

# 淫羊藿总黄酮通过 AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B 信号通路 减轻自然衰老大鼠睾丸组织炎症反应

韩贵芳<sup>1</sup>,张长城<sup>1</sup>,陈茜<sup>1</sup>,马娜<sup>1</sup>,袁丁<sup>1,2</sup>,赵海霞<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>三峡大学医学院,宜昌 443002;<sup>2</sup>三峡大学仁和医院,宜昌 443001

**摘要:**探讨淫羊藿总黄酮(Total flavonoids of *Epimedium*, TFE)对自然衰老大鼠睾丸组织中 AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B 信号通路的影响及其抗炎作用。将 40 只 18 月龄雄性 SD 大鼠随机分为 TFE 低、中、高剂量组和自然衰老组,每组 10 只。另取 10 只 2 月龄雄性 SD 大鼠作为青年对照组。TFE 低、中、高剂量组分别以 10、20、40 mg/kg 剂量灌胃给药,青年对照组和自然衰老组大鼠均灌胃给予质量分数为 1% 羧甲基纤维素钠溶液,持续给药 4 个月。HE 染色观察大鼠睾丸组织形态,Western blot 法检测各组大鼠睾丸组织中 AMPK、p-AMPK、SIRT1、acetyl-NF $\kappa$ Bp65、IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  蛋白表达水平。结果显示,与自然衰老组相比,TFE 低、中、高剂量组大鼠睾丸组织形态结构均有明显改善,TFE 可促进大鼠睾丸组织内 p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达,显著降低 acetyl-NF $\kappa$ Bp65 及其下游炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  蛋白表达水平。实验结果表明,TFE 可减轻自然衰老大鼠睾丸组织炎症反应,其机制可能与调控 AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B 信号通路有关。

**关键词:**淫羊藿总黄酮;衰老;睾丸;炎症反应;AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B 通路

中图分类号:R96;R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.9.003

## Total Flavonoids of *Epimedium* Reduce Inflammatory Reaction via AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B Signaling Pathway in Testes of Natural Aging Rats

HAN Gui-fang<sup>1</sup>, ZHANG Chang-cheng<sup>1</sup>, CHEN Qian<sup>1</sup>, MA Na<sup>1</sup>, YUAN Ding<sup>1,2</sup>, ZHAO Hai-xia<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

<sup>2</sup>Ren-He Hospital of China Three Gorges University, Yichang 443001, China

**Abstract:** This study was to investigate the effect of total flavonoids of *Epimedium* (TFE) on AMPK / SIRT1 / NF $\kappa$ B signaling pathway and its anti-inflammatory effect in the testes of natural aging rats. Forty 18-month-old male SD rats were randomly divided into TFE low-, medium- and high-dose group and natural aging group. Ten 2-month-old SD male rats were used as young control group. TFE low-, medium- and high-dose groups were given 10, 20 and 40 mg/kg dose for 4 months by stomach lavaging, respectively. However, young control group and natural aging group were given the same concentration of 1% sodium carboxymethyl cellulose solution, lasting for 4 months. The testicular histology was observed by haematoxylin-eosin (HE) staining. The relative protein expression levels of AMPK, p-AMPK, SIRT1, acetyl-NF $\kappa$ Bp65, IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  in the testes of rats were detected by Western blot. These data showed that TFE treatment significantly improved the change of testicular histomorphology with aging. In addition, TFE significantly increased the protein expression levels of p-AMPK and SIRT1, and decreased the protein expression levels of acetyl-NF $\kappa$ Bp65 when compared with the natural aging group. Furthermore, TFE significantly downregulated inflammatory factors IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  levels with aging. Taken together, TFE reduce the inflammatory response of testes in natural aging rats, and its mechanism may be related to the regulation of AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B signaling pathway.

**Key words:** total flavonoids of *Epimedium*; aging; testes; inflammatory response; AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B signaling pathway

随着年龄的增加,机体各方面发生显著变化,中

老年男性的睾丸功能及生殖能力随增龄出现渐进性衰退。衰老过程中,血清睾酮水平及游离睾酮水平呈下降趋势<sup>[1]</sup>;精液参数随年龄而变化,每日精子生成量,精子总数和精子活力均与年龄呈负相关<sup>[1,2]</sup>。男性 40 岁后(啮齿类动物 18M 后)睾丸代

收稿日期:2018-02-23

接受日期:2018-06-22

基金项目:国家自然科学基金(81503334,81373881,81774316,81573931)

\* 通信作者 E-mail:zhaohaixia.mm@163.com

谢下降<sup>[3]</sup>,正常形态的精子百分比开始下降<sup>[4]</sup>,受孕时间延长,怀孕困难增加<sup>[5]</sup>。且父母年龄每增加5年,体外受精(IVF)活产率下降26%<sup>[6]</sup>。而随着社会的发展,人口老龄化现象愈发严重,加上我国“二胎”政策的全面实施,使得生育年龄和中老年男性的生育需求不断增加,因此,延缓睾丸衰老,寻找能够改善衰老引起的生殖能力减退的药物具有重要的临床意义和社会意义。

淫羊藿,又名仙灵脾,可补肾壮阳、祛风除湿、强健筋骨,为临床常用的补肾中药。现代药理学研究显示,淫羊藿具有抗衰老<sup>[7]</sup>和增强雄性生殖功能<sup>[8]</sup>等药理作用,其主要活性成分为淫羊藿总黄酮(Total flavonoids of *Epimedium*, TFE)<sup>[9]</sup>。本课题组前期研究显示,TFE能提高精子的浓度和活力,抑制睾丸内生殖细胞凋亡,对衰老大鼠生殖功能衰退有良好的改善作用。此外,TFE还可减轻自然衰老大鼠脑组织炎症反应,从而延缓脑衰老<sup>[10]</sup>。然而,TFE能否通过抑制睾丸组织内的炎症反应延缓睾丸衰老还鲜有报道。本实验通过观察TFE对自然衰老大鼠睾丸AMPK/SIRT1/NF $\kappa$ B信号通路及炎症相关蛋白表达的影响,来探讨TFE对睾丸衰老的影响及可能机制。

## 1 实验材料

### 1.1 动物

于北京维通利华实验动物技术有限公司购买SPF级雄性SD大鼠18月龄40只、2月龄10只,许可证号:SCXK(京)2012-0001,分笼饲养于三峡大学医学院实验动物中心SPF级屏障系统(实验动物使用许可证号SCXK[鄂]2011-0012),屏障内保持湿度55%~65%,温度(20 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,控制光照,每天12h明暗交替,标准颗粒饲料饲养,不限摄食与饮水。

### 1.2 药物及试剂

TFE(成都仁诚生物科技有限公司,含量为80%),临用前将其用质量分数为1%的羧甲基纤维素钠(CMC-Na)37 $^{\circ}$ C加热助溶,后配成相应浓度的溶液。苯甲基磺酰氟(PMSF)、磷酸蛋白酶抑制剂、三羟甲基氨基甲烷(Tris-base)、甘氨酸、十二烷基硫酸钠(SDS),均购自武汉谷歌生物有限公司;RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、Western Blot Marker,均购自北京普利莱基因技术有限公司;ECL显影液,购自上海碧云天生物技术研究所; $\beta$ -actin抗体(Proteintech公司,美国;货号:66009-1-1g);AMPK抗体(santa cruz公司,美国;货号:sc-25792)、p-AMPK

(santa cruz公司,美国;货号:sc-33524)、TNF $\alpha$ 抗体(santa cruz公司,美国;货号:sc-1350);SIRT1抗体(millipore公司,美国;货号:#07-131),acetyl-NF $\kappa$ Bp65(acetyl k310)(abcam公司,美国;货号:ab19870)、IL-1 $\beta$ (abcam公司,美国;货号:ab9722);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、山羊抗小鼠、兔抗山羊二抗,均购自武汉科瑞有限公司。

### 1.3 仪器

PowerPac TM Basic电泳仪(Bio-Rad,美国);Bioshine Chemi Q 4800化学发光凝胶成像自动显影仪(上海欧翔科学仪器有限公司);IX53显微镜(Olympus,日本);LEICA EG 1150H石蜡包埋机、LEICA TP 1020自动脱水机、LEICA EG 1150C超薄切片机(Leica,德国);JA2003电子分析天平(上海天平仪器厂)。

## 2 方法

### 2.1 实验分组及给药

将40只18月龄大鼠随机分为4组,每组10只,即自然衰老组、TFE低、中、高剂量组,10只2月龄大鼠为青年对照组。按照成人体质量剂量换算后TFE各剂量组分别按10、20、40 mg/kg剂量灌胃给药,每周称量一次大鼠体重,根据体重调整TFE的灌胃量,青年对照组和自然衰老组大鼠均灌胃给予质量分数为1%的CMC-Na溶液。各组每天定时灌胃1次,每6天间隔1天再继续灌胃,给药共计4个月。末次给药后禁食不禁水12h,麻醉,处死大鼠。

### 2.2 睾丸HE染色

大鼠处死后,快速完整地取出睾丸组织,切取部分于4%多聚甲醛中固定,脱水、石蜡包埋、切片,按常规操作进行HE染色,中性树胶封片后于光镜下观察组织形态学变化。

### 2.3 Western Blot检测AMPK、p-AMPK、SIRT1、acetyl-NF $\kappa$ Bp65、IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ 蛋白表达水平

称取50~80 mg睾丸组织,取适量裂解液(RIPA裂解液:PMSF:蛋白磷酸酶抑制剂=100:1:1)提取总蛋白,BCA蛋白定量试剂盒测定所提蛋白浓度,加入上样缓冲液,煮沸变性5~10 min,制备SDS-PAGE凝胶,电泳并转至PVDF膜,封闭,依次孵育一抗、二抗,ECL化学发光法显影。Image-Pro Plus 6.0软件进行分析处理。

### 2.4 统计学处理方法

采用Graph Pad Prism 5统计学软件进行分析。

计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组样本间采用方差分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 实验结果

#### 3.1 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织形态学的影响

结果见图 1。青年对照组大鼠曲细精管结构完

整,小管内可见各级生精细胞紧密规则排列。与青年对照组比较,自然衰老组大鼠曲细精管萎缩,小管间隙增大,生精细胞有部分脱落现象,且生精细胞层数和数目明显减少。而 TFE 用药组大鼠睾丸曲细精管的形态结构均有明显恢复现象。

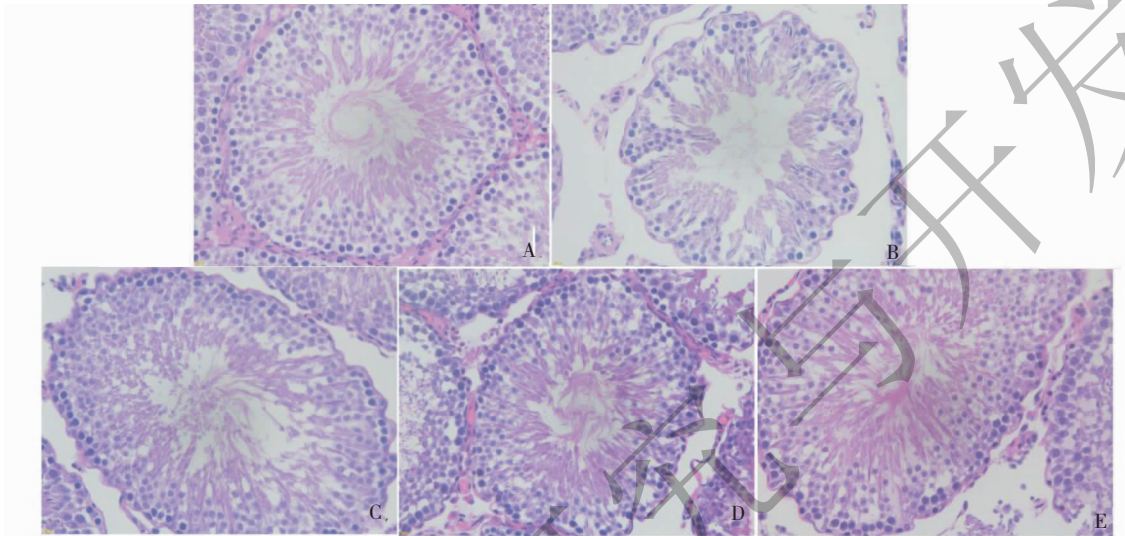


图 1 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织形态学的影响 ( $\times 400$ )

Fig. 1 Effect of TFE on testis morphology in natural aging rats ( $\times 400$ )

注:A:青年对照组;B:自然衰老组;C:TFE 低剂量组;D:TFE 中剂量组;E:TFE 高剂量组。

Note: A: young control group; B: natural aging group; C: TFE low-dose group; D: TFE medium-dose group; E: TFE high-dose group.

#### 3.2 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织 AMPK、p-AMPK 蛋白表达的影响

如图 2 所示,与青年对照组比较,自然衰老组大鼠睾丸组织 AMPK 蛋白表达增加,而 p-AMPK 蛋白的表达水平及 p-AMPK/AMPK 比值均显著降低( $^{##}P < 0.01$ )。给予 TFE 后,AMPK 蛋白表达减少,p-AMPK 蛋白表达及 p-AMPK/AMPK 比值增加,其中,TFE 中、高剂量 p-AMPK/AMPK 比值与自然衰老组比较差异有统计学意义( $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ )。

#### 3.3 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织 SIRT1 和 acetyl-NFκBp65 蛋白表达的影响

如图 3 所示,与青年对照组比较,自然衰老组大鼠睾丸组织 SIRT1 表达水平明显降低( $^#P < 0.05$ ), acetyl-NFκBp65 蛋白的表达水平明显增加( $^#P < 0.05$ ),差异有统计学意义。与自然衰老组比较,TFE 可上调 SIRT1 蛋白表达、下调 acetyl-NFκBp65 蛋白表达,其中,TFE 中、高剂量组 SIRT1 与 acetyl-NFκBp65 与自然衰老组比较差异有统计学意义( $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ )。

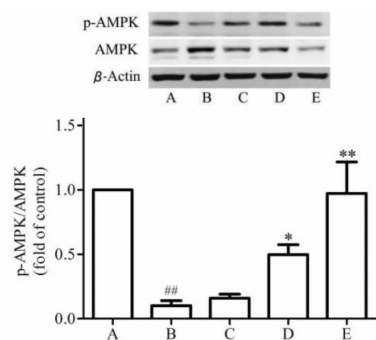


图 2 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织 p-AMPK、AMPK 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of TFE on the protein expression of p-AMPK and AMPK in testis of natural aging rats

注:A:青年对照组;B:自然衰老组;C:TFE 低剂量组;D:TFE 中剂量组;E:TFE 高剂量组。与青年对照组比较, $^{##}P < 0.01$ ;与自然衰老组比较, $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。

Note: A: young control group; B: natural aging group; C: TFE low-dose group; D: TFE medium-dose group; E: TFE high-dose group. Compared with young control group,  $^{##}P < 0.01$ ; Compared with natural aging group,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ .

### 3.4 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ 蛋白表达水平的影响

如图 4 所示,自然衰老组大鼠睾丸组织 NF- $\kappa$ B 下游炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  蛋白的表达水平较青年对照组显著增加( $^{###}P < 0.01$ )。而 TFE 各剂量组可剂量依赖性抑制 IL-1 $\beta$  和 TNF $\alpha$  表达水平。

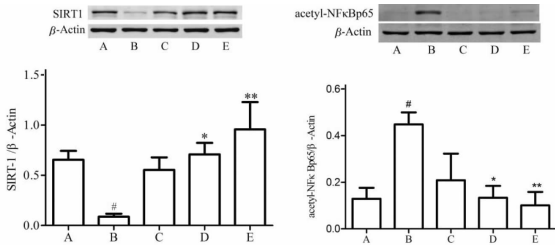


图 3 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织 SIRT1、acetyl-NF $\kappa$ Bp65 蛋白表达水平的影响

Fig. 3 Effect of TFE on the protein expression levels of SIRT1 and acetyl-NF $\kappa$ Bp65 in testis of natural aging rats

注:A:青年对照组;B:自然衰老组;C:TFE 低剂量组;D:TFE 中剂量组;E:TFE 高剂量组。与青年对照组比较, $^{\#}P < 0.05$ , $^{###}P < 0.01$ ;与自然衰老组比较, $^*P < 0.05$ , $^{**}P < 0.01$ 。

Note:A:young control group;B:natural aging group;C:TFE low-dose group;D:TFE medium-dose group;E:TFE high-dose group. Compared with young control group, $^{\#}P < 0.05$ , $^{###}P < 0.01$ ;Compared with natural aging group, $^*P < 0.05$ , $^{**}P < 0.01$ .

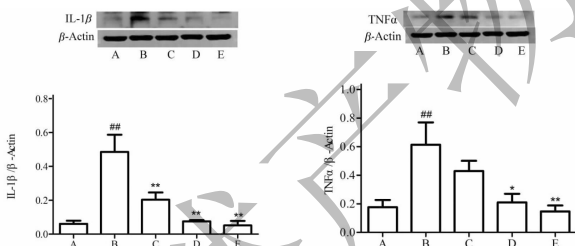


图 4 TFE 对自然衰老大鼠睾丸组织 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  蛋白表达水平的影响

Fig. 4 Effect of TFE on the protein expression levels of IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  in testis of natural aging rats

注:A:青年对照组;B:自然衰老组;C:TFE 低剂量组;D:TFE 中剂量组;E:TFE 高剂量组。与青年对照组比较, $^{###}P < 0.01$ ;与自然衰老组比较, $^*P < 0.05$ , $^{**}P < 0.01$ 。

Note:A:young control group;B:natural aging group;C:TFE low-dose group;D:TFE medium-dose group;E:TFE high-dose group. Compared with young control group, $^{\#}P < 0.05$ , $^{###}P < 0.01$ ;Compared with natural aging group, $^*P < 0.05$ , $^{**}P < 0.01$ .

## 4 结论

衰老是一个复杂且普遍的自然现象,表现为机

体随着年龄增加逐渐出现的结构和机能的退行性改变。在雄性啮齿类动物中,睾丸出现退行性变化是其衰老的典型特征之一,衰老大鼠睾丸出现萎缩,睾丸指数明显降低,睾丸的形态结构发生明显改变。淫羊藿作为传统的“补肾壮阳”中药,具有抗炎<sup>[10]</sup>、抗衰老<sup>[7]</sup>和增强雄性生殖功能<sup>[8]</sup>等药理作用,其主要活性成分为 TFE<sup>[9]</sup>。研究表明,TFE 对 D-半乳糖致亚急性衰老大鼠睾丸损伤有明显的改善作用<sup>[11]</sup>,且对自然衰老大鼠睾丸组织的退行性改变亦有明显的保护作用<sup>[12]</sup>。本研究结果亦证实,给予 TFE 后,曲细精管内生精细胞数目明显增多且排列整齐紧密,睾丸组织形态结构明显改善,表明 TFE 可改善衰老导致的大鼠睾丸组织形态退行性改变。

单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein, AMPK)参与调节一系列衰老相关信号通路如 SIRT1、CRTC-1、NF $\kappa$ B、mTOR 等,在衰老过程中具有重要作用。组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 通过多种信号通路调节炎症、代谢、细胞增殖、凋亡和衰老等病理生理过程。研究表明,AMPK 与 SIRT1 之间具有正反馈循环<sup>[13-15]</sup>:AMPK 首先增强烟酰胺磷酸核糖转移酶的表达,继而增加胞内烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)浓度激活 SIRT1, SIRT1 随即激活其下游分子,从而干预衰老进程;另外有研究发现 SIRT1 能通过去乙酰化作用激活 AMPK 的上游活化因子肝激酶 B1(LKB1),进而反馈调节 AMPK。SIRT1 又被称为“青春因子”,能够延长果蝇、线虫等的寿命。天然存在的抗氧化和抗炎化合物白藜芦醇是 SIRT1 的强效活化剂,能缓解肥胖诱导的炎症从而保护睾丸类固醇的合成<sup>[16]</sup>。我们的结果显示,自然衰老组大鼠 AMPK 蛋白表达增加,p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达显著减少,而给予 TFE 后,AMPK 蛋白表达减少,p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达显著增加,说明 AMPK/SIRT1 信号通路参与睾丸衰老进程。

大量研究显示,慢性炎症是睾丸结构及功能退化的重要原因,炎症相关因子 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  能够阻遏睾酮合成蛋白酶基因的表达和转录,抑制精子生成,降低精子活力,减少精子数量,影响精液质量从而导致不育<sup>[17]</sup>。研究发现,增龄过程中睾丸内促炎转录因子 NF- $\kappa$ B 转录活性增强,其下游炎症因子如 TNF $\alpha$ 、IL-6 等显著增多<sup>[18]</sup>。在 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠睾丸组织中 IL-1、IL-6 及 TNF $\alpha$  含量亦明显增加<sup>[19]</sup>,SIRT1 主要通过抑制 NF- $\kappa$ B 乙酰化水平及其转录活性进而对体内外的炎症反应起负向调节作用。红景天能通过上调 SIRT1 从而抑制 NF- $\kappa$ B 乙酰化水平进而改善 D-半乳糖致衰老大鼠大脑

炎症反应<sup>[20]</sup>; TFE 亦能够抑制 MAPK/NF $\kappa$ B 信号通路减轻自然衰老大鼠脑组织炎症反应<sup>[10]</sup>。然而, TFE 能否通过调节 NF $\kappa$ B 的乙酰化水平进而抑制睾丸衰老过程中的炎症反应还未见报道。因此, 本实验采用 Western blot 检测了 acetyl-NF $\kappa$ B 及下游炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  的表达, 结果显示, 衰老大鼠炎症相关蛋白 acetyl-NF $\kappa$ B 及其下游炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  的蛋白表达水平明显增高, 而 TFE 能显著降低其表达, 提示 TFE 能够抑制衰老睾丸组织的炎症反应, 进而实现对衰老睾丸组织的保护作用。

综上所述, TFE 可减轻自然衰老大鼠睾丸组织炎症反应, 其机制可能与促进 AMPK 磷酸化, 上调 SIRT1 蛋白表达, 抑制 NF $\kappa$ B 乙酰化水平及其转录活性, 减少炎症相关因子 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  的表达有关。这为进一步研究 TFE 保护生殖功能的机制提供了实验基础, 也为临床使用中药淫羊藿提供了一定的科学指导。

#### 参考文献

- Yeap BB, Manning L, Chubb SAP, *et al.* Progressive impairment of testicular endocrine function in ageing men; Testosterone and dihydrotestosterone decrease, and luteinizing hormone increases, in men transitioning from the 8th to 9th decades of life [J]. *Clin Endocrinol*, 2017; 88-95.
- Gunes S, Hekim GNT, Arslan MA, *et al.* Effects of aging on the male reproductive system [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2016, 33: 441-454.
- Well D, Yang H, Houseni M, *et al.* Age-related structural and metabolic changes in the pelvic reproductive end organs [J]. *Semin Nucl Med*, 2007, 37: 173-184.
- Stone BA, Alex A, Werlin LB, *et al.* Age thresholds for changes in semen parameters in men [J]. *Fertil Steril*, 2013, 100: 952-958.
- Khan SD. Aging and male reproduction. male infertility [M]. Springer India, 2017.
- Robertshaw I, Khoury J, Abdallah ME, *et al.* The effect of paternal age on outcome in assisted reproductive technology using the ovum donation model [J]. *Reprod Sci*, 2014, 21: 590-593.
- Zhang JL (张嘉丽), Zhang N (张宁), Song XB (宋新波), *et al.* Research progress on anti-aging effect of total flavonoids of herba Epimedium [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2018, 30: 339-343.
- Yuan D, Wang H, He H, *et al.* Protective effects of total flavonoids from Epimedium on the male mouse reproductive system against cyclophosphamide-induced oxidative injury by up-regulating the expressions of SOD3 and GPX1 [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(1): 88-97.
- Jiang J, Zhao BJ, Song J, *et al.* Pharmacology and clinical application of plants in Epimedium L. [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(1): 12-23.
- Song LX (宋来新), Zhang CC (张长城), Wang T (王婷), *et al.* Total flavonoids of Epimedium reduce brain inflammatory response via inhibiting MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathway in natural aging rats [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2017, 33(1): 84-90.
- Liu HR (刘浩然), Liu YL (刘颖琳), Peng XD (彭向东), *et al.* Effects of total flavones of Epimedium brevicornu Maxim on testis diseases in D-galactose-induced aging rats [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm* (中华中医药杂志), 2009, 24: 599-602.
- Zhao H, Song L, Huang W, *et al.* Total flavonoids of Epimedium reduce ageing-related oxidative DNA damage in testis of rats via p53-dependent pathway [J]. *Andrologia*, 2017, 49, 10: 1-7.
- Kim M, Lim J, Youn H, *et al.* Resveratrol prevents renal lipotoxicity and inhibits mesangial cell glucotoxicity in a manner dependent on the AMPK-SIRT1-PGC1 $\alpha$  axis in db/db mice [J]. *Diabetologia*, 2013, 56: 204-217.
- Chang HC, Guarente L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25: 138-145.
- Lan F, Cacicedo JM, Ruderman N, *et al.* SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1 possible role in AMP-activated protein kinase activation [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 27628-27635.
- Lv ZM, Wang Q, Chen YH, *et al.* Resveratrol attenuates inflammation and oxidative stress in epididymal white adipose tissue; implications for its involvement in improving steroidogenesis in diet-induced obese mice [J]. *Mol Reprod Dev*, 2015, 82: 321-328.
- Azenabor A, Ekun AO, Akinloye O. Impact of inflammation on male reproductive tract [J]. *J Reprod Infertil*, 2015, 16: 123-129.
- Zhao XJ (赵秀军). The effects of oxidative stress and chronic inflammation on the aging of testicular Leydig cells and the underlying mechanisms [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University (河北医科大学), 2013.
- Wang ZL (汪子铃), Qiu Z (邱竹), Chen XB (陈雄斌), *et al.* Change in the testis structure and function of D-gal-induced aging mice and the oxidative stress-related mechanism [J]. *Chin J Histochem Cytochem* (中国组织化学与细胞化学杂志), 2016, 25: 476-481.
- Gao J, Zhou R, You X, *et al.* Salidroside suppresses inflammation in a D-galactose-induced rat model of Alzheimer's disease via SIRT1/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Metab Brain Dis*, 2016, 31: 771-778.