文章编号:1000-5404(2010)22-2365-05

论著

复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂对雄性大鼠的生殖毒性

董正谋[1],刘鲁川[1],刘 宁[1],刘 锐[1],叶丽君[1],李向杰[1],敖 琳[2] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所口腔科[1];400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院卫生毒理学教研室[2])

【摘要】 **目的** 观察复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂对雄性大鼠的生殖毒性。**方法** 100只SD雄性大鼠采用随机数字表法分为阴性对照组,低、中、高剂量组和干预组,每组20只;低、中、高剂量组每日按体质量灌服复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂(1、4、8 g/kg),阴性对照组按体质量灌服双蒸水,连续42 d;干预组按体质量腹腔注射环磷酰胺(CP,40 mg/kg),连续5 d。给药期间观察一般情况、体质量变化,记录交配与生育情况,交配成功后处死,观察大体器官,计算睾丸、附睾系数,进行精子活动能力、计数和形态学观察,测定血清睾酮(T)、雌二醇(E_2)水平,睾丸、附睾进行病理学检查,睾丸行细胞增殖核抗原(PCNA)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)免疫组化分析。**结果** 给药期间动物一般情况较好,干预组、高剂量组、阴性对照组在第2、3、4周时各死亡1只;高剂量组体质量(从第4周起)、睾丸及附睾系数、精子活动能力与计数、精子形态学与阴性对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$);高剂量组T和高、中剂量组E_2均降低,与阴性对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$);常规病理检测结果示高剂量组出现生精上皮变薄,少数管腔细胞排列紊乱,间隙增大,输出小管、附睾管上皮明显变薄,细胞减少,管间疏松,间隙增大的现象;高剂量组免疫组化PCNA表达降低、Bax表达增多,与阴性对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 高剂量的复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂对雄性大鼠生殖有一定的毒性作用;血清T、E_2降低,PCNA表达减少与Bax表达增加可能是其生殖毒性的作用机制之一。

【关键词】 牙周缓释制剂;生殖毒性;精子;血清激素;免疫组化
【中图法分类号】 R944.9;R965.3;R988.2 **【文献标志码】** A

Reproductive toxicity of periodontal sustained release drug containing ornidazole and pefloxacin mesylate on SD male rats

Dong Zhengmou[1], Liu Luchuan[1], Liu Ning[1], Liu Rui[1], Ye Lijun[1], Li Xiangjie[1], Ao Lin[2] ([1]Department of Stomatology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]Department of Hygiene Toxicology, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

【Abstract】 Objective To explore the reproductive toxicity of a periodontal sustained release drug of compound ornidazole and pefloxacin mesylate on male rats. Methods A total of 100 male SD rats were randomly divided into negative control, low-, medium-and high-dose groups and intervention group by random digits table, with 20 animals in each group. The rats of low-, medium- and high-dose groups were fed daily with the the sustained release drug at 1, 4, and 8 g/kg respectively, and those of the negative group were fed daily distilled water, for continuously 42 d; and those of the intervention group were given cyclophosphamide (40 mg/kg) by intraperitoneal injection for continuously 5 d. During this period, general state and quality; mating and fertility, general organs, coefficient of testis and epididymis; sperm movement, count and morphology; serum T and E_2 were determined respectively. Histopathological examination of testis and epididymis, and immunohistochemistry of testis for PCNA and Bcl-2 expressions were also respectively performed. Results The general state of these rats was good, except one was dead in the intervention group, high-dose and negative group respectively in 2, 3 and 4 weeks respectively. From the 4th week, the body weight, coefficient of testis and epididymis, and sperm mobility, counting and morphology in high-dose group were all statistically significant ($P<0.05$); pathological testis and epididymis in high-dose group were changed, T and E_2 were also decreased, PCNA depressed, and Bcl-2 increased, with all these having significant difference with those of negative control ($P<$

【基金项目】 重庆市科技攻关计划项目(CSTC2009AC5019)
【通信作者】 刘鲁川,电话:(023)68757576,E-mail:LiuLuchuan1957@126.com

0.05). **Conclusion** There is certainly reproductive toxicity when our periodontal sustained release drug of compound ornidazole and pefloxacin mesylate is administered in a high dose for male rats. The mechanism underlying might be the reduced serum T and E_2, decreased PCNA and increased Bax.

[Key words] periodontal sustained release drug; reproductive toxicity; sperm; serum hormone; immunohistochemistry

Supported by the Tackling Program of Scientific and Technological Research of Chongqing (CSTC2009AC5019). Corresponding author: Liu Luchuan, Tel: 86-23-68757576, E-mail: LiuLuchuan1957@126.com

牙周病(periodontal disease)是一种微生物感染性疾病,严重危害和影响人类的身心健康。在牙周病的治疗中,药物应用占有非常重要的位置,将抗菌缓控释制剂局部应用于牙周已成为一种全新的给药途径[1]。本实验对雄性大鼠由交配前到交配成功期给予复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂,观察该制剂对雄性大鼠的生殖毒性(reproductive toxicity),并初步探讨其毒性作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

11~13周龄SPF级SD雄性大鼠100只,体质量(200±20)g,购自第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心,合格证号:SCXKC(渝)2007-0005。

饲养条件:清洁级动物房,温度(22±3)℃,相对湿度50%~60%,人工照明,12 h光照,12 h黑暗,食用标准颗粒饲料,自由饮水。

1.2 药物及相关试剂

药物:复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂(10 mg/枚,自制),环磷酰胺(CP,20 mg/支,恒瑞医药公司,江苏);相关试剂:甲醇溶液(大茂化学试剂厂,天津),伊红(化学试剂研究所,北京),大鼠睾酮(T)、雌二醇(E_2)酶联免疫分析试剂盒(R&D公司,美国),PCNA、Bax检测试剂盒(博士德公司,武汉),0.1 mol/L PBS缓冲液,双蒸水等。

1.3 使用器材

解剖显微镜(OLYMPUS AV560,日本),电子天平(Libror Eb-280M,日本),420型三用恒温水浴箱(国胜实验仪器厂,江苏),全波长酶标测定仪(赛默飞公司,美国),5415D台式离心机(Epp endorf公司,德国),血细胞计数板(求精生化试剂仪器厂,上海),眼科微型器械(金钟医疗器械厂,上海)。

1.4 动物分组与给药

采用随机数字表法将大鼠分为阴性对照组,低、中、高剂量组和干预组,共5组,各20只分笼喂养。低、中、高剂量组每日按体质量灌服复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂(1、4、8 g/kg,折合原料药0.1、0.4、0.8 g/kg,相当于临床成人全口牙用量的156.25、625、1 250倍),阴性对照组按体质量灌服双蒸水,时间为至交配成功前连续42 d;干预组腹腔注射CP(40 mg/kg),每天1次,连续5 d;交配成功后处死大鼠。

1.5 实验方法与观察指标

1.5.1 一般情况 每日观察动物的外观、行动、饮水和死亡等情况;处死后大体解剖,对比观察主要脏器如心、肺、肾、肝、脾脏等,记录异常情况。

1.5.2 体质量变化 灌胃间期每周记录大鼠体质量变化。

1.5.3 交配、生育能力及生殖器官系数情况 给药42 d后与同组平行喂养的雌性SD大鼠交配,记录交配成功时间并观察生育情况;大鼠处死后睾丸、附睾称量并计算其系数,如:睾丸系数=双侧睾丸质量(g)/体质量(g)×100。

1.5.4 精子活动能力及计数的观察 取附睾置于2 ml 37 ℃生理盐水中剪碎,混匀,制成精子悬液,37 ℃孵育15 min,室温(26 ℃)下10 min内完成200个精子活动度分级和计数:活动能力分为A级(快速前向运动)、B级(慢速前向运动)、C级(非前向运动)、D级(不活动),活动率=(A+B+C)/200×100%;计数方法:吸精子悬液移入离心管中,置60~80 ℃水浴使其死亡,取悬液1滴,滴入血细胞计数板,计数精子数。

1.5.5 精子形态学观察 精子悬液1滴置于载玻片一侧,推片晾干,甲醇固定5 min,1%伊红染色1 h,冲洗,镜下观察畸形精子,包括香蕉形、胖头、双头、无钩、尾折叠、双尾、无定形,每只检查1 000个精子,每组检查10只,计算畸形率。

1.5.6 血清激素T、E_2测定 腹主动脉取血,2 000×g离心10 min得血清,使用酶联免疫分析试剂盒检测定T、E_2。

1.5.7 睾丸、附睾组织病理学检查 取睾丸和附睾组织,10%中性甲醛固定、脱水,二甲苯透明,浸蜡,石蜡包埋,苏木精-伊红染色,光镜观察形态学变化。

1.5.8 睾丸PCNA、Bax免疫组化测定 免疫组化采用SABC方法:石蜡切片脱蜡至水,灭活内源酶,抗原热修复,滴加封闭液,加一抗过夜,加二抗,滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液,DAB显色,苏木精复染,脱水透明,封片,显微镜观察,设立阴性对照,采用Image Pro Plus 6.0分析系统进行半定量分析:每组随机选10只,每张观察5个视野(×400),计算各组阳性产物占视野面积的比值,取其平均值。

1.6 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料行单因素方差分析,计数资料行χ^2检验。

2 结果

2.1 一般情况

动物一般情况较好,外观无变化,活动自如,饮水、摄食正常,干预组、高剂量组、阴性对照组在第2、3、4周时各死亡1只,大体解剖后对比观察主要组织器官与阴性对照组未见异常。

2.2 体质量变化

从第4周起高剂量组体质量逐渐减轻,与阴性对照组比较

表 1　各组大鼠给药前后体质量变化情况（g，$n=20$，$\bar{x}\pm s$）

组别	给药前	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周	第 6 周
阴性对照组	201.80 ± 9.48	227.90 ± 5.36	239.50 ± 6.11	266.45 ± 13.04	292.68 ± 13.82	312.94 ± 14.05	327.95 ± 14.05
低剂量组	201.65 ± 6.88	227.05 ± 7.13	237.35 ± 12.07	263.30 ± 16.27	291.05 ± 11.91	311.35 ± 11.57	326.35 ± 11.57
中剂量组	201.75 ± 8.94	227.65 ± 7.66	237.70 ± 10.31	265.90 ± 14.37	285.35 ± 9.54	315.70 ± 8.15	329.55 ± 8.52
高剂量组	200.80 ± 7.29	227.35 ± 4.67	237.95 ± 11.81	263.52 ± 12.27	271.00 ± 15.55[a]	292.37 ± 14.08[a]	302.42 ± 13.95[a]
干预组	199.85 ± 8.99	223.00 ± 10.51[a]	230.63 ± 10.61[a]	248.42 ± 11.34[a]	273.74 ± 10.73[a]	304.21 ± 11.33[a]	23.11 ± 10.22

a：$P<0.05$，与阴性对照组比较

表 2　各组大鼠交配、生育能力及器官系数的比较

组别	n	交配时间(h)	交配成功率	生育率	睾丸系数	附睾系数
阴性对照组	19	73.11 ± 32.89	1.00(19/19)	0.95(18/19)	1.073 2 ± 0.008 1	0.377 9 ± 0.009 2
低剂量组	20	72.20 ± 35.47	1.00(20/20)	0.95(19/20)	1.075 5 ± 0.006 3	0.373 5 ± 0.010 2
中剂量组	20	72.47 ± 30.53	0.95(19/20)	1.00(19/19)	1.073 3 ± 0.008 9	0.387 4 ± 0.045 4
高剂量组	19	76.11 ± 21.33	0.95(18/19)	0.94(17/18)	0.916 5 ± 0.012 0[a]	0.325 3 ± 0.012 1[a]
干预组	19	71.78 ± 34.38	0.95(18/19)	0.94(17/18)	0.901 1 ± 0.012 3[a]	0.316 1 ± 0.013 5[a]

a：$P<0.05$，与阴性对照组比较

表 3　各组大鼠精子活动能力与计数的比较

组别	n	A 级	B 级	C 级	D 级	活动率	精子数($\times10^8$)
阴性对照组	19	85.11 ± 2.16	67.00 ± 2.08	25.11 ± 1.24	22.79 ± 2.12	0.87(3 367/3 800)	1.18 ± 0.16
低剂量组	20	85.05 ± 1.10	67.00 ± 1.78	25.20 ± 1.01	22.65 ± 2.13	0.89(3 547/4 000)	1.14 ± 0.13
中剂量组	20	85.00 ± 1.08	66.45 ± 1.43	25.05 ± 1.36	23.50 ± 2.26	0.88(3 530/4 000)	1.16 ± 0.17
高剂量组	19	70.05 ± 1.35[a]	60.52 ± 1.65[a]	34.11 ± 1.69[a]	35.31 ± 2.06[a]	0.82(3 129/3 800)[a]	0.84 ± 0.11[a]
干预组	19	72.55 ± 1.57[a]	62.26 ± 1.52[a]	32.26 ± 1.69[a]	32.89 ± 2.23[a]	0.84(3 175/3 800)[a]	0.86 ± 0.10[a]

a：$P<0.05$，与阴性对照组比较

表 4　各组大鼠精子形态学比较（$n=10$）

组别	香蕉形	胖头	双头	无钩	尾折叠	双尾	无定形	畸形率
阴性对照组	4.60 ± 0.97	2.10 ± 0.88	1.30 ± 0.48	2.50 ± 0.97	5.90 ± 1.66	1.60 ± 0.70	4.20 ± 1.81	0.022 2
低剂量组	4.40 ± 0.97	2.20 ± 1.14	1.30 ± 0.48	2.50 ± 0.97	6.60 ± 1.17	1.40 ± 0.52	5.20 ± 1.69	0.023 5
中剂量组	5.70 ± 1.63	2.10 ± 0.88	1.60 ± 0.70	2.40 ± 0.84	7.00 ± 1.89	1.50 ± 0.53	4.80 ± 1.32	0.025 1
高剂量组	7.30 ± 1.77[a]	6.70 ± 1.49[a]	2.50 ± 0.53[a]	2.90 ± 0.74	13.60 ± 2.32[a]	3.00 ± 0.82[a]	14.50 ± 2.68[a]	0.050 5[a]
干预组	4.80 ± 1.55	3.40 ± 1.42[a]	1.80 ± 0.63	2.60 ± 0.84	13.50 ± 2.60[a]	1.60 ± 0.70	5.10 ± 1.60	0.032 8[a]

a：$P<0.05$，与阴性对照组比较

差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 1。

2.3　交配、生育能力及生殖器官系数的观察

各组交配成功时间相差不大，成功率均达 95% 以上，生育率达 94% 以上，组间比较差异无统计学意义（$P>0.05$）；高剂量组睾丸、附睾质量减轻，系数减小，与阴性对照组比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 2。

2.4　精子活动能力和计数的观察

高剂量组 A、B 级数目减少，C、D 级数目增加，活动率最低，精子数目减少，与阴性对照组比较差异均有统计学意义（$P<0.05$）。见表 3。

2.5　精子形态学观察

高剂量组香蕉形、胖头、双头、无钩、尾折叠、双尾和无定形精子均有不同程度增加，除无钩类型外，与阴性对照组比较差异有统计学意义（$P<0.05$）；畸形率以高剂量组畸形率最高，与阴性对照组比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 4。

2.6　血清激素 T、E_2 水平测定

高剂量组 T 水平明显降低，与阴性对照组比较差异有统计学意义（$P<0.05$）；高、中剂量组 E_2 随剂量的增加而下降，与阴性对照组比较差异均有统计学意义（$P<0.05$），其余组间比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表 5。

表 5　各组大鼠血清激素水平的比较（ng/L，$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	T	E_2
阴性对照组	213.28 ± 18.72	24.96 ± 2.03
低剂量组	208.24 ± 22.27	24.95 ± 1.94
中剂量组	204.56 ± 16.48	23.21 ± 1.46[a]
高剂量组	194.44 ± 18.05[a]	22.34 ± 1.83[a]

a：$P<0.05$，与阴性对照组比较

2.7　睾丸、附睾组织病理学观察

阴性对照组精曲小管见不同发育阶段的生精细胞，支持细胞附于基膜向管腔延伸，间质内见成团间质细胞；低、中剂量组图像基本正常；高剂量组生精上皮变薄，少数管腔细胞排列紊乱，间隙增大。阴性对照组附睾输出小管由高、低柱状纤毛细

胞相间排列,管腔不规则,基膜周围环绕平滑肌;附睾管由高柱、立方形的主细胞和锥形的基细胞组成,管腔规则,基膜环绕薄的平滑肌;低、中剂量组附睾图像基本正常,高剂量组输出小管、附睾管上皮明显变薄,细胞减少,管间疏松,间隙增大。见图1。

2.8 睾丸PCNA、Bax免疫组化观察

PCNA表达模式为细胞核染色,主要表达在生精细胞,精原细胞表达最强,支持细胞与间质细胞基本不着色;阴性对照和低、中剂量组表达强度基本相同;高剂量组表达明显减弱,几乎只在精原细胞中表达,与阴性对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。Bax表达模式为细胞质染色,主要表达在生精上皮细胞,间质细胞着色明显;阴性对照和低、中剂量组表达强度基本无变化;高剂量组表达强度明显增高,与阴性对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见图2、表6。

表6 免疫组化染色观察各组大鼠睾丸PCNA、Bax的表达
($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	PCNA	Bax
阴性对照组	0.217 5±0.026 4	0.035 1±0.002 6
低剂量组	0.209 9±0.017 3	0.035 9±0.003 1
中剂量组	0.206 3±0.034 6	0.037 3±0.002 7
高剂量组	0.132 7±0.022 1[a]	0.043 4±0.004 5[a]

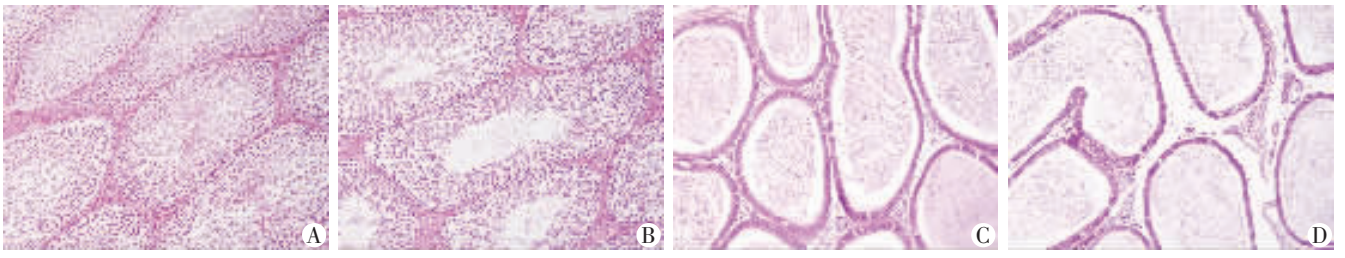
a:$P<0.05$,与阴性对照组比较

3 讨论

牙周病是一种病因复杂的微生物感染性疾病[2],牙周致病菌直接或间接损伤牙周组织,还激发宿主的炎性免疫反应。有研究指出牙周病还与心血管疾病、糖尿病、消化系统疾病、类风湿病、低体质量出生婴儿等密切相关[3],严重损害了人们的生理和心理健康。近年来,通过牙周局部应用抗菌缓控释制剂已成为牙周病治疗研究的热点[4]。复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星缓释制剂是根据牙周病发病机制并结合缓控释制剂的优点而设计的一种新药,本实验对雄性大鼠由交配前到交配成功期给予本制剂。给药期间大鼠一般情况较好,干预组、高剂量组、阴性对照组在第2、3、4周时各死亡1只。从第4周起高剂量组体质量有一定程度的减轻,可能是制剂及其代谢产物损伤和影响性腺组织,导致某些激素如T和E_2合成下降,或某些代谢环节改变造成体质量的变化,也可能与药物的一般毒性如胃肠道反应、肝脏损害等密切相关;体质量是评价体格发育的较好指标,并且与生殖密切相关[5],但引起体质量变化的具体机制还有待进一步阐明。本实验发现,各组雄鼠交配成功时间相差不大,交配率、生育率均无差别,说明本制剂对雄性交配能力和生育力无不良影响。

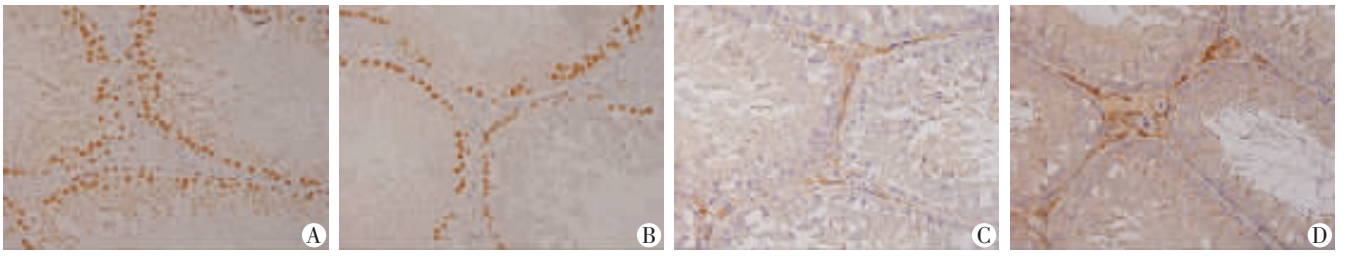
本实验中高剂量组睾丸系数、附睾系数和精子数量减小,可能是高剂量制剂或其代谢产物对睾丸、附睾的结构和功能产生直接或间接影响,导致其体质量的变化。奥硝唑和培氟沙星对精子系统的毒性已经明确[6,7]。本实验高剂量组精子数量明显减少,与精子形成的微环境发生改变密切相关,可能是二者毒性联合作用的结果。

活动度是精子运动的特征性指标,为评价成熟精子功能的重要指标之一。奥硝唑和甲磺酸培氟沙星对精子活动能力均有影响[6,8]。本研究结果显示,高剂量组精子活动度明显下降,说明存在着能量代谢的异常。



A:阴性对照组睾丸;B:高剂量组睾丸;C:阴性对照组附睾;D:高剂量组附睾

图1 2组大鼠睾丸、附睾组织病理学观察 (HE ×200)



A:阴性对照组睾丸PCNA;B:高剂量组睾丸PCNA;C:阴性对照组睾丸Bax;D:高剂量组睾丸Bax

图2 2组大鼠睾丸PCNA、Bax免疫组化染色观察 (SABC ×400)

精子形态异常可分为原发性和继发性异常，前者发生于睾丸内精子发生、形成过程，表现为香蕉形、胖头、无钩等头部的畸形；后者发生于附睾内精子成熟过程，表现为尾部的畸形，尤其以尾折叠常见[9]。本实验结果显示，高剂量组精子畸形率明显增高，头、尾部畸形均有上升，说明该制剂对睾丸、附睾的结构和功能造成了损害，影响了精子发生、形成和成熟等过程导致畸形率的增高。

T 和 E_2 是一种作用广泛的激素：T 可刺激生殖系统分化和发育，促进蛋白质合成，还参与卵泡刺激素（FSH）对睾丸支持细胞和精原细胞的增殖，促进减数分裂和生精细胞的发育[10]；E_2 除调控生殖器官外，从始基卵泡到卵泡的发育是必需的，E_2 减少或其受体缺失会影响精子发生和类固醇生成[11]；此外，二者的合成与分泌还受下丘脑-垂体-性腺轴的调节，T 和 E_2 水平可提示此性腺轴的功能[12]。本实验高剂量组血清 T 和高、中剂量组血清 E_2 水平较对照组均有明显降低，可能是该制剂及其代谢产物损害了激素合成组织，或引起激素相关蛋白的变化，也有可能影响了性腺轴中某一环节，导致 T 和 E_2 水平的下降；由于 T 是雄性主要激素，其数值有一个较宽的缓冲范围，E_2 在雄性含量相对较少，其波动较敏感，而导致高剂量组血清 T 和中、高剂量组血清 E_2 发生了变化。因此，血清 T、E_2 的变化可能是该制剂引起生殖毒性的作用机制之一。

增殖和凋亡是细胞生物学特性之一，二者相互协调，在维持细胞的生长与平衡方面起着重要的作用[13]：PCNA 与细胞增殖周期密切相关，为 DNA 复制所必需成分，其量的变化与 DNA 合成一致，可作为评价生殖细胞增殖状态的良好指标[14]。本实验结果显示，高剂量组 PCNA 表达明显减少，说明生精相关细胞增殖时 DNA 复制受到抑制，导致精子数目减少和相关功能的变化。Bax 是 Bcl-2 家族中促进凋亡的最具代表性的因子之一，与 Bcl-2 家族其他成员竞争线粒体膜通道，诱发细胞色素 C 至细胞质，从而促使凋亡发生；Bax 本身还可形成同源二聚体，抑制 Bcl-2 蛋白的抗凋亡作用[15]，因此 Bax 表达增高预示着细胞走向凋亡。本实验结果显示，高剂量组 Bax 表达明显增强，说明生精相关细胞的凋亡途径受到激活，导致精子数目减少及相关的功能受损而导致生殖毒性。以上结果提示：PCNA 表达减弱和 Bax 表达增强也可能是本制剂产生生殖毒性的可能机制之一。

综上所述，在交配前至交配成功期对雄性 SD 大鼠给予复方奥硝唑甲磺酸培氟沙星牙周缓释制剂，高剂量的制剂对大鼠生殖有一定的毒性作用；血清 T、E_2 降低，PCNA 表达减少与 Bax 表达增加可能是其生殖毒性的作用机制之一。

参考文献：

[1] Huynh T T, Padois K, Sonvico F, *et al*. Characterization of a polyurethane-based controlled release system for local delivery of chlorhexidine diacetate[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2010, 74(2): 255 - 264.

[2] Bascones-Martinez A, Munoz-Corcuera M, Noronha S, *et al*. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2009, 14(12): e680 - e685.

[3] Gazolla C M, Ribeiro A, Moyses M R, *et al*. Evaluation of the incidence of preterm low birth weight in patients undergoing periodontal therapy[J]. J Periodontol, 2007, 78(5): 842 - 848.

[4] Jain N, Jain G K, Javed S, *et al*. Recent approache for the treatment of periodontitis[J]. Drug Discov Today, 2008, 13(21/22): 932 - 943.

[5] Emre Y, Balik I, Sumer C, *et al*. Age, growth, length-weight relationship and reproduction of the striped seabream (Lithognathus mormyrus L, 1758) (Sparidae) in the Beymelek Lagoon (Antalya, Turkey)[J]. Turk J Zool, 2010, 34(1): 93 - 100.

[6] 张稳，刘清珍，商学军，等. L-肉碱对奥硝唑所致弱精子症大鼠的治疗作用[J]. 中华男科学杂志，2009，15(7)：604 - 607.

[7] Abd-Allah A R, Aly H A, Moustafa A M, *et al*. Adverse testicular effects of some quinolone members in rats[J]. Pharmacol Res, 2000, 41(2): 211 - 219.

[8] Siva A B, Yeung C H, Cooper T G, *et al*. Antimicrobial drug ornidazole inhibits hamster sperm capacitation, *in vitro*[J]. Reprod Toxicol, 2006, 22(4): 702 - 709.

[9] Axner E, Linde-Forsberg C, Einarsson S. Morphology and motility of spermatozoa from different regions of the epididymal duct in the domestic cat[J]. Theriogenology, 1999, 52(5): 767 - 778.

[10] Haywood M, Spaliviero J, Jimemez M, *et al*. Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone[J]. Endocrinology, 2003, 144(2): 509 - 517.

[11] Hewitt S C, Harrell J C, Korach K S. Lessons in estrogen biology from knockout and transgenic animals[J]. Annu Rev Physiol, 2005, 67: 285 - 308.

[12] Sykiotis G P, Hoang X H, Avbelj M, *et al*. Congenital idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: evidence of defects in the hypothalamus, pituitary, and testes[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(6): 3019 - 3027.

[13] 刘秉文，陈俊杰. 医学分子生物学[M]. 北京：中国协和医科大学出版社，2005：199 - 226.

[14] Yuksel H, Karadas E, Keles H, *et al*. Effects of hexachlorocyclohexane (HCH-gamma-isomer, lindane) intoxication on the proliferation and apoptosis in rat testes[J]. Acta Veterinaria Brno, 2009, 78(4): 615 - 617.

[15] 刘启亮，宋耀明，刘超. Neuregulin-1β 对阿霉素致心衰大鼠心肌细胞凋亡及 bax、bcl-2 蛋白表达的干预效应[J]. 第三军医大学学报，2009，31(24)：2448 - 2451.

（收稿：2010-07-09 修回：2010-09-05）

（编辑 张 维）