



白藜芦醇缓解热应激诱导猪睾丸支持细胞氧化应激的作用

张莉, 冉茂良*

(湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128)

摘要: 旨在探讨热应激对猪睾丸支持细胞抗氧化功能的影响, 并进一步明确白藜芦醇(RES)缓解氧化应激的作用及其潜在机理。本研究采用猪睾丸支持细胞原代培养体系, 设置对照组(NC, 34 °C)、热应激组(HS, 43 °C 30 min)和热应激+白藜芦醇组(HS+200 nmol·L⁻¹ RES), 检测ROS水平、MDA和AGEs含量以及SOD和CAT活性, 实时荧光定量PCR技术检测RAGE、NOX4和NF-κB基因的表达水平。结果表明, 热应激组的猪睾丸支持细胞内ROS水平($P<0.05$)、MDA含量($P<0.05$)和AGEs含量($P<0.01$)显著增加, 同时SOD和CAT活性显著降低($P<0.01$), 表明热应激诱导了猪睾丸支持细胞发生氧化应激。采用200 nmol·L⁻¹ RES预处理后, 猪睾丸支持细胞内ROS水平、MDA含量和AGEs含量显著降低($P<0.05$), SOD和CAT活性得到恢复($P<0.05$)。此外, RES显著下调了由热应激诱导的RAGE、NOX4和NF-κB基因表达水平($P<0.05$)。热应激导致猪睾丸支持细胞氧化还原平衡失衡而诱导氧化应激, 白藜芦醇通过抑制AGEs-RAGE/NOX4/NF-κB通路活性以缓解热应激诱导的氧化应激。本研究结果为利用白藜芦醇改善夏季公猪精液品质提供了理论支撑。

关键词: 热应激; 猪睾丸支持细胞; 白藜芦醇; 氧化应激

中图分类号: S828.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)02-0780-09

The Effect of Resveratrol on Alleviating Heat Stress Induced Oxidative Stress in Porcine Sertoli Cells

ZHANG Li, RAN Maoliang*

(College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: This study aimed to investigate the impact of heat stress on the antioxidant capacity of porcine sertoli cells and to further elucidate the protective role and underlying mechanism of resveratrol (RES) in alleviating oxidative stress. Porcine sertoli cells were isolated and cultured primarily. The cells were divided into 3 groups: control group (NC, 34 °C), heat stress group (HS, 43 °C for 30 min), and heat stress+resveratrol group (HS+200 nmol·L⁻¹ RES). The levels of reactive oxygen species (ROS), the content of malondialdehyde (MDA) and advanced glycation end products (AGEs), as well as the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were measured. The expression levels of RAGE, NOX4, and NF-κB genes were determined using real-time fluorescence quantitative PCR. Compared with the control group, heat stress significantly increased ROS level ($P<0.05$), MDA content ($P<0.05$), and AGEs content ($P<0.01$), whereas

收稿日期: 2025-06-18

基金项目: 国家自然科学基金(32302717); 湖南省生猪产业技术体系(HARS-05); 湖南省自然科学基金面上项目(2023JJ30296)

作者简介: 张莉, 硕士, 主要从事动物繁殖生理的研究, E-mail: derlily95@163.com

* 通信作者: 冉茂良, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: ranmaoliang0903@126.com

the activities of SOD and CAT were significantly decreased ($P < 0.01$), indicating that heat stress successfully induced oxidative stress in porcine sertoli cells. Pretreatment with $200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ RES significantly attenuated the heat stress-induced elevations in ROS, MDA, and AGEs levels ($P < 0.05$), and restored the activities of SOD and CAT ($P < 0.05$). Moreover, RES significantly downregulated the expression levels of *RAGE*, *NOX4*, and *NF- κ B* genes induced by heat stress ($P < 0.05$). Heat stress disrupts redox homeostasis in porcine sertoli cells, leading to oxidative stress. Resveratrol alleviates this heat stress-induced oxidative stress by suppressing the AGEs-RAGE/NOX4/NF- κ B signaling pathway. The findings provide a theoretical basis for utilizing resveratrol to improve boar semen quality during summer.

Keywords: heat stress; porcine sertoli cells; resveratrol; oxidative stress

* **Corresponding author:** RAN Maoliang, E-mail: ranmaoliang0903@126.com

环境高温是影响畜牧生产的重要不利因素之一,对畜禽机体健康和生殖机能均有重要影响^[1-2]。睾丸支持细胞作为生精小管内唯一的体细胞,是精子生成过程中的“保姆细胞”,其完整的结构、正常的功能和足够的数量是保障成年雄性动物精子生成正常有序进行的重要前提^[3]。正常情况下ROS在细胞内处于动态平衡状态,细胞在外源或内源条件的刺激下平衡被破坏,则抗氧化系统无法完全清除过量的ROS而使其积累,进而破坏脂质、蛋白质等物质,导致细胞损伤,甚至对动物机体造成严重损伤^[4]。已有研究证实,热应激会引起公畜精子生成过程氧化应激,例如对猪睾丸支持细胞热处理发现,热应激引起细胞氧化损伤,ROS阳性细胞比例增多,MDA含量明显升高且抗氧化酶SOD、GSH-Px和CAT活性显著降低^[5]。

白藜芦醇(resveratrol, RES)是一种天然多酚二苯乙烯类化合物,被认为是一种天然抗氧化剂,能减少活性氧积累,清除超氧自由基,抑制脂质过氧化,调节抗氧化辅助因子和酶的表达^[6-7]。研究表明,在精液冷冻保护液中添加RES可以有效提升公羊^[8]、水牛^[9]和公鸡^[10]精液的抗氧化能力。同时,本课题组前期研究表明在公猪饲料中添加 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ RES,可以有效改善夏季(7~8月份)精液和血清抗氧化能力(T-AOC、CAT和GSH-Px活性),提高精子密度和活力,且对血清生化指标无显著影响,但是其潜在的细胞分子机理尚不清楚^[11]。因此,本研究通过建立 43°C 体外热处理猪睾丸支持细胞模型,探究RES对热应激诱导的猪睾丸支持细胞氧化应激的干预作用及其潜在分子机理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 6头21日龄的健康沙子岭公猪由湘潭市沙子岭猪资源场提供,取睾丸组织用于分离猪睾丸支持细胞。

1.1.2 试剂 DMEM-F12培养基(Gibco), DPBS(Gibco),胎牛血清(Gibco),双抗(Gibco),胰蛋白酶(Gibco),二甲基亚砜(DMSO, MeilunBio),反转录试剂盒(ABM),RNA提取试剂盒(AG),BCA蛋白定量试剂盒(雅酶),活性氧含量检测试剂盒(碧云天),过氧化氢酶检测试剂盒(南京建成),超氧化歧化酶检测试剂盒(南京建成),丙二醛检测试剂盒(索莱宝),晚期糖基化终末产物(AGEs)ELISA试剂盒(江莱),引物(生工生物),细胞计数板(Logos Biosystems),白藜芦醇(纯度98%,宝鸡科斯麦公司)。

1.1.3 主要仪器 PCR仪(APPLIED Biosystems), CFX Connect实时荧光定量PCR仪(BIO-RAD),多功能酶标仪(Thermo Scientific),Nano Drop NC 2000(Thermo Scientific), CO_2 恒温细胞培养箱(Thermo),倒置显微镜(ZEISS),荧光倒置显微镜(ZEISS)。

1.1.4 白藜芦醇配置 称取 $0.011\,412 \text{ g}$ RES溶于 1 mL DMSO,浓度为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;然后加入细胞培养液,终浓度为 $200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 方法

1.2.1 细胞分离 参考课题组前期研究的方法分离细胞^[12],并进行免疫荧光和RT-PCR鉴定。

1.2.2 细胞培养 用10%胎牛血清、2%双抗和88%DMEM/F12培养基配制完全培养基,培养

在 34 ℃、5%CO₂的培养箱中,根据细胞生长情况及时换液和传代。

1.2.3 细胞分组与处理 基于前人试验确定热应激温度及时间,设置对照组(34 ℃)和热应激组(43 ℃ 30 min)培养猪睾丸支持细胞^[13-15],设置对照组(NC, 34 ℃)、热应激组(HS, 43 ℃ 30 min),热应激组+白藜芦醇(HS+RES,待细胞密度在 50%左右,先加入 RES 预处理 24 h,置于 43 ℃ 30 min)。本研究参照课题组前期在猪睾丸间质细胞中研究结果^[11],RES 的终浓度为 200 nmol·L⁻¹。

1.2.4 活性氧(ROS)含量检测 采用原位装载探针法,无血清培养液清洗细胞 3 次,加入终浓度为 10 μmol·L⁻¹的 DCFH-DA 工作液,确保充分覆盖细胞,34 ℃避光孵育 40 min,并轻晃培养板以促进探针与细胞的充分接触;随后,使用无血清培养液洗涤 3 次以去除多余 DCFH-DA,加入 1 mL 无血清培养液后采用倒置荧光显微镜观察并采集图片。采用 Image J 计算最终结果。

1.2.5 丙二醛(MDA)含量检测 胰酶消化细胞,1.8 mL 全培终止消化,重悬细胞,取 10 μL 悬液加入细胞计数板后再次离心弃上清,进行细胞计数,根据试剂盒说明书处理,酶标仪测定 532 nm 和 600 nm 的吸光度。

1.2.6 超氧化物歧化酶(SOD)活性检测 胰酶消化,取 1.5 mL 全培终止消化,细胞计数;1 000 r·min⁻¹离心 10 min 弃上清;加入 1 mL DPBS 轻轻吹打,1 000 r·min⁻¹离心 10 min,弃上清。每 100 万细胞加入 0.3~0.5 mL DPBS,超声破碎细胞,按照试剂盒

说明书加样并轻微震荡混匀,37 ℃孵育 20 min,酶标仪测定 450 nm 的吸光度。

1.2.7 过氧化氢酶(CAT)活性检测 样本前处理与 SOD 活性检测一样。按照试剂盒说明书,加样于不同管中,每管取 200 μL 的反应液加至 96 孔板,酶标仪测定 405 nm 的吸光度。

1.2.8 AGEs 含量检测 细胞培养基 1 000×g 下离心 20 min,取上清液;细胞胰酶消化,1 000 r·min⁻¹离心 5 min 后收集细胞,预冷的 DPBS 清洗 3 次,每 100 万个细胞中加入 150 μL DPBS 重悬,同时加入蛋白酶抑制剂,采用超声波破碎仪破碎细胞,之后于 4 ℃,1 500 r·min⁻¹离心 10 min,取上清检测。参照 ELISA 试剂盒说明书的要求处理后,在 450 nm 波长处测定 OD 值,计算 AGEs 浓度。

1.2.9 总 RNA 提取 培养皿中加入 AG RNAex pro reagent,根据试剂盒说明书提取总 RNA,溶解后的总 RNA 测量浓度并检测 A_{260 nm}/A_{280 nm} 和 A_{260 nm}/A_{230 nm} 值是否符合要求,-80 ℃保存。

1.2.10 实时荧光定量 PCR 采用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录成 cDNA,设计并合成 RAGE、NOX4、NF-κB 和 β-actin 基因的引物(表 1)。构建 12.5 μL 实时荧光定量 PCR 反应体系,包括 6.25 μL SYBR Premix Ex Taq、0.5 μL 上游引物、0.5 μL 下游引物、1 μL cDNA 模板和 4.25 μL ddH₂O。反应程序:95 ℃预变性 30 s;95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,40 个循环;55~95 ℃ 30 s,每 0.5 ℃进行 1 次荧光监测,绘制熔解曲线。β-actin 作为内参基因,采用 2^{-ΔΔCt} 公式计算相对表达水平。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因 Gene	引物 Primer	序列(5'→3') Sequence	退火温度/℃ Tm
RAGE	F	TACCTGACGGCAAAGGAGTG	59
	R	CGGGCATGAGTTGAAGAGTT	
NOX4	F	GGCTCTCCCTGAATGTCCTG	61
	R	TAGGCACAATCCTAGCCCCA	
NF-κB	F	AACCAGCCAGAAATCGCTGA	61
	R	TGCAGACATGTGTGGCCATT	
β-actin	F	CCAGGTCATCACCATCGG	62
	R	CCGTGTTGGCGTAGAGGT	

1.3 数据统计与分析

每个试验至少进行 3 次生物学重复。采用 spss 29 软件进行数据统计分析,采用独立样本 t 检验分析两组间差异,单因素方差分析和邓肯检验进

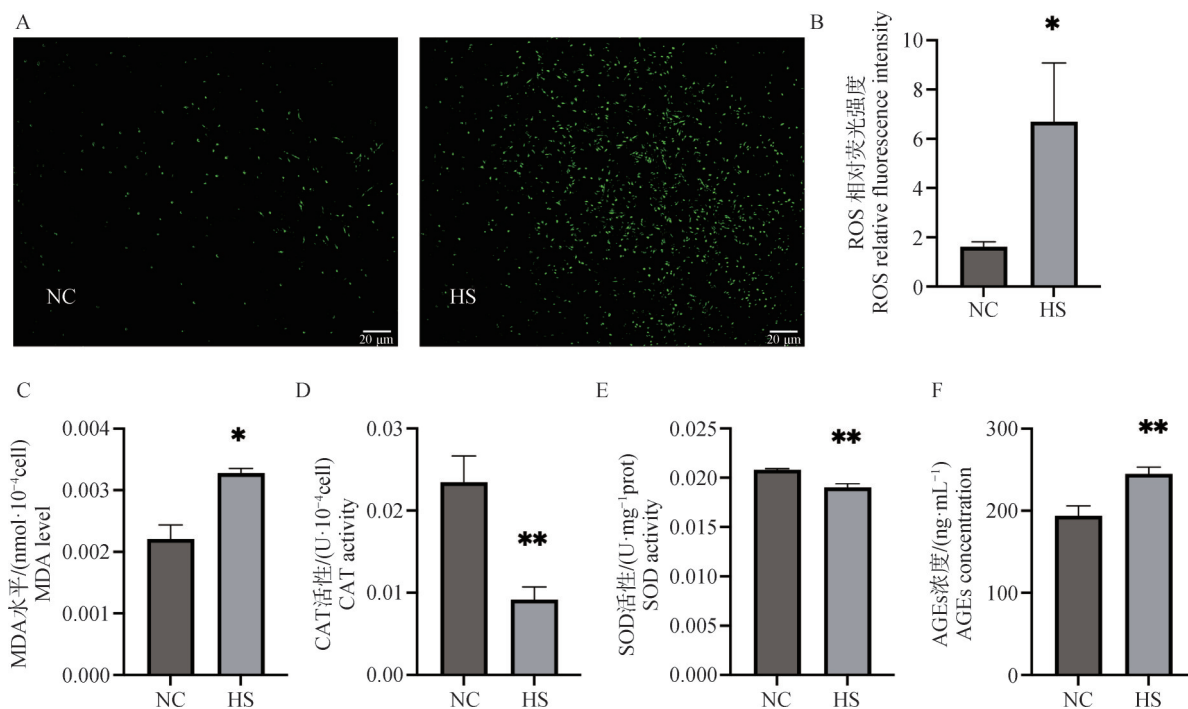
行多重比较。数据以“平均值±标准差”表示,*P<0.05 表示差异显著,**P<0.01 表示差异极显著,不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

2 结 果

2.1 热应激对猪睾丸支持细胞内氧化指标的影响

为明确热应激对猪睾丸支持细胞氧化还原平衡的影响,设置对照组(34 °C)和热应激组(43 °C 30 min),检测细胞氧化指标。细胞内 ROS 荧光信号见图 1A,ROS 的相对荧光强度结果如图 1B 所示,热应激导致 ROS 显著积累($P < 0.05$)。采用

MDA 检测试剂盒检测发现热应激可显著提高细胞 MDA 含量($P < 0.05$)(图 1C)。采用试剂盒检测猪睾丸支持细胞内 CAT 和 SOD 活性,热应激显著降低 CAT 和 SOD 活性($P < 0.01$)(图 1D 和 1E)。细胞 AGEs 含量检测结果表明,热应激后细胞 AGEs 含量极显著增加($P < 0.01$)(图 1F)。上述结果表明,热应激导致猪睾丸支持细胞氧化还原平衡失衡而诱导氧化应激。



A. ROS 荧光信号图;B. ROS 相对荧光强度;C. MDA 相对含量;D. CAT 活性;E. SOD 活性;F. AGEs 含量。NC 为对照组, HS 为热应激组。数据以“平均值±标准差”表示。*, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$

A. ROS fluorescence signal image; B. Relative ROS fluorescence intensity; C. Relative MDA content; D. CAT activity; E. SOD activity; F. AGEs content. NC. Control group; HS. Heat stress group. Data are presented as “mean±SD”. *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$

图1 热应激对猪睾丸支持细胞氧化指标的影响

Fig. 1 Effects of heat stress on oxidative indicators in porcine sertoli cells

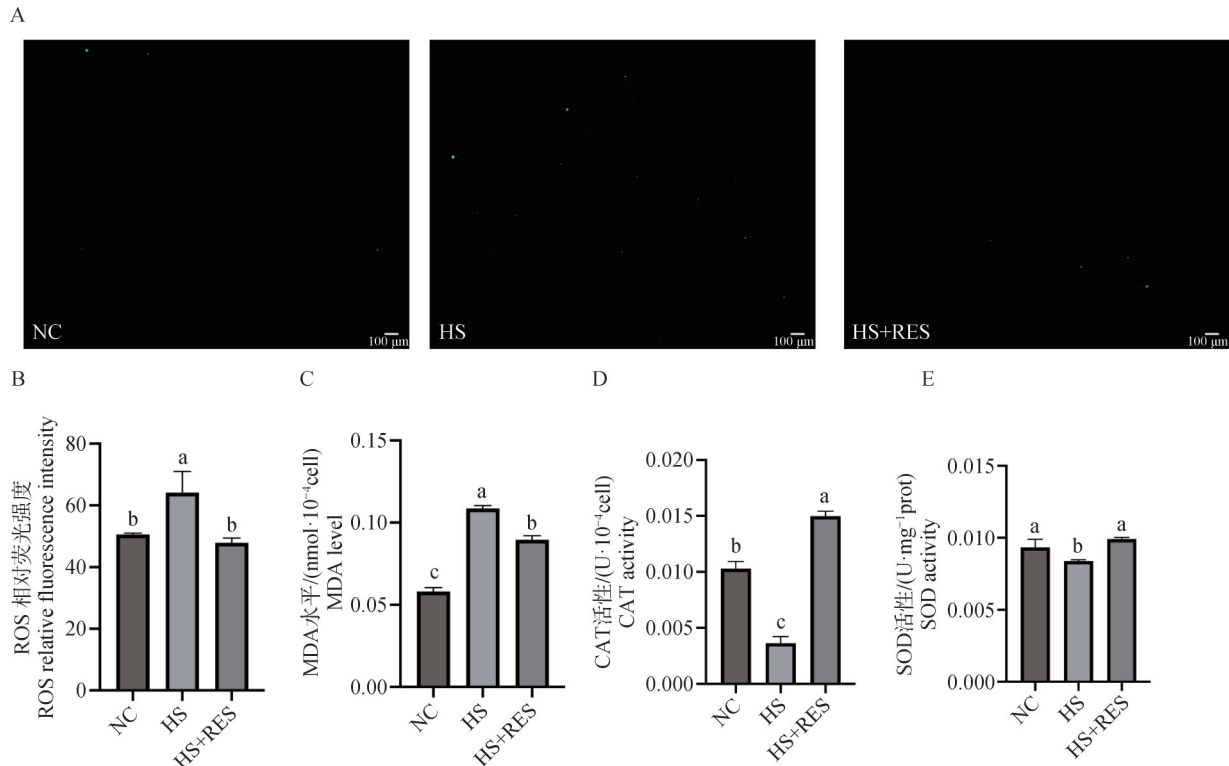
2.2 RES对热应激诱导的猪睾丸支持细胞氧化应激的作用

RES对热应激诱导猪睾丸支持细胞氧化应激的作用如图2所示。ROS检测结果显示,热应激后ROS水平显著上升($P < 0.05$),而添加RES后ROS水平恢复至对照组水平($P < 0.05$)(图2A和2B)。MDA检测结果显示,热应激后MDA水平显著上升($P < 0.05$),添加RES后MDA水平显著下降($P < 0.05$)(图2C)。CAT和SOD检测结果显示,热应激后CAT和SOD活性显著下降($P < 0.05$),添加RES

后CAT和SOD水平显著上升($P < 0.05$)(图2D和2E)。

2.3 RES对热应激诱导猪睾丸支持细胞AGEs含量的影响

RES对热应激诱导的猪睾丸支持细胞AGEs含量的影响如图3所示。细胞AGEs含量检测结果表明,热应激后猪睾丸支持细胞AGEs含量极显著增加($P < 0.05$),而添加RES后AGEs含量恢复至对照组水平($P < 0.05$)。



A. ROS 荧光信号图; B. ROS 相对荧光强度; C. MDA 相对含量; D. CAT 活性; E. SOD 活性。NC 为对照组, HS 为热应激组, HS+RES 为热应激加白藜芦醇。数据以“平均值±标准差”表示。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同

A. ROS fluorescence signal image; B. Relative ROS fluorescence intensity; C. Relative MDA content; D. CAT activity; E. SOD activity. NC. Control group; HS. Heat stress group; HS+RES. Heat stress+Resveratrol group. Data are presented as “mean±SD”. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$). The same as below

图2 RES对热应激诱导的猪睾丸支持细胞氧化应激的缓解作用

Fig. 2 The alleviating effects of RES on heat stress induced oxidative stress in porcine sertoli cells

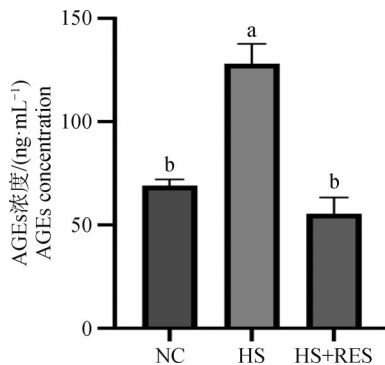


图3 RES对热应激诱导猪睾丸支持细胞AGEs含量的影响

Fig. 3 Effect of RES on the AGEs level in porcine sertoli cells induced by heat stress

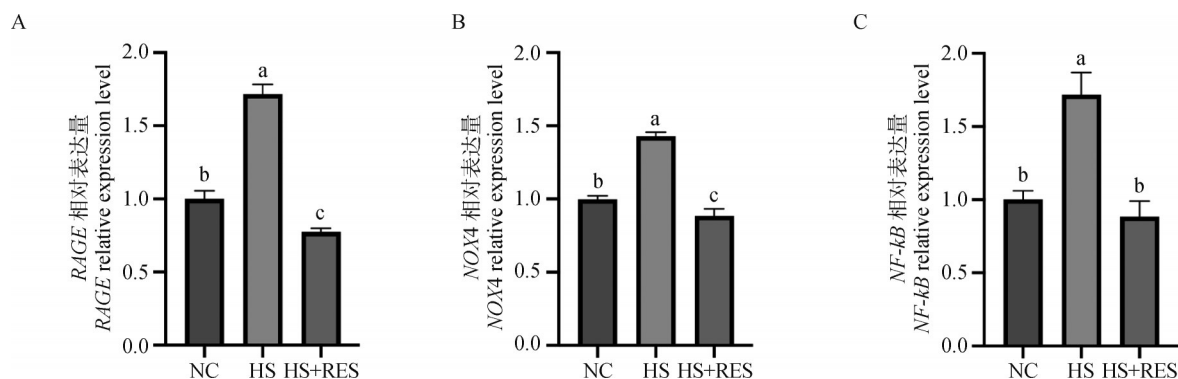
2.4 RES对热应激后猪睾丸支持细胞RAGE、NOX4和NF- κ B基因表达水平的影响

RES对热应激后猪睾丸支持细胞RAGE、NOX4和NF- κ B基因表达水平的影响如图4所示。结果表明,热应激后RAGE基因表达水平显著上升

($P < 0.05$),而添加RES后RAGE基因表达水平显著下降(图4A)。热应激后NOX4基因表达水平显著上升($P < 0.05$),而添加RES后NOX4基因表达水平显著下降($P < 0.05$)(图4B)。热应激后NF- κ B基因表达水平显著上升($P < 0.05$),而添加RES后NF- κ B基因表达水平恢复至对照组水平($P < 0.05$)(图4C)。

3 讨论

夏季高温会导致公猪单次采精量下降,精子密度和活力降低,畸形率上升,进而导致有效精子数降低^[16-17],还会影响CAT和MDA等氧化指标^[18]。热应激可诱导猪睾丸支持细胞活性氧过量产生,抑制抗氧化酶CAT和SOD的活性,线粒体膜电位降低,阻断细胞周期转变,诱导细胞凋亡^[19-20]。高温会使间质细胞凋亡、ROS增加和睾酮减少^[21]。本试验结果表明,热应激处理猪睾丸支持细胞后,细胞



A. *RAGE* 相对表达量; B. *NOX4* 相对表达量; C. *NF-κB* 相对表达量

A. Relative *RAGE* expression level; B. Relative *NOX4* expression level; C. Relative *NF-κB* expression level

图4 白藜芦醇对热应激后猪睾丸支持细胞 *RAGE*、*NOX4* 和 *NF-κB* 基因表达水平的影响

Fig. 4 Effect of resveratrol on the expressions of *RAGE*, *NOX4*, and *NF-κB* genes in porcine sertoli cells induced by heat stress

ROS 和 MDA 水平升高, SOD 和 CAT 活性降低, 破坏了细胞的氧化应激平衡而导致氧化应激。

RES 具有电子供体、自由基清除剂和抗氧化剂的作用, 对睾丸和附睾的氧化应激具有良好的保护作用^[22-23]。RES 可抑制长时间热暴露的有害影响, 恢复正常生理功能, 通过降低氧化和亚硝化应激标志物, 提升 SOD 和 CAT 活性, 增强睾丸组织抗氧化防御系统^[24]。精子在低温保存过程中产生了活性氧, 而 RES 可以激活 AMPK 的磷酸化, 减少活性氧的产生, 增强精子抗氧化防御系统(如 SOD 和 CAT)的活性^[25]。RES 通过 Nrf-2 转录调控使 CAT 等抗氧化酶恢复^[26]。RES 可有效下调 NF-κB 的激活, 从而降低糖尿病的氧化应激。此外, NF-κB 活性降低下调 *RAGE* 基因表达以及 AGE-RAGE 参与导致 NF-κB-RAGE 信号传导的良性循环中断^[27-29]。本试验结果表明, RES 缓解了热应激诱导的氧化应激反应, HS+RES 组显著降低了 ROS 和 MDA 的水平, 显著提升了 SOD 和 CAT 的活性。

晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products, AGEs)是一种多相、复杂的化合物, 由不同的机制和不同的前体形成外源性或内源性 AGEs^[30]。AGEs 与许多导致炎症状态和疾病的信号通路有关, 报道内源性和外源性 AGEs 试验数据的出版物数量正在迅速增加, 表明它们参与许多生理和病理过程的证据越来越多^[31-32]。AGEs 已被证明通过与其细胞表面受体 RAGE (receptor of AGEs, RAGE) 的相互作用引起氧化应激和炎症反应^[33-35]。AGEs 与 RAGE 的结合通常会激活下游的

NF-κB 和其他转录因子^[36]。有研究表明, RAGE 介导的 NF-κB 激活在发炎组织区域高于非发炎肠道组织区域, RAGE 表达的增加可能会增强 AGEs 与 RAGE 的结合, 从而加速 ROS 的局部产生^[37]。研究发现, ROS 水平升高会导致蛋白质、脂质和核酸的氧化增加, 而晚期糖基化终产物水平的增加又反馈支持活性氧和活性氮的形成, 进一步诱导 AGEs 形成^[38]。本研究发现, 43 °C 处理 30 min 使猪睾丸支持细胞内 AGEs 含量显著增加, 而加入 RES 会显著降低 AGEs 含量。有研究表明 AGEs 通过氧化应激的产生上调 RAGE 表达, 从而在 AGEs 和 RAGE 诱导的氧化应激之间形成一个正反馈回路^[39-40]。NF-κB 广泛分布于细胞质中, 在调节氧化应激和炎症中起重要作用。NOX4 可激活 NF-κB 通路, 而上调炎症因子和氧化应激^[41-42]。有研究表明, 木耳多糖在体外抑制 AGE 的形成, 可以通过调节 RAGE/TGF-β/NOX4 通路减轻糖基化并改善细胞纤维化^[43]。本试验检测 *RAGE*、*NOX4* 和 *NF-κB* 基因的表达水平发现, 热应激使 AGEs 通过与 RAGE 结合, 激活下游的 *NOX4* 和 *NF-κB* 基因转录, 加剧细胞损伤。这种 AGEs-RAGE 轴的异常激活是热应激诱导猪睾丸支持细胞氧化应激的新机理, 然而 RES 可以通过抑制其活性以缓解热应激诱导的氧化应激。

此外, 有研究报道, 热应激可诱导动物生殖器官等组织氧化应激, 支持细胞是睾丸组织中的重要体细胞, 支持细胞的数量、结构及其功能是影响精子发生的重要因素^[44]。RES 对雄性生殖有益处已

有研究证明,RES对大鼠热应激诱导的睾丸损伤有保护作用,其抗氧化、抗炎、抗凋亡和雄激素特性可以有效抵消睾丸高热的退化影响^[24]。本研究未进行动物试验,但本试验与上述结果一致,热应激处理猪睾丸支持细胞产生氧化应激,RES预处理后能够缓解热应激导致的氧化应激及其对精子生成的不利影响。

4 结 论

热应激通过诱导ROS、MDA和AGEs积累而导致猪睾丸支持细胞氧化还原平衡失衡,进而导致氧化应激。RES通过抑制AGEs-RAGE/NOX4/NF- κ B通路活性而缓解热应激诱导的氧化应激。

参考文献 (References):

- [1] ZHOU Y X, WEI Z, TAN J J, et al. Alginate oligosaccharide supplementation improves boar semen quality under heat stress [J]. *Stress Biol*, 2024, 4 (1):37.
- [2] 肖艺梅,王胜男,许悦雯,等. 热应激对雄性哺乳动物生殖机能影响的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55 (1):11-21.
XIAO Y M, WANG S N, XU Y W, et al. Research on the influence of heat stress on male reproduction [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2024, 55 (1): 11-21. (in Chinese)
- [3] FRANCA L R, HESS R A, DUFOUR J M, et al. The Sertoli cell: one hundred fifty years of beauty and plasticity [J]. *Andrology*, 2016, 4:189-212.
- [4] FILOMENI G, DE Z D, CECCONI F. Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22 (3): 377-388.
- [5] YANG W R, LI B B, HU Y, et al. Oxidative stress mediates heat-induced changes of tight junction proteins in porcine Sertoli cells via inhibiting camkk β -ampk pathway [J]. *Theriogenology*, 2020, 142:104-113.
- [6] MALAGUARNERA L. Influence of resveratrol on the immune response [J]. *Nutrients*, 2019, 11 (5):946.
- [7] PREVAIZ S, HOLME A L. Resveratrol: its biologic targets and functional activity [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11 (11):2851-2897.
- [8] ZHU Z D, ZHAO H L, CUI H X, et al. Resveratrol improves the frozen-thawed ram sperm quality [J]. *Animals (Basel)*, 2023, 13 (24):3887.
- [9] LONGOBARDI V, ZULLO G, SALZANO A, et al. Resveratrol prevents capacitation-like changes and improves *in vitro* fertilizing capability of buffalo frozen-thawed sperm [J]. *Theriogenology*, 2017, 88:1-8.
- [10] NAJAFI A, DAGHIGH K H, HAMISHEHKAR H, et al. Effect of resveratrol-loaded nanostructured lipid carriers supplementation in cryopreservation medium on post-thawed sperm quality and fertility of roosters [J]. *Anim Reprod Sci*, 2019, 201:32-40.
- [11] PENG Z Y, CHEN Z R, LU X F, et al. Resveratrol improves boar semen quality in summer months through modulation of the AGEs-RAGE signaling pathway in Leydig cells [J]. *J Therm Biol*, 2025, 133: 104282.
- [12] 尹艳飞. FSH激活CCR7/Ras-ERK信号轴促进未成熟猪睾丸支持细胞增殖[D]. 长沙:湖南农业大学, 2023.
YIN Y F. FSH activates the CCR7/Ras-ERK signal axis to promote the proliferation of immature pig testicular support cells [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2023. (in Chinese)
- [13] YANG C X, CHEN L, YANG Y W, et al. Acute heat stress reduces viability but increases lactate secretion of porcine immature Sertoli cells through transcriptome reprogramming [J]. *Theriogenology*, 2021, 173:183-192.
- [14] BAO Z Q, LIAO T T, YANG W R, et al. Heat stress-induced autophagy promotes lactate secretion in cultured immature boar Sertoli cells by inhibiting apoptosis and driving SLC2A3, LDHA, and SLC16A1 expression [J]. *Theriogenology*, 2017, 87:339-348.
- [15] 王昕昕,刘小英,王 宜,等. 急性热应激通过降低牛磺酸水平影响猪睾丸支持细胞的功能[J]. 畜牧兽医学报, 2025, 56 (4):1779-1790.
WANG X X, LIU X Y, WANG Y, et al. Acute heat stress affects the functions of porcine Sertoli cells via decreasing taurine level [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2025, 56 (4): 1779-1790. (in Chinese)
- [16] LI X J, JIANG B, WANG X B, et al. Estimation of genetic parameters and season effects for semen traits in three pig breeds of South China [J]. *J Anim Breed Genet*, 2019, 136 (3):183-189.
- [17] SUI H M, WANG S Q, LIU G, et al. Effects of heat stress on motion characteristics and metabolomic profiles of boar spermatozoa [J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13 (9):1647.

- [18] SINGH M, TALIMOA M R, SHARMA P R, et al. Dietary flaxseed oil improve boar semen quality, antioxidant status and in-vivo fertility in humid sub-tropical region of North East India[J]. *Theriogenology*, 2021, 159:123-131.
- [19] ZHANG S X, WANG D L, QI J J, et al. Chlorogenic acid ameliorates the heat stress-induced impairment of porcine Sertoli cells by suppressing oxidative stress and apoptosis[J]. *Theriogenology*, 2024, 214:148-156.
- [20] 霍元楠, 邱美佳, 张姣姣, 等. 精氨酸及其代谢物抑制热应激诱导仔猪支持细胞凋亡的机制[J]. *畜牧兽医学报*, 2024, 55(2):587-597.
- HUO Y N, QIU M J, ZHANG J J, et al. Arginine and its metabolites attenuate heat stress-induced apoptosis of immature boar Sertoli cells[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2024, 55(2):587-597. (in Chinese)
- [21] 何芝芳, 李芳芳, 胡传活, 等. 茶多酚对高温下猪睾丸间质细胞损伤及睾酮分泌异常的缓解左右[J]. *畜牧与兽医*, 2023, 55(11):59-64.
- HE Z F, LI F F, HU C H, et al. Tea polyphenols on the relief of stromal cell damage and abnormal testosterone secretion in pig testiculars under high temperature [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2023, 55 (11):59-64. (in Chinese)
- [22] LV Z M, LING M Y, CHEN C. Comparative proteomics reveals protective effect of resveratrol on a high-fat diet-induced damage to mice testis [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2020, 66 (1):37-49.
- [23] ULLAH S, MUSTAFA S, ENNAB W, et al. A protective role of resveratrol against the effects of immobilization stress in corpora lutea of mice in early pregnancy [J]. *J Integr Agric*, 2020, 19 (7) : 1857-1866.
- [24] HAFEZ H M, ELKAZAZ S E, ELNEWESHY M S, et al. Resveratrol mitigates heat stress-induced testicular injury in rats: enhancing male fertility via antioxidant, antiapoptotic, pro-proliferative, and anti-inflammatory mechanisms[J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2025, 398(7):8359-8373.
- [25] ZHU Z D, LI R W, FAN X T, et al. Resveratrol improves boar sperm quality via 5'AMP-Activated protein kinase activation during cryopreservation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019:5921503.
- [26] CHOWDHURY F I, YASMIN T, AKTER R, et al. Resveratrol treatment modulates several antioxidant and anti-inflammatory genes expression and ameliorated oxidative stress mediated fibrosis in the kidneys of high-fat diet-fed rats [J]. *Saudi Pharm J*, 2022, 30 (10):1454-1463.
- [27] ANGELIKA B, STEPHAN S, MARKUS S, et al. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor [J]. *Diabetes*, 2001, 50(12):2792-2808.
- [28] JING Y H, CHEN K H, YANG S H, et al. Resveratrol ameliorates vasculopathy in STZ-induced diabetic rats; role of AGE-RAGE signalling [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2010, 26 (3):212-222.
- [29] YANG B, TREWEEK J B, KULKARNI R P, et al. Single-cell phenotyping within transparent intact tissue through whole-body clearing [J]. *Cell*, 2014; 158(4) : 945-958.
- [30] TWARDACLAPA A, OLCZAK A, BIAŁKOWSKA A M, et al. Advanced glycation end-products (AGEs): formation, chemistry, classification, receptors, and diseases related to AGEs [J]. *Cells*, 2022, 11 (8) : 1312.
- [31] SHEN C Y, LU C H, WU C H, et al. The development of maillard reaction, and advanced glycation end product (AGE) -receptor for AGE (RAGE) signaling inhibitors as novel therapeutic strategies for patients with AGE-related diseases [J]. *Molecules*, 2020, 25 (23):5591.
- [32] DARIYA B, NAGARAJU G P. Advanced glycation end products in diabetes, cancer and phytochemical therapy [J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25 (9) : 1614-1623.
- [33] REYNAERT N L, GOPAL P, RUTTEN EPA, et al. Advanced glycation end products and their receptor in age-related, non-communicable chronic inflammatory diseases; overview of clinical evidence and potential contributions to disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 81:403-418.
- [34] CHAUDHURI J, BAINS Y, GUHA S, et al. The role of advanced glycation end products in aging and metabolic diseases: bridging association and causality [J]. *Cell Metab*, 2018, 28:337-352.
- [35] YAMAGISHI S I. Role of advanced glycation endproduct (AGE) -receptor for advanced glycation endproduct (RAGE) axis in cardiovascular disease and its therapeutic intervention [J]. *Circ J*, 2019, 83 (9) : 1822-1828.
- [36] DU C, WHIDDETT R O, Buckle I, et al. Advanced glycation end products and inflammation in type 1 diabetes development [J]. *Cells*, 2022, 11(21):3503.

- [37] PHUONG-NGUYEN K, MCNEOLL B A, ASTON-MOURNEY K, et al. Advanced glycation end-products and their effects on gut health[J]. *Nutrients*, 2023, 15 (2): 405.
- [38] OTT C, JACOBS K, HAUCKE E, et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling [J]. *Redox Biology*, 2014, 2: 411-429.
- [39] MATSUI T, HIGASHIMOTO Y, NISHINO Y, et al. RAGE-aptamer blocks the development and progression of experimental diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2017, 66 (6): 1683-1695.
- [40] MORI Y, OHARA M, TERASAKI M, et al. Subcutaneous infusion of DNA-aptamer raised against advanced glycation end products prevents loss of skeletal muscle mass and strength in accelerated-aging mice[J]. *Biomedicines*, 2023, 11 (12): 3112.
- [41] ZHU Z X, ZHAO X K, OUYANG Y Q, et al. Waterfall forest environment regulates chronic stress via the NOX4/ROS/NF- κ B signaling pathway [J]. *Front Neurol*, 2021, 12: 619728.
- [42] HWANGBO H, JI S Y, KIM M Y, et al. Anti-inflammatory effect of auranofin on palmitic acid and LPS-induced inflammatory response by modulating TLR4 and NOX4-mediated NF- κ B signaling pathway in RAW264. 7 macroPhages [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (11): 5920.
- [43] GONG P, PEI S Y, LONG H, et al. Potential inhibitory effect of auricularia auricula polysaccharide on advanced glycation end products (AGEs) [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 262 (1): 129856.
- [44] ZHANG S X, WANG D L, QI J J, et al. Chlorogenic acid ameliorates the heat stress-induced impairment of porcine Sertoli cells by suppressing oxidative stress and apoptosis [J]. *Theriogenology*, 2024, 214: 148-156.

(编辑 郭云雁)