doi:10.11659/jjssx.10E020021

·基础研究·

茶多酚对精索静脉曲张大鼠生精细胞凋亡的影响及机制研究

杜汉承[1],林文东[2],丁小明[1] (1.泉州医学高等专科学校解剖教研室,福建 泉州 362011;2.泉州医学高等专科学校基础医学部动物实验室,福建 泉州 362011)

[摘 要] **目的** 探究茶多酚(TP)对精索静脉曲张(Vc)SD大鼠生精细胞凋亡及细胞色素c(Cyt-c)、波形蛋白表达的影响及机制。**方法** 将36只SD大鼠分为对照组、Vc组和Vc+TP组,每组12只。Vc组和Vc+TP组通过左肾静脉结扎构建精索静脉曲张模型,Vc+TP组大鼠给予茶多酚(40 mg/kg)灌胃,对照组和Vc组以等量生理盐水灌胃,连续4周。干预4周后取出大鼠睾丸组织,通过HE染色和TUNEL染色观察睾丸组织损伤和生精细胞凋亡情况,并检测茶多酚对氧化应激指标的影响。通过RT-qPCR和Western blot检测Cyt-c和波形蛋白表达。**结果** HE染色结果显示,Vc组出现广泛的上皮损伤,Vc+TP组损伤情况明显轻于Vc组。Vc组凋亡指数高于对照组及Vc+TP组($P<0.05$)。Vc组丙二醛(MDA)水平高于对照组及Vc+TP组($P<0.05$),而超氧化物歧化酶(SOD)水平低于对照组及Vc+TP组($P<0.05$);Vc组波形蛋白mRNA和蛋白表达水平均低于对照组及Vc+TP组($P<0.05$),而Cyt-c mRNA和蛋白表达水平均高于对照组及Vc+TP组($P<0.05$)。**结论** 茶多酚可通过抑制氧化应激反应保护线粒体功能并促进波形蛋白的表达,从而抑制生精细胞凋亡,减轻睾丸损伤,达到缓解精索静脉曲张的目的。

[关键词] 茶多酚;精索静脉曲张;细胞色素c;波形蛋白;生精细胞

[中图分类号] R697 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-10-12

Effect and mechanism of tea polyphenols on the apoptosis of spermatogenic cells in rats with varicocele

DU Han-cheng[1], LIN Wen-dong[2], DING Xiao-ming[1] (1. Department of Anatomy, Quanzhou Medical College, Quanzhou Fujian 362011, China; 2. Animal Laboratory of Basic Medicine Department, Quanzhou Medical College, Quanzhou Fujian 362011, China)

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of tea polyphenols (TP) on the apoptosis of spermatogenic cells and the expression of cytochrome c (Cyt-c) and vimentin in SD rats with varicocele (Vc). **Methods** A total of 36 SD rats were divided into the control group, the Vc group and the Vc+TP group, with 12 rats in each group. The varicocele model was constructed by left renal vein ligation in the Vc group and the Vc+TP group. Rats in the Vc+TP group were given tea polyphenols (40 mg/kg) by gavage, and the control group and the Vc group were given the same amount of normal saline by gavage for 4 consecutive weeks. The testicular tissue of rats was removed after 4 weeks of intervention; HE staining and TUNEL staining were used to detect the testicular tissue damage and the apoptosis of spermatogenic cells, and to detect the effect of tea polyphenols on oxidative stress indicators. The expression of Cyt-c and vimentin were detected by RT-qPCR and Western blot. **Results** The results of HE staining showed that extensive epithelial damage occurred in the Vc group, and the damage in the Vc+TP group was significantly lighter than that in the Vc group. The apoptosis index of the Vc group was higher than that of the control group and the Vc+TP group ($P<0.05$). The level of malondialdehyde (MDA) in the Vc group was higher than that in the control group and the Vc+TP group ($P<0.05$), while the level of superoxide dismutase (SOD) was lower than that in the control group and the Vc+TP group ($P<0.05$). The expression levels of vimentin mRNA and protein in the Vc group were lower than those in the control group and the Vc+TP group ($P<0.05$), while the expression levels of Cyt-c mRNA and protein were higher than those in the control group and the Vc+TP group ($P<0.05$). **Conclusion** Tea polyphenols can protect the function of mitochondria and promote the expression of vimentin by inhibiting oxidative stress response, thereby inhibiting the apoptosis of spermatogenic cells, reducing testicular damage, and achieving the purpose of alleviating varicocele.

Keywords: tea polyphenols; varicocele; cytochrome c; vimentin; spermatogenic cells

精索静脉曲张(varicocele,Vc)表现为精索绒毛状丛的异常增大,是男性不育症的主要原因[1]。目前关于精索静脉曲张的机制尚不清楚,最新研究表明,支持细胞和生殖细胞之间的联系降低会导致生殖细胞凋亡,而波形蛋白为支持细胞提供保护和营养,因此在精索静脉曲张患者中波形蛋白表达降低会使细胞营养供给下降,进而引起生殖细胞凋亡[2]。细胞色素c(cytochrome c,Cyt-c)是氧化过程中的关键蛋白,Cyt-c的降低会引起线粒体功能异常,并诱导生精细胞过度凋

[基金项目] 泉州市科技计划项目(2019N076S)

[通信作者] 林文东,E-mail:29334273@qq.com

亡[3]。茶多酚(tea polyphenol,TP)是一种强效抗氧化剂,可以防止许多细胞系和动物模型中的氧化应激及DNA损伤[4]。有研究显示,茶多酚可以缓解氧化应激引起的生殖细胞损伤[5]。但是茶多酚对精索静脉曲张的影响以及作用机制仍不清楚。本研究主要分析茶多酚对精索静脉曲张模型大鼠生精细胞凋亡及波形蛋白、Cyt-c蛋白表达的影响,并分析其作用机制,为临床治疗精索静脉曲张提供新的参考方案。

1 材料与方法

1.1 主要材料

清洁级SD大鼠(合格证号:2015000553055),雄性,6周龄,由上海斯莱克实验动物中心提供,无菌饲养于泉州医学高等专科学校的SPF级屏障系统动物实验室内[许可证号:SYXK(闽)2016-0001],保持温度23~25 ℃、相对湿度25%左右。

茶多酚(Selleck公司,中国),TUNEL染色试剂盒(碧云天公司,中国),显微镜(Olympus公司,日本),氧化应激试剂盒(三工生物技术有限公司,中国),组织匀浆机(Thermo Fisher Scientific公司,美国),TRIzol(Sigma公司,美国),Prime Script-RT和SYBR Premix Ex Taq试剂盒(Takara公司,日本),RIPA裂解缓冲液(Beyotime公司,中国),BCA试剂盒(武汉博斯特生物技术有限公司,中国),抗体(Abcam公司,美国),PVDF膜(Bio-Rad公司,美国)。

1.2 动物分组、建模和干预

将36只SD大鼠随机分为对照组、Vc组和Vc+TP组,每组12只。Vc组和Vc+TP组通过左肾静脉结扎构建精索静脉曲张模型[6],具体方法如下:大鼠腹腔注射5%水合氯醛进行麻醉,切开腹直肌暴露左侧肾,部分结扎左侧肾静脉,使肾静脉内径狭窄。对照组仅切开腹腔暴露左侧肾静脉但不结扎。Vc+TP组采用茶多酚灌胃,剂量为40 mg/kg[7],每日1次,持续4周;对照组和Vc组以等量生理盐水灌胃,持续4周。

1.3 HE染色观察睾丸组织损伤

干预后,所有大鼠腹腔注射2%戊巴比妥,断头处死后取出睾丸组织;用4%多聚甲醛固定,再用梯度乙醇脱水;经石蜡包埋,制成厚度为4 μm的切片并制作玻片标本;加入苏木精室温孵育10 min,然后加入0.5%曙红溶液室温孵育3 min,显微镜下观察。

1.4 TUNEL染色检测细胞凋亡

取按照1.3方法制作的睾丸组织玻片标本,根据TUNEL试剂盒说明书加入TUNEL反应液试剂与底物二氨基联苯胺进行反应染色,然后在显微镜的高倍镜下随机观察5个视野,计算凋亡指数,凋亡指数=凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.5 氧化应激指标检测

将睾丸组织制作成组织匀浆,以3 000 r/min的速度离心25 min,根据氧化应激试剂盒检测丙二醛(malondialdehyde,MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)水平。

1.6 RT-qPCR检测mRNA表达

使用TRIzol提取睾丸组织中总RNA,用逆转录cDNA试剂盒逆转录1 μg RNA用于合成cDNA(42 ℃下60 min,70 ℃下5 min,4 ℃保存)。使用SYBR Green PCR Master Mix和PCR检测系统进行RT-qPCR实验(95 ℃下10 s,50 ℃下30 s,72 ℃下30 s,40个循环,4 ℃保存)。将GAPDH作为内参,通过比较循环阈值大小分析mRNA的表达水平。

1.7 Western blot检测蛋白表达

将所有的睾丸组织用匀浆机均匀研磨后萃取总蛋白,通过BCA试剂盒测量浓度。各组分别取40 μg总蛋白,用10%聚丙烯酰胺凝胶进行电泳(80~120 V,90 min),在100 mV恒定电压下与PVDF膜进行湿转移,在5%牛血清白蛋白中室温孵育1 h。将1∶500稀释的anti-CaSR、anti-PI3K和anti-AKT添加到分离的蛋白中,4 ℃孵育过夜。洗涤后在室温下添加二抗孵育1 h,然后加入化学发光试剂进行显影。利用GAPDH作内参,用Image J软件分析目标条带的灰度值。

1.8 统计学处理

数据分析使用SPSS 19.0统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,两两比较使用*SNK-q*检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

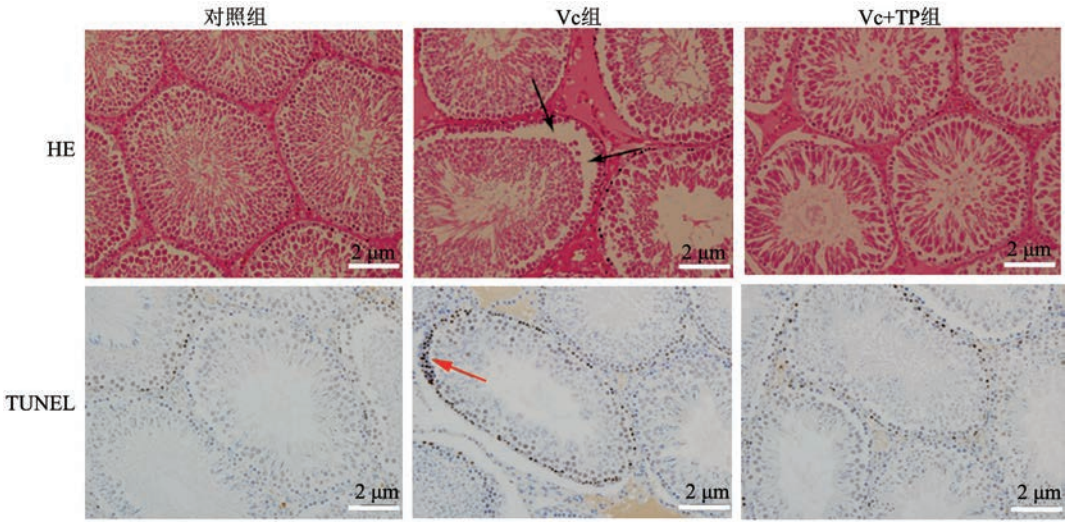
2 结果

2.1 茶多酚对精索静脉曲张大鼠睾丸组织的影响

睾丸组织切片HE染色结果显示,对照组生精小管内的生精细胞排列有序,管腔中有精子;Vc组出现广泛的上皮损伤,液腔,生精细胞无序分布,睾丸生精功能明显受损;Vc+TP组损伤情况明显轻于Vc组,生精细胞排列基本有序,管腔中有少量精子(图1)。

2.2 茶多酚对精索静脉曲张大鼠生精细胞凋亡的影响

3组间凋亡指数比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组有少量的TUNEL阳性生精细胞,凋亡指数为(5.21±0.86)%;Vc组可广泛观察到TUNEL阳性生精细胞,凋亡指数为(21.09±1.82)%,显著高于对照组($P<0.05$);Vc+TP组TUNEL阳性生精细胞较Vc组少,凋亡指数为(12.36±1.05)%,显著低于Vc组($P<0.05$),见图1。



黑色箭头:损伤上皮;红色箭头:阳性生精细胞,表示细胞凋亡

图1 大鼠睾丸组织 HE 染色及 TUNEL 染色结果

2.3 茶多酚对精索静脉曲张大鼠氧化应激水平的影响

3 组间 MDA 和 SOD 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Vc 组 MDA 水平显著高于对照组($P<0.05$),SOD 水平显著低于对照组($P<0.05$);Vc+TP 组 MDA 水平显著低于 Vc 组($P<0.05$),SOD 水平显著高于 Vc 组($P<0.05$),见表 1。

表1 茶多酚对精索静脉曲张大鼠氧化应激指标的影响($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	MDA/(nmol·mL^{-1})	SOD/(U·mL^{-1})
对照组	4.63±0.52	135.63±13.68
Vc 组	12.07±1.45*	91.26±11.75*
Vc+TP 组	7.22±0.91#	124.52±11.96*#
F	38.753	29.546
P	0.000	0.000

*:与对照组比较,$P<0.05$;#:与 Vc 组比较,$P<0.05$

2.4 茶多酚对精索静脉曲张大鼠波形蛋白、Cyt-c mRNA 的影响

3 组间波形蛋白、Cyt-c mRNA 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Vc 组波形蛋白 mRNA 显著低于对照组及 Vc+TP 组($P<0.05$),而 Cyt-c mRNA 显著高于对照组及 Vc+TP 组($P<0.05$),见表 2。

表2 茶多酚对精索静脉曲张大鼠波形蛋白、Cyt-c mRNA 的影响($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	波形蛋白	Cyt-c
对照组	5.81±0.54*	1.06±0.10*
Vc 组	1.45±0.15	4.75±0.45
Vc+TP 组	3.66±0.37*	3.01±0.32*
F	59.418	55.798
P	0.000	0.000

*:与 Vc 组比较,$P<0.05$

2.5 茶多酚对精索静脉曲张大鼠波形蛋白、Cyt-c 蛋白表达的影响

3 组间波形蛋白、Cyt-c 蛋白表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Vc 组波形蛋白表达水平显著低于对照组及 Vc+TP 组($P<0.05$),而 Cyt-c 蛋白表达水平显著高于对照组及 Vc+TP 组($P<0.05$),见图 2、表 3。

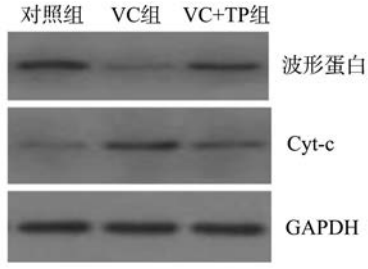


图2 大鼠睾丸组织 Western blot 检测结果

表3 茶多酚对精索静脉曲张大鼠波形蛋白、Cyt-c 蛋白的影响($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	波形蛋白	Cyt-c
对照组	3.45±0.30*	0.61±0.06*
Vc 组	0.76±0.08	2.97±0.29
Vc+TP 组	2.03±0.18*	1.49±0.12*
F	62.034	56.942
P	0.000	0.000

*:与 Vc 组比较,$P<0.05$

3 讨论

健康男性人群中精索静脉曲张的发生率为15%~20%,且35%~50%的原发性不育男性和80%的继发性不育男性皆患有精索静脉曲张[8]。静脉曲张切除术是治疗精索静脉曲张引起的男性不育的最常用技

术,然而其手术效果有限。有研究显示,经静脉切除术治疗的精索静脉曲张患者精液相关指标仅改善了50% ~80%,表明精索静脉曲张切除术不能完全恢复患者生育能力[9]。

精索静脉曲张主要是由精索静脉瓣功能异常、静脉血管损伤等引起的静脉回流损伤,其通过引起组织灌注异常,导致含氧量降低和氧化应激反应,进而引起支持细胞和生精细胞损伤,其中氧化应激反应是导致精索静脉曲张和生精细胞损伤的关键机制。研究显示,茶多酚作为一种有效的抗氧化剂,可以缓解心肌缺血引起的心功能受损[10];在脑缺血大鼠中,氧化应激是引起炎症反应、诱导海马神经元凋亡的主要原因,而茶多酚可以通过减少氧化应激损伤保护血脑屏障功能,从而缓解神经元凋亡[11]。也有研究显示,茶多酚对生殖细胞损伤的修复有一定作用,其可以减少由铝引起的睾丸中支持细胞的损伤和凋亡,从而保护睾丸的功能[12],还可以通过缓解氧化应激反应提高精液中精子浓度,改善精子活力和形态,从而提高精子质量[13]。但是茶多酚对精索静脉曲张的影响尚不明确,本研究通过部分结扎左侧肾静脉构建大鼠精索静脉曲张模型,并经茶多酚灌胃治疗,结果显示茶多酚可以明显缓解氧化应激损伤,抑制生精细胞和支持细胞的凋亡,从而缓解精索静脉曲张。

为进一步分析茶多酚治疗精索静脉曲张的机制,本研究检测了波形蛋白 mRNA 和蛋白、Cyt-c mRNA 和蛋白的表达水平。Cyt-c 主要存在于线粒体中,而线粒体是有氧呼吸的主要场所,灌注不足、氧气含量降低和活性氧自由基升高会直接引起线粒体功能受损、线粒体外膜通透性改变,进而引起 Cyt-c 的外流[14]。线粒体损伤不但会加剧氧化应激反应,也会直接导致线粒体途径的凋亡,从而诱导生精细胞和支持细胞凋亡[15]。有研究显示,减轻线粒体损伤可以缓解精索静脉曲张引起的生精细胞凋亡[16]。波形蛋白是重要的支持蛋白,在维持睾丸中支持细胞的功能和形态上发挥关键作用,并且波形蛋白也具有连接支持细胞和生精细胞的作用[17]。氧化应激反应会降低波形蛋白的表达[18],而波形蛋白表达的降低会减少支持细胞和生精细胞的连接,抑制支持细胞的增殖,从而诱导生精细胞凋亡[19]。本研究结果显示,精索静脉曲张大鼠睾丸中 Cyt-c 水平升高而波形蛋白水平明显降低,茶多酚干预后 Cyt-c 水平降低而波形蛋白水平升高,提示茶多酚可能通过提高波形蛋白的表达恢复细胞正常形态和功能,并减少细胞的凋亡。还有研究显示,茶多酚可以保护线粒体功能,抑制 Cyt-c 水平,从而减轻胰腺的氧化应激损伤[20]。张玉森等[21]的研究显示,茶多酚可以通过保护线粒体功能缓解阿尔茨海默症大鼠的神经损伤。这提示茶多酚可以通过抑制活性氧调控氧化应激水平,从而保护线粒体功能、抑制 Cyt-c 的外流及细胞凋亡;此外,茶多酚也可以促进波形蛋白的表达,从而增加支持细胞与生精细胞之间的连接,保护生精细胞的功能,促进精子生成,缓解精索静脉曲张。

综上所述,茶多酚可通过抑制氧化应激反应,保护线粒体功能并促进波形蛋白表达,从而抑制生精细胞的凋亡和睾丸损伤,发挥缓解精索静脉曲张的作用。但是关于茶多酚对精索静脉曲张的疗效仍需临床试验验证,其调控的分子机制值得进一步深入研究。

[参考文献]

[1] Alderson JH, O'Neil DC, Redmond CE, et al. Varicocele embolization: an assessment of the quality and readability of online patient information [J]. Acad Radiol, 2020, 27(6): 841 - 846. doi: 10.1016/j.acra.2019.08.005.

[2] Vaz ADC, Paccola CC, Mendes TB, et al. Sertoli cell alterations in peripubertal varicocelized rats: evidence of primary damage on spermatogenesis[J]. J Histochem Cytochem, 2020, 68(3): 185 - 198. doi: 10.1369/0022155420902547.

[3] 杜宝昕,崔 云,郑军状,等. 通精灵对精索静脉曲张模型大鼠生精细胞凋亡及线粒体超微结构的影响[J]. 中华中医药学刊,2019,37(2):365 - 368. doi:10.13193/j.issn.1673 - 7717.2019.02.026.

[4] Zhao Y, Zhang X. Interactions of tea polyphenols with intestinal microbiota and their implication for anti-obesity[J]. J Sci Food Agric, 2020, 100(3): 897 - 903. doi: 10.1002/jsfa.10049.

[5] Zhou C, Zhang X, ShiYang X, et al. Tea polyphenol protects against cisplatin-induced meiotic defects in porcine oocytes[J]. Aging, 2019, 11(13): 4706 - 4719. doi: 10.18632/aging.102084.

[6] 杨 诚,郭文彬,张万松,等. 4-氨基丁酸转氨酶在精索静脉曲张大鼠睾丸中的表达及其意义[J]. 中华实验外科杂志,2019,36(4):702 - 705. doi:10.3760/cma.j.issn.1001 - 9030.2019.04.036.

[7] 王晓芹,邓小燕,于晓斌,等. 茶多酚通过降脂、抗炎、抗氧化以及调控 TGF-β/Smad 信号通路缓解 2 型糖尿病[J]. 中药药理与临床,2018,34(3):46 - 50.

[8] Pagani RL, Ohlander SJ, Niederberger CS. Microsurgical varicocele ligation: surgical methodology and associated outcomes[J]. Fertil Steril, 2019, 111(3): 415 - 419. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.01.002.

[9] Asafu-Adjei D, Judge C, Deibert CM, et al. Systematic review of the impact of varicocele grade on response to surgical management[J]. J Urol, 2020, 203(1): 48 - 56. doi: 10.1097/JU.0000000000000311.

[10] Qi Y, Yang C, Jiang Z, et al. Epicatechin-3-gallate signaling and protection against cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2019, 371(3): 663 - 674. doi: 10.1124/jpet.119.260117.

[11] Kho AR, Choi BY, Lee SH, et al. Effects of protocatechuic acid (PCA) on global cerebral ischemia-induced hippocampal neuronal death[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5): 1420 - 1424. doi: 10.3390/ijms19051420.

doi:10.11659/jjssx.10E020002

·基础研究·

山竹醇通过 NF-κB 信号通路抑制 IL-1β 诱导的髓核细胞炎症和细胞外基质降解

张顺利,顾运涛,陈 荣,赵 海 (海南医学院第二附属医院骨科一区,海南 海口 570102)

[摘 要] **目的** 探讨山竹醇(Gar)对白介素-1β(IL-1β)诱导的髓核细胞炎症和细胞外基质降解的影响。**方法** 提取大鼠髓核细胞,用含不同浓度山竹醇联合或者不联合 IL-1β 的新鲜培养基进行培养,根据细胞处理方式分为 Control 组、IL-1β 组、IL-1β + Gar 2.5 μM 组、IL-1β + Gar 5 μM 组。采用 MTT 法检测大鼠髓核细胞活力,采用 Western blot、定量 RT-PCR 和免疫荧光染色检测大鼠髓核细胞的基质代谢、炎症因子水平及相关信号通路蛋白。**结果** 山竹醇在 0 ~ 10 μM 剂量下对大鼠髓核细胞无细胞毒性;IL-1β可诱导髓核细胞活力降低($P < 0.05$),剂量为 2.5 ~ 10 μM 的山竹醇能够改善 IL-1β 刺激下的髓核细胞活力($P < 0.05$)。IL-1β刺激后髓核细胞中 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 表达水平显著提高($P < 0.05$),而山竹醇能抑制 IL-1β 刺激后的髓核细胞中 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 表达水平($P < 0.05$)。IL-1β 下调了髓核细胞中Col Ⅱ和Aggrecan mRNA 表达水平($P < 0.05$),而山竹醇则显著改善了 IL-1β 刺激下髓核细胞中 Col Ⅱ和 Aggrecan mRNA 表达水平($P < 0.05$)。IL-1β 可显著提高髓核细胞中 TNF-α、IL-6、IL-8、COX-2 和 iNOS mRNA 表达水平($P < 0.05$),而山竹醇可抑制 IL-1β 诱导的 TNF-α、IL-6、IL-8、COX-2 和 iNOS mRNA 表达水平($P < 0.05$)。Western blot 结果显示,IL-1β 激活了髓核细胞中的 NF-κB 信号通路,而山竹醇逆转了 IL-1β 对 NF-κB p65 的活化作用($P < 0.05$),同时逆转了 IL-1β 引起的 IκBα 蛋白水平降低($P < 0.05$)。免疫荧光染色结果显示,IL-1β 刺激下髓核细胞核中发生 p65 核转移,山竹醇显著抑制了 p65 向核的转移。**结论** 山竹醇可通过抑制 NF-κB 信号通路,减轻 IL-1β 诱导的大鼠髓核细胞炎症反应,降低分解代谢水平,具有治疗椎间盘退行性变(IDD)的潜能。

[关键词] NF-κB;炎症;山竹醇;椎间盘退行性变;基质代谢

[中图分类号] R681 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-10-03

Garcinol inhibiting the inflammation and extracellular matrix degradation in IL-1β induced nucleus pulposus cells through NF-κB signaling pathway

ZHANG Shun-li, GU Yun-tao, CHEN Rong, ZHAO Hai (Department of Orthopaedics Area I, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou Hainan 570102, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of garcinol (Gar) on the inflammation and extracellular matrix degradation in nucleus pulposus cells induced by Interleukin-1β (IL-1β). **Methods** The rat nucleus pulposus cells were extracted and cultured with fresh media

[基金项目] 海南省自然科学基金(18A200111);海南医学院科研培育基金(HYPY201925)

[通信作者] 赵 海,E-mail:zhaohai201808@163.com

[12] 王程强,欧超燕,施文祥,等. 茶多酚对铝致大鼠睾丸支持细胞损伤的拮抗作用研究[J]. 重庆医学,2016,45(22):3031 - 3033. doi:10.3969/j.issn.1671 - 8348.2016.22.003.

[13] Rahman SU, Huang Y, Zhu L, et al. Therapeutic role of green tea polyphenols in improving fertility: a review[J]. Nutrients, 2018, 10(7): 834 - 837. doi:10.3390/nu10070834.

[14] Shin EJ, Tran HQ, Nguyen PT, et al. Role of mitochondria in methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity: involvement in oxidative stress, neuroinflammation, and pro-apoptosis: a review[J]. Neurochem Res, 2018, 43(1): 66 - 78. doi:10.1007/s11064 - 017 - 2318 - 5.

[15] Celik-Ozenci C, Kuscu N, Gungor-Ordueri NE, et al. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase may have preventive potential for varicocoele-associated testicular damage in rats[J]. Andrology, 2017, 5(2): 362 - 369. doi:10.1111/andr.12305.

[16] Samanta L, Agarwal A, Swain N, et al. Proteomic signatures of sperm mitochondria in varicocele: clinical use as biomarkers of varicocele associated infertility[J]. J Urol, 2018, 200(2): 414 - 422. doi:10.1016/j.juro.2018.03.009.

[17] Al-Obaidy KI, Idrees MT, Grignon DJ, et al. Adenocarcinoma of the rete testis: clinicopathologic and immunohistochemical characterization of 6 cases and review of the literature[J]. Am J Surg Pathol, 2019, 43(5): 670 - 681. doi:10.1097/PAS.0000000000001219.

[18] 周 进,黄文涛,代能捷,等. EGCG 调控 miR-133a/b-3p 和 TGF-β1/Smad3 抗慢性阻塞性肺疾病的作用研究[J]. 中药材,2018,2(2):437 - 441. doi:10.13863/j.issn1001 - 4454.2018.02.042.

[19] Abdel-Hamid AAM, Atef H, Zalata KR, et al. Correlation between testicular mast cell count and spermatogenic epithelium in non-obstructive azoospermia[J]. Int J Exp Pathol, 2018, 99(1): 22 - 28. doi:10.1111/iep.12261.

[20] 席俊彦,庾镇藩,杨 莹,等. 茶多酚对 L-精氨酸诱导的小鼠急性胰腺炎的影响及机制分析[J]. 湘南学院学报(医学版),2018,20(4):28 - 31. doi:10.16500/j.cnki.1673 - 498x.2018.04.007.

[21] 张玉森,董瑞瑞,杨 倩,等. 茶多酚联合原花青素改善 AD 大鼠记忆作用及机制[J]. 中国公共卫生,2019,35(3):304 - 308. doi:10.11847/zgggws1121357.

(编辑:杨 颖)