

proliferation and induces apoptosis through suppressing MCL1 in melanoma cells[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3133.

[10] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.

[11] 孙可欣, 郑荣寿, 张思维, 等. 2015 年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2019, 28(1): 1-11.

[12] 王鹏波, 代云云, 董 涵, 等. 中医药干预乳腺癌治疗的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(7): 235-243.

[13] 谷 雨, 吴勉华. 国医大师周仲瑛辨治乳腺癌临证经验[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(10): 4975-4978.

[14] 曾 赞, 顾文哲, 沈政洁, 等. 运用癌毒病机理论辨治乳腺癌之探析[J]. *江苏中医药*, 2017, 49(10): 27-29.

[15] 骆永伟, 施 畅, 廖明阳. 雷公藤甲素抗肿瘤作用机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(16): 2024-2026.

[16] 王海娟, 张美芝, 刘小菊, 等. 雷公藤内酯醇逆转肿瘤多药耐药研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(10): 229-234.

[17] 宋基正, 刘宇灵, 林龙飞, 等. 雷公藤甲素抗肿瘤新型给药系统研究进展[J]. *中草药*, 2019, 50(5): 1269-1275.

[18] 梁柳春, 杨亚玺, 郭夫江. 雷公藤红素药理作用及结构修饰研究进展[J]. *中国药物化学杂志*, 2020, 30(10): 622-635.

[19] 林宗明, 杨春欣, 张永康, 等. 去甲泽拉木醛与雷公藤多甙的免疫抑制作用比较[J]. *中华器官移植杂志*, 2004, 25(1): 41-43.

[20] 李 超, 伏圣博, 刘华玲, 等. 细胞凋亡研究进展[J]. *世界科技研究与发展*, 2007, 29(3): 45-53.

[21] 贾 炜. Bcl-2 家族研究进展[J]. *当代医学*, 2012, 18(3): 26-28.

山楂黄酮通过抑制 ROS/NLRP3 信号通路对辐射损伤小鼠睾丸的保护作用

郭 娜¹, 孙云朝^{2*}, 孙春霞¹, 韩长辉¹

[1. 河北省中医院肿瘤二科, 河北 石家庄 050011; 2. 河北省中医院外二科 (周围血管科), 河北 石家庄 050011]

摘要: **目的** 探索山楂黄酮对辐射损伤小鼠睾丸细胞的保护作用。**方法** 60 只小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药组 (20 mg/kg 绒毛膜促性腺激素) 及山楂黄酮低、中、高剂量 (0.25、0.5、1 g/kg) 组, 每组 10 只, 灌胃给予相应药物, 连续 2 周。实验第 15 天, 除正常组外, 其余组小鼠均采取一次性 X 射线全身均匀照射处理, 照射剂量为 4.0 Gy 致死剂量, 照射 24 h 后脱颈处死小鼠并取睾丸组织。小鼠精母细胞 (GC-2 spd) 分别给予低、中、高剂量 (12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$) 山楂黄酮和阳性药物干预 72 h 后, 再给予 100 ng/mL LPS 和 2 nmol/L ATP 处理 4 h。ELISA 法检测组织和细胞 ROS、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-18 水平, HE 染色观察睾丸组织病理变化, Western blot 法检测组织和细胞 NLRP3、caspase-1 蛋白表达。**结果** 山楂黄酮能降低睾丸组织和 GC-2 spd 细胞 TNF- α 、IL-6、IL-18、IL-1 β 水平和 NLRP3、caspase-1 蛋白表达 ($P<0.01$), 升高 IL-10 水平 ($P<0.01$)。山楂黄酮能降低 GC-2 spd 细胞 ROS 水平, 抑制细胞凋亡。**结论** 山楂黄酮对辐射损伤小鼠睾丸具有一定的修复能力, 其作用机理可能与抑制 ROS/NLRP3 信号通路调控睾丸细胞中促炎症细胞因子水平有关。

关键词: 山楂黄酮; 辐射损伤; NLRP3; ROS; 炎症因子

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)01-0258-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.049

电离辐射可致机体生成自由基, 并诱导 DNA 损伤, 由此引发突变与致癌^[1]。有研究表明, 睾丸组织是电离辐射最敏感的器官之一, 长期电离辐射会导致生殖系统损伤和精子生成障碍等^[2]。电离辐射通过中性粒细胞浸润、活性氧 (ROS) 积聚、细胞离子稳态的解除、细胞死亡以及随后的

炎症反应对组织造成进一步的损伤^[3]。研究表明睾丸损伤的早期和晚期, 由于腺苷酸环化酶活性和细胞内 cAMP 水平降低, 而产生自由基, 并可能触发细胞死亡的机制^[3-4]。

NLRs 是一个细胞内传感器的大蛋白家族, 其中 NOD 样受体 3 (NLRP3) 炎症小体最具有特征^[5]。体外实验表

收稿日期: 2021-05-18

基金项目: 河北省中医药管理局课题项目 (2016169)

作者简介: 郭 娜 (1983—), 女, 硕士, 从事肿瘤学研究。E-mail: guona9897@sina.com

* 通信作者: 孙云朝 (1981—), 男, 硕士, 从事周围血管病研究。Tel: (0311) 69095114, E-mail: syunchao1981@sina.com

明, NLRP3 可由 NF- κ B 信号通路驱动激活^[6], 也可通过 MyD88 依赖性途径并通过 TLR 信号激活, 随后刺激 IL-1 β 、IL-18 基因表达^[5,7], 还能由电离辐射损伤中的 ROS 驱动^[5]。已有研究表明, 高浓度的 ROS 会导致精子发生病理改变^[8]。

山楂具有促进食欲和消化、抗菌消炎、提高机体免疫力、延缓衰老、调节血糖和血脂的作用^[9]。山楂提取物已被用于改善心脏病和肺动脉高压, 其主要化学成分包括黄酮、低聚原花青素等^[10-11]。研究发现山楂黄酮的功能主要包括抗氧化、保护血管内皮细胞、降血脂、降血压、抗心律不齐等。有研究表明, 山楂的水提取物能够防止大鼠精子数量下降及缓解睾丸损伤^[12], 而山楂黄酮能够一定程度上抑制微波辐射大鼠睾丸细胞的凋亡^[13-14]。研究发现山楂可治疗性和不育症等, 但缺乏山楂对生殖系统影响的机制研究^[12]。课题组以往研究表明, 山楂水提取物能够保护辐射后睾丸组织骨髓细胞和精子畸形^[15], 但机制尚不清楚, 且山楂黄酮对辐射后睾丸组织 NLRP3 的作用也未知, 因此本研究重点探索山楂黄酮对辐射损伤小鼠睾丸 NLRP3 表达的影响, 为山楂黄酮对辐射后睾丸组织的保护作用机制提供依据, 以期为临床治疗和预后提供参考。

1 材料和方法

1.1 试剂与药物 山楂黄酮由实验室自制。荧光定量 PCR、TRIzol 试剂盒购自美国赛默飞世尔公司; ECL 化学发光、TUNEL 细胞凋亡测定试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; BCA 蛋白定量试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司; 逆转录试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 动物和细胞 60 只雄性昆明种小鼠, SPF 级, 体质量 18~22 g, 6~8 周龄, 购自河北医科大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SCXK(冀) 2013-003。小鼠饲养环境条件为室温 20~26 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 40%~70%, 12 h/12 h 明暗交替, 每笼 5 只, 自由摄食饮水。小鼠精母细胞 GC-2 spd, 购美国组织细胞收藏中心(ATCC)。

1.3 山楂黄酮的提取及纯化 精确称取实验所需山楂粉与等量硅藻土混合均匀, 装入萃取池中, 萃取调节参数为提取温度 45 $^{\circ}\text{C}$, 提取压力 25 MPa, 夹带剂用量为每 10 g 原料加入 20 mL 70% 乙醇, 提取时间 90 min, 萃取完成后, 得到粗提物, 经超滤、柱色谱、溶剂结晶进行纯化, 紫外分光光度法测定黄酮含量。

1.4 分组与给药 60 只小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药组(20 mg/kg 绒毛膜促性腺激素)及山楂黄酮低、中、高剂量(0.25、0.5、1 g/kg)组, 每组 10 只, 给药组灌胃给予相应剂量药物, 模型组和正常组灌胃给予等量生理盐水。给药第 0、7、14 天分别称定 1 次体质量。第 15 天, 除正常组外其余各组小鼠采用一次性数字直线加速器全身均匀照射, X 射线照射剂量为 4.0 Gy(致死剂量)。实验结束后处死小鼠, 取睾丸组织, 部分固定于甲醛溶液, 部分保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 下备用。

1.5 细胞培养和转染 GC-2 spd 细胞使用含 10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素双抗溶液的高糖 DMEM 培养基, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养。细胞分为正常组、模型组、阳性药组及山楂黄酮低、中、高剂量组, 正常组和模型组给予 DMEM 培养基, 山楂黄酮低、中、高剂量组分别给予含 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 山楂黄酮的 DMEM 培养基, 阳性药组给予含 10 $\mu\text{g/mL}$ 绒毛膜促性腺激素的 DMEM 培养基, 干预 72 h 后, 所有组均给予 100 ng/mL LPS 和 2 nmol/L ATP 处理 4 h 以诱导细胞凋亡, 24 h 后, 除正常组以外各组细胞给予 4.0 Gy(致死剂量)的 X 射线照射。

ROS 干预实验: 将 GC-2 spd 细胞分为模型组、山楂黄酮组、山楂黄酮+ROS 抑制剂组, 模型组给予 DMEM 培养基, 山楂黄酮组给予含 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 山楂黄酮的 DMEM 培养基, 山楂黄酮+ROS 抑制剂组给予含 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 山楂黄酮和 5 nmol/L ROS 抑制剂(克唑替尼)的 DMEM 培养基, 干预 72 h 后, 给予 100 ng/mL LPS 和 2 nmol/L ATP 处理 4 h, 24 h 后, 各组均给予 4.0 Gy X 射线照射处理。

1.6 ELISA 法检测 ROS、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-18 水平 按照相应 ELISA 试剂盒说明书, 检测组织和细胞 ROS、IL-1 β 、TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-18 水平, 于 450 nm 波长处测定光密度(OD)值。

1.7 HE 染色观察睾丸组织病理变化 将固定的睾丸组织经脱水、透明、包埋后, 制成 4 μm 切片, 组织切片脱水脱蜡后, 移至苏木素染液中染色, 1% 盐酸乙醇分化, 流水冲洗返蓝, 于 0.1% 伊红染色液中进行细胞质复染, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 最后中性树胶封片, 在光学显微镜下观察睾丸组织的形态学变化。

1.8 Western blot 法检测 NLRP3、caspase-1 蛋白表达 取适量-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存的睾丸组织和收集到的各组 GC-2 spd 细胞, 加裂解液超声破碎提取, 离心取上清, 即得总蛋白, BCA 法蛋白定量后添加蛋白上样缓冲液, 于 100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 5 min 进行变性处理, 冷却后-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。蛋白样本经 SDS-PAGE 凝胶电泳, 半干法转移至硝酸纤维素膜上, 分别加 NLRP3、caspase-1、GAPDH 一抗, 于摇床上 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日 TBST 洗涤, 加生物素标记的二抗, 常温孵育 2 h, 化学发光法显色, 用 Gel Image system 图像分析软件进行扫描, 并对免疫蛋白印迹区开展图像分析。

1.9 统计学分析 通过 SPSS 23.0 软件进行处理, 计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示, 2 组间比较采用独立样本 *t* 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 山楂黄酮对小鼠体质量的影响 由表 1 可知, 山楂黄酮组小鼠体质量有一定程度的降低, 但与正常组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 山楂黄酮对辐射损伤小鼠睾丸组织结构变化的影响 如图 1 所示, 与正常组比较, 模型组睾丸出现大量损伤; 与模型组比较, 山楂黄酮组作用与阳性药物相似, 都能恢复睾丸结构, 对睾丸组织具有保护作用。

表 1 各组小鼠体质量比较 (g, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	0 d	7 d	21 d
正常组	18.26±2.65	22.62±2.15	26.72±3.16
模型组	18.36±1.36	22.48±2.41	26.46±2.25
山楂黄酮低剂量组	18.41±2.15	22.84±3.11	26.12±2.71
山楂黄酮中剂量组	18.57±1.06	22.15±2.63	26.34±1.62
山楂黄酮高剂量组	18.32±2.08	21.84±1.17	25.98±2.55
阳性药组	18.28±1.35	22.43±2.03	26.32±2.62

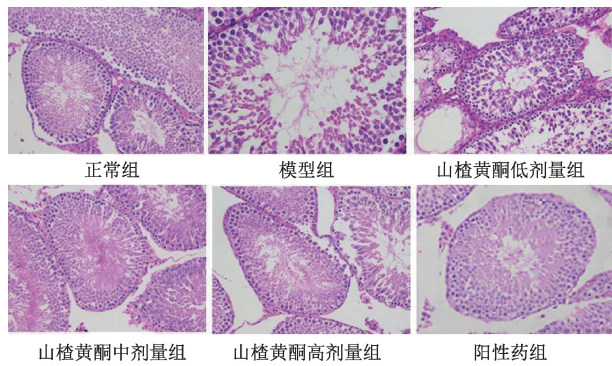
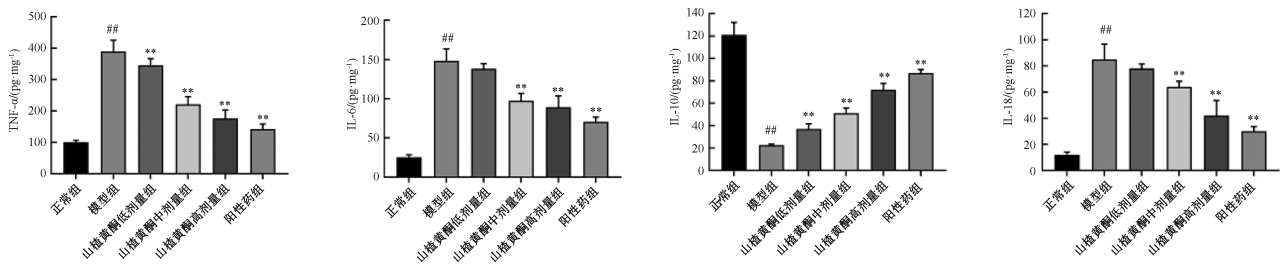
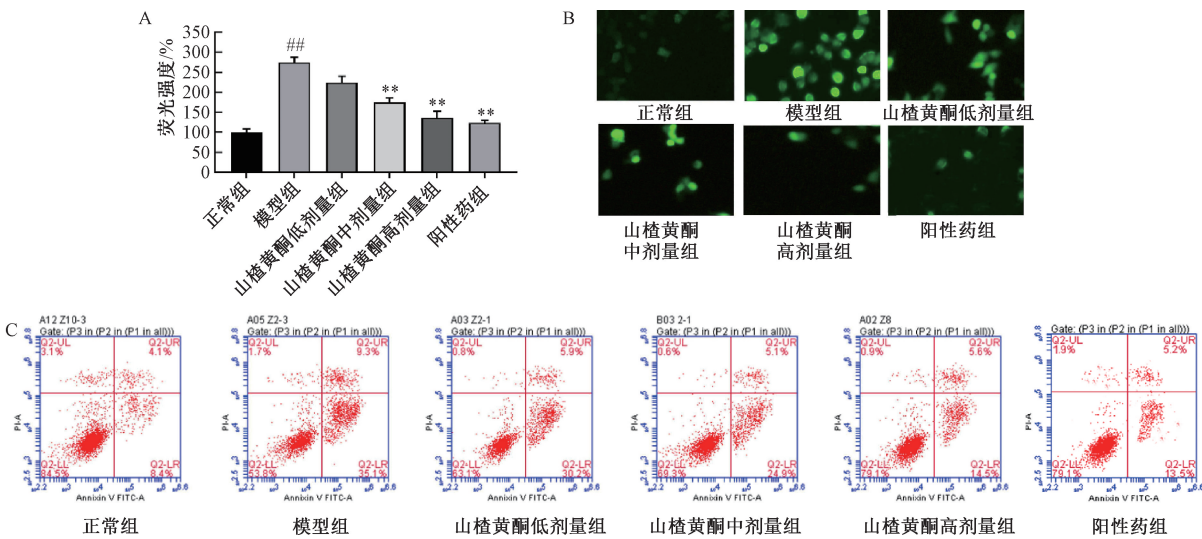


图 1 各组小鼠睾丸组织 HE 染色 (×100)



注：与正常组比较， $\#P<0.01$ ；与模型组比较， $**P<0.01$ 。

图 2 各组小鼠睾丸组织炎症因子水平 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

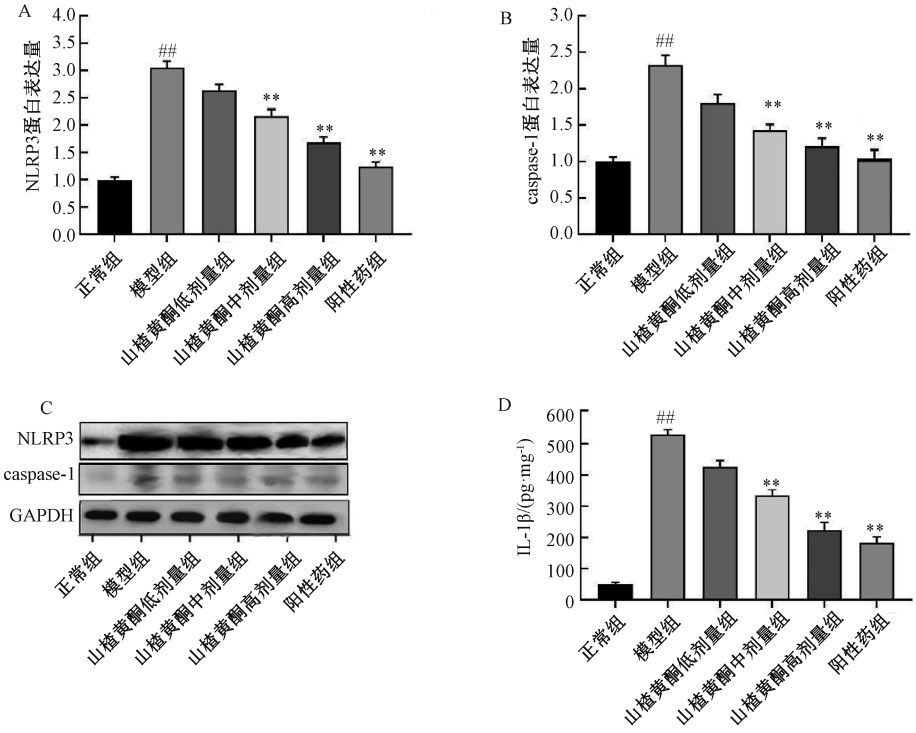


注：与正常组比较， $\#P<0.01$ ；与模型组比较， $**P<0.01$ 。

图 3 各组细胞 ROS 水平 (A~B) 和凋亡率 (C) ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

2.5 山楂黄酮对睾丸组织和细胞 NLRP3 信号通路相关蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠睾丸组织 NLRP3、capase-1 蛋白表达和 IL-1β 水平升高 ($P<0.01$),细胞 NLRP3、cleaved-capase3 蛋白表达和 IL-1β 水平升高

($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠睾丸组织 NLRP3、capase-1 蛋白表达和 IL-1β 水平降低 ($P<0.01$),细胞 NLRP3、cleaved-capase3 蛋白表达和 IL-1β 水平降低 ($P<0.01$),见图 4~5。



注:与正常组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。
图 4 各组小鼠睾丸组织 NLRP3、capase-1 蛋白表达 (A~C) 和 IL-1β 水平 (D) ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

2.6 山楂黄酮和 ROS 抑制剂对 GC-2 spd 细胞的作用 与模型组比较,各给药组细胞 ROS 水平、TNF-α、IL-18、IL-6、IL-1β 水平和 NLRP3、cleaved-capase3 蛋白表达均降低 ($P<0.01$),IL-10 水平升高 ($P<0.01$),见图 6。

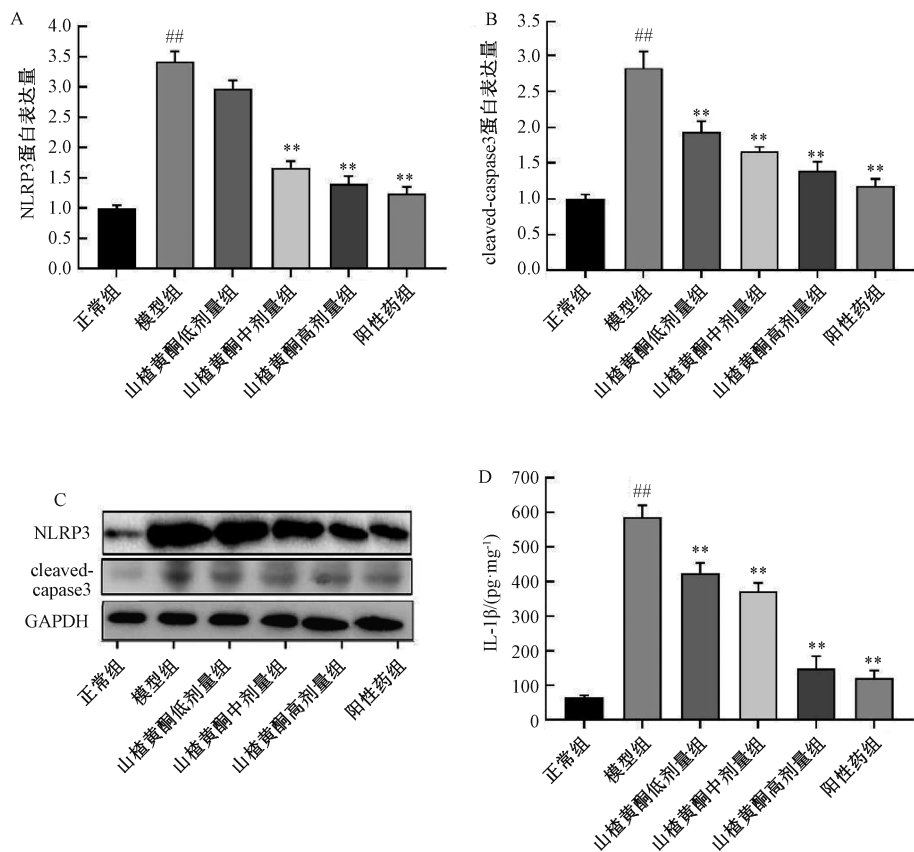
3 讨论

随着原子能的迅速发展,人们对电离辐射可能给人体带来影响的担忧也随之增加^[16]。睾丸是放射敏感性最强的器官之一,低剂量电离辐射就可以损坏睾丸组织,造成精子量少,功能障碍与不育等症状^[17]。研究证实,在电离辐射刺激下,机体细胞可分泌自由基,使细胞脂质、DNA、蛋白质以及 RNA 等生物分子受损^[18]。目前,富氢盐水和绿茶多酚等抗氧化剂已被广泛研究用于治疗电离辐射诱导的睾丸损伤,以提高患者的生育能力^[19],然而这些药物潜在的作用机制仍未清楚,且他们的副作用及药效学特征仍需进一步研究。

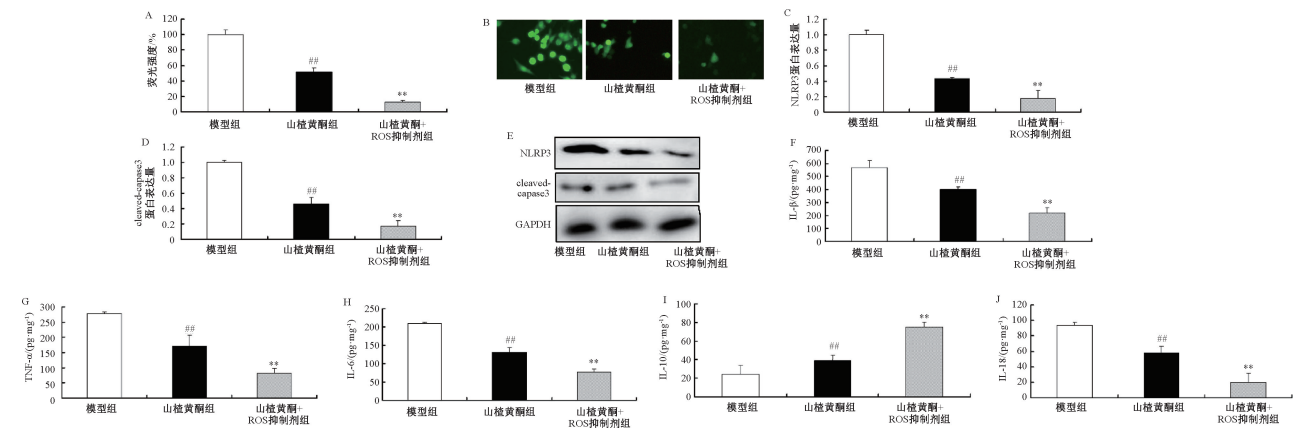
山楂黄酮被用于治疗心血管疾病、癌症、糖尿病和性软弱等慢性疾病。研究证实,山楂黄酮在抗炎、降血脂上有着良好表现,而且其所具有的螯合以及抗氧化特性,能够使 ROS 丧失活性,减弱血浆低密度脂蛋白 (LDL) 氧化,使血管内皮炎症得到改善^[20-22]。另外,山楂黄酮还能够使黄嘌呤氧化酶 (XOD)、LOX 与 NADPH 氧化酶活性减弱,导致 ROS 生成受到抑制^[22]。山楂叶黄酮类化合物也能够降

低幼鼠血清及肝组织 MDA 水平,增加 SOD 活性,从而影响疾病的病理环境^[23]。本研究表明,山楂黄酮具有与阳性药物相似的作用,都能恢复睾丸结构,对睾丸组织具有保护作用。

睾丸辐射损伤是典型的睾丸损伤^[21],在这种情况下,睾丸会产生促炎细胞因子,而在各类损伤与感染的反应中,TNF-α、IL-1β、IL-6 与 IL-18 等促炎性介质发挥着重要作用^[24-25]。本研究发现,经过辐射损伤的小鼠睾丸组织中促炎因子的水平升高,给予山楂黄酮或阳性药物干预后,促炎症因子水平受到抑制,说明山楂黄酮对睾丸组织促炎因子水平具有与阳性药物相似的抑制作用。细胞内传感器 Nod 样受体 (NLR) 家族成员包括 NLRP3、NLRC4、NLRP1 等,在炎症小体调节中起关键作用^[26]。而 ROS 也对精子功能具有一定危害,ROS 的产生会导致 NLRP3 炎症小体活化进而加重各种损伤。睾丸辐射损伤引起早期组织损伤,如 ROS 生成、内皮细胞屏障功能受损,这是由于腺苷酸环化酶活性和细胞内 cAMP 水平降低所致。特别是在睾丸辐射损伤期间,以 ATP 形式存在的核苷酸刺激组织炎症并触发 NLRP3 炎症反应^[5]。这种病理级联导致生殖细胞数量减少,是由细胞凋亡增强、生精上皮空泡化、精子数量减少和中性粒细胞聚集引起的,并且发展到晚期时可观察到睾丸萎缩和精子发生受损^[27]。本研究发现,使用山楂



注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。
图 5 各组细胞 NLRP3、cleaved-caspase3 蛋白表达 (A~C) 和 IL-1β 水平 (D) ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与模型组比较，^{##} $P<0.01$ ；与山楂黄酮组比较，^{**} $P<0.01$ 。
图 6 各组细胞 ROS (A~B)、NLRP3、cleaved-caspase3 蛋白表达 (C~E) 及炎症因子水平 (F~J) ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

黄酮干预后，睾丸辐射损伤小鼠睾丸组织中 ROS 水平受到抑制；小鼠精母细胞促炎症细胞因子、凋亡率、ROS 水平及 NLRP3 通路相关蛋白表达均受到抑制；使用 ROS 抑制剂后发现，山楂黄酮和 ROS 抑制剂对小鼠精母细胞的作用相似。

综上所述，山楂黄酮可能通过抑制 ROS/NLRP3 信号通路来调控小鼠精母细胞中促炎症细胞因子 TNF-α、IL-6、IL-18 和 IL-1β 的水平。

参考文献：

[1] Moynihan M J, Manganiello M. Bilateral testes fractures from blunt scrotal trauma[J]. *Urol Case Rep*, 2020, 28: 101026.

[2] Wang Y X, Jin L, Ma J D, *et al*. Hemicastration induced spermatogenesis-related DNA methylation and gene expression changes in mice testis[J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2018, 31: 189-197.

[3] Wang J T, Xie W Q, Liu F Q, *et al*. NADH protect against

radiation enteritis by enhancing autophagy and inhibiting inflammation through PI3K/AKT pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10: 1713-1721.

[4] Hu L L, Wang H, Huang L, *et al.* The protective roles of ROS-mediated mitophagy on ¹²⁵I seeds radiation induced cell death in HCT116 cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 9460462.

[5] Baazm M, Ghafarizadeh A A, Noshad Kamran A R, *et al.* Presence of the NLRP3 inflammasome components in semen of varicocele patients[J]. *Int J Fertil Steril*, 2020, 14: 46-50.

[6] Walenta L, Schmid N, Schwarzer J U, *et al.* NLRP3 in somatic non-immune cells of rodent and primate testes [J]. *Reproduction*, 2018, 156(3): 231-238.

[7] Fouad A A, Abdel-Aziz A M, Hamouda A A H, *et al.* Diacerein downregulates NLRP3/caspase-1/IL-1 β and IL-6/STAT3 pathways of inflammation and apoptosis in a rat model of cadmium testicular toxicity [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2020, 195(2): 499-505.

[8] de Lamirande E, Jiang H, Zini A, *et al.* Reactive oxygen species and sperm physiology [J]. *Rev Reprod*, 1997, 2(1): 48-54.

[9] Ngoc P C, Leclercq L, Rossi J C, *et al.* Optimizing water-based extraction of bioactive principles of hawthorn: From experimental laboratory research to homemade preparations [J]. *Molecules*, 2019, 24(23): 4420.

[10] Kan J, Liu J, Yong H M, *et al.* Development of active packaging based on chitosan-gelatin blend films functionalized with Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit extract[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 140: 384-392.

[11] Zarrinkalam E, Ranjbar K, Salehi I, *et al.* Resistance training and hawthorn extract ameliorate cognitive deficits in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 503-510.

[12] Dallak M. *Crataegus aronia* enhances sperm parameters and preserves testicular architecture in both control and non-alcoholic fatty liver disease-induced rats [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2018, 56(1): 535-547.

[13] 陈泊宇, 李晓宇, 王海燕, 等. 山楂黄酮对微波辐射大鼠睾丸细胞的防护作用[J]. 吉林医药学院学报, 2016, 37(2): 96-98.

[14] 李晓宇, 王海燕, 陈泊宇, 等. 山楂黄酮对微波辐射大鼠睾丸细胞凋亡的防护作用[J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(2): 115-117; 189.

[15] 郭娜, 孙云朝, 张艳景, 等. 山楂水提取物对辐射损伤小鼠遗传生殖系统影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(22): 1563-1567.

[16] Wang Y J, Yan J, Zou X L, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells repair cadmium-induced rat testis injury by inhibiting mitochondrial apoptosis [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 271: 39-47.

[17] Cao J L, Chen Y, Chen J J, *et al.* Fluoride exposure changed the structure and the expressions of Y chromosome related genes in testes of mice[J]. *Chemosphere*, 2016, 161: 292-299.

[18] Wu P Y, Scarlata E, O'Flaherty C, *et al.* Long-term adverse effects of oxidative stress on rat epididymis and spermatozoa[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(2): 170.

[19] Song J Y, Gao X T, Tang Z, *et al.* Protective effect of berberine on reproductive function and spermatogenesis in diabetic rats *via* inhibition of ROS/JAK2/NF κ B pathway [J]. *Andrology*, 2020, 8(3): 793-806.

[20] 张明, 陈珍. 山楂黄酮提取物降血脂研究[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(16): 109-110; 113.

[21] 王钧鸿, 范红艳. 山楂叶总黄酮药理作用研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2020, 41(4): 297-299.

[22] 李旭光, 方莲花, 杜冠华, 等. 黄酮类化合物的心血管保护作用机制研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6): 741-744.

[23] 袁芳. 山楂叶总黄酮对 H₂O₂ 诱导乳鼠心肌细胞氧化应激和细胞凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(4): 368-371; 405.

[24] Theas M S. Germ cell apoptosis and survival in testicular inflammation[J]. *Andrologia*, 2018, 50(11): e13083.

[25] Somade O T, Ajayi B O, Safiriyu O A, *et al.* Renal and testicular up-regulation of pro-inflammatory chemokines (RANTES and CCL2) and cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6) following acute edible camphor administration is through activation of NF- κ B in rats [J]. *Toxicol Rep*, 2019, 6: 759-767.

[26] Sorbara M T, Girardin S E. Mitochondrial ROS fuel the inflammasome[J]. *Cell Res*, 2011, 21(4): 558-560.

[27] Zhou Y, Ma T, Yan M H, *et al.* Exposure of DBP in gestation induces inflammation of testicular Sertoli cells in progeny by activating NLRP3 inflammasomes [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 707: 136139.