

· 药理 ·

醒脑益智方对 T2DM 痴呆小鼠性激素信号通路的影响

高晓斐¹, 徐萌¹, 张静¹, 岳仁宋^{2*}

(1. 成都中医药大学, 成都 610072; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

[摘要] 目的:探讨醒脑益智方对 2 型糖尿病痴呆小鼠血清性激素水平及雌激素受体(estrogen receptor, Er) α , Er β mRNA 表达的影响及其作用机制。方法:设昆明小鼠为空白组,将 KK-Ay 小鼠血糖 $\geq 13.9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 者随机分为模型组、吡拉西坦组、醒脑益智方组。吡拉西坦组 *ig* 吡拉西坦片 ($150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),醒脑益智方组 *ig* 醒脑益智方 ($7.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),空白组和模型组每天用等体积生理盐水 *ig*。给药前后行 Morris 水迷宫测试并记录潜伏期。小鼠麻醉后迅速取血、大脑海马及额叶皮质。酶联免疫吸附法(ELISA)测定血浆性激素水平,包括卵泡刺激素(FSH),孕酮(P),雌二醇(E_2),睾酮(T)等;实时荧光定量 PCR 检测 Er α , Er β mRNA 表达水平。结果:与模型组比较,空白组、吡拉西坦组和醒脑益智方组第 5 天潜伏期明显减少($P < 0.05$);与模型组比较,空白组、醒脑益智方组促黄体生成素(LH),T 水平明显下降($P < 0.05$), E_2 ,P 水平明显升高($P < 0.05$);与吡拉西坦组比较,醒脑益智方组 LH 水平明显下降($P < 0.05$)。与模型组比较,吡拉西坦组、醒脑益智方组 Er β 受体 mRNA 表达水平明显增高($P < 0.05$),其他各组间差异均不明显。结论:糖尿病痴呆的出现可能与性激素通路有关,醒脑益智方对糖尿病轻度认知功能障碍有明显改善作用,这一作用可能通过提高血浆 E_2 ,P 水平及雌激素受体 E β 表达水平,降低 LH,T 水平实现。

[关键词] 醒脑益智方; 糖尿病痴呆; 血浆性激素水平; 雌激素受体 α ; 雌激素受体 β

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)02-0081-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017020081

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161107.1519.054.html>

[网络出版时间] 2016-11-07 15:19

Effect of Xingnao Yizhi Prescription on Sex Hormone Signaling in Diabetic Dementia Mice

GAO Xiao-fei¹, XU Meng¹, ZHANG Jing¹, YUE Ren-song^{2*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610072, China;

2. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and mechanism of Xingnao Yizhi prescription on mRNA expression levels of serum hormone and estrogen receptor (Er α and Er β) for type 2 diabetic dementia mice. **Method:** Kunming mice were set as blank group. KK-AY mice with blood sugar $\geq 13.9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ were randomly divided into model group, piracetam group, and Xingnao Yizhi prescription group. Piracetam tablets ($150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were given by *ig* administration in piracetam group. Xingnao Yizhi prescription ($7.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) was given by *ig* administration in Xingnao Yizhi prescription group. Equal volume of saline was given in normal group and model group by *ig* administration. Morris water maze test was conducted before and after drug administration, and latent period was recorded. Plasma, hippocampus samples and frontal cortex were collected as soon as possible after anesthesia in mice. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to test plasma sex hormone level, such

[收稿日期] 20160405(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072775);四川省学术和技术带头人培养资金项目(CRS2014001);四川省科技计划项目(2015SZ0100)

[第一作者] 高晓斐,在读博士,从事中医药防治内分泌代谢疾病的研究, Tel:18782185120, E-mail:317100102@qq.com

[通讯作者] *岳仁宋,教授,博士生导师,从事中医药防治内分泌代谢疾病的研究, Tel:18980880163, E-mail:1580229694@qq.com

as follicle-stimulating hormone (FSH), progesterone (P), estradiol (E_2), and testosterone (T). Real-time PCR was used to test $Er\alpha$, $Er\beta$ mRNA expression levels. **Result:** As compared with model group, the latent period was significantly shortened in blank group, piracetam group, and Xingnao Yizhi prescription group ($P < 0.05$); LH and T levels were significantly reduced in blank group and Xingnao Yizhi prescription group ($P < 0.05$), and E_2 and P levels were significantly increased ($P < 0.05$). As compared with piracetam group, LH level was significantly reduced in Xingnao Yizhi prescription group ($P < 0.05$). As compared with the model group, $Er\beta$ mRNA expression level was significantly increased in piracetam group and Xingnao Yizhi prescription group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The emergence of diabetic dementia may be related to the sex hormone pathway. Xingnao Yizhi prescription can improve the mild cognitive impairment in patients with diabetes mellitus, and the mechanism may be associated with improving plasma E_2 , P levels and $Er\beta$ mRNA expression levels, and reducing LH and T levels.

[**Key words**] Xingnao Yizhi prescription; diabetic dementia; plasma sex hormone level; estrogen receptor α ($Er\alpha$); estrogen receptor β ($Er\beta$)

中国痴呆症患病率正缓慢上升^[1]。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的痴呆,约占痴呆症的60%~70%,有学者将其称为“2型糖尿病脑病”或“3型糖尿病”^[2]。2型糖尿病可引起中年患者出现与年龄不相关的认知损害,是47~57岁患者认知功能障碍的独立危险因素^[3]。老年女性发病率较同年男性高,且血清中雌激素水平与AD的严重程度呈正相关^[4];男性糖尿病患者血清雄性激素水平较健康男性显著降低,且与其认知功能的改变呈正相关^[5]。

《医林改错·脑髓说》认为“灵机记性不在心而在脑”,脑位居天阳之位,为元神之官,藏髓主神志,智能之所出也。肾主藏精,为先天之本,《灵枢·经脉论》云:“人始生,先成精,精成而脑髓生。”脑髓虽为肾精所生,但又依赖后天之气血濡养。脾主运化而为气血生化之源,脾以升为健,脑中清阳之气必借脾之升清以补给,清气升而浊气降,以保证脑海质清不浊,以充分发挥其“精明之府”的生理功能。岳仁宋教授结合多年临床经验提出了“胰(脾)-脑-肾”轴消渴呆病学说,并确立补肾醒脑的治疗大法。本课题组在“补肾醒脑法对糖尿病性记忆障碍胰岛素信号通路的影响”研究中发现^[6-7],醒脑益智方能有效改善大脑组织中胰岛素信号传导通路,提高AD小鼠学习记忆功能,其最佳有效剂量为 $7.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本研究以自发型2型糖尿病小鼠为研究对象,在前期研究基础上进一步探讨中医脑肾之间的相关性,明确补肾醒脑法对糖尿病性记忆障碍的改善是否是通过影响性激素的信号通路及其性激素水平,揭示该法用于糖尿病记忆障碍的可能机制。

1 材料

1.1 动物 10周龄雌性昆明小鼠16只,体重20~

30 g;10周龄SPF级雌性KK-Ay小鼠48只,体重35~50 g。以上动物及饲料均购自中国医学科学院实验动物研究所,合格证号SCXK(京)2009-0004。

1.2 药物制备 醒脑益智方由熟地黄、巴戟天、人参、山药、葛根、川芎、天南星、冰片等药物组成,购自成都中医药大学附属医院药剂科并制备而成,取人参、葛根加6倍量70%乙醇提取2次,每次2 h,合并提取液,滤过,滤液回收乙醇,浓缩;川芎加10倍量水回流提取,得提取液300 mL,熟地黄等5味与人参、葛根、川芎提取后的药渣分别加12,10,10倍量水煎煮3次,每次1 h,合并煎液,滤过,减压浓缩至相对密度为1.06~1.08(80℃),加乙醇至含醇量为60%,静置,取上清液,回收乙醇,加入人参、葛根的醇提液及水提液,加水至1 000 mL,加苯甲酸3 g,混匀,分装即得。吡拉西坦片(北京三九药业有限公司,批号H11022099,0.4 g/片)。

1.3 试剂和仪器 雌二醇(E_2),卵泡刺激素(FSH),睾酮(T),促黄体生成素(LH)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海西唐生物技术有限公司,批号分别为F10440, F10450, F11580, F11120);Trizol[生工生物工程(上海)股份有限公司,批号SK1312];荧光定量PCR试剂盒(Bio Basic公司,批号B639271)。One-Touch-II型快速血糖仪及血糖试纸(美国强生公司);SW-CJ-1D型洁净工作台(江苏苏净化设备厂);H6-1型微型电泳槽(上海精益有机玻璃制品仪器厂);DYY-8型稳压稳流电泳仪(上海琪特分析仪器有限公司);YXJ-2型离心机(湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 造模和分组 16只10周龄昆明小鼠,基础饲料喂养,为空白组;48只10周龄KK-Ay小鼠高脂

高糖饲料(10%蔗糖+10%脂肪+基础饲料)喂养6周后检测,随机血糖 $\geq 13.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[8-10]者行Morris水迷宫动物行为学实验,与空白组比较,潜伏期明显升高($P < 0.05$),且在标准差范围内者为造模成功,并根据血糖水平随机分为模型组、吡拉西坦组、醒脑益智方组。实验过程中动物均自由摄食、饮水,给予基础饲料喂养,温度(24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度25%~30%,每周检测体重和血糖。吡拉西坦组 ig 吡拉西坦片($0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),醒脑益智方组 ig 醒脑益智方($7.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[6],正常组和模型组 ig 等体积生理盐水,持续6周。

2.2 Morris水迷宫实验 给药前后分别对实验动物进行水迷宫实验。第1~4天行隐藏平台实验,将平台固定于第一象限,将动物分别于其他象限投入水中,保持小鼠入水时头朝向迷宫桶壁,限定时间为90 s。若动物找到平台,则记录其所用时间(潜伏期),并将小鼠置于平台上休息30 s;若90 s后未找到平台,将小鼠捞起并置于平台休息30 s,潜伏期记录为90 s。第5天行空间搜索实验,将平台撤除,将小鼠投入水中90 s,记录小鼠第1次找到平台区的潜伏期及找到平台区的次数。数据采集及图像分析均由图像Morris水迷宫自动监视和处理系统完成。

2.3 ELISA测定小鼠血浆FSH, E₂, LH, P, T水平 给药及行为学实验结束后,抽签法每组选取8只小鼠用10%水合氯醛麻醉,眼眶周静脉取血。室温静置30 min后4 $^{\circ}\text{C}$, 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,取上清液。按照试剂盒说明书测定小鼠血浆FSH, E₂, LH, P, T水平。

2.4 实时荧光定量PCR检测雌激素受体(estrogen receptor, Er) α , Er β mRNA表达 给药及行为学实验结束后,抽签法每组选取8只小鼠,用3.5%水合氯醛麻醉后,迅速无菌操作开颅取海马、大脑额叶皮质,使用0.1%焦碳酸二乙酯(DEPC)溶液冲洗并称重,检测Er α , Er β mRNA表达水平。以Er α , Er β 的cDNA序列为模版,用Primer5.0软件设计并合成特异引物, Er α (211 bp): 上游5'-TCTGGAAGAG AAGGACCACATC-3', 下游5'-GTCATAGAGGGC

ACAACGT-3'; Er β (223 bp): 上游5'-ATGCCCT GGTCTGGGTGAT-3', 下游5'-CCCCGAGATTGAG GACTTGTA-3'。按照说明书, Trizol法提取RNA, 逆转录为cDNA, 进行PCR反应, 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 7 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸15 min, 45个循环。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示mRNA相对表达量。

2.5 统计学方法 采用SPSS 17.0统计软件进行分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析并进行组间两两比较, Levene检验方差齐性, 若方差齐使用LSD方法进行多重比较, 若方差不齐则采用近似F检验(Welch方法)代替方差分析后, 采用Dunnett's T3方法进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 醒脑益智方对小鼠行为学的影响 与空白组比较, KK-Ay各组小鼠第5天潜伏期均明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 空白组、吡拉西坦组和醒脑益智方组第5天潜伏期明显减少($P < 0.05$)。见表1。

表1 醒脑益智方对各组小鼠水迷宫测试的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Xingnao Yizhi prescription on Water-Maze test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前潜伏期	给药后潜伏期
空白	-	15.50 \pm 8.47	17.00 \pm 9.72
模型	-	60.50 \pm 12.95 ²⁾	62.25 \pm 14.71
吡拉西坦	0.15	55.00 \pm 10.01 ¹⁾	31.15 \pm 12.02 ³⁾
醒脑益智方	7.2	59.88 \pm 25.78 ²⁾	35.75 \pm 15.49 ³⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 醒脑益智方对小鼠性激素水平的影响 与空白组比较, 模型组FSH, LH, T水平显著升高($P < 0.01$), E₂, P水平明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较, 醒脑益智方组LH, T水平明显下降($P < 0.05$), E₂, P水平明显升高($P < 0.05$); 与吡拉西坦组比较, 醒脑益智方组LH水平明显下降($P < 0.05$); 其他各组间差异均不明显。见表2。

表2 醒脑益智方对各组小鼠性激素水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of Xingnao Yizhi prescription on sex hormone levels in mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	FSH	E ₂	LH	P	T
空白	-	21.4 \pm 16.8	202.9 \pm 45.0	3.42 \pm 1.78	69.7 \pm 18.0	0.07 \pm 0.02
模型	-	67.7 \pm 15.3 ²⁾	127.3 \pm 50.0 ²⁾	6.87 \pm 2.52 ²⁾	49.2 \pm 16.7 ¹⁾	0.16 \pm 0.05 ²⁾
吡拉西坦	0.15	60.9 \pm 22.6	165.3 \pm 39.0	6.25 \pm 2.41	57.7 \pm 15.1	0.23 \pm 1.62
醒脑益智方	7.2	50.7 \pm 25.0	180.3 \pm 36.0 ³⁾	4.10 \pm 1.22 ^{3,4)}	60.2 \pm 26.1 ³⁾	0.10 \pm 0.02 ³⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$; 与吡拉西坦组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 醒脑益智方对小鼠 $Er\alpha$, $Er\beta$ mRNA 表达的影响 与空白组比较,模型组 $Er\beta$ mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,醒脑益智方组 $Er\beta$ mRNA 表达水平明显增高 ($P < 0.05$),其他各组间差异均不明显。见表 3。

表 3 醒脑益智方对各组小鼠 $Er\alpha$, $Er\beta$ mRNA 表达水平的影响
($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of Xingnao Yizhi prescription on $Er\alpha$ and $Er\beta$ mRNA levels in mice($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	$Er\alpha$	$Er\beta$
空白	-	28.41 ± 0.519	28.48 ± 0.998
模型	-	28.14 ± 0.472	26.58 ± 0.545 ¹⁾
吡拉西坦	0.15	28.09 ± 0.458	26.85 ± 0.709
醒脑益智方	7.2	28.34 ± 0.494	27.48 ± 0.768 ²⁾

注:与空白比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

目前,认知能力的性别差异已在健康及多种疾病人群中进行了广泛探讨。有研究发现,绝经后女性 2 型糖尿病,2 型糖尿病合并高血压病的患者存在明显雌激素减少,并可能引起胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱、大血管病变等疾病的发生^[11]。Laws 等^[12]认为 AD 的发生在女性中更为普遍;与患有同等水平 AD 的男性比较,女性表现出更加深刻的是语义记忆等认知功能损害^[13-14]。Tsolaki 等^[15]研究发现,与正常人群比较,AD 患者 E_2 水平明显降低,雌激素替代疗法可以降低绝经后妇女患老年痴呆症(主要为 AD)的风险。血清 LH 的降低可能是引起绝经期认知功能损失的重要原因之一^[16];T 水平降低是男性认知能力下降和痴呆的风险之一^[17]。绝经女性中, $Er\beta$ 基因第 5 内含子的 CA 重复序列多态性可能对 VD 的遗传调节起作用^[18]; $Er\alpha/Er\gamma$ 的改变可能与血管性痴呆的发病、雌激素的疗效有密切关系,雌激素受体相关受体(EERs)是雌激素治疗重度血管性痴呆的分子生物学基础^[19]。

醒脑益智方主治以糖尿病为基础疾病,以精亏窍闭为主要病机的记忆障碍。本方以熟地黄、人参为君,淮山药、巴戟天、葛根为臣,佐以川芎、天南星,再使以冰片,具有补肾填精,益气醒脑的功效。方中熟地黄性甘、微温,归肝、肾二经,功专滋阴补血,益精填髓,被誉为“壮水之主,补血之君”;《神农本草经》视人参为上品,自古被认为系大补元气,增智安神之良药,人参皂苷 Rb_1 可能是通过上调 E_2 水平,下调 FSH 水平,减少卵巢颗粒细胞的凋亡,进而对化疗所致卵巢早衰起到一定的治疗作用,延缓衰

老^[20]。人参、熟地黄二味药对肺脾肾三脏俱补,可使肝肾之阴精得充,脾胃之气血得补,脑髓之神灵得养。山药自古誉为治消渴之圣品,《本草纲目》概括为“益肾气,健脾胃,止泄痢,化痰涎,润皮毛”五大功用,现代药理也证实其有明显降血糖作用^[21]。巴戟天提取物能明显提高 $A\beta_{25-35}$ 致拟痴呆大鼠学习记忆能力,其机制可能与提高单胺类神经递质水平和抑制大脑神经元凋亡有关^[22]。葛根始载于《神农本草经》,主消渴,入脾胃经,有生津止渴作用;葛根素对丙酸睾酮所致小鼠前列腺增生具有显著的拮抗作用;其作用机制可能一定程度上与降低小鼠血清 $T, E_2, T/E_2$ 及抑制雌激素 α 受体的表达有关。川芎辛温走窜,走而不守,能上行头巅,下达血海,外彻皮毛,旁通四肢,为血中之气药。葛根佐人参则补而不滞,天南星佐熟地黄则滋而不腻,川芎合山药则气血双调。冰片善通诸窍,开窍醒神,芳香之气,能辟一切邪恶,辛热之性,能散一切风湿,借其走窜之性,领诸药直达病所,为方中使药。诸药配伍,刚柔相济,相得益彰。全方以补为主,以攻为辅,益气填精药重,涤痰化瘀量轻,滋肾重,补脾轻,涤痰峻,化痰缓,轻重分明,选药得当,配伍精巧,切中病机,脑髓得养,神窍得开,呆病可愈。

本实验以稳定的 T2DM 痴呆模型 KK-Ay 小鼠^[23]为研究对象,研究不同生理病理情况下各组小鼠认知功能与性激素水平的相关性。课题组通过研究发现,自发性 T2DM 小鼠在第 16 周龄时即已出现认知功能障碍表现,其认知功能明显低于正常小鼠;经吡拉西坦及醒脑益智方治疗后,两组小鼠认知功能较模型组明显增高,说明吡拉西坦与醒脑益智方均能有效治疗糖尿病轻度认知功能障碍,效果明显;与模型组比较,醒脑益智方组 LH, T 水平明显下降, E_2, P 水平, $Er\alpha, Er\beta$ mRNA 表达水平明显升高,说明 T2DM 痴呆的出现可能与性激素通路有关,醒脑益智方改善 T2DM 痴呆可能是通过提高雌激素水平实现的,这为进一步寻求防治 T2DM 痴呆的有效药物提供了科学依据。

[参考文献]

[1] 曲艳吉,卓琳,王华丽,等. 1980-2011 年中国社区 55 岁及以上人群中血管性痴呆流行病学的 Meta 分析[J]. 中国卒中杂志,2013,8(7):533-543.

[2] 樊华. 糖尿病与阿尔茨海默病发病风险相关性研究进展[J]. 实用老年医学,2010,24(4):342-345.

[3] Knopman D, Boland L L, Mosley T, et al. Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle aged adults[J]. Neurology,2001,56(1):42-48.

- [4] 贾晓静,贾少杰,张昱. 雌激素、apoE 与阿尔茨海默病[J]. 中国老年学杂志,2007,27(6):593-596.
- [5] 范亮,谢柏梅,张彦海,等. 老年男性糖尿病患者血清雄性激素水平与认知功能的关系[J]. 中国老年学杂志,2010,30(1):36-37.
- [6] 高晓斐. 补肾醒脑法联合罗格列酮改善2型糖尿病小鼠记忆障碍的作用机制[D]. 成都:成都中医药大学,2014.
- [7] 高晓斐,毛黎黎,孙子微,等. 人参皂苷 Rb₁ 与罗格列酮联合给药对2型糖尿病记忆障碍小鼠海马胰岛素信号传导通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(8):137-141.
- [8] 郭清华,陆菊明,潘长玉. 饮食能量对 Kkay 及 Kk 小鼠2型糖尿病发病的影响[J]. 军医进修学院学报,2005,26(2):140-142.
- [9] 叶彦,欧阳静萍,王保华,等. IRS-1 的表达和泛素化在 KKAY 及 C57BL/6J 小鼠糖尿病发病过程中的意义[J]. 武汉大学学报:医学版,2006,27(3):279-282.
- [10] 王宪玲,贾建平. 自发性2型糖尿病小鼠发病早期认知功能的研究[J]. 首都医科大学学报,2007,28(1):75-77.
- [11] Lubura M, Hesse D, Kraemer M, et al. Diabetes prevalence in NZO females depends on estrogen action on liver fat content[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2015,309(12):968-980.
- [12] Laws K R, Irvine K, Gale T M. Sex differences in cognitive impairment in Alzheimer's disease[J]. World J Psychiatry,2016,6(1):54-65.
- [13] Henderson V W, Buckwalter J G. Cognitive deficits of men and women with Alzheimer's disease [J]. Neurology,1994,44(1):90-96.
- [14] McPherson S, Back C, Buckwalter J G, et al. Gender-related cognitive deficits in Alzheimer's disease[J]. Int Psychogeriatr,1999,11(2):117-122.
- [15] Tsolaki M, Grammaticos P, Karanasou C, et al. Serum estradiol, progesterone, testosterone, FSH and LH levels in postmenopausal women with Alzheimer's dementia [J]. Hell J Nucl Med,2005,8(1):39-42.
- [16] Blair J A, Palm R, Chang J, et al. Luteinizing hormone downregulation but not estrogen replacement improves ovariectomy-associated cognition and spine density loss independently of treatment onset timing [J]. Horm Behav,2016,78(12):60-66.
- [17] Wahjoepramono E J, Asih P R, Aniwiyanti V, et al. The effects of testosterone supplementation on cognitive functioning in older men[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets,2016,15(3):337-343.
- [18] 杨留才,成玉生,索艳君. 绝经后妇女雌激素受体 β 基因多态性与血管性痴呆的相关性研究[J]. 中国妇幼保健,2009,24(30):4285-4288.
- [19] 李仕红,钱春野,杨留才,等. 绝经后女性重度血管性痴呆患者雌激素治疗效果与雌激素受体相关受体亚型表达的关系[J]. 苏州大学学报:医学版,2010,30(4):799-803.
- [20] 唐忠艳. 人参皂苷 Rb₁ 对化疗致卵巢早衰大鼠性激素影响[J]. 当代医学,2013(5):30-30.
- [21] 杨宏莉,张宏馨,李兰会,等. 山药多糖对2型糖尿病大鼠降糖机理的研究[J]. 河北农业大学学报,2010,33(3):100-103.
- [22] 陈江林,熊丽娇,江丽霞,等. 葛根素对性激素及前列腺增生组织中雌激素受体表达的影响[J]. 时珍国医国药,2014,25(8):1820-1822.
- [23] 毛黎黎,高晓斐,孙子微,等. 人参皂苷 Rb₁ 和罗格列酮联合用药对2型糖尿病痴呆小鼠记忆功能的影响及机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(24):130-133.

[责任编辑 张丰丰]