

人参皂苷 Rg₁ 对糖尿病大鼠勃起功能障碍的影响

夏雨果¹, 陈秋^{2*}, 高坪¹, 曾文彤¹, 张闯¹, 胡臣玲²

(1. 成都中医药大学临床医学院/附属医院泌尿外科, 四川成都 610072; 2. 成都中医药大学附属医院内分泌科, 四川成都 610072)

摘要: 目的 探讨人参皂苷 Rg₁ 对糖尿病大鼠勃起功能障碍的影响。方法 大鼠腹腔注射链脲佐菌素诱导糖尿病, 10 周后阿扑吗啡筛选勃起功能障碍模型, 随机分为正常组、模型组、人参皂苷 Rg₁ 低剂量组(15 mg/kg) 和高剂量组(30 mg/kg)、西地那非组(5 mg/kg)。给药 4 周后, 测定阴茎海绵体内压和平均颈动脉压, ELISA 检测 SOD、MDA、NO 水平, qPCR 及 Western blot 测定 SIRT1、eNOS 表达, 免疫组化观察 eNOS 在阴茎组织切片中的阳性表达。结果 与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 高剂量组大鼠勃起功能明显改善, ICP/MAP 值显著升高 ($P < 0.01$), 与西地那非组相当; 人参皂苷 Rg₁ 高剂量组能显著提高 SIRT1、eNOS mRNA 及蛋白表达, 并能显著减少 MDA 含量, 显著提高 SOD 活性、NO 含量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。免疫组化显示, eNOS 阳性细胞主要分布于血管内皮细胞。结论 人参皂苷 Rg₁ 可有效改善糖尿病勃起功能障碍大鼠勃起功能, 其机制可能是减轻氧化应激损伤, 并上调 SIRT1/eNOS 信号通路。

关键词: 人参皂苷 Rg₁; 糖尿病; 勃起功能障碍; SIRT1; eNOS

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)06-1258-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.06.012

Effects of ginsenosides Rg₁ on erectile dysfunction in diabetic rats

XIA Yu-guo¹, CHEN Qiu^{2*}, GAO Ping¹, ZENG Wen-tong¹, ZHANG Chuang¹, HU Chen-ling²

(1. Department of Urology, School of Clinical Medicine, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China;

2. Department of Endocrinology, the Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

KEY WORDS: ginsenosides Rg₁; diabetes; erectile dysfunction; SIRT1; eNOS

勃起功能障碍是糖尿病常见的并发症^[1], 是影响患者生活质量及家庭和谐的重要因素, 其发病机制不明, 缺乏有效的预防及治疗措施。中医对勃起功能障碍有独特疗效, 本实验研究人参皂苷 Rg₁ 对糖尿病大鼠勃起功能障碍的影响, 并探讨其作用机制, 为患者治疗提供新思路。

1 材料

清洁级雄性 SD 大鼠, 约 6~7 周龄, 体质量 200~350 g, 由成都达硕生物科技有限公司提供, 实验经成都中医药大学附属医院伦理委员会批准。人参皂苷 Rg₁ (成都普瑞法科技开发有限公司); 西地那非片 (美国辉瑞公司); Trizol (美国 In-

vitrogen 公司); 链脲佐菌素 (STZ)、阿扑吗啡 (APO)、焦碳酸二乙酯 (DEPC) (美国 Sigma 公司), PrimeScript RT reagent Kit、SYBR Premix Ex Taq II Kit [宝生物工程 (大连) 有限公司]; 实时荧光定量仪 (美国 Thermo Fisher 公司), 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。大鼠一氧化氮 (NO)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) ELISA 试剂盒 (上海茁彩生物科技有限公司); SIRT1、eNOS; β -actin 抗体 (美国 Affinity 公司); 浓缩型 DAB 试剂盒、羊抗兔二抗 (北京中衫金桥生物有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (南京凯基生物科技发展有限公司); 蛋白 Marker

收稿日期: 2018-10-10

基金项目: 四川省医学会科研课题计划项目 (S16023); 成都市卫计委科研课题 (2016014); 成都中医药大学校基金 (ZRQN1631)

作者简介: 夏雨果 (1983—), 男, 博士生, 副主任医师, 从事男性生殖内分泌研究。Tel: (028) 87765463, E-mail: sexiyuguo@163.com

* 通信作者: 陈秋 (1969—), 男, 博士, 主任医师, 从事糖尿病及内分泌代谢疾病中西医结合研究。Tel: (028) 87780879, E-mail: chenqiu1969@163.com

(美国 NEB 公司); ECL 发光试剂盒 (美国 Thermo 公司); 聚偏二氯乙烯 (PVDF) 膜 (美国 Hybond 公司); 大鼠 ICP/MAP 测定采用 BL-420 生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司); 免疫组化采图及分析采用 Image-Pro Plus 6.0 (美国 Media Cybernetics 公司)。

2 方法

2.1 模型建立 90 只大鼠在 SPF 环境下适应性饲养 1 周后测定随机血糖, 作为基线, 随机选取 10 只作为正常组, 其余 80 只作为实验组。实验组大鼠腹腔注射链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病, 剂量 60 mg/kg; 正常组大鼠腹腔注射等量生理盐水以减少实验误差, 注射后 7 d 取尾静脉血测定随机血糖, 以其 >16.7 mmol/L 作为成模标准^[2], 未成模者补充注射 1 次链脲佐菌素, 剂量 30 mg/kg, 注射后 3 d 再按以上标准筛选模型。糖尿病大鼠饲养 10 周后, 参照 Heaton^[3]报道的方法筛选, 将阿扑吗啡按 100 μg/kg 剂量皮下注射于大鼠颈部皮肤, 观察 30 min, 记录有无勃起及勃起次数, 未勃起者为勃起功能障碍, 勃起标准为龟头露出充血, 包皮后退, 阴茎膨大增长。

2.2 分组及给药 注射链脲佐菌素后 4 只大鼠无法诱导成糖尿病, 同时糖尿病大鼠喂养期间死亡 7 只, 最终筛选出 56 只。原有正常组不变, 将筛选成功的大鼠随机分为 4 组, 每组 14 只, 分别为正常组、模型组 (灌胃等量生理盐水)、人参皂苷 R_{g1} 低剂量组 (灌胃 15 mg/kg) 和高剂量组 (灌胃 30 mg/kg)、西地那非组 (灌胃 5 mg/kg)。给药 2、4 周, 测定大鼠体质量及血糖, 4 周后测定 ICP/MAP 以评估勃起功能, 完成后取大鼠阴茎组织, 进行病理学及分子生物学检测。

2.3 阴茎海绵体内压 (ICP) 及平均颈动脉压 (MAP) 测定 各实验组大鼠给药 4 周后测定 ICP/MAP, 测定前 24 h 停止给药, 测定当天早上禁食, 予以 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 麻醉, 常规消毒铺巾, 暴露颈总动脉, 将 22 号蝶形插管插入颈总动脉并固定与生物机能实验系统以测定 MAP 值; 解剖分离阴茎, 将 24 号蝶形针插入阴茎海绵体连接传感器以测定 ICP, 再分离出阴茎根部海绵体神经, 将生物机能实验系统的电极钩住海绵体神经以刺激阴茎勃起, 分别测定基础、勃起状态下最高 ICP 值。

2.4 MDA、NO、SOD 水平检测 采用 ELISA 法。大鼠阴茎组织充分匀浆后, 3 000 r/min 离心

15 min, 收集上清液, 将 MDA、NO、SOD 抗体包被于 48 孔微孔中制成固相载体, 加入对照品或样品。MDA、NO、SOD 连接于固相载体上的抗体结合, 彻底洗涤后加入相应抗体, 将未结合的生物素抗体洗净后, 加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的亲合素, 再次彻底洗涤后加入四甲基联苯胺底物显色, 它在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下最终转化成黄色, 颜色深浅与 3 种因子水平呈正相关。然后, 在 450 nm 波长下检测吸光度 (OD 值), 计算样品浓度。

2.5 mRNA 表达检测 采用 qPCR 法。将液氮中保存的阴茎组织按说明书用 Trizol 提取总 RNA 后, 依次加入 DNA Eraser Buffer、DNA Eraser、RNase Free dH₂O, 42 °C 下反应 2 min 以去除基因组 DNA, 将所得 RNA 用 PrimeScript RT Enzyme Mix I 试剂盒进行逆转录反应, 反应完成后加入引物进行 PCR 扩增, 引物序列为 β-actin (正向 5'-GAAGAT-CAAGATCATTGCTCCT-3', 反向 5'-TACTCCTGCTT-GCTGATCCA) -3', SIRT1 (正向 5'-TGCCAGTAA-CAGTGACAGTGGCACAT-3', 反向 5'-TCAGCTC-CAGATCCTCCAGCACACTC-3'), eNOS (正向 5'-AGCTGGATGAAGCCGGTGAC-3', 反向 5'-CCTCGT-GGTAGCGTTGCTGA-3')。反应条件为 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 充分延伸并采集荧光 30 s, 以上反应循环 40 次, 结果采用 2^{-ΔΔCt} 法进行分析。

2.6 蛋白表达检测 采用 Western blot 法。取液氮冻存大鼠睾丸组织 100 mg, 于 37 °C 水浴中解冻后按 1:10 的比例加入 RIPA 裂解液, 灭菌后的小剪刀剪碎, 碎冰上裂解 10 min, 收集裂解液并离心, 上清液用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度, 将积层胶配制好并加入电泳液, 根据所测蛋白浓度加入 60 μg 蛋白量至样孔中进行电泳, 电泳结束后按转膜方法覆盖 PVDF 膜, 接通电源调整至电流至 200 mA 转膜 1~2 h, 然后依次封闭, 一抗孵育过夜, 其中一抗浓度按 eNOS 1:1 000、SIRT1 1:500、β-actin 1:5 000 的比例进行稀释, 再进行二抗孵育, 最后进行显影、定影、拍照。Quantity One 进行目的条带分析, 目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白积分光密度值 (IOD) / 内参积分光密度值 (IOD)。

2.7 eNOS 阳性细胞表达检测 采用免疫组化法。将大鼠阴茎病理切片脱蜡后浸入 3% 甲醇双氧水中 10 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, 柠檬酸盐缓冲液加温至沸腾, PBS 洗净后加入封闭液浸泡

20 min, 再加入一抗反应过夜, 滴加生物素二抗, 37 °C 下反应 30 min, PBS 洗涤 3 次后 DAB 显色, 透明树脂胶封片, 光镜下采图, 通过 Image-Pro Plus 6.0 软件进行分析。

2.8 统计学分析 通过 SPSS17.0 软件进行处理, 数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠体质量与血糖 表 1 显示, 建模 1 周后各组大鼠体质量无显著差异 ($P > 0.05$), 同时也排除了基线误差; 随着生长周期的延长, 体质量逐渐增加, 但正常组更明显, 而在同一时间点实验组体质量均显著低于正常组 ($P < 0.01$), 但组间无显著差异 ($P > 0.05$)。表 2 显示, 注射链脉佐菌素后 1 周实验组大鼠血糖显著高于正常组 ($P < 0.01$), 达到糖尿病诊断标准, 同时使用人参皂苷 R_{g_1} 或西地那非后大鼠血糖值均无显著变化 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠体质量比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of rat body weights among various groups (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	造模 1 周	造模 4 周	造模 10 周	给药 2 周	给药 4 周
正常组	10	239.61±5.31	390.33±30.78	478.39±39.13	492.94±43.70	510.72±41.61
模型组	14	245.27±9.66	255.15±33.56**	307.88±80.53**	308.63±90.05**	332.71±80.07**
人参皂苷 R_{g_1} 低剂量组	14	241.25±5.42	251.56±37.12**	303.75±53.11**	282.31±43.89**	304.94±38.59**
人参皂苷 R_{g_1} 高剂量组	14	242.73±6.17	283.61±56.55**	301.86±43.62**	274.68±45.53**	316.89±42.15**
西地那非组	14	242.04±5.85	266.00±45.61**	297.21±54.96**	281.29±44.58**	294.32±49.07**

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$

表 2 各组大鼠血糖比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of rat blood glucose among various groups (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	造模 1 周	造模 4 周	造模 10 周	给药 2 周	给药 4 周
正常组	10	6.37±0.32	6.59±0.32	5.42±0.30	5.66±0.40	5.76±0.57
模型组	14	18.62±5.13**	32.77±3.73**	26.55±8.41**	28.20±7.46**	28.43±7.60**
人参皂苷 R_{g_1} 低剂量组	14	20.23±5.83**	31.29±4.31**	25.11±8.47**	27.15±8.83**	30.15±2.88**
人参皂苷 R_{g_1} 高剂量组	14	18.37±5.30**	29.70±4.44**	30.03±5.30**	30.36±2.78**	26.60±8.09**
西地那非组	14	17.54±5.94**	31.51±4.10**	29.75±6.22**	29.46±5.83**	26.94±7.88**

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$

3.2 SOD、MDA、NO 水平 表 3 显示, 与正常组比较, 模型组大鼠 SOD、NO 水平显著降低 ($P < 0.01$), MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与

模型组比较, 人参皂苷 R_{g_1} 高剂量组 SOD、NO 水平显著升高 ($P < 0.05$), MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$)。

表 3 各组 SOD、MDA、NO 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of SOD, MDA and NO levels among various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	SOD/(ng·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	NO/(μ mol·mL ⁻¹)
正常组	10	2.474±0.175	1.514±0.053	9.390±0.491
模型组	14	2.072±0.146**	1.734±0.105**	6.410±1.289**
人参皂苷 R_{g_1} 低剂量组	14	2.136±0.216**	1.620±0.125	6.972±1.078**
人参皂苷 R_{g_1} 高剂量组	14	2.346±0.196 [△]	1.562±0.080 [△]	7.756±0.987* [△]
西地那非组	14	2.096±0.116**	1.660±0.142*	7.928±0.832* [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$

3.3 ICP/MAP 表 4 显示, 与正常组比较, 模型组 ICP/MAP 显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较,

人参皂苷 R_{g_1} 组 ICP/MAP 显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 以高剂量组更明显。

表 4 各组 ICP/MAP 比较 ($\bar{x} \pm s$, 1 mmHg=0.133 kPa)

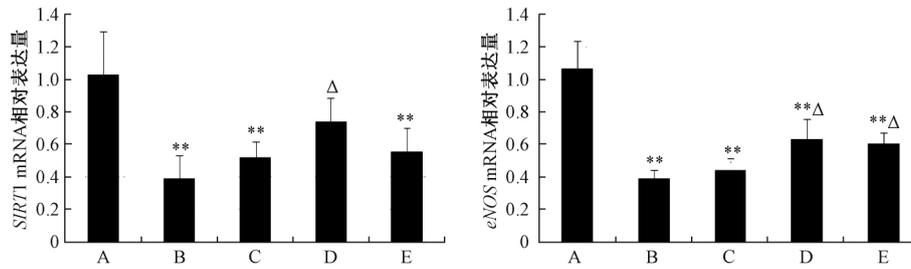
Tab. 4 Comparison of ICP/MAP among various groups ($\bar{x} \pm s$, 1 mmHg=0.133 kPa)

组别	动物数/只	MAP/mmHg	勃起前 ICP/mmHg	勃起后 ICP/mmHg	(ICP/MAP) /%
正常组	10	124.36±4.57	28.82±3.26	106.42±13.6	85.35±7.80
模型组	14	121.98±2.63	11.56±2.95**	35.42±2.78**	29.07±2.72**
人参皂苷 R_{g_1} 低剂量组	14	122.98±3.58	11.96±2.66**	48.22±6.65** [△]	39.19±5.09** [△]
人参皂苷 R_{g_1} 高剂量组	14	124.3±8.57	12.2±3.76**	65.3±8.11** ^{△△}	52.47±4.82** ^{△△}
西地那非组	14	124.30±6.89	13.00±3.68**	65.7±7.71** ^{△△}	52.78±4.67** ^{△△}

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

3.4 SIRT1、eNOS mRNA 表达 图1显示,与正常组比较,模型组 SIRT1、eNOS mRNA 表达显著

降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较,人参皂苷 Rg₁ 高剂量组两者 mRNA 表达显著升高 ($P < 0.05$)。



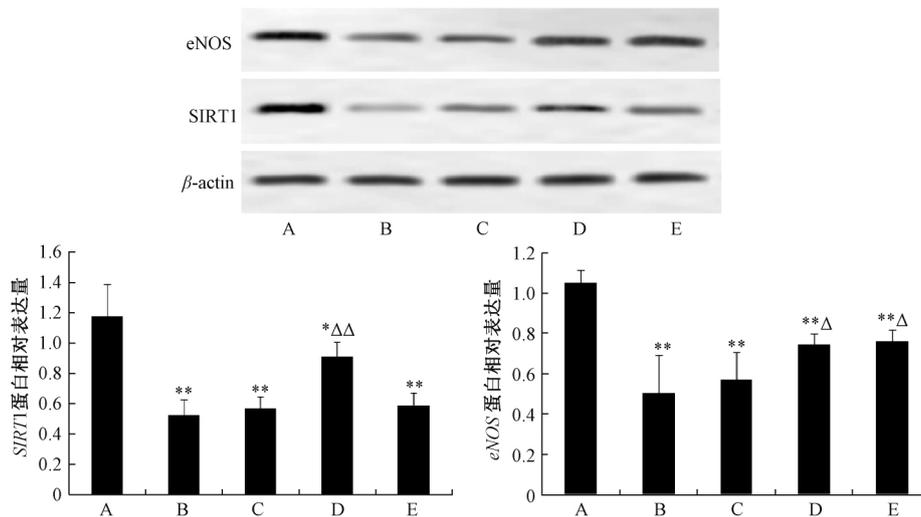
注: A~E 分别为正常组、模型组、人参皂苷 Rg₁ 低剂量组、人参皂苷 Rg₁ 高剂量组、西地那非组。与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, Δ $P < 0.05$

图1 各组 SIRT1、eNOS mRNA 表达

Fig. 1 mRNA expressions of SIRT1 and eNOS in various groups

3.5 SIRT1、eNOS 蛋白表达 图2显示,与正常组比较,模型组 SIRT1、eNOS 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较,人参皂苷 Rg₁ 高剂量

组两者蛋白显著升高,其表达量显著高于模型组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。



注: A~E 分别为正常组、模型组、人参皂苷 Rg₁ 低剂量组、人参皂苷 Rg₁ 高剂量组、西地那非组。与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$

图2 各组 SIRT1、eNOS 蛋白表达

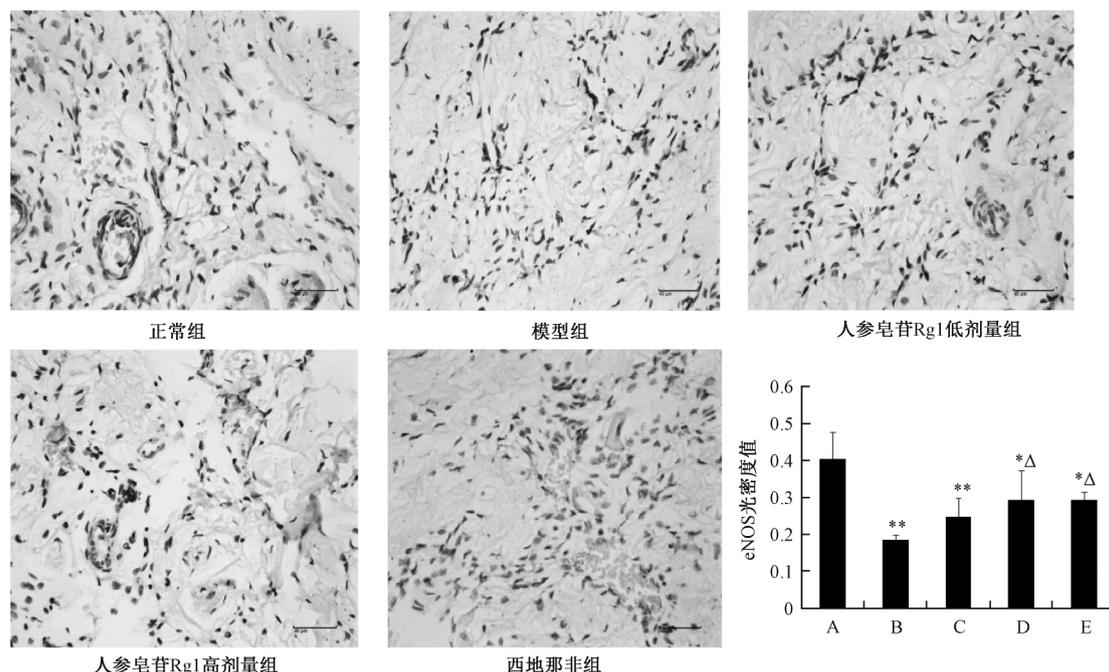
Fig. 2 Protein expressions of SIRT1 and eNOS in various groups

3.6 eNOS 分布 图3显示, eNOS 阳性细胞主要分布于血管周围内皮细胞,位于细胞浆;与正常组比较,模型组 eNOS 平均光密度值显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较,人参皂苷 Rg₁ 高剂量组其平均光密度值显著升高 ($P < 0.05$)。

改变,糖尿病发病率逐年升高,并且发病年龄呈年轻化趋势,也成为勃起功能障碍重要原因之一^[4-5],其发病机制可能与糖尿病患者长期高血糖环境下引起的氧化应激损伤有关,氧化应激产生的 ROS、MDA、8-OHdG 等氧化应激产物损伤血管内皮细胞,影响内皮细胞释放 NO 等因子,甚至引起血管内皮细胞凋亡,患者阴茎血管病变导致血管壁弹性纤维的糖基化反应,使海绵体窦状血管舒张能力降低,从而影响阴茎勃起功能^[6]。目前,治疗糖尿病勃起功能障碍的方法除了控制饮食和血

4 讨论

勃起功能障碍是指多种原因造成的阴茎海绵体血液充盈不足,导致阴茎持续不能达到或维持足够勃起以完成并维持满意的性交,是影响众多男性健康和家庭幸福的常见疾病。随着生活水平及方式的



注: A~E 分别为正常组、模型组、人参皂苷 R_{g1} 低剂量组、人参皂苷 R_{g1} 高剂量组、西地那非组。与正常组比较, * P<0.05, ** P<0.01; 与模型组比较, Δ P<0.05

图3 各组 eNOS 免疫组化分析 (IHC×400)

Fig. 3 Analysis of eNOS immunohistochemistry in various groups (IHC×400)

糖外, 其余与普通勃起功能障碍类似, 主要以经典的 PDE5 抑制剂 (5 型磷酸二酯酶抑制剂) 为主, 如他达那非、西地那非等, 此类药物短期疗效较好, 但长期疗效不理想, 而且其心血管副作用及部分患者忧虑导致接受度不高, 故亟需开发有效的天然药物。

中医认为, 糖尿病属中医“消渴”范畴, 病久引起阳痿^[7], 其成因历代均主张为肾虚, 由此也形成了以治肾为主的辨治理论^[8], 而治肾又以肾气、肾精为着手点, 如人参、杜仲、淫羊藿、鹿茸等药材成为常用中药。其中, 人参味甘、微苦, 性微温, 具有益气补中、生津止渴等功效, 被用于治疗消渴病, 人参皂苷 R_{g1} 是其主要有效成分之一, 有明显的抗氧化及保护血管内皮细胞功能, 可降低氧化应激产物生成, 提高机体抗氧化活性, 减少糖尿病并发症发生^[9]。课题组前期证明, 改善阴茎血管内皮细胞功能可保护勃起功能, 将携带多效生长因子 (PTN) 基因的脂肪干细胞注射进勃起功能障碍大鼠的阴茎海绵体 1 周后, 即能检测到该基因高表达, 勃起功能得到有效恢复^[10]; 文献^[11]报道, 人参皂苷 R_{g1} 可通过 PI3K-Akt 信号通路来促进 eNOS mRNA 表达, 增加 NO 生成, 从而达到抗心肌缺血的作用, 而且能显著降低糖尿病大

鼠血糖, 改善血脂代谢紊乱, 提高肝脏及外周组织胰岛素敏感性, 改善胰岛素抵抗^[12]; 由于该成分常用剂量为 10~40 mg/kg^[13], 故本实验选择 15、30 mg/kg 进行研究, 发现其剂量越高, 对勃起功能及生化指标的改善程度越明显, 虽未对血糖有明显影响, 但它可明显减轻氧化应激损伤, 保护阴茎血管内皮细胞, 促进 eNOS 产生, 增加血管舒张因子 NO 的产生, 从而改善糖尿病大鼠勃起功能。

沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (Sirt1) 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 依赖性的去乙酰化酶, 广泛存在于机体的各种体细胞及生殖细胞中, 具有减缓血管内皮细胞衰老、提高血管内皮细胞功能等作用^[14], 可通过调节内皮源型一氧化氮合酶 (eNOS) 等活性来促进 NO 生成, 改善内皮依赖的血管舒张活性, 并延缓内皮细胞衰老^[15-16], 故对以内皮功能障碍为主要病因的疾病, 特别是勃起功能障碍, 它可能是其潜在的治疗靶点之一。Yu 等^[17]发现, 白藜芦醇可通过激活 Sirt1 基因来改善糖尿病大鼠的勃起功能, 其主要机制是上调其下游基因 eNOS 表达, 使内皮细胞能产生更多 NO, 舒张阴茎动脉, 从而增加血流量; 本实验发现, 人参皂苷 R_{g1} 也可上调勃起功能障碍大鼠阴茎组织中该因子表达, 从而激活其下游基因 eNOS 表达。同

时,西地那非虽然能提高 eNOS、NO 水平,但对 SIRT1、SOD 水平的提高程度,以及阴茎组织氧化应激损伤的保护作用不明显,表明它主要通过抑制 PDE-5 来增加 eNOS、NO 生成。另外,勃起功能障碍大鼠阴茎海绵体部分肌纤维结构紊乱甚至纤维化,可能也是影响勃起功能的重要因素,这也是今后研究的重点,也需延长给药时间来观察人参皂苷 R_{g1} 对阴茎组织的影响,并考察其安全性。

综上所述,人参皂苷 R_{g1} 能有效减轻勃起功能障碍糖尿病大鼠阴茎组织的氧化应激损伤,明显改善勃起功能,其主要作用机制可能是上调 Sirt1/eNOS 信号通路,从而保护血管内皮细胞功能。

参考文献:

- [1] Li H, Chen L P, Wang T, et al. Calpain inhibition improves erectile function in diabetic mice via upregulating endothelial nitric oxide synthase expression and reducing apoptosis[J]. *Asian J Androl*, 2018, 20(4): 342-348.
- [2] Minaz N, Razdan R, Pathak L. Repositioning of molsidomine for its efficacy in diabetes induced erectile dysfunction in rats: *In silico*, *in vitro* and *in vivo* approach [J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 70(2): 309-315.
- [3] 李 欢, 苟 欣. 三七总皂苷的抗凋亡作用对糖尿病性勃起功能障碍大鼠勃起功能的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2013, 38(11): 1325-1330.
- [4] Zhu L L, Huang X, Yu W, et al. Transplantation of adipose tissue-derived stem cell-derived exosomes ameliorates erectile function in diabetic rats [J]. *Andrologia*, 2018, 50 (2): e12871.
- [5] Ma R C W. Epidemiology of diabetes and diabetic complications in China[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(6): 1249-1260.
- [6] Cui K, Tang Z, Li C C, et al. Lipoxin A4 improves erectile dysfunction in rats with type I diabetes by inhibiting oxidative stress and corporal fibrosis [J]. *Asian J Androl*, 2018, 20 (2): 166-172.
- [7] 印会河, 张伯讷. 中医基础理论[M]. 5 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 102-127.
- [8] 胡卫东, 刘伟英, 严春梅, 等. 加味补阳还五汤治疗糖尿病性勃起功能障碍临床观察[J]. *山西中医*, 2014, 30 (10): 13-15.
- [9] 陈 颖, 冯晓红, 黄 琦. 人参皂苷对波动性高糖所致内皮细胞损伤的作用及机制研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2017, 27(7): 550-553, 637-638.
- [10] 夏雨果, 曾文彤, 陈 秋, 等. 携带 PTN 基因的脂肪干细胞对糖尿病大鼠勃起功能障碍的影响[J]. *广东医学*, 2018, 39(7): 979-982.
- [11] 冷 雪, 臧安缘, 李其芳. 人参皂苷 R_{g1} 通过 PI3K/Akt/eNOS 信号通路调控异丙肾上腺素致急性心肌缺血大鼠心肌的抗氧化作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23 (11): 145-150.
- [12] 林卫东, 陈 超, 梁生旺, 等. 人参皂苷改善胰岛素抵抗的网络药理学[J]. *中成药*, 2016, 38(7): 1455-1461.
- [13] 黄海英. 人参皂苷 R_{g1} 药理作用研究进展[J]. *实用中医药杂志*, 2012, 28(7): 608-609.
- [14] 万 赞, 余 文, 陈 赟, 等. 去乙酰化酶 SIRT1 与血管内皮功能关系研究进展[J]. *中华男科学杂志*, 2012, 18 (9): 831-834.
- [15] Lojanapiwat B, Weerusawin T, Kuanprasert S. Erectile dysfunction as a sentinel marker of endothelial dysfunction disease [J]. *Singapore Med J*, 2009, 50(7): 698-701.
- [16] 宋志明, 余舒杰, 杨建涛, 等. 硫化氢通过调节 Sirt1/eNOS 信号通路延缓人脐静脉内皮细胞衰老[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(2): 258-263.
- [17] Yu W, Wan Z, Qiu X F, Chen Y, et al. Resveratrol, an activator of SIRT1, restores erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Asian J Androl*, 2013, 15(5): 646-651.