

分类号：
学号：20222114196

密级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



肉苁蓉对 TiO_2 NPs 诱导的生精障碍的保护作用 及可能机制研究

学位申请人

赵司祺

指导教师

宋关玲 教授

刘百森

申请学位类别

专业硕士

专业名称

公共卫生

研究领域

劳动卫生与环境卫生学

所在学院

医学院

中国·新疆·石河子

2025年5月

分类号：
学号：20222114196

密级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



肉苁蓉对 TiO_2 NPs 诱导的生精障碍的保护作用 及可能机制研究

学位申请人	赵司祺
指导教师	宋关玲 教授
	刘百森
申请学位类别	专业硕士
专业名称	公共卫生
研究领域	劳动卫生与环境卫生学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子

2025年5月

**Study on the Protective Effect and Possible Mechanism of Cistanche
Herba on spermatogenic disorder induced by TiO₂ NPs**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Public Health

By

Zhao Si-qi

(Occupational and Environmental Health)

Dissertation Supervisor: Prof. Song Guan-ling & Liu Bai-sen

May, 2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：赵国栋

时间：2025年5月21日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：赵国栋

时间：2025年5月21日

导师签名：宋笑玲

时间：2025年5月21日

摘要

目的：纳米二氧化钛（Titanium dioxide nanoparticles, TiO₂ NPs）可损害雄性生殖系统，诱导生精障碍。肉苁蓉作为新疆地区的传统药材，具有壮阳固本，培元生精的功效，临床常用于改善男性生殖功能障碍，然而肉苁蓉对 TiO₂ NPs 诱导的生精障碍是否有保护作用及其相关机制尚未见研究报道。本研究利用网络药理学和分子对接，筛选肉苁蓉预防生精障碍的潜在靶点并分析其可能机制，通过构建大鼠染毒及干预模型对预测结果进行实验验证，以期对肉苁蓉预防 TiO₂ NPs 诱导的生精障碍研究提供理论依据。

方法：1. 采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱联用技术测定肉苁蓉水提取物成分，使用 TCMSP 数据库检索肉苁蓉成分，二者取交集后以口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和药物类药性 ≥ 0.18 为标准筛选活性成分并预测其靶点，从 GeneCards 和 OMIM 数据库检索生精障碍靶点，取交集确定共同靶点。利用 STRING 数据库获得蛋白互作网络，经 Cytoscape 3.9.1 拓扑分析筛选核心靶点，基于 DAVID 数据库开展 GO 及 KEGG 富集分析，构建“活性成分-靶点-通路”网络图。运用 AutoDock Vina 1.1.2 预测活性成分与核心靶点的结合能，PyMOL 2.6.0 可视化对接构象。

2. 选取 6~8 周龄的 50 只 SD 雄性大鼠随机分为对照组（等体积双蒸水）、TiO₂ NPs 染毒组（剂量为 100 mg/kg BW）和 TiO₂ NPs 加 3 种不同剂量肉苁蓉混合组（TiO₂ NPs 剂量为 100 mg/kg BW，肉苁蓉的剂量分别为 200、400、800 mg/kg BW），灌胃八周后处死大鼠。测定大鼠体重及睾丸湿重，计算睾丸系数。通过显微镜对精子质量进行评估，包括精子活动率、进行性活动率、密度和畸形率。采用苏木素-伊红染色法观察大鼠睾丸组织病理学改变。使用末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导的脱氧尿苷三磷酸缺口末端标记法染色观察并计算大鼠睾丸组织细胞的凋亡率，采用免疫组化检测大鼠睾丸中半胱天冬酶 3 的表达情况。酶联免疫吸附法测定血清中睾酮和雌二醇浓度。利用蛋白免疫印迹实验检测大鼠睾丸中磷脂酰肌醇 3-激酶（Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K）、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶（Phosphorylated Phosphatidylinositol 3-Kinase, p-PI3K）、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B（Protein Kinase B, AKT）、磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B（Phosphorylated Protein Kinase B, p-AKT）的蛋白含量。

结果：1. 肉苁蓉的有效活性成分包括β-谷甾醇、槲皮素、脱水内脂、丁香树脂二甲醚和花生四烯酸，其核心靶点涉及 AKT1 等关键蛋白，这些核心靶点的 KEGG 分析富集到了 PI3K/AKT 信号通路，分子对接中 AKT1 与 5 种活性成分结合能最低，推测 PI3K/AKT 信号通路可能在肉苁蓉预防生精障碍中起到关键作用。

2. 与对照组相比，TiO₂ NPs 暴露破坏大鼠睾丸生精小管结构，各级生精细胞排列紊乱，肉苁蓉干预后改善了 TiO₂ NPs 造成的生精小管损伤。与对照组相比，TiO₂ NPs 组 Johnsen 评分显著下降 ($P < 0.05$)，

TiO₂ NPs 和 800 mg/kg BW 肉苁蓉联合组的 Johnsen 评分与单纯 TiO₂ NPs 染毒组相比显著升高 ($P < 0.05$)。与 TiO₂ NPs 组相比, TiO₂ NPs 和 800 mg/kg BW 肉苁蓉联合组睾丸系数显著升高 ($P < 0.05$)。TiO₂ NPs 组精子密度、活动率和进行性活动率与对照组相比显著降低, 精子畸形率显著升高 ($P < 0.05$); 与 TiO₂ NPs 组相比, TiO₂ NPs 和肉苁蓉联合暴露组精子活动率和进行性活动率显著升高, 在肉苁蓉浓度为 800 mg/kg 时具有统计学意义 ($P < 0.01$), 而精子畸形率从 400 mg/kg 浓度肉苁蓉处理开始显著下降 ($P < 0.05$)。TiO₂ NPs 组大鼠睾酮浓度同对照组相比显著降低, 雌二醇浓度显著升高 ($P < 0.001$)。肉苁蓉干预后, 与 TiO₂ NPs 组相比, 睾酮呈剂量依赖性升高, 雌二醇呈剂量依赖性下降, 均从 400 mg/kg BW 肉苁蓉开始有显著性差异 ($P < 0.05$)。与对照组相比, TiO₂ NPs 组睾丸组织细胞凋亡率显著增加, Caspase 3 的表达明显上调 ($P < 0.001$), 800 mg/kg BW 肉苁蓉干预后与 TiO₂ NPs 组相比, 细胞凋亡率及 Caspase 3 的表达均显著下降 ($P < 0.01$)。同对照组相比, TiO₂ NPs 组的 p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), TiO₂ NPs 和 800mg/kg BW 肉苁蓉联合组同 TiO₂ NPs 组相比, p-PI3K 和 p-AKT 的蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。

结论: 1. 网络药理和分子对接结果预测了肉苁蓉活性成分可能通过 PI3K/AKT 信号通路作用于关键靶点 AKT1, 从而实现预防生精障碍的目的。

2. TiO₂ NPs 导致大鼠睾丸生精小管结构损伤、睾丸组织细胞凋亡率增加及精子质量降低, 血清睾酮浓度降低和雌二醇浓度升高, p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达降低, 肉苁蓉可能通过 PI3K/AKT 信号通路改善 TiO₂ NPs 诱导的生精障碍。

关键词: 纳米二氧化钛; 肉苁蓉; 生精障碍; 网络药理; 分子对接

Abstract

Objective: Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) can damage the male reproductive system and induce spermatogenic disorder. Cistanche Herba, as a traditional medicinal medicine in Xinjiang, has the efficacy of tonifying Yang, consolidating constitutional foundation and cultivating vital essence to promote spermatogenesis, and is commonly used in clinical practice to improve male reproductive dysfunction. However, whether Cistanche Herba has a protective effect on spermatogenic disorder induced by TiO₂ NPs and the related mechanisms have not been reported. In this study, network pharmacology and molecular docking were used to screen the potential targets of Cistanche Herba in the treatment of spermatogenic disorders and analyze its possible mechanisms. The predicted results were experimentally verified by constructing a rat staining model, with the aim of providing a theoretical basis for the prevention of TiO₂ NPs-induced spermatogenic disorder by Cistanche Herba.

Methods: 1. The components of water extract of Cistanche Herba were determined by Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight Tandem Mass Spectrometry, and the components of Cistanche Herba were retrieved by TCMSP database. After the intersection of the two, the active components were screened by oral bioavailability $\geq 30\%$ and drug-likeness ≥ 0.18 , and the targets were predicted. The GeneCards and OMIM databases were used to retrieve the targets of spermatogenic disorders diseases, and the common targets of Cistanche Herba and spermatogenic disorders were screened. Protein-protein interactions were retrieved from the STRING database, with key targets subsequently identified through topological network analysis using Cytoscape software (version 3.9.1). Based on the DAVID database, GO and KEGG enrichment analysis were carried out to construct the “constituent-target-pathway” network diagram. AutoDock Vina 1.1.2 was used to predict the binding energy between the active components and the core targets. PyMOL 2.6.0 was used to visualize the docking conformation.

2. Fifty SD male rats aged 6-8 weeks were randomly divided into control group (equal volume of ddH₂O), TiO₂ NPs exposure group (dose of 100 mg/kg BW) and TiO₂ NPs mixed with three different doses of Cistanche Herba group (TiO₂ NPs dose of 100 mg/kg BW, Cistanche Herba doses of 200,400,800 mg/kg BW). Rats were sacrificed after 8 weeks of continuous gavage. The body weight and testicular weight of rats were measured, and the testicular coefficient was calculated. Sperm quality, including sperm activity rate, progressive activity rate, density and deformity rate, were quantitatively assessed using microscopy. Testicular tissue sections from experimental rats underwent histological examination through hematoxylin-eosin staining to evaluate pathological alterations. The apoptotic index in rat testicular cells

was quantitatively assessed using terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling assay. Immunohistochemical staining was performed targeting the Caspase-3 protein within rat testis. The levels of testosterone and estradiol in serum were determined by Enzyme linked immunosorbent assay. The protein contents of Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), Phosphorylated Phosphatidylinositol 3-Kinase (p-PI3K), Protein Kinase B (AKT) and Phosphorylated Protein Kinase B (p-AKT) in testis of rats were detected by Western Blot.

Results: 1. The effective active components of Cistanche Herba induce beta-sitosterol, arachidonate, yangambin, suchilactone, and quercetin. The core targets involve key proteins such as AKT1. KEGG enrichment analysis included the PI3K/AKT signaling pathway. In molecular docking, AKT1 had the lowest binding energy with the five active components. It was speculated that PI3K/AKT signaling pathway may play a key role in the prevention of spermatogenic disorders.

2. Compared with the control group, TiO₂ NPs exposure destroyed the structure of seminiferous tubules in the testis of rats, and the arrangement of spermatogenic cells at all levels was disordered. Cistanche Herba intervention improved the damage of seminiferous tubules caused by TiO₂ NPs. Compared with the control group, the Johnsen score of the TiO₂ NPs group was significantly decreased ($P < 0.05$), and the co-administration of TiO₂ NPs with 800 mg/kg BW Cistanche Herba resulted in markedly improved Johnsen scores relative to TiO₂ NPs alone ($P < 0.05$). Furthermore, the testicular coefficient demonstrated a significant elevation in the group of TiO₂ NPs and 800 mg/kg BW Cistanche Herba cohort relative to the nanoparticle-only TiO₂ NPs exposure group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the sperm density, activity rate and progressive activity rate of the TiO₂ NPs exposure group significantly decreased, while the sperm deformity rate was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with pure TiO₂ NPs group, the sperm activity rate and progressive sexual activity rate of the TiO₂ NPs and Cistanche Herba combined exposure group were significantly increased, which was statistically significant when the concentration of Cistanche Herba was 800 mg/kg ($P < 0.01$), while the sperm deformity rate began to decrease significantly from the concentration of 400 mg/kg Cistanche Herba treatment ($P < 0.05$). The concentration of testosterone in the TiO₂ NPs group was significantly lower than that in the control group, and the concentration of estradiol was significantly increased ($P < 0.001$). After the intervention of Cistanche Herba, compared with the TiO₂ NPs group, testosterone increased in a dose-dependent manner, and estradiol decreased in a dose-dependent manner, both of which were significantly different from 400 mg/kg BW ($P < 0.05$). The TiO₂ NPs group demonstrated significantly higher percentages of apoptotic cells in testicular tissues relative to the control animals, and the expression of Caspase 3 was significantly up-regulated ($P < 0.001$). Compared with the TiO₂ NPs group, the apoptosis rate and the expression of Caspase 3 were significantly decreased after 800 mg/kg BW Cistanche Herba intervention ($P < 0.01$). Compared with the control group, the expression of p-PI3K and p-AKT protein in the TiO₂ NPs group was

significantly decreased ($P < 0.01$). Relative to animals receiving TiO₂ NPs alone, p-PI3K and p-AKT in testicular tissues from rats co-administered with TiO₂ NPs and 800 mg/kg Cistanche Herba were markedly elevated ($P < 0.01$).

Conclusions: 1. The results of network pharmacology and molecular docking predicted that the active components of Cistanche Herba may act on the key target AKT1 through the PI3K/AKT signaling pathway, so as to achieve the purpose of preventing spermatogenic disorders.

2. TiO₂ NPs can cause damage to the seminiferous tubule structure of rat testis, increase of apoptosis rat of testicular tissue cells and decrease of sperm quality, the decrease of serum testosterone concentration and the increase of estradiol concentration, and decrease of p-PI3K and p-AKT protein expression. Cistanche Herba may improve the spermatogenic disorder induced by TiO₂ NPs through the PI3K/AKT signaling pathway.

Key words: Titanium dioxide nanoparticles; Cistanches Herba; Spermatogenic disorder; network pharmacology; molecular docking

目录

摘要	I
Abstract	III
中英文缩略词表	VIII
1 引言	1
2 材料与amp;方法	4
2.1 实验材料	4
2.1.1 实验动物	4
2.1.2 染毒及干预实验材料	4
2.1.3 主要试剂与耗材	4
2.1.4 实验仪器	6
2.2 实验方法	6
2.2.1 肉苁蓉活性成分的测定	6
2.2.2 网络药理分析及分子对接	7
2.2.3 TiO ₂ NPs 粒径的测定	9
2.2.4 动物染毒和干预模型的构建	9
2.2.5 动物实验样本的收集与制备	9
2.2.6 实验动物一般情况的记录	10
2.2.7 生精功能 HE 染色的评价	10
2.2.8 睾丸组织病理学的观察	10
2.2.9 睾丸系数的计算	11
2.2.10 精子质量相关指标的测定	11
2.2.11 睾丸组织细胞凋亡水平的检测	12
2.2.12 血清 T 和 E2 水平的测定	12
2.2.13 睾丸组织 Caspase 3 蛋白表达的测定	13
2.2.14 睾丸组织 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白的测定	14
2.2.15 统计方法	15
2.3 技术路线	16
3 结果	17
3.1 肉苁蓉提取物成分检测结果	17
3.2 网络药理学及分子对接预测肉苁蓉预防生精障碍的结果	21

3.2.1 药物靶点筛选结果	21
3.2.2 疾病筛选靶点结果	23
3.2.3 蛋白质互作网络绘制结果	23
3.2.4 核心靶点筛选结果	24
3.2.5 GO 和 KEGG 富集分析结果	25
3.2.6 活性成分-靶点-通路网络绘制结果	26
3.2.7 分子对接结果	26
3.3 动物实验结果	27
3.3.1 动物实验所用 TiO ₂ NPs 粒径测量结果	27
3.3.2 TiO ₂ NPs 对大鼠体重、饮食和饮水的影响和肉苁蓉的干预作用	28
3.3.3 TiO ₂ NPs 对大鼠睾丸组织病理学的影响和肉苁蓉的干预作用	28
3.3.4 TiO ₂ NPs 对大鼠体重及睾丸系数的影响和肉苁蓉的干预作用	30
3.3.5 TiO ₂ NPs 对大鼠精子质量的影响和肉苁蓉的干预作用	31
3.3.6 TiO ₂ NPs 对大鼠血清 T 和 E ₂ 的影响和肉苁蓉的干预作用	33
3.3.7 TiO ₂ NPs 对大鼠睾丸组织细胞凋亡的影响和肉苁蓉的干预作用	34
3.3.8 TiO ₂ NPs 对大鼠睾丸组织细胞 Caspase 3 蛋白的影响和肉苁蓉的干预作用	35
3.3.9 TiO ₂ NPs 对 PI3K/AKT 通路蛋白的影响和肉苁蓉的干预作用	36
4 讨论	38
4.1 肉苁蓉水提物中活性成分对生精障碍的作用	38
4.2 网络药理和分子对接预测肉苁蓉预防生精障碍靶点的作用	39
4.3 动物实验验证肉苁蓉对 TiO ₂ NPs 诱导的生精障碍的保护作用	41
5 结论	45
6 局限性及展望	46
7 文献综述	47
参考文献	51
致谢	60
作者简介	61
导师评阅表	62

中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文名称
Acr	Acrylamide	丙烯酰胺
AKT	Protein Kinase B	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B
AP	Ammonium persulphate	过硫酸铵
AR	Androgen Receptor	雄激素受体
BSA	Bovine serum albumin	牛血清白蛋白
BTB	Blood-testis barrier	血-睾屏障
CASP3	Caspase 3	半胱天冬酶-3
CDK2	Cyclin-Dependent Kinase 2	细胞周期依赖性激酶 2
CH	Cistanche Herba	肉苁蓉
ddH ₂ O	double distilled water	双蒸水
DHT	Dihydrotestosterone	二氢睾酮
DL	Drug-Likeness	类药性
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
E2	Estradiol	雌二醇
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid	乙二胺四乙酸
EFSA	European Food Safety Authority	欧洲食品安全管理局
EGFR	Epidermal growth factor receptor	表皮生长因子受体
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附测定
ESR1	Estrogen Receptor Alpha	雌激素受体 α
FSH	Follicle-Stimulating Hormone	卵泡刺激素
HE	Hematoxylin-eosin staining	苏木素-伊红染色
HIFs	Hypoxia-inducible factors	缺氧诱导因子
HPG	Hypothalamic-Pituitary-Gonadal	下丘脑-垂体-性腺
LH	Luteinizing Hormone	黄体生成素
MAPK	Mitogen-activated protein kinase,	丝裂原活化蛋白激酶
mTOR	Mechanistic target of rapamycin	雷帕霉素靶蛋白
OB	Oral Bioavailability	口服生物利用度
p-AKT	Phosphorylated Protein Kinase B	磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B
PARP1	Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1	聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1
PBS	Phosphate buffer saline	磷酸盐缓冲液
PC-3	Prostate Cancer-3	前列腺癌细胞系
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase	磷脂酰肌醇 3-激酶
PPI	Protein-Protein Interaction	蛋白质-蛋白质相互作用
p-PI3K	Phosphorylated Phosphatidylinositol 3-Kinase	磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶
PTGS2	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2	前列腺素内过氧化物合酶 2
ROS	Reactive Oxygen Species	活性氧
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠

续中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文名称
T	Testosterone	睾酮
TBST	Tris buffered saline with tween	三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水
TEM	Transmission electron microscope	透射电子显微镜
TEMED	Tetramethyl ethylene diamine	四甲基乙二胺
TiO ₂ NPs	Titanium dioxide nanoparticles	纳米二氧化钛
TP53	tumor protein p53	肿瘤蛋白 P53
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick-End Labeling	末端脱氧核苷酸转移酶介导的 脱氧尿苷三磷酸缺口末端标记 法
UPLC-Q-TOF-MS/MS	Ultra Performance Liquid Chromatograph y-Quadrupole-Time of Flight Tandem M ass Spectrometry	超高效液相色谱-四极杆-飞行 时间串联质谱联用技术
WB	Western Blot	蛋白免疫印迹

1 引言

作为 21 世纪的前沿技术之一，纳米技术有效地推动了人类社会的发展。纳米材料作为其重要载体，通常是指在 1 至 100 纳米范围内具有特定理化性质的超微材料^[1]。这类材料在生物医学、能源、制造和农业等领域具有重要的应用潜力^[2, 3]。纳米二氧化钛（Titanium dioxide nanoparticles, TiO₂ NPs）是最具代表性的纳米材料之一^[4]。市场调查数据显示，TiO₂ NPs 的全球市场在过去几十年中持续增长，2024 年全球 TiO₂ NPs 市场规模较 2023 年增长了 9.9 亿美元，预计将在 2030 年达到 184.4 亿美元^[5]。随着 TiO₂ NPs 在各个领域的应用深度和广度不断拓展，其潜在暴露机会和水平显著上升^[6, 7]。

由于 TiO₂ NPs 可以有效屏蔽紫外线辐射，减少皮肤暴露于紫外线的伤害，延缓皮肤衰老，因此广泛应用于防晒产品中^[8]。在食品行业，TiO₂ NPs 不仅作为添加剂参与糖果、巧克力和口香糖等食物的加工，还由于其抗菌和稳健抗的功能，在上千种食品活性包装中使用^[9, 10]。TiO₂ NPs 具有良好的增白和遮盖力，广泛应用于颜料、油漆和纸张等领域^[11]。除此之外，TiO₂ NPs 具有显著的抗菌和抗癌作用，其光催化特性可在光照下产生活性氧（ROS），用于抗菌涂层和医疗器械消毒，在癌症治疗中表现出抗人前列腺癌细胞系（PC-3）的作用^[12, 13]。在光电领域，TiO₂ NPs 被用于染料敏化太阳能电池和光催化水分解水制氢^[14, 15]。TiO₂ NPs 广泛应用于个人护理用品、添加剂、医疗、光电和可再生能源技术等领域，由此引发的人体健康负面影响和环境生态风险正日益成为公众关注的重点问题^[16]。

TiO₂ NPs 可以经口服、吸入、皮肤、注射进入人体^[17]，通过体循环分布到不同系统^[18, 19]，沉积在胃肠道、肾脏、脾脏和肝脏等器官中，造成脏器受损甚至危害全身健康^[20]。TiO₂ NPs 被国际癌症研究机构评估为 2B 类致癌物质^[21]。TiO₂ NPs 作为食品添加剂（E171）已被证实存在安全隐患^[22]，欧洲委员会决定禁止其作为食品添加剂使用^[23]。尽管目前尚无明确证据证实 TiO₂ NPs 职业暴露会增加死亡风险，但新的分析方法使其对健康的影响引发了广泛关注及担忧^[24]。研究发现，消化道摄入 TiO₂ NPs 6 个月后肠道绒毛高度与隐窝深度的比值降低，增加了钛的消化和吸收，导致肠道损伤，最终影响消化系统功能^[25]。肝脏是排毒器官，TiO₂ NPs 累积在肝脏中可诱导氧化应激，增加活性氧水平并促进炎症来破坏肝脏结构，诱导细胞凋亡甚至坏死^[26, 27]。TiO₂ NPs 可以通过血脑屏障迁移到脑组织中，导致氧化应激、神经炎症以及学习和记忆障碍^[28, 29]。防晒霜中 TiO₂ NPs 涂层暴露会产生有害的光活性副产物，不仅损伤皮肤，还是环境的潜在污染物^[30]。流行病学研究发现，暴露于 TiO₂ NPs 的工人 DNA 损伤显著高于未暴露工人，也更容易受到呼

吸系统疾病的困扰^[19, 31]。

研究证实, TiO₂ NPs 会对生殖系统造成损害。动物实验证实, 连续暴露于 TiO₂ NPs 60 天可导致雌性小鼠的卵泡发育障碍^[32]。灌胃滴注 TiO₂ NPs 可显著下调雌二醇 (Estradiol, E₂) 和孕酮水平, 促进黄体生成素和卵泡刺激素含量增加, 导致卵巢早衰^[33]。对于雄性小鼠, TiO₂ NPs 暴露显著抑制睾酮 (Testosterone, T) 水平, 降低 DAZL 基因表达, 损害精子质量和睾丸组织结构^[34, 35]。研究表明, TiO₂ NPs 暴露可诱导氧化应激, 表现为活性氧和丙二醛含量增加, 超氧化物歧化酶活性降低^[36]。TiO₂ NPs 还可以穿透并破坏血-睾屏障 (Blood-testis barrier, BTB), 诱导炎症和凋亡, 造成睾丸及附睾功能障碍, 导致雄性生殖系统受损^[37, 38]。此外, TiO₂ NPs 还可以通过抑制精子发生过程中能量底物的供应导致精子发生障碍, 继而影响生殖功能^[39]。

目前, 世界上多个国家面临人口增长乏力、生育率下降的困境。造成这一现象的原因之一就是不孕不育, 其中男性因素占比约 50%^[40, 41]。据报道, 生精障碍作为男性不育的主要病因不仅影响生育健康和遗传安全, 还与多种系统性疾病如心血管疾病、恶性肿瘤及代谢性疾病存在显著关联^[42], 这一现状给社会公共卫生体系造成了沉重的压力及经济负担^[43]。鉴于上述情况, 探索有效的策略以预防生精障碍具有重要的临床价值和社会意义, 尤其是需要关注并减少因 TiO₂ NPs 广泛使用引起的男性生殖毒性问题, 这对于提高男性生殖健康水平, 促进家庭幸福和社会发展具有重要意义。

在男性不育的治疗方案上, 现代西医主要采用抗氧化剂、激素替代疗法及辅助生殖技术等手段, 然而整体治疗效果有限, 存在较大局限^[44, 45]。相比之下, 传统中医药以其独特的理论和丰富的临床经验, 在治疗男性生殖健康问题的过程中发挥了至关重要的作用。多项研究证实, 传统中草药可显著保护生殖功能。据报道, 黄精可以有效治疗生殖损伤, 黄精水提物可抑制氧化应激和凋亡, 治疗小鼠睾丸组织损伤^[46]。另一味中草药淫羊藿中的类黄酮成分可显著改善雄性生殖障碍^[47]。值得关注的是, 有“沙漠人参”之称的肉苁蓉也是保护雄性生殖功能的代表药物之一。肉苁蓉 (Cistanches Herba) 是我国新疆、内蒙古、甘肃等地区的一种列当科植物, 自古以来便是备受珍视的传统名贵药材, 具有较高的药用价值^[48]。近年来, 肉苁蓉不仅在国内中医药领域享有盛誉, 其在国际上同样受到了广泛的关注与青睐。2021 年欧洲食品安全管理局通过了一项条例, 正式批准肉苁蓉水提物可作为食品和药物在欧洲进行生产和加工^[49]。

现代药理学研究揭示, 肉苁蓉富含苯乙醇苷类、多糖类、环烯醚萜类和生物碱等化学活性成分^[50, 51], 这些活性物质具有多重药理功效, 包含补肾益精、润肠通便、抗氧化、延缓衰老和抑制细胞程序性死亡等^[52, 53]。在男性生殖系统保健方面, 肉苁蓉展现出了显著成效, 我国古籍《本草拾遗》中曾有记载: “肉苁蓉三钱, 三煎一制, 热饮服之, 阳物终身不衰”^[54]。现代科学进一步证实, 肉苁蓉中的活性成分如松果菊苷、多糖、甜菜

碱等，具有抗氧化和调节性激素的作用，可以有效改善生精功能障碍^[55]。一种苯乙醇苷类化合物被发现可以抗氧化、提升细胞存活率并减少细胞凋亡，有效应对缺氧导致的男性生殖损伤^[56]。从分子水平来看，这些活性成分可促进生精上皮细胞增殖，抑制细胞凋亡，使得肉苁蓉成为治疗不育症的天然药物。

现有研究表明，肉苁蓉在改善男性生殖功能方面成效显著，其对 TiO₂ NPs 引发的生精障碍可能也有改善作用，然而目前仍缺乏肉苁蓉对 TiO₂ NPs 诱导的生精障碍的作用和相关机制的研究报道。因此，深入探讨肉苁蓉在改善 TiO₂ NPs 诱导的生精障碍的潜在作用及其机制尤为重要。

随着现代生物医学的发展，网络药理学方法基于“疾病-靶点-药物”互作网络，系统地分析了药物分子、生物靶点与病理状态间的内在联系，不仅显著推动了中药多组分、多途径、多靶点的综合作用机制研究，还为中药的临床应用和质量标准的制定和完善提供了新的证据，被广泛应用于中药开发与研究^[57, 58]。分子对接技术通过计算机模拟，分析受体结构特性与配体-受体相互作用模式，预测生物大分子与药物小分子间结合的亲和力，从而确定蛋白质及其配体复合物的最佳结合构象。其与网络药理学的综合应用已成为探索中药成分及其背后复杂机制的重要方法^[35]。

因此，本研究拟通过网络药理学和分子对接技术，获得肉苁蓉预防生精障碍的潜在活性成分及与病理机制关联的潜在生物学靶点和相关通路，在此基础上，利用动物染毒及干预模型进行实验验证，综合探讨肉苁蓉对 TiO₂ NPs 所诱导的生精障碍的保护作用及其潜在机制，为研究中药预防 TiO₂ NPs 诱导的生精障碍研究提供理论依据。