

己烯雌酚对成年雄性金色中仓鼠的生殖毒性与氧化损伤的关系*

马爱团^{1,2} 陈耀星^{1**} 王子旭¹

1. 中国农业大学动物医学院, 北京 100094

2. 河北农业大学中兽医学院, 河北 定州 073000

摘要 为研究环境雌激素己烯雌酚 (DES) 的生殖毒性与活性氧 (ROS) 的关系, 连续 7 天给成年金色中仓鼠皮下注射 0、0.01、0.1、1 mg/kg BW DES, 称量睾丸重量、计算睾丸相对重量, 光镜观察睾丸组织结构的变化, 分光光度法检测睾丸组织和血浆中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总抗氧化能力 (T-AOC) 和丙二醛 (MDA) 的含量。结果表明: 1 mg/kg BW DES 导致睾丸萎缩、重量下降, 曲细精管中生精细胞排列紊乱, 管腔内几乎没有成熟精子; 随着 DES 剂量的增加, 睾丸组织中 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 含量显著下降, MDA 显著上升。提示 DES 的生殖毒性与 ROS 密切相关, DES 通过降低抗氧化酶水平, 增加 ROS 含量, 干扰生精细胞正常功能, 导致细胞死亡, 表明氧化损伤可能是环境雌激素生殖毒性的作用机理之一 [动物学报 53 (6): 1076-1082, 2007]。

关键词 金色中仓鼠 雄性 己烯雌酚 生殖毒性 活性氧

Relationship between reproductive toxicity and oxidative damage induced by diethylstilbestrol in adult male golden hamsters*

MA Ai-Tuan^{1,2}, CHEN Yao-Xing^{1**}, WANG Zi-Xu¹

1. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China

2. College of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Agricultural University of Hebei, Dingzhou 073000, Hebei, China

Abstract To explore the relationship between reproductive toxicity and oxidative damage induced by diethylstilbestrol (DES), adult male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) were treated with different dosages of DES (0, 0.01, 0.1, 1 mg/kg body weight) by subcutaneous injection for 7 consecutive days. Absolute and relative testicular weights were measured. Morphological changes in testes and spermatogenic cells were observed in the light microscope. The contents of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), total antioxidant capacity (T-AOC) and malondialdehyde (MDA) in testicular tissue and plasma were detected by spectrophotography. Results showed that testicular weight decreased significantly with increasing dosages of DES. Germ cells were scattered irregularly in seminiferous tubules and few mature sperms were observed in the lumens. As well as morphological changes, the antioxidant enzymes including SOD, GSH-Px and T-AOC in testicular tissue all decreased which led to the increase in MDA. It is concluded that there is a close relationship between reproductive toxicity of DES with reactive oxygen species (ROS). DES impairs the normal function of spermatogenic cells through decreasing antioxidant activity, resulting in the increases of ROS. These results indicate that oxidative damage may be one of the mechanisms of reproductive toxicity induced by environmental estrogens [Acta Zoologica Sinica 53 (6): 1076-1082, 2007].

Key words Golden hamster, *Mesocricetus auratus*, Male, Diethylstilbestrol, Reproductive toxicity, Reactive oxygen species

随着环境污染的加剧, 人类及动物不可避免地接触到环境内分泌干扰物 (Endocrine disrupting

chemicals, EDCs)。根据 EDCs 的作用不同可分为环境雌激素、环境雄激素、环境甲状腺激素等, 其中

2007-06-15 收稿, 2007-08-12 接受

* 国家自然科学基金 (No.30471247, 30671514) 资助 [This research was funded by the grants from the National Natural Science Foundation of China (No.30471247, 30671514)]

** 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: yxchen@cau.edu.cn

© 2007 动物学报 Acta Zoologica Sinica

大多数 EDCs 具有雌激素活性。动物试验表明, 环境雌激素几乎能够引起各种类型的雄性生殖障碍, 如性腺发育不良、睾丸萎缩、精子活力降低、睾丸肿瘤等 (Pflieger-Bruss et al., 2004; Hayes, 2005), 导致许多野生动物的繁殖能力显著下降, 而且对人类的生殖健康也产生了潜在威胁 (Hayes, 2005)。目前环境雌激素的雄性生殖毒性已经得到确认, 但其作用机理还不够清晰。

己烯雌酚 (Diethylstilbestrol, DES) 是一种合成雌激素, 经常作为研究环境雌激素效应的药物模型。研究表明, 大鼠或小鼠出生前后接触 DES 导致隐睾、睾丸和阴茎发育不全、青春期生精障碍等疾病 (Hayes, 2005; Rivas et al., 2003; Goyal et al., 2005)。对成年动物的有关报道相对较少, 但试验证实, DES 同样引起成年大鼠精子数量减少、生精细胞死亡 (Nair and Shaha, 2003)。本实验室的前期工作证明, DES 降低血清睾酮 (Testosterone, T) 含量, 诱导成年仓鼠附睾上皮细胞凋亡 (邱春红, 2002), 同时 DES 促进一氧化氮合酶 (NOS) 产生, 上调 *p53* 基因表达, 引起生精细胞凋亡 (杨筱珍等, 2005)。

活性氧 (ROS) 是诱导细胞死亡的重要因素, 生精细胞的损伤也与 ROS 密切相关 (Aitken and Baker, 2002; Mishra and Shaha, 2005), 而仓鼠是研究环境雌激素效应的良好动物 (Hendry et al., 2002; 杨筱珍等, 2005)。本试验利用成年仓鼠研究 DES 对体内抗氧化系统的影响, 探讨 DES 引起的生精损伤与 ROS 的关系, 为阐明环境雌激素雄性生殖毒性的作用机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物处理

选用成年雄性金色中仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) (购自北京维通利华实验动物技术有限公司), 平均体重约 125 g, 正常饲养 7 d 后, 随机分为 4 组 (每组 8 只), A、B、C 组分别皮下注射 200 μ l 含 1、0.1、0.01 mg/kg 体重 (Body weight, BW) DES (Sigma) 的橄榄油, D 组为对照组, 注射等量橄榄油 (邱春红, 2002; 杨筱珍等, 2005), 每天 1 次, 连续 7 d。每天称重, 处理结束后取双侧睾丸称重, 计算睾丸相对重量: 相对重量 = 睾丸重量 (g) / 体重 (kg); 心脏采血, 分离血浆, 左侧睾丸制作组织匀浆, 右侧睾丸固定, 用于形态学观察; 血浆及组织匀浆用于检测抗氧化酶的活性。

试验重复 2 次, 试验中成年仓鼠总数量为 90 只。

1.2 组织形态学观察

称重后, 立即将右侧睾丸固定于 4% 多聚甲醛, 制备 5 μ m 石蜡切片, HE 染色, 光镜下观察睾丸组织和生精细胞的形态结构。

1.3 氧化指标的检测

分光光度计 (Helios Gamma 型, 英国产) 检测血浆和睾丸组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总抗氧化能力 (T-AOC) 和丙二醛 (MDA) 的含量 (试剂盒均购自南京建成生物制品厂), 按试剂盒说明书用黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 含量, 二硫代二硝基苯甲酸法检测 GSH-Px 含量, 化学比色法测定 T-AOC 活性, 硫代巴比妥酸法 (TBARs) 检测 MDA 含量, 考马斯亮蓝法检测蛋白质含量。方法及步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理

使用 SPSS12 软件包进行单因素方差分析 (One Way ANOVA), 数据以均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 表示, $P < 0.01$ 为差异极显著, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 DES 对体重、睾丸重量及相对重量的影响

用药过程中, 各组仓鼠体重均逐渐增加, 其中对照组体重增加最快, 高剂量 DES 组最慢, 但各组之间没有显著性差异。用药 7 d 后仓鼠睾丸萎缩, 体积缩小, 睾丸重量及相对重量均显著下降, 1 mg/kg DES 组的睾丸重量与对照和低剂量 DES 组比较差异均极显著 ($P < 0.01$), 睾丸相对重量差异显著 ($P < 0.05$), 低剂量 DES 处理后各项指标与对照组均无显著性差异, 详见表 1。

2.2 睾丸组织结构的变化

在光学显微镜下, 1 mg/kg BW DES 处理 7 d 后, 曲细精管的管壁变薄, 管壁中细胞排列紊乱, 细胞分层减少且不明显, 细胞间出现较大的间隙。管腔内有大量异常脱落的精母细胞和圆形精子细胞, 几乎所有管腔内均少见或未见有长形精子细胞和精子 (图 1A); 0.1 mg DES 处理的仓鼠, 其正常生精小管与紊乱的小管交替出现 (图 1B), 0.01 mg/kg BW DES 组与对照组比较没有明显差别, 生精上皮基本完整, 各级生精细胞排列有序 (图 1C)。对照组的睾丸结构完整; 曲细精管排列整齐, 结构清晰; 管壁中生精细胞轮廓清楚, 层次分

表 1 DES 对金色中仓鼠增重的影响

Table 1 Effects of DES on weight gains in golden hamsters

组别 Group	初均重 (g) Initial average BW	末均重 (g) Final average BW	睾丸重 (g) Testicular weight	睾丸重/体重 (g/kg) Relative testicular weight
1 mg/kg DES	132.6 ± 6.69	135.0 ± 5.29	2.23 ± 0.615 ^b	16.48 ± 4.15 ^b
0.1 mg/kg DES	132.3 ± 7.55	139.7 ± 7.74	2.976 ± 0.369 ^A	21.30 ± 2.12 ^a
0.01 mg/kg DES	132.6 ± 2.30	138.2 ± 1.30	3.314 ± 0.306 ^A	23.97 ± 2.07 ^a
对照 Control	132.4 ± 11.73	140.8 ± 6.14	3.324 ± 0.211 ^A	23.65 ± 2.03 ^a

同一列数字后不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$), 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Lower case letters: $P = 0.05$; Capital letters: $P = 0.01$.

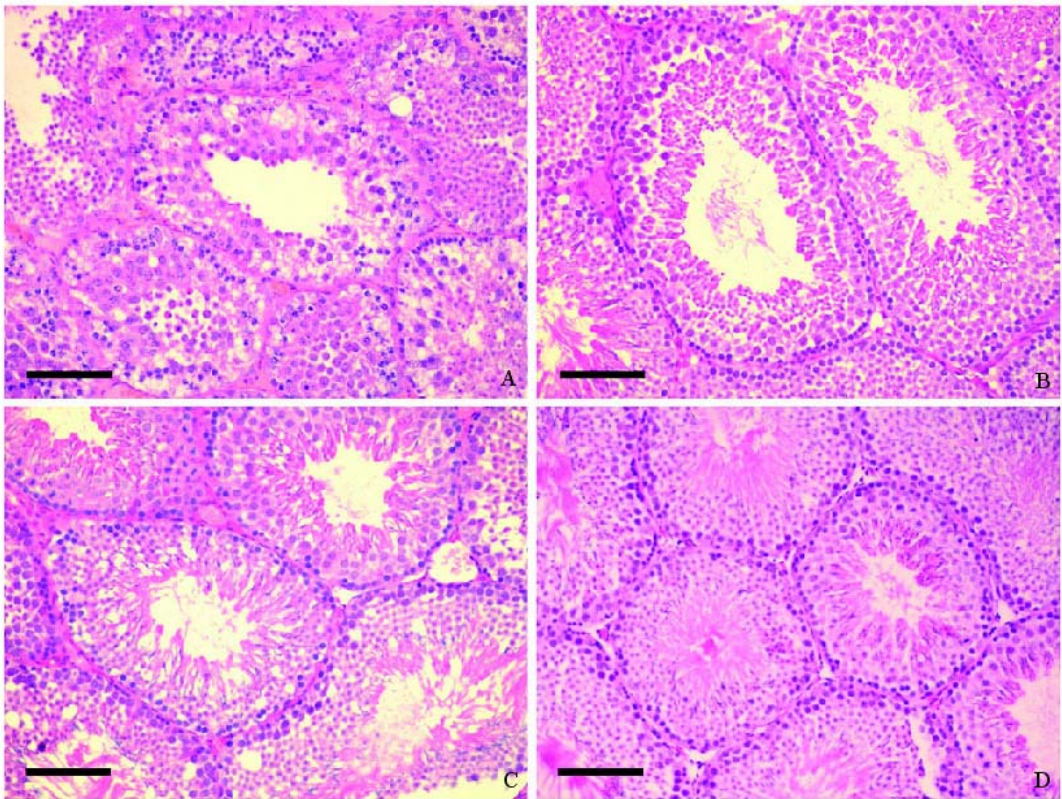


图 1 不同剂量 DES 处理后仓鼠睾丸曲精小管及生精细胞形态结构的变化

A. 1 mg/kg DES 处理组, 睾丸生精细胞排列紊乱, 管腔内均少见或未见有成熟精子。B. 0.1 mg/kg DES 处理组, 正常生精小管与结构紊乱的小管交替出现。C. 0.01 mg/kg DES 处理组, 生精上皮基本完整, 各级生精细胞排列有序。D. 对照组, 曲细精管排列整齐, 管腔内有大量成熟精子。标尺均示 100 μm 。

Fig.1 Morphological changes in seminiferous tubule and spermatogenic cells in golden hamsters after DES treatment

A. 1 mg/kg DES group showed that the germ cells scattered irregularly in seminiferous tubules and few mature sperms were observed in lumens. B. 0.1 mg/kg DES group showed the alternation of normal and disordered seminiferous tubules. C. 0.01 mg/kg DES group showed spermatogenic cells were orderly arranged in integrated spermatogenic epithelium. D. control group showed all seminiferous tubules were line up in order and filled with mature sperms. Scale bar = 100 μm .

明; 管腔内多充满精子和长形精子细胞 (图 1D)。

2.3 分光光度法检测相关氧化指标的变化

2.3.1 SOD 的检测结果

经检测, DES 显著降低了睾丸和血浆中 SOD

的水平, 1 mg/kg DES 组睾丸组织中 SOD 含量与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$), 0.1 mg 组与对照组也有显著差异。血浆中不同剂量 DES 组 SOD 含量均显著下降 ($P < 0.05$), 1 mg DES 组 SOD 含

量最低 (图 2)。

2.3.2 GSH-Px 的检测结果

结果表明, 连续 7 d 注射 1 mg/kg DES, 睾丸组

织和血浆中 GSH-Px 含量均显著下降, 与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$) (图 3)。

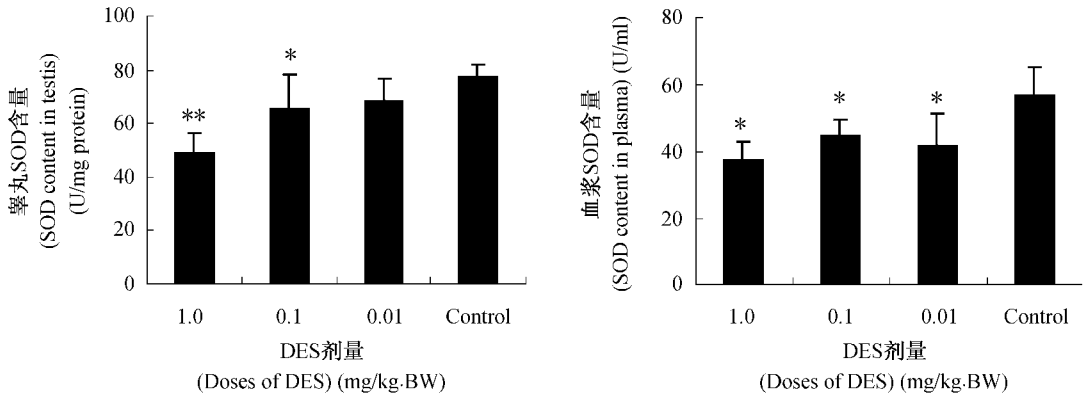


图 2 不同剂量 DES 对仓鼠睾丸组织和血浆中 SOD 含量的影响

**表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$), *表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig.2 Effects of different dosages of DES on SOD content in the testicular tissue and plasma of hamsters

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control.

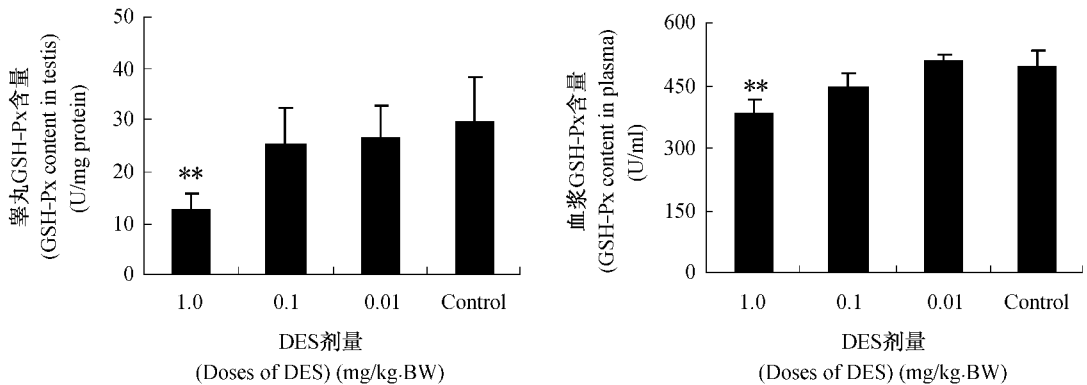


图 3 不同剂量 DES 对仓鼠睾丸组织和血浆中 GSH-Px 水平的影响

**表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$), *表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig.3 Effects of different dosages of DES on GSH-Px content in the testicular tissue and plasma of hamsters

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control.

2.3.3 T-AOC 的检测结果

经检测, T-AOC 的变化趋势与 SOD 和 GSH-Px 相似, 均随 DES 剂量的增加而逐渐下降, 其中 1 mg DES 组睾丸组织及血浆中 T-AOC 含量与对照组有极显著差异 ($P < 0.01$) (图 4)。

2.3.4 MDA 的检测结果

DES 处理后, MDA 的变化趋势与 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 相反。随着 DES 剂量的增加, 睾丸组织和血浆中 MDA 逐渐上升, 1 mg 组睾丸组织中 MDA 含量最高, 另外 0.1 mg 组睾丸中 MDA 含量也显著上升, 与对照组均有极显著的差异 ($P <$

0.01)。血浆中 MDA 变化较为缓和, 除 1 mg DES 组与对照组有显著差异外 ($P < 0.05$), 低剂量组变化不明显 (图 5)。

3 讨论

随着工农业的发展, 大量人造化学物质不断排放到环境中, 使空气、土壤、水源受到污染, 其降解产物大多具有类雌激素活性, 通过模拟或者拮抗内源激素的功能引起各种类型的雄性生殖障碍 (Pflieger-Bruss et al., 2004)。Sharpe and Skakkebaek (1993) 认为, 男性精子数量的减少及其生殖障碍

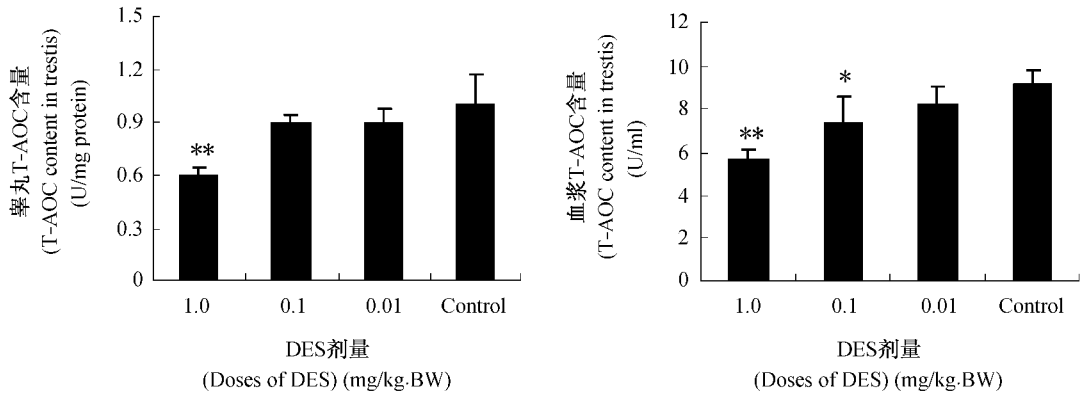


图4 不同剂量 DES 对仓鼠睾丸组织和血浆中 T-AOC 水平的影响

**表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$), *表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig.4 Effects of different dosages of DES on T-AOC content in the testicular tissue and plasma of hamsters

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control.

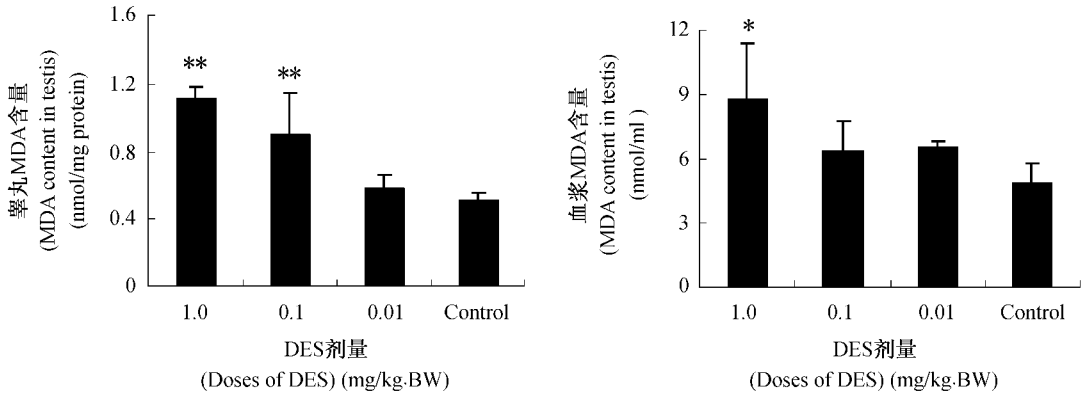


图5 不同剂量 DES 对仓鼠睾丸组织和血浆中 MDA 水平的影响

**表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$), *表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig.5 Effects of different dosages of DES on MDA content in the testicular tissue and plasma of hamsters

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control.

与环境雌激素密切相关。因此对环境激素雄性损害及其作用机制的研究将为人类及动物的生殖健康提供理论依据。

试验表明,成年仓鼠连续 7 d 应用 1 mg/kg BW DES,导致睾丸萎缩,睾丸重量及其相对重量显著降低,低剂量组的变化不明显,说明 DES 对成年仓鼠具有生殖毒性,并有剂量依赖性(表 1)。HE 染色结果显示,1 mg/kg BW DES 引起生精小管结构紊乱,大量生精细胞脱落,管腔中几乎没有成熟的精子,0.1 mg/kg DES 组的部分生精小管结构紊乱,但管腔中有精子;0.01 mg/kg DES 组的睾丸组织与对照组基本一致(图 1)。提示短接触大剂量 DES 就能够引起睾丸萎缩,生殖细胞死亡。本实验室前期工作证实,成年仓鼠应用 1 mg/kg DES 24 h,

导致血清睾酮水平显著下降,连续处理 7 d,已经检测不到血清睾酮的存在(邱春红,2002),此结果与出生前后接触 DES 是一致的(Goyal et al., 2003; Rivas et al., 2003)。而 DES 处理同时应用睾酮,则能够有效逆转 DES 的生殖损害(Rivas et al., 2003),提示生精损害与睾酮水平密切相关。

目前,环境雌激素引起的雄性生殖损伤已经得到公认,但其作用机理不明。据报道,精子对 ROS 很敏感,少量的 ROS 就能干扰生精细胞的功能,使其 DNA 断裂(Aitken and Baker, 2002)。生精细胞比体细胞更易受到 ROS 的损害,因为生精细胞膜含有丰富的多不饱和脂肪酸,容易被氧化;另外生精细胞镶嵌在支持细胞膜上,支持细胞产生的 ROS 可直接损伤生精细胞(Hipler et al., 2000)。为

维持正常的生精功能, 雄性生精细胞膜上有多种抗氧化酶存在, 其活性比体细胞高很多倍, 以便及时清除细胞代谢产生的 ROS, 保护生精细胞 (Rao and Shaha, 2001)。同时精液中含有丰富的抗氧化物质以保护精子免受氧化损伤 (Williams and Ford, 2005)。

试验证实, 环境雌激素引起的生精损伤与 ROS 有密切关系 (Mishra and Shaha, 2005), 大鼠短期接触双酚 A 可引起睾丸和附睾氧化损伤, 超氧阴离子和 H_2O_2 显著增多, 而 SOD、GSH、GSH-Px 活性显著降低 (Takahashi and Oishi, 2003)。多氯联苯 (PCB) 导致大鼠睾丸支持细胞的脂质过氧化并产生 ROS, 而抗氧化剂维生素 E 和 C 能够保护支持细胞免受 PCB 的氧化损伤 (Kumar et al., 2004)。

本试验中, DES 导致睾丸萎缩、生精损害的同时引起体内抗氧化系统的显著变化, 其中 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 含量均随 DES 剂量的增加而下降, 1 mg/kg BW DES 组睾丸组织中 3 种抗氧化酶的含量均与对照组有极显著的差异 (图 2、3、4)。SOD 是清除氧自由基最重要的酶之一, 推测 SOD 的下降使睾丸组织中产生的 ROS 不能及时清除, 损害生精细胞的正常功能, 导致生精细胞死亡。由于生精细胞膜富含不饱和脂肪酸, 容易被氧化, 而 DES 引起 GSH-Px 含量下降后, 不能及时清除代谢产生的 H_2O_2 和脂质过氧化物, 导致生精损伤。T-AOC 指标的检测结果也证实, 生精细胞损害的同时体内总抗氧化能力显著下降。

MDA 的变化进一步证实了生精细胞损伤与 ROS 的关系, MDA 是细胞膜上的不饱和脂肪酸受到自由基攻击后形成的一种脂质过氧化物, 常用 MDA 的含量来反映体内脂质过氧化的程度, 从而反映细胞损伤的程度。应用 DES 后, 睾丸组织中 MDA 含量变化非常明显, 1 mg/kg 和 0.1 mg/kg 组均与对照有极显著的差异 ($P < 0.01$) (图 5)。说明睾丸组织对 DES 很敏感, DES 导致抗氧化酶活性降低, 引起睾丸组织中脂质过氧化物蓄积, 加剧对生精细胞的损害。

1 mg/kg DES 处理后, 仓鼠血浆中 SOD ($P < 0.05$)、GSH-Px ($P < 0.01$) 和 T-AOC ($P < 0.01$) 含量显著下降, MDA 水平上升 ($P < 0.05$)。与睾丸组织比较, 血浆中 MDA 的变化比较和缓, 推测体内其他抗氧化物质参与了对 ROS 的清除, 从而减轻血浆中脂质过氧化物的蓄积。提示 DES 主要诱发生殖毒性, 对全身的影响较弱。

通过以上检测, 说明 DES 导致生精细胞氧化与抗氧化系统失去平衡, 产生大量 ROS, 引起生精细胞损伤。关于 ROS 引起细胞损伤的机制, 大量报道认为与凋亡密切相关。其中脂质过氧化物能够促进线粒体和内质网中 Ca^{2+} 释放, 激活钙依赖的内源性核酸酶, 导致 DNA 断裂、染色质浓缩, 引起细胞凋亡 (Sandstrom et al., 1995)。并且线粒体产生的 ROS 又可以作用到线粒体, 使细胞色素 C 释放, 激活 caspase-9, 引起细胞凋亡级联反应 (Kim and Park, 2003)。在细胞凋亡的死亡受体途径中, FasL 通过激活 NADPH 氧化酶的活性引起 ROS 的产生, 导致细胞凋亡 (Suzuki et al., 1998)。

总之, DES 通过降低睾丸组织抗氧化酶水平, 增加 ROS 含量, 使生精细胞处于氧化状态, 干扰生精细胞的正常功能, 导致生精障碍, 表明氧化损伤可能是环境雌激素生殖毒性的作用机理之一。

参考文献 (References)

- Aitken RJ, Baker MA, 2002. Reactive oxygen species generation by human spermatozoa: a continuing enigma. *Int. J. Androl.* 25: 191 - 194.
- Goyal H, Braden TD, Williams CS, Dalvi P, Mansour MM, Williams JW, 2005. Permanent induction of morphological abnormalities in the penis and penile skeletal muscles in adult rats treated neonatally with diethylstilbestrol or estradiol valerate: a dose-response study. *J. Androl.* 26: 32 - 43.
- Hayes TB, 2005. Welcome to the revolution: integrative biology and assessing the impact of endocrine disruptors on environmental and public health. *Integr. Comp. Biol.* 45: 321 - 329.
- Hendry WJ, Sheehan DM, Khan SA, May JV, 2002. Developing a laboratory animal model for perinatal endocrine disruption: the hamster chronicles. *Exp. Biol. Med.* 227: 709 - 723.
- Hipler UC, Gornig M, Hipler B, Romer W, Schreiber G, 2000. Stimulation and scavestrogen-induced inhibition of reactive oxygenspecies generated by rat Sertoli cells. *Arch. Androl.* 44: 147 - 154.
- Kim JY, Park JH, 2003. ROS-dependent caspase-9 activation in hypoxic cell death. *FEBS Letters* 549: 94 - 98.
- Kumar JS, Banudevi S, Sharmila M, Murugesan P, Srinivasan N, Balasubramanian K, Aruldas MM, Arunakaran J, 2004. Effects of vitamin C and E on PCB (Aroclor 1245) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat Sertoli cells. *Reprod. Toxicol.* 19: 201 - 208.
- Mishra DP, Shaha C, 2005. Estrogen-induced spermatogenic cell apoptosis occurs via the mitochondrial pathway: role of superoxide and nitricoxide. *J. Biol. Chem.* 280 (7): 6 181 - 6 196.
- Nair R, Shaha C, 2003. Diethylstilbestrol induces rat spermatogenic cell apoptosis *in vivo* through increased expression of spermatogenic cell Fas/FasL system. *J. Biol. Chem.* 278 (8): 6 470 - 6 481.
- Pflieger-Bruss S, Schuppe HC, Schill WB, 2004. The male reproductive system and its susceptibility to endocrine disrupting chemicals. *Andrologia* 36: 337 - 345.
- Qiu CH, 2002. Study on the effects of DES on apoptosis and polyamine metabolism in hamster epididymis. Master Dissertation of China Agricultural University (In Chinese).
- Rao AVSK, Shaha C, 2001. Multiple glutathione S-transferase isoforms are present on male germ cell plasma membrane. *FEBS Letters* 507: 174 - 180.
- Rivas A, Mckinnell C, Fisher J, Atanassova N, Williams K, Sharpe R, 2003. Neonatal coadministration of testosterone with diethylstilbestrol prevents diethylstilbestrol induction of most reproductive tract

- abnormalities in male rats. *J. Androl.* 24 (4): 557 – 567.
- Sandstrom PA, Pardi D, Tebbey PW, Dudek RW, Terrian DM, Folks TM, Buttke TM, 1995. Lipid hydroperoxide -induced apoptosis: lack of inhibition by Bcl-2 over-expression. *FEBS Letters* 365: 66 – 70.
- Sharpe RM, Skakkebaek NE, 1993. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet.* 341: 1 392 – 1 395.
- Suzuki Y, Ono Y, Hirabayashi Y, 1998. Rapid and specific reactive oxygen species generation via NADPH oxidase activation during Fas-mediated apoptosis. *FEBS Letters* 425: 209 – 212.
- Takahashi O, Oishi S, 2003. Testicular toxicity of dietarily or parenterally administered bisphenol A in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.* 41: 1 035 – 1 044.
- Williams AC, Ford WCL, 2005. Relationship between reactive oxygen species production and lipid peroxidation in human sperm suspensions and their association with sperm function. *Fertil. Steril.* 83 (4): 929 – 936.
- Yang XZ, Chen YX, Wang ZX, She RP, 2005. Changes on expression of bcl-2, p53 and cadherin in adult hamster spermatogenic cells during DES inducing abnormal spermatogenesis. *Acta Anatomica Sinica* 36 (3): 254 – 258 (In Chinese).
- 邱春红, 2002. 环境雌激素 DES 调控仓鼠附睾细胞凋亡及多胺代谢机制的研究. 中国农业大学硕士学位论文.
- 杨筱珍, 陈耀星, 王子旭, 余锐萍, 2005. 二乙基己烯雌酚诱发成年仓鼠睾丸生精异常及对生精细胞表达 bcl-2、p53 和 cadherin 的影响. *解剖学报* 36 (3): 254 – 258.