophosphamide; reproductive damage protect; spermatogenesis

据调查报告,全世界不孕不育的发病率波动于5%~35%。在我国有文献报告,育龄夫妇不孕不育发生率为12.5%,其中男性因素所致不育不少于50%,而约30%男性不育患者原因不明^[1]。男性不育

收稿日期: 2016-09-29
基金项目: 江苏省高校优势学科建设工程一期项目(YS2012ZYX304)
作者简介: 万芳(1991—),女,硕士生,从事补肾中药调节生殖内分泌机制研究。E-mail: fangwann@sina.com
*通信作者: 马红(1957—),女(回族),博士,教授,从事补肾中药调节生殖内分泌机制研究。Tel: (025)85811932, E-mail: mhhhome603@sina.com

在中医中属于“无子”、“不育”、“绝嗣”等范畴，中医对于这类病证的治疗有着丰富的临床经验，疗效受到肯定^[2]。本实验观察复方中药精杞胶囊对环磷酰胺所致大鼠生殖系统损害的保护作用。

1 材料与仪器

1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 50 只，12 周龄，体质量 300 ~ 350 g。购自第四军医大学，许可证号：SCXLC (军) 2012-0007。

1.2 药品 精杞胶囊（蛹虫草、熟地、枸杞子、桑椹、菟丝子、灵芝、红花），由南京五岳生物医药公司提供，制备方法为将各药材精选除杂，以适宜浓度的酸碱水液反复提取，提取物经食用酒精处理后得到精提物多糖成分。环磷酰胺（CTX，江苏盛迪医药有限公司，批号 32020857）；丙酸睾酮（杭州动物药品厂，批号 110201054）；超快速无毒改良巴氏染液（南京建成科技有限公司，批号 20151013）；无水乙醇（广东光华科技股份有限公司，批号 20150506）；M199（gibco，批号 1688167）；牛血清白蛋白（BSA）（南京奥多福尼生物科技有限公司，批号 150318）；睾酮（T）放射免疫试剂盒（北京北方生物技术研究，批号 20151020）；TUNEL 试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号 20151115）。

1.3 仪器 全自动精子分析仪（CASA，HHAMILTON THORNE，IVOS）；离心机（北京时代北利离心机有限公司，DT5-4B）；恒温水浴锅（国华电器有限公司，HH-4）；光学显微镜（OLYMPUS，BX-60）。

2 方法

2.1 实验设计 参照文献 [3-6]，雄性大鼠随机分为 5 组：正常组，模型组，精杞低、高剂量组和阳性对照组，每组 10 只。给药组按人临床等效剂量灌胃精杞胶囊（精杞胶囊内容物用生理盐水配成相应剂量），低剂量 500 mg/(kg · d)，高剂量 1 000 mg/(kg · d)。阳性对照组采用丙酸睾酮 5 mg/(kg · d) 皮下注射。给药组和阳性对照组分别先期给药 2 周后，除正常组外，其余各组均腹腔注射环磷酰胺 25 mg/(kg · d) × 5 d 造模，与此同时给药组及阳性对照组延续给药。造模结束后次日，称取雄鼠体质量，摘除眼球取血，3 000 r/min 离心 15 min，取上清，-80 ℃ 保存。雄鼠颈椎脱臼法处死，分别摘取睾丸、附睾、前列腺脏器称重。取称重后的睾丸放入 4% 多聚甲醛中固定，用于睾丸组织形态学观察和 TUNEL 染色。取称重后的附睾放入精子孵育液，用于精子质量检测。

2.2 检测指标

2.2.1 一般情况 观察大鼠试验过程的体质量、活动、体毛、饮食等一般情况。

2.2.2 血清睾酮检测 采用放射免疫法进行检测，检测方法按照说明书操作。

2.2.3 脏器指数 计算睾丸、附睾、前列腺的脏器指数。计算公式：脏器指数 = 脏器质量 (mg) / 体质量 (g)。

2.2.4 睾丸形态学观察 取甲醛固定后的睾丸，常规石蜡包埋，切片，HE 染色，光镜下观察睾丸组织内精原细胞与各级生精细胞的分布情况。

2.2.5 精子质量检测 取单侧附睾，剪开，放入 1 mL 精子孵育液中游离 5 min，然后按 1 : 20 或 1 : 40 倍稀释放入 CASA 仪，检测精子密度和精子活率。精子孵育液配制方法：200 mL M199 中加入 1 g 0.5% BSA。

2.2.6 TUNEL 法检测细胞凋亡^[7] 取甲醛固定后的睾丸，切取 4 μm 厚石蜡组织切片，按试剂盒说明书进行细胞凋亡检测。以细胞核染成棕色者为 TUNEL 阳性细胞，光镜下（×200）每张切片选取 3 个视野观察，利用 Image-Pro Plus 6.0 软件处理显色照片，计算平均光密度值（MOD）。

2.2.7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件分析数据。数据进行单因素方差分析，以 $\bar{x} \pm s$ 表示结果，以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况 环磷酰胺造模前，各组大鼠一般情况良好，活泼有力，反应敏捷，饮食正常，体毛有光泽。造模后，模型组、精杞组和丙酸睾酮组大鼠出现精神萎靡、嗜睡、活动减少、畏寒、体毛无光泽、体质量降低、睾丸萎缩的现象，而正常组一般活动如前。

3.2 精杞胶囊对大鼠睾酮水平的影响 与正常组相比，模型组血清睾酮含有量降低，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；先期给药的精杞高剂量组血清睾酮含有量升高，与模型组比较，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），表明精杞组有雄激素样作用，但精杞高剂量组升高作用不及丙酸睾酮组，差异有统计学意义（ $P < 0.01$ ）。见表 1。

3.3 大鼠造模前后体质量的变化 造模前（1 日 ~ 13 日）大鼠体质量正常增长，各组体质量未见差异（ $P > 0.05$ ），环磷酰胺造模 5 日后（19 日），与正常组相比，模型组与给药组体质量均下降，差异有统计学意义（ $P < 0.01$ ），但各给药组

表 1 精杞胶囊对大鼠睾酮质量浓度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Tab.1 Effect of Jingqi Capsules on testosterone levels in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	睾酮质量浓度/(ng·mL ⁻¹)
正常组	—	2.48 ± 0.77
模型组	—	1.41 ± 0.39 [△]
精杞低剂量组	500	1.53 ± 0.70
精杞高剂量组	1 000	2.67 ± 0.65 ^{##}
丙酸睾酮组	5	9.94 ± 2.08 ^{##}

注：与正常组比较，[△] $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ；与丙酸睾酮组比较，^{**} $P < 0.01$ 。
之间无差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 大鼠造模前后体质量的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab.2 Changes in body weight of rats before and after modeling ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	1 日	7 日	13 日	19 日
正常组	—	342.90 ± 6.35	376.40 ± 7.80	396.70 ± 10.41	407.80 ± 13.59
模型组	—	339.90 ± 15.01	373.10 ± 17.95	398.20 ± 12.61	370.70 ± 13.21 ^{△△}
精杞低剂量组	500	343.30 ± 8.23	377.30 ± 6.46	398.90 ± 13.45	367.70 ± 14.53 ^{△△}
精杞高剂量组	1 000	343.20 ± 11.05	373.60 ± 17.33	398.90 ± 14.16	367.10 ± 18.81 ^{△△}
丙酸睾酮组	5	347.10 ± 9.35	373.10 ± 9.57	399.70 ± 9.91	368.80 ± 13.98 ^{△△}

注：与正常组比较，^{△△} $P < 0.01$

表 3 精杞胶囊对睾丸、附睾、前列腺脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab.3 Effects of Jingqi Capsules on organ coefficient of testis, epididymis and prostate ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	睾丸	附睾	前列腺
正常组	—	4.68 ± 0.34	1.53 ± 0.19	2.61 ± 0.65
模型组	—	4.14 ± 0.43 [△]	1.25 ± 0.19 ^{△△}	1.71 ± 0.71 ^{△△}
精杞低剂量组	500	4.68 ± 0.80 [#]	1.66 ± 0.11 ^{##}	2.99 ± 0.44 ^{##**}
精杞高剂量组	1 000	4.92 ± 0.27 ^{##}	1.70 ± 0.20 ^{##}	3.30 ± 0.80 ^{##**}
丙酸睾酮组	5	4.66 ± 0.26 [#]	1.71 ± 0.20 ^{##}	4.30 ± 0.78 ^{##}

注：与正常组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ；与丙酸睾酮组比较，^{**} $P < 0.01$

3.5 各组大鼠睾丸 HE 染色形态学观察 如图 1 所示，正常组大鼠睾丸从曲精细管的基层到管腔，依次为精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和腔面成熟的精子，支持细胞分布在各期生精细胞之间。曲精细管间为富含血管和淋巴管的疏松结缔组织，其中还可见少量间质细胞。模型组曲精细管内生精细胞排列紊乱，生精细胞减少，少

3.4 精杞胶囊对睾丸、附睾、前列腺脏器指数的影响 与正常组相比，模型组大鼠睾丸、附睾和前列腺指数下降，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，表明造模成功。与模型组相比，精杞高、低剂量组的大鼠睾丸、附睾和前列腺指数升高，差异有统计学意义 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)。同时，与丙酸睾酮组相比，精杞高、低剂量组的大鼠睾丸指数和附睾指数无差异 ($P > 0.05$)，前列腺指数有差异 ($P < 0.01$)。见表 3。

数管腔内见脱落的变性、坏死的生精细胞；丙酸睾酮组大鼠睾丸生精现象较正常组明显，大鼠曲精细管腔内生精细胞排列较其它大鼠紧密，与模型组相比各级生精细胞数量增多，管腔可见较多的精子，提示生精增加；精杞低剂量组和精杞高剂量组生精现象较模型组好转，生精上皮增厚，细胞层数增多，生精现象轻微增多，但无丙酸睾酮组明显。

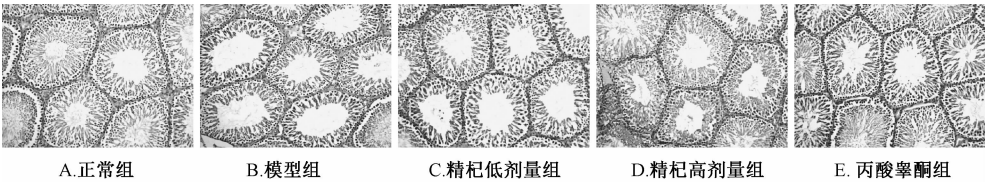


图 1 精杞胶囊对大鼠睾丸组织形态的影响 (HE, ×200)

Fig.1 Effect of Jingqi Capsules on morphology of testis in rats (HE, ×200)

3.6 精杞胶囊对大鼠精子密度和精子活率的影响 与正常组相比，模型组精子活率与精子密度均下降，差异有统计学意义 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)；而

经过精杞胶囊先期预防给药后，高、低剂量组均呈现出精子活率增高，与模型组比较，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；同时，高剂量组精子密度升高，

差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 表明精杞胶囊对精子质量有一定的保护作用。与丙酸睾酮组相比, 精杞高、低剂量组精子活率和精子密度无差异 ($P > 0.05$), 表明精杞胶囊对精子质量的保护效果与丙酸睾酮类似。见表 4。

表 4 精杞胶囊对大鼠精子密度和精子活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 4 Effects of Jingqi Capsules on sperm concentration and sperm motility ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	精子活率/%	精子密度/ ($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$)
正常组	—	61.89 $\pm$ 6.53	70.24 $\pm$ 26.85
模型组	—	39.89 $\pm$ 8.46 ^{△△}	37.00 $\pm$ 11.94 ^{△△}
精杞低剂量组	500	66.80 $\pm$ 10.06 ^{###}	57.12 $\pm$ 26.83
精杞高剂量组	1 000	69.30 $\pm$ 9.02 ^{###}	75.87 $\pm$ 20.19 ^{###}
丙酸睾酮组	5	63.60 $\pm$ 11.28 ^{###}	95.52 $\pm$ 41.70 ^{###}

注: 与正常组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{###} $P < 0.01$

3.7 精杞胶囊对大鼠生精细胞凋亡的影响 采用 Image-Pro-Plus6.0 软件分析平均光密度 (MOD)。TUNEL 阳性细胞核呈棕色, 光密度值较阴性细胞相比增加。与正常组比较, 模型组精原细胞及各级

生精细胞阳性表达明显增多, 平均光密度增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 精杞高、低剂量组和丙酸睾酮组阳性表达均减少, 平均光密度降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 精杞高、低剂量 2 组之间比较, 平均光密度值无差异 ($P > 0.05$), 表明精杞精囊具有抗凋亡的作用。与丙酸睾酮组相比, 精杞高剂量组阳性表达有差异 ($P < 0.05$), 而低剂量组未见显著性差异 ($P > 0.05$)。见表 5、图 2。

表 5 精杞胶囊对大鼠生精细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 5 Effect of Jingqi Capsules on apoptosis of spermatogenic cells in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	平均光密度
正常组	—	0.27 $\pm$ 0.03
模型组	—	0.40 $\pm$ 0.07 ^{△△}
精杞低剂量组	500	0.31 $\pm$ 0.07 ^{###}
精杞高剂量组	1 000	0.32 $\pm$ 0.05 ^{###*}
丙酸睾酮组	5	0.26 $\pm$ 0.05 ^{###}

注: 与正常组比较, ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{###} $P < 0.01$; 与丙酸睾酮组比较, ^{*} $P < 0.05$

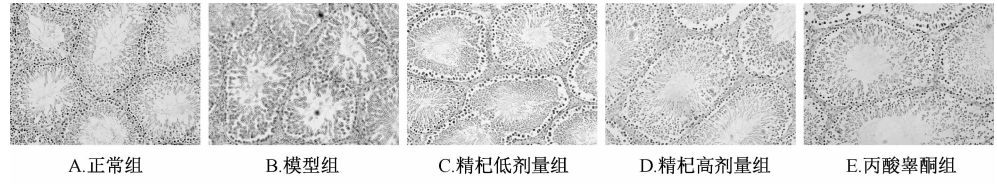


图 2 精杞胶囊对大鼠生精细胞凋亡的影响 (TUNEL, $\times 200$)
Fig. 2 Effect of Jingqi Capsules on apoptosis of spermatogenic cells in rats (TUNEL, $\times 200$)

4 讨论

环磷酰胺是临床常用的免疫抑制剂和抗肿瘤药, 是目前已明确可以损害生精功能的化疗药之一。它可杀伤分化中的精原细胞, 导致长期无精或少精, 是实验采用较多的造少精、弱精或生殖系统损伤模型的方法^[8]。据资料显示^[1], 男性不育患者中约 30% 患病原因不明, 这类患者又称为少精、弱精症患者, 这些男性既往无引起不育的相关病史, 体格检查无显著异常, 化验室检查激素水平正常, 但精液检查精子数目降低、精子活力降低、畸形精子数增多。现代医学治疗这类不育患者采用经验性治疗方法, 常用药物包括抗雌激素类药物、抗氧化剂、芳香酶抑制剂、促性腺激素类、稀有金属等。由于发病机制不明, 大量经验性治疗一直以来尝试提高受孕率, 但结果并不是特别理想。中医认为肾主生殖, 补肾为保护及治疗生殖类疾病的基本

法则。本实验所用精杞胶囊以蛹虫草为君, 补益肾精; 又用熟地黄、枸杞子和桑椹滋补阴血养精, 菟丝子温补肾阳化精, 灵芝益肾健脾生精, 共为臣药; 红花调血养血为佐。全方共奏益肾填精、助养生育之效。

睾丸为雄鼠主性器官, 分泌雄性激素, 促进附性器官的成熟和发育; 附性器官是指与生殖有关和依赖雄激素增殖发育的器官, 如附睾和前列腺。环磷酰胺造模后, 模型组大鼠的睾丸、附睾和前列腺指数下降, 血清睾酮含量也下降。研究发现环磷酰胺可以通过抑制胆固醇转运蛋白 StAR 以及睾酮合成关键酶 3 β -HSD、17 β -HSD 等的表达, 抑制睾酮合成^[9]。精杞组先期给药后, 相比于模型组, 睾丸、附睾和前列腺指数升高, 大鼠睾酮含量也升高, 因此推测, 精杞胶囊具有雄激素样作用, 并能促进附性器官的增殖发育。大鼠生殖内分泌由下

丘脑-垂体-性腺轴系调节, 垂体释放的黄体生成素 (LH) 作用于睾丸间质细胞, 分泌睾酮。精杞胶囊中含有蛹虫草和菟丝子, 在陈文冬等人^[10]的研究中发现, 蛹虫草对血清睾酮有一定的调节作用, 景晓平等人^[11]研究发现菟丝子黄酮能干预雷公藤多苷所致雄性幼鼠生殖损伤, 可以明显提高大鼠睾丸组织雄激素受体 mRNA 及蛋白表达, 此或许是精杞胶囊有效性的作用机制。生殖细胞分裂增生和分化发育的部位是生精小管, 正常小管壁由 4~8 层生精上皮细胞构成, 不同发育阶段的生精细胞嵌在支持细胞中分层排列, 睾酮对精子发生的过程具有十分重要的作用, 但其具体调节机制仍不十分清楚。睾酮释放后, 一部分被选择性输送到睾丸的曲精小管中, 与曲精小管支持细胞内的雄激素受体结合及管腔中的雄激素结合蛋白结合, 促进精子发生^[12]。环磷酰胺能导致睾丸生精障碍, 造成生精细胞减少, 在环磷酰胺造模后, 解剖学观察能明显发现睾丸萎缩, 精子质量分析仪检测发现精子密度和精子活率均降低, 这与环磷酰胺抑制睾酮合成, 睾酮含有量降低有关; 通过 HE 染色观察结果显示, 相比于模型组, 精杞组生精上皮损伤减轻, 细胞层数较多, 而精子质量也明显好于模型组, 表明精杞胶囊能够抵抗环磷酰胺对雄性大鼠生精功能的损伤, 起到保护作用。

精子产生的各阶段都存在自发性和诱发性的生精细胞凋亡, 其中精原细胞凋亡是导致精子数量减少的主要原因^[13]。环磷酰胺诱导生精细胞凋亡以精原细胞和静母细胞最为显著, 精原干细胞凋亡无显著改变, 研究表明, 环磷酰胺诱导生精细胞凋亡主要有死亡受体途径, 如死亡受体 Fas/FasL 信号和线粒体途径, 如 Bcl-2 家族, 促凋亡蛋白 Bax 起主要作用, 而抗凋亡蛋白 Bcl-2 抑制这一过程, Bax/Bcl-2 比值是生精细胞、支持细胞发生凋亡的决定性因素^[14]。TUNEL 结果显示, 模型组精原细胞及各级生精细胞均明显凋亡, 而精杞组精母细胞和精子细胞凋亡率有降低的趋势, 抗凋亡作用与精杞胶囊表现出相关性, 但其抗凋亡的具体分子机制需要更深入研究。

综上, 本实验结果显示精杞胶囊对环磷酰胺所致大鼠生精功能损伤具有保护作用, 保护机制主要为升高大鼠血清睾酮和抗生精细胞凋亡。精杞胶囊在临床男性少精、弱精症及生殖系统损伤疾病中具有研发潜力, 本研究为其在男性生殖系统疾病预防和治疗中的作用提供了实验依据。

参考文献:

[1] 李宏军, 黄宇烽. 实用男科学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2015.

[2] 张有寓. 中国男科医案[M]. 1 版. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1990.

[3] Afsaneh N, Farah F, Hasanzadeh S. Decapeptyl ameliorates cyclophosphamide-induced reproductive toxicity in male Balb/C mice: histomorphometric, stereologic and hormonal evidences [J]. *Iran J Reprod Med*, 2013, 11(10): 791-800.

[4] Kim S H, Lee I C, Baek H S, *et al.* Protective effect of diallyl disulfide on cyclophosphamide-induced testicular toxicity in rats[J]. *Lab Anim Res*, 2013, 29(4): 204-211.

[5] 魏 伟, 吴希美, 李元建, 等. 药理实验方法学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010.

[6] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011, 788-790.

[7] 焦利飞, 闫长会, 赵 君, 等. 低剂量毒死蜱重复染毒诱发雄性大鼠生殖毒性及其机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2011, 25(06): 568-575.

[8] 岳丽琴, 李旭良, 魏光辉, 等. 环磷酰胺对不同发育时期睾丸生精细胞毒性损伤的动物实验研究[J]. *中华小儿外科杂志*, 2006, 27(01): 38-41.

[9] 赵红乐, 金保方. 环磷酰胺睾丸毒性研究进展[C]//中华中医药学会第十四次男科学术大会论文集. 中华中医药学会, 2014: 4.

[10] 陈文冬, 杨文礼. 蛹虫草对运动训练大鼠血清激素水平及运动能力影响的研究[J]. *西安体育学院学报*, 2008, 25(04): 86-89.

[11] 景晓平, 崔瑞琴, 程伟伟, 等. 菟丝子黄酮干预雷公藤多苷所致雄性幼鼠生殖损伤[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(10): 114-117.

[12] 郭应禄, 胡礼泉. 男科学[M]. 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004.

[13] 曹兴午, 李翠英, 袁长巍. 睾丸生精细胞凋亡的基因调控[J]. *中国性科学*, 2011, 20(2): 51-56.

[14] 郭彩霞, 唐铁山, 刘以训. 睾丸生殖细胞的凋亡及其调控[J]. *生理科学进展*, 2000, 31(4): 299-303.