

菟丝子黄酮干预雷公藤多苷所致雄性幼鼠生殖损伤

景晓平¹, 崔瑞琴², 程伟伟¹, 何丽^{1*}

(1. 上海市儿童医院, 上海交通大学附属儿童医院, 上海 200040;
2. 宁夏医科大学中医学院, 教育部生育力保持重点实验室, 银川 750004)

[摘要] **目的:**研究不同剂量菟丝子黄酮干预雷公藤多苷(GTW)所致雄性幼鼠生殖损伤的影响。**方法:**雄性 SD 幼鼠 80 只,分 2 批喂养,每批 40 只。每批随机分为 5 组,空白组[ig 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)],多苷组(ig GTW, 9 mg·kg⁻¹·d⁻¹),黄酮高、中、低剂量组(ig 菟丝子+GTW, 0.2 g·kg⁻¹+9 mg·kg⁻¹, 0.1 g·kg⁻¹+9 mg·kg⁻¹, 0.05 g·kg⁻¹+9 mg·kg⁻¹),持续给药 4,12 周,分别在停药时麻醉处死留取睾丸组织,称重检测脏器指数,苏木素伊红(HE)染色观察睾丸组织病理变化,实时荧光定量 PCR (Real-time PCR)及免疫印迹法(Western blot)检测雄激素受体(AR)mRNA 及蛋白表达。**结果:**给药 4,12 周时多苷组大鼠体重、睾丸质量较空白组显著降低($P < 0.01$);黄酮组大鼠体重、睾丸质量较多苷组显著提高($P < 0.01$);黄酮中剂量组大鼠体重、睾丸质量较黄酮高、低剂组明显增高($P < 0.05$)。给药 4 周时,多苷组大鼠睾丸曲细精管间距变宽、曲细精管扭曲、水肿,严重者曲细精管破裂,间质细胞散乱,精原细胞、精母细胞明显减少,12 周时损伤程度更重;黄酮组中剂量上述病理损伤较轻。给药 4,12 周后,多苷组大鼠睾丸组织 AR mRNA 及蛋白表达明显下调($P < 0.05, P < 0.01$),黄酮中剂量可以明显提高大鼠睾丸组织 AR mRNA 及蛋白表达($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**GTW 可以明显降低大鼠体重、睾丸质量;下调睾丸组织 AR mRNA 及蛋白水平表达;GTW 对雄性大鼠睾丸组织有明显的损伤作用,且随剂量的增加和时间延长损伤程度越重;菟丝子黄酮中剂量组保护这种损伤作用更加显著。

[关键词] 菟丝子黄酮; 雷公藤多苷; 生殖损伤; 雄激素受体

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0113-05

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2016100113

Effect of Different Doses of Cuscutae Semen Flavone on Tripterygium Glycosides-induced Reproductive Damage in Male Juvenile Rats

JING Xiao-ping¹, CUI Rui-qin², CHENG Wei-wei¹, HE Li^{1*}

(1. Children's Hospital of Shanghai, Affiliated Children's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200040, China;

2. Key Laboratory of Fertility Preservation and Maintenance of Ministry of

Education, School of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of different doses of Cuscutae Semen flavone on glycosides of *Tripterygium wilfordii* (GTW)-induced reproductive damage in male juvenile rats. **Method:** The 80 3-4 week-old SD male rats were randomly divided into 2 batches for feeding, $n = 40$ in each batch. The rats in each batch were further randomly divided into 5 groups, $n = 8$ in each group: blank group (ig CMC-Na), GTW (ig 9 mg·kg⁻¹·d⁻¹) group, Cuscutae Semen flavone groups (high dose group: 0.2 g·kg⁻¹·d⁻¹ + GTW 9 mg·kg⁻¹·d⁻¹, middle dose group: 0.1 g·kg⁻¹·d⁻¹ + GTW 9 mg·kg⁻¹·d⁻¹, low dose group: 0.05 g·kg⁻¹·d⁻¹ + GTW 9 mg·kg⁻¹·d⁻¹). In the flavone groups, GTW was mixed with flavone into rats by intragastric administration for continuous 4 weeks and 12 weeks. After treatment, rats were killed under anesthesia and testicular tissues were

[收稿日期] 20151217(005)

[基金项目] 上海市自然科学基金项目(13ZR1434300)

[第一作者] 景晓平, 博士, 主治医师, 从事中医药治疗小儿肾脏疾病研究, Tel:021-62474880, E-mail:xiaopingdoctor@126.com

[通讯作者] * 何丽, 博士, 副主任医师, 从事中医药治疗呼吸系统疾病研究, Tel:021-62475130, E-mail:heli29@126.com

taken. The body weight of the rats was observed and organ indexes of testicular tissue specimens were detected. The pathological changes of testicular tissues were observed by HE staining method, and the androgen receptor (AR) mRNA and protein expression levels were detected by Real-time PCR and Western blot. **Result:** GTW can significantly reduce body weight and testicular weight after 4 weeks and 12 weeks of treatment. Compared with the blank group, the body weight and testicular weight of rats in GTW group were significantly lower ($P < 0.01$), compared with GTW group, the body weight and testicular weight of rats in flavone groups were significantly increased ($P < 0.01$), the body weight and testicular weight of rats in flavone middle dose group were significantly higher than those in high dose group and low dose group ($P < 0.05$). After treatment for 4 weeks, space of convoluted tubule in testis of rats in GTW group was broadened, convoluted tubule was distorted with edema, in severe cases, convoluted tubule was broken with scattered mesenchymal cells and significantly reduced spermatogonia and spermatocyte, the testicular damage was heavier at week 12. The above pathological damage was lighter in flavone middle dose group. After 4 weeks administration, AR mRNA and protein expression levels in testicular tissues of rats in GTW group were significantly down-regulated ($P < 0.05$), and after 12 weeks administration, AR mRNA and protein expression levels were decreased more significantly ($P < 0.01$). Flavone group (middle dose) can significantly increase the AR mRNA and protein expression levels in testicular tissues ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** GTW can significantly reduce the body weight and testicular weight of rats, down-regulate AR mRNA and protein expression levels, GTW had significant damaging effect to the testicular tissues of male rats in a dose-dependent and time-dependent manner, Cuscutae Semen flavone middle dose group had a more significant protective effect for such damages.

[**Key words**] Cuscutae Semen flavone; *Tripterygium glycosides*; reproductive injury; androgen receptor

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* 为卫矛科植物,具有清热解毒、祛风通络、舒筋活血、除湿消肿止痛的作用^[1]。其临床主要用于免疫调节、抗炎、抗肿瘤和男性抗生育等作用^[2]。相关研究发现雷公藤的重要提取物之一雷公藤红素具有减肥作用^[3],雷公藤制剂是儿科肾脏疾病治疗的重要药物之一,取得了较好的临床疗效,但近期雷公藤多苷片已列为儿童禁用药品,这为儿童临床使用雷公藤制剂带来限制。但雷公藤的相关实验研究不断深入发展,将为其正确使用提供可靠的科学证据。本课题组前期研究使用菟丝子黄酮干预雷公藤多苷(TWP)所致的雄性生殖损伤做了有益的探索^[4-6],研究提示菟丝子黄酮对生长发育期使用 TWP 所致雄性幼鼠生殖损伤有保护作用。但前期研究仅使用单一剂量,研究结果存在不足,本课题在前期的研究基础上采用不同剂量、不同给药周期观察菟丝子黄酮干预雷公藤所致的雄性幼鼠生殖损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级雄性健康 SD 大鼠 48 只,3~4 周龄,体重(50±10)g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(沪)2012-0002。饲养于上海中医药大学附属普陀医院中心实验室动物房,

许可证号 SYXK(沪)2008-0055,22~26℃,自由进食饮水。

1.2 药物与试剂 菟抗雄激素受体(AR)、菟抗β-actin单克隆抗体、二抗 HRP(美国 CST 生物有限公司,批号分别为 5153,4970S,7075)。实时荧光定量 PCR (Real-time PCR)逆转录试剂盒、反应试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司,批号分别为 R6210A,R066A];引物由上海生工生物工程有限公司合成,AR(335 bp)上游 5'-GGACCTTGATGGAGAACTAC-3',下游 5'-CCAAGTTTCTTCAGCTTACGA-3';内参 GAPDH(308 bp)上游 5'-TCACTCAAGATTGTCAGC-3',下游 5'-AGATCCACGACGGACACA-3'。雷公藤多苷药片(上海复旦复华药业有限公司,国药准字 Z31020415),菟丝子黄酮(南京泽朗医药科技有限公司,批号 ZL20140905TS,纯度≥97%)。甲醛(上海溶剂厂,批号 20070928)。Bouin 液(自配):苦味酸 75 mL,40% 甲醛 25 mL,冰乙酸 5 mL。

1.3 仪器 BCD-239SK 型冰箱(青岛 Haier 公司),EG1150H 型自动包埋机、RM2245 型石蜡切片机、DFC420C 型图像采集系统、DFC420C 型 Qwin plus 图像采集软件(德国 Leica 公司),CX41 型光学显微镜(日本 Olympus 公司),Real-time PCR system 7300

(美国 ABI 公司)。

1.4 动物分组及给药 80 只幼鼠适应 1 周后,将 2 批随机分为 5 组,空白组 *ig* 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na, 5 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$);多苷组 *ig* 雷公藤多苷,用 0.5% CMC-Na 液配制成每 0.5 mL 含生药 0.9 mg 的混悬溶液,每次 5 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。黄酮组 *ig* 雷公藤多苷加菟丝子黄酮(雷公藤多苷用量同多苷组,菟丝子黄酮高、中、低剂量组使用 0.5% CMC-Na 配制成每 0.5 mL 含黄酮 0.02, 0.01, 0.005 g 的溶液,每次 5 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。灌服时 GTW 与其他药物间隔 1 h。

1.5 大鼠睾丸脏器系数检测 给药 4, 12 周时末次给药 12 h 后称重,麻醉处死,取一侧睾丸称重,计算脏器指数,然后放入 Bouin 固定液中固定。

1.6 大鼠睾丸组织病理变化 将睾丸组织放入 Bouin 固定液中固定 1 周后取出,置 70% 乙醇中洗脱 Bouin 液,常规梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制作切片,每个标本制备睾丸组织切片 1 张,苏木素-伊红(HE)染色。

1.7 Real-time PCR 检测大鼠 AR mRNA 表达 睾丸组织提取组织总 RNA。生物分光光度计测定 RNA 浓度, -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。RNA 按试剂盒要求进行

逆转录反应,所得 cDNA 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 31 s, 40 个循环,数据采用 ABI 7300SDS Software 分析,样品靶基因相对 mRNA 表达水平以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示, $\Delta\Delta C_t = \text{样品}(\text{靶基因 } C_t - \text{GAPDH } C_t) - \text{正常组织}(\text{靶基因 } C_t - \text{GAPDH } C_t)$, 每组均做 3 个样本。

1.8 免疫印迹法 (Western blot) 检测大鼠 AR 蛋白表达 收集睾丸组织裂解产物 4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 $\times g$, 离心 15 min, 取上清,凝胶电泳,转膜,封闭后,抗 AR (1:1 000), 抗 β -actin (1:500) 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜;二抗室温下孵育 2 h, 化学发光反应扫描,进行图像分析。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件包。计量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GTW 对大鼠体重、睾丸质量、睾丸指数的影响 给药 4, 12 周,多苷组大鼠体重、睾丸质量较空白组显著降低 ($P < 0.01$);黄酮(高、低剂量)组大鼠体重、睾丸质量较空白组明显降低 ($P < 0.05$);黄酮中剂量组大鼠体重、睾丸质量较多苷组,黄酮高、低剂量组明显增高 ($P < 0.05$)。见表 1, 2。

表 1 给药 4 周时 GTW 对各组大鼠体重、睾丸质量、睾丸指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effects of GTW on rats body weight, testis weight and organ index of testicular tissue specimens in rats with 4 weeks treatment ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	体重/g	睾丸质量/g	睾丸指数
空白	-	327.45 \pm 18.45	2.26 \pm 0.12	0.69 \pm 0.06
多苷	0.009	264.22 \pm 13.80 ²⁾	1.16 \pm 0.24 ²⁾	0.43 \pm 0.11
黄酮	0.009 + 0.2	275.03 \pm 33.22 ¹⁾	1.46 \pm 0.17 ¹⁾	0.53 \pm 0.09
	0.009 + 0.1	315.14 \pm 24.75 ^{3,4)}	1.94 \pm 0.27 ^{3,4)}	0.61 \pm 0.15
	0.009 + 0.05	283.28 \pm 31.66 ^{1,3)}	1.29 \pm 0.16 ^{1,3)}	0.45 \pm 0.22

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与多苷组比较³⁾ $P < 0.01$;与黄酮高、低剂量组比较⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 给药 12 周时 GTW 对各组大鼠体重、睾丸质量、睾丸指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

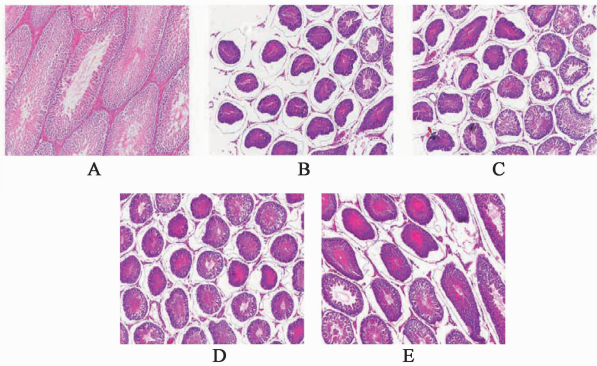
Table 2 Effects of GTW on rats body weight, testis weight and organ index of testicular tissue specimens in rats with 12 weeks treatment ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	体重/g	睾丸质量/g	睾丸指数
空白	-	501.72 \pm 21.04	3.04 \pm 0.14	0.60 \pm 0.08
多苷	0.009	389.07 \pm 79.28 ²⁾	2.21 \pm 0.16 ²⁾	0.56 \pm 0.12
黄酮	0.009 + 0.2	393.96 \pm 80.12 ²⁾	2.36 \pm 0.20 ²⁾	0.60 \pm 0.06
	0.009 + 0.1	459.13 \pm 44.93 ^{1,3,4)}	2.96 \pm 0.21 ^{3,4)}	0.64 \pm 0.10
	0.009 + 0.05	398.03 \pm 83.13 ^{2,3)}	2.61 \pm 0.17 ^{1,3)}	0.65 \pm 0.14

2.2 GTW 对大鼠睾丸组织病理的影响 给药 4 周时,多苷组大鼠睾丸曲细精管间距变宽、曲细精管扭

曲、水肿,腔内皮变薄,严重者曲细精管破裂,间质细胞散乱、精原细胞、精母细胞明显减少;黄酮高、低剂

量组大鼠睾丸曲细精管间距变宽、变薄,细胞层次尚分明,间质细胞排列尚整齐,精原细胞、精母细胞、精子细胞均有所减少,但较多苷组损伤程度轻,黄酮中剂量组与其他组比较损伤程度明显减轻。给药 12 周时,多苷组大鼠睾丸曲细精管间距变宽、曲细精管扭曲、水肿、破裂严重,间质细胞散乱、精原细胞、精母细胞明显减少,与给药 4 周时比较损伤程度较重;给药 12 周时黄酮高、低剂量组大鼠睾丸曲细精管间距变宽、层次排列均较 4 周为重,精原细胞、精母细胞、精子细胞也减少明显,与给药 4 周时比较损伤程度较重。黄酮中剂量组与其他组同期比较损伤程度明显减轻。见图 1,2。



A. 空白组;B. 多苷组;C~E. 黄酮高、中、低剂量组(图 2~4 同)
图 1 用药 4 周后 GTW 对大鼠睾丸组织病理影响(HE, ×100)
Fig.1 Pathological effects of GTW on testicular tissues in rats with 4 weeks treatment (HE, ×100)

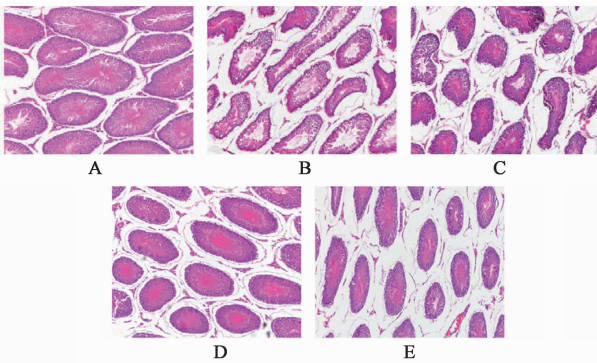
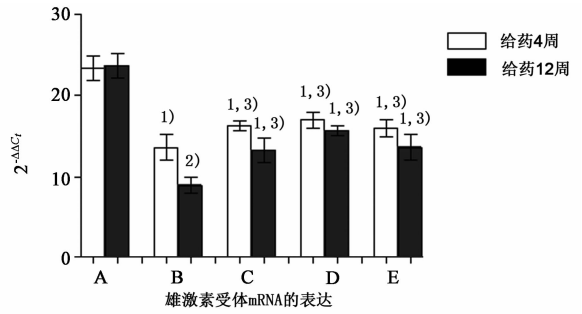


图 2 用药 12 周后 GTW 对大鼠睾丸组织病理影响(HE, ×100)
Fig.2 Pathological effects of GTW on testicular tissues in rats with 12 weeks treatment (HE, ×100)

2.3 GTW 对大鼠睾丸组织 AR mRNA 及蛋白表达的影响 给药 4 周,雷公藤多苷可以明显下调睾丸组织中 AR mRNA 及蛋白的表达($P < 0.05$),且随着给药时间延长雷公藤多苷下调睾丸组织中 AR mRNA 及蛋白的表达更加显著($P < 0.01$);菟丝子黄酮可以上调 AR mRNA 及蛋白的表达,菟丝子黄酮中剂量效

果更加显著($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 3,4。



与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与多苷组比较³⁾ $P < 0.01$;与黄酮组高剂量比较⁴⁾ $P < 0.01$;与黄酮组低剂量比较⁵⁾ $P < 0.01$ (图 4 同)

图 3 用药 4,12 周 GTW 对大鼠睾丸组织 AR mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig.3 Effects of GTW on AR mRNA expression in testicular tissues of rats with 4 and 12 weeks treatment($\bar{x} \pm s, n = 3$)

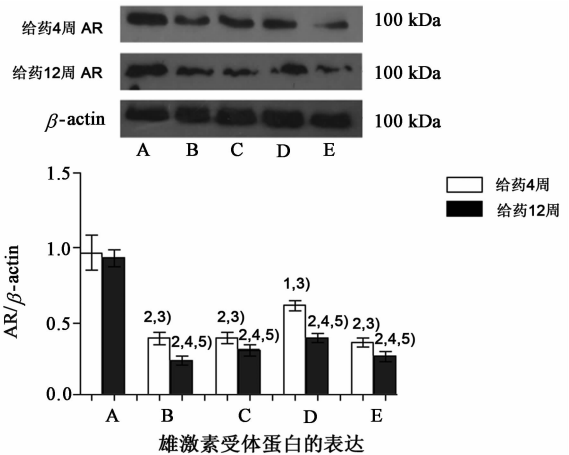


图 4 用药 4,12 周 GTW 对大鼠睾丸组织 AR 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig.4 Effects of GTW on rats AR protein expression in testicular tissues of rats with 4 and 12 weeks treatment ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 讨论

雷公藤多苷是从植物雷公藤根芯部提取的一种有效组分,其生殖系统损伤受到广泛关注,也成为限制其临床应用的主要问题。既往研究观察雷公藤可不同程度损伤动物生殖器官^[7,9],本课题组前期研究也发现雷公藤多苷可以破坏睾丸组织的生精细胞、间质细胞等^[10]。也有研究表明,雷公藤多苷可导致附睾精子畸形,线粒体鞘形成空泡、精子活力及密度下降^[11];精子线粒体结构破坏,降低膜电位从而导致少精、弱精^[12];雷公藤提取物可以损伤雄鼠睾丸生精小管,使生精细胞排列紊乱,且生殖毒性呈现时间与剂量依赖性^[13]。

国内有学者发现补肾中药有较好的拮抗雷公藤

多苷所致生殖损伤作用,相关补肾方药可通过抑制精子线粒体膜电位下降和保护线粒体结构完整性达到治疗少精弱精症^[14],淫羊藿苷可以干预小鼠睾丸生殖相关基因异常表达起到保护生殖损伤作用^[15],菟丝子黄酮对排卵障碍动物下丘脑-垂体-卵巢(HPO)轴性激素恢复作用明显,对 HPO 轴的正常功能恢复具有重要的调控作用^[16]。本课题组前期发现菟丝子黄酮能保护睾丸组织的曲精管、生精细胞、间质细胞,可以提高大鼠睾丸组织表皮生长因子(EGF) mRNA 及蛋白表达,从而起到保护睾丸组织损伤作用^[6]。观察得到雷公藤多苷作用于大鼠后睾丸损伤及菟丝子黄酮保护损伤的最佳给药剂量。

本次研究发现雷公藤多苷作用于大鼠后,大鼠在相同的观察时间点其体重及睾丸质量明显低于空白组,且随着给药周期延长有加重趋势。菟丝子黄酮中剂量组平均体重及睾丸质量下降不明显,较其他两组有明显提高,说明有较好的拮抗雷公藤的生殖损伤作用。为了进一步观察,对大鼠睾丸组织进行病理组织观察,随着雷公藤多苷的作用周期延长,其对睾丸组织的曲精管、间质细胞、生精细胞有明显的破坏作用、可以看出随着剂量累计增大,睾丸的曲精管间距增大,曲精管、间质细胞变形扭曲较重,破坏程度增加。菟丝子黄酮高、低剂量组与空白组比较未见有明显改善,但菟丝子黄酮中剂量较其他组对睾丸组织的破坏改善明显。

AR 存在于睾丸的支持细胞、间质细胞、管周细胞、血管平滑肌细胞等,介导睾丸结构及功能的发育,AR 表达缺陷则可能造成睾丸各组织结构发育不全^[17]。本次研究发现雷公藤多苷可以明显下调 AR mRNA 及蛋白表达,随着剂量累计增加 AR mRNA 及蛋白表达下调更加显著,菟丝子黄酮中剂量组可以明显提高 AR mRNA 及蛋白表达。

综上所述,雷公藤多苷对雄性幼鼠有明显的生殖损伤作用,随着剂量的累积及作用时间的延长损伤程度变重,雷公藤多苷对物雄性生殖损伤可能与损伤雄激素受体密切相关;菟丝子黄酮有较好的保护生殖损伤的作用,且中剂量表现出较佳的效果。

[参考文献]

[1] 杨涓,董江川,韩冰. 雷公藤多苷对女性生殖内分泌系统的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2006,20(5):437-440.
[2] 王笑笑,李斌,肖经纬. 男性生殖内分泌系统调节的

研究进展[J]. 毒理学杂志,2007,21(6):6501-503.
[3] Liu J, Lee J, Ozcan U, et al. Treatment of obesity with celastrol[J]. Cell, 2015, 161(5):999-1011.
[4] 景晓平. 菟丝子黄酮,六味地黄丸干预 GTW 所致雄性幼鼠生殖损伤的实验研究[D]. 上海:上海中医药大学,2009.
[5] 景晓平,何丽. 补肾中药对雷公藤多苷所致生殖损伤雄性幼鼠血清睾酮及睾丸组织 P450_{scc} 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(11):242-245.
[6] 景晓平,何丽. 菟丝子黄酮对雷公藤多苷所致生殖损伤的雄性幼鼠睾丸组织中表皮生长因子表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2013,28(6):1884-1886.
[7] 崔瑞琴,丁樱. 菟丝子黄精颗粒剂对雷公藤多苷所致生殖损伤雌鼠卵巢损伤及 smad4 mRNA 表达的影响[J]. 时珍国医国药,2009,20(12):3149-3150.
[8] 冷倩,崔瑞琴,陆彪. 雷公藤多苷对青春期大鼠睾丸组织及 c-kit 表达的影响[J]. 中国当代儿科杂志,2011,13(10):832-836.
[9] 丁樱,马腾,杨晓青,等. 临床高剂量雷公藤多苷对幼年大鼠生育能力的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(1):61-63.
[10] 景晓平,丁樱,何丽. 补肾中药对雷公藤多苷所致雄性幼鼠生殖损伤的保护作用及最终生育能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(20):230-233.
[11] Yanada D, Yoshida M, Williams Y N, et al. Disruption of spermatogenic cell adhesion and male infertility in mice lacking TSLC1/IGSF4, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule[J]. Mol Cell Biol, 2006, 26(9):3610-3624.
[12] 王桐生,黄金铃,吴德玲,等. 补肾益精胶囊对少弱精症模型大鼠精子数量、Ca²⁺ 含量及性激素水平影响[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(24):1943-1946.
[13] 李凡,彭弋峰. 雷公藤甲素致雄性生殖功能损害研究进展[J]. 生殖与避孕,2008,28(9):571-575.
[14] 王桐生,吴德玲,黄金玲,等. 补肾益精法对雷公藤多苷诱发大鼠精子线粒体超微结构与膜电位损伤的影响[J]. 北京中医药大学学报,2013,36(3):166-169.
[15] 张昕贤,黄迪,何立群,等. 雷公藤多苷诱导小鼠睾丸生殖相关基因异常表达及补肾中药的干预作用[J]. 中华男科学杂志,2012,18(5):466-471.
[16] 罗克燕,杨丹莉,徐敏. 菟丝子总黄酮对排卵障碍大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴性激素水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(13):258-260.
[17] Xia Y, Che Y, Zhang X, et al. Polymorphic CAG repeat in the androgen receptor gene in polycystic ovary syndrome patients [J]. Mol Med Rep, 2012, 5(5):1330-1334.