

研究论文

大鼠黑质多巴胺能神经元的二型性

马元怡, 孔淑珍, 杨黎江, 孟金兰, 吕乐春, 何敏*

昆明医学院生理教研室, 昆明 650031

摘要: 成年哺乳动物的某些脑区存在性别差异, 即二型性, 但中脑黑质是否存在性分化目前不清楚。本文旨在探讨成年大鼠中脑黑质是否存在二型性。将 60 只成年大鼠分成 5 组: (1) 正常雌鼠对照组; (2) 正常雄鼠对照组; (3) 去卵巢组; (4) 去睾丸组; (5) 去卵巢后回补雌激素组, 该组大鼠在去卵巢后的第 7 天开始连续 3 d 给予生理剂量的雌激素回补。所有大鼠在右侧黑质埋置记录电极, 在清醒和安静的生理状态下连续 14 d 记录黑质的 P50 听觉诱发电位(P50), 之后作黑质酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)免疫组织化学染色, 检查 TH 阳性(TH^+)细胞数量和形态变化。结果表明, 正常成年雄鼠黑质的 TH^+ 细胞数量较雌鼠少 22.47% ($P<0.05$), P50 的 T/C 值也低 34.72% ($P<0.01$), 提示正常成年大鼠黑质在结构和功能上存在二型性。与正常雄鼠相比, 去睾丸大鼠黑质的 TH^+ 细胞数量、形态和 P50 的 T/C 值无显著性变化($P>0.05$)。与正常雌鼠相比, 去卵巢大鼠黑质 TH^+ 细胞数量减少 28.09% ($P<0.01$), P50 的 T/C 值降低 30.85% ($P<0.01$)。在大鼠去卵巢后的短时间内给予 3 d 生理剂量的雌激素, 15~20 d 后可观察到其黑质 TH^+ 细胞数量、形态和 P50 的 T/C 值基本恢复到去卵巢前水平。结果提示, 大鼠中脑黑质的多巴胺能神经元在数量、结构和功能活动上存在性别差异; 内源性雌激素在维持黑质多巴胺系统完整性及调节其功能活动中起重要作用。

关键词: 脑的二型性; 雌激素; 黑质; 多巴胺神经元; 感觉门控; P50 听觉诱发电位; 酪氨酸羟化酶

中图分类号: R338

Sexual dimorphisms of dopaminergic neurons in rat substantia nigra

MA Yuan-Yi, KONG Shu-Zhen, YANG Li-Jiang, MENG Jin-Lan, LV Le-Chun, HE Min*

Department of Physiology, Kunming Medical College, Kunming 650031, China

Abstract: There are sex differences in some brain areas in mammals. Parkinson's disease (PD), caused by the mesencephalic substantia nigra (SN) dopaminergic neuronal loss, displays sexual difference, i.e., the incidence is higher and the symptoms are more intense in males than that in females. However, it has not been known whether sexual dimorphisms exist in the SN. Sixty adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups: (1) Female intact group (F-INT group); (2) Male intact group (M-INT group); (3) Ovariectomized group (OVX group); (4) Castration group (CAST group); (5) Ovariectomized + estrogen-replaced group (OVX- E_2 group): The rats received sequentially physiological dose of estrogen for 3 d from the 7th day after ovariectomy. P50 auditory evoked potential (P50) was recorded for 14 d from electrodes inserted in the rat right SN in quiet and awake state. After recording, the brain tissues were dissected and the tyrosine hydroxylase (TH)-expressing neurons in the compact zone of the SN were counted using immunohistochemical method. The results showed that the number of TH-positive (TH^+) cells in the SN of normal male animals was less than that in normal female rats ($P<0.05$), and the T/C ratio of P50 in normal males was significantly less than that in normal females ($P<0.01$), indicating that there exists sexual difference in function and structure in the SN. No differences in the T/C ratio of P50 or the number of TH^+ cells were found between M-INT and CAST groups. The T/C ratio of P50 and the number of TH^+ cells in the SN in OVX group were reduced significantly compared with those in F-INT group ($P<0.01$). There was no significant difference in the T/C ratio of P50 and the number of TH^+ cells in the SN between OVX- E_2 and F-INT groups 15-20 d after estrogen replacement, suggesting

Received 2007-03-16 Accepted 2007-09-16

This work was supported by the Natural Science Foundation of Yunnan Province, China (No. 2001C0005R).

*Corresponding author. Tel: +86-871-5426550; E-mail: kmhemin@163.com

Present address: MA Yuan-Yi: The Fourth Military Medical University Press, Xi'an 710032, China; KONG Shu-Zhen: Research Center of Medical Chemistry & Chemical Biology, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China; YANG Li-Jiang: Department of Biology, Kunming Teachers College, Kunming 650031, China; MENG Jin-Lan: Department of Physiology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510224, China

that estrogen can promote the survival and functional recovery of dopaminergic neurons in the SN. The results suggest that there exist sex-specific differences in the dopaminergic neurons in the SN structurally and functionally. The difference of estrogen level in cerebra between male and female animals may account for the sexual differences. Endogenous estrogen plays an important role in maintaining the integrity and modulating the functional activity of dopamine system in the SN.

Key words: sex dimorphisms in brain; estrogen; substantia nigra; dopaminergic neuron; sensory gating; P50 auditory evoked potential; tyrosine hydroxylase

性腺激素对脑的发育、分化和神经细胞保护十分重要。大量动物实验表明,成年哺乳动物的某些脑区在结构和功能上存在明显的性别差异,即脑的二型性。目前所知脑的二型性多集中在下丘脑、杏仁核和纹状体等区域,中脑黑质是否存在二型性尚未见报道。许多临床观察报告发现,帕金森病(Parkinson's disease, PD)的发病率和严重程度男性高于女性^[1],即存在男性优势;另外,PD病人在药物疗效、黑质多巴胺(dopamine, DA)能神经元的基因表达等方面也存在性别差异^[2]。由于PD病因至今尚不清楚,这种性别差异的形成机制仍在探索之中。黑质在PD发生中起关键作用,探讨黑质的结构和功能活动是否存在二型性,对阐明PD发生的性别差异,深入研究PD的病因、形态学基础和诊疗策略具有重要的理论和实用意义。

感觉门控(sensory gating, SG)是中枢神经系统的一种正常功能,它通过滤进(gating in)机体所需的感知信息并滤出(gating out)无关或重复的感觉输入,使大脑更高级的功能不被感觉信息所超载^[3]。P50听觉诱发电位(P50)的T/C比值是常用的评价SG的定量指标。SG的神经机制目前仍不清楚,而SG是否存在性别差异也未见报道。但很多临床观察和动物实验研究显示,SG和脑内DA递质有密切关系^[4]。中脑黑质是脑内DA能神经元较为富集的部位,黑质通过输出DA至纹状体参与调节躯体运动。黑质内DA系统功能活动平衡失调可从行为学反映出来,如PD。本研究室前期在正常大鼠和损毁黑质的PD模型大鼠上已观察到黑质存在SG,其大小与黑质DA能神经元的功能关系密切^[5]。本研究在此基础上通过观察正常雌、雄大鼠,以及去性腺大鼠黑质SG和DA能神经元数目和结构的变化,阐明黑质是否在结构/功能上存在性分化,并阐述雌激素在维持黑质DA系统完整性及调节其功能活动中的作用。

1 材料与方法

1.1 动物分组及主要试剂 健康成年 Sprague-Dawley (SD)大鼠 60 只,由昆明医学院动物科提供。雌鼠体重 200~220 g,雄鼠体重 240~260 g。实验前将动物置于室温(20±2)°C, 12 h/12 h 昼夜交替光照条件下生活,自由饮水、进食,适应实验环境 1 周。将 SD 大鼠随机分为 5 组(每组 12 只): (1)正常雌鼠对照组(F-INT group); (2)正常雄鼠对照组(M-INT group); (3)去卵巢组(ovariectomized, OVX group); (4)去睾丸组(castration group, CAST group); (5)去卵巢后回补雌激素组(OVX-E₂ group),该组大鼠在去卵巢后的第 7 天开始连续 3 d 给予生理剂量的雌激素回补。主要试剂: 17β-雌二醇(17β-estradiol, 17β-E₂),用橄榄油稀释,终浓度为 20 μg/0.1 mL。酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)抗体,稀释浓度 1:1 000。实验所用主要试剂为 Sigma 公司产品。

1.2 头部电极埋置 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉大鼠,头部固定于江湾 I 型脑立体定位仪上,暴露颅骨,清洁骨面,参照 Paxinos 和 Watson^[6]鼠脑立体定位图谱确定右侧黑质致密带(compact zone of the substantia nigra, SNC)坐标点: 前囟后 5.1 mm,矢状缝向右旁开 2.3 mm,自硬脑膜下深度为 7.7 mm。将一绝缘的直径为 100 μm 的铂铱丝微电极利用脑立体定位仪埋置于中脑黑质(电极尖端去绝缘层裸露 0.5 mm),参考电极置于嗅皮层硬脑膜上;地线置于离记录电极较远的对侧颞叶外的皮层硬脑膜处。记录电极、参考电极和地线连接到一个小型自制的三导可插式插头上,并用医用牙托粉将此电极固定于颅骨表面,术后连续 3 d 肌注青霉素预防感染。恢复一周后,连续 14 d 记录大鼠黑质 P50,之后取各组脑组织固定备用。

1.3 去性腺术 将成年雌、雄大鼠用 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg 体重, i.p.)麻醉。雌鼠在腰背部切口取出双侧卵巢;雄鼠剪开阴囊皮肤,切除双侧睾丸。术后连续 3 d 肌注青霉素预防感染,去性腺后第 8 天行头部埋置电极手术,术后恢复一周。OVX-E₂

组雌鼠于双侧去卵巢后第7天皮下连续3 d给予生理剂量的雌激素。

1.4 黑质 TH 免疫组织化学染色 每组随机抽取4只大鼠用于免疫组织化学分析。OVX组和CAST组于去性腺后第30天处死取材;OVX-E₂组大鼠于回补雌激素后第20天(即OVX后第30天)处死取材。动物麻醉后用冰生理盐水通过左心室灌注,常规取脑,中性甲醛固定,石蜡包埋。参照Paxinos和Watson鼠脑立体定位图谱,应用石蜡切片机连续做前囟后5.0~5.2 mm处黑质的冠状切片,每张切片厚5 μ m,每隔5片取出一张切片,每只大鼠黑质共取5张切片按常规免疫组织化学ABC染色法进行TH染色。TH染色后,对每只动物的5张TH染色切片做左、右两侧黑质TH⁺细胞计数。用与显微镜和计算机相连的照像机(Leica DFC 320, Germany)对切片进行图像采集,用图像采集和分析软件对黑质内放大40倍的TH⁺细胞进行计数。

1.5 P50的记录 所有大鼠采用双声刺激模式记录P50。实验前将动物放入隔声室,大鼠头部引导电极的外接部分与生物放大器相连。隔声室内安装有摄像系统,实验时通过监视器观察大鼠状态,于大鼠清醒、安静状态下进行。先给予大鼠70 dB白噪声背景,适应20 min后进行正式实验记录。正式实验时给予两个相同的声音刺激:S1(条件刺激,conditioning,C)和S2(实验刺激testing,T),强度为80 dB,声音持续时间10 ms,S1和S2间隔500 ms,采样频率1 000 Hz,采样间隔10 s,一次采样时间为2 s。对采样信号做100次叠加得到P50。评价SG的指标:T/C值=(第二个声音诱发的峰-峰值 μ V)/(第一个声音诱发的峰-峰值 μ V)×100%。

1.6 统计学分析 所有实验数据用SPSS11.5统计软件进行处理分析。各组大鼠P50的T/C比值之间,以及TH⁺细胞数目之间的比较采用单因素方差分析,*q*检验。正常对照组大鼠左侧和右侧黑质TH⁺细胞数目的比较采用配对样本*t*检验。*P*<0.05表示有显著性差异。

2 结果

2.1 正常成年雌、雄鼠黑质 P50 和 TH⁺ 细胞数目

正常雄鼠和雌鼠黑质P50的T/C比值分别为41.59±8.25和63.71±6.37,前者较后者低34.72%,有显著性差异(*P*<0.01)。

免疫组织化学结果显示:正常雌鼠黑质TH⁺细胞数目左侧为195±23,右侧为178±15;正常雄鼠黑质TH⁺细胞数目左侧为123±24,右侧为138±23;两组大鼠各自左、右两侧黑质TH⁺细胞数目均无显著性差异,但正常雄鼠每侧黑质TH⁺细胞数目明显少于正常雌鼠同侧黑质TH⁺细胞数目,其右侧黑质TH⁺细胞数目较正常雌鼠少22.47% (*P*<0.05)(图1)。

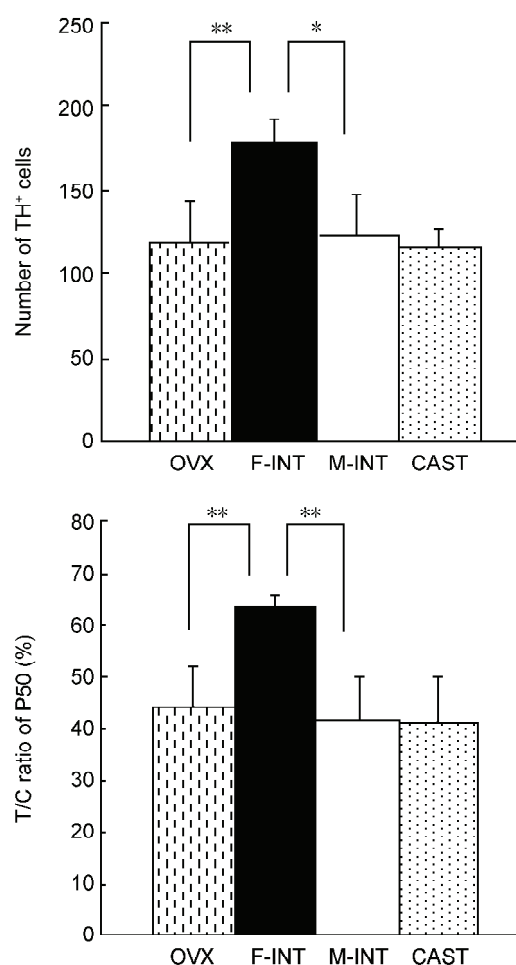


图1. 正常雌、雄大鼠和去性腺大鼠右侧黑质TH⁺细胞数量和P50听觉诱发电位的T/C值

Fig. 1. The number of TH⁺ cells and T/C ratio of P50 in the right substantia nigra in F-INT, M-INT and gonadectomized rats. **P*<0.05, ***P*<0.01.

在40倍光镜下可见正常雌、雄大鼠黑质中TH⁺细胞和其纤维染色均匀,纤维较长。但与正常雌鼠相比,正常雄鼠黑质中TH⁺细胞密度较小,纤维也稍稀疏(图2A、B)。

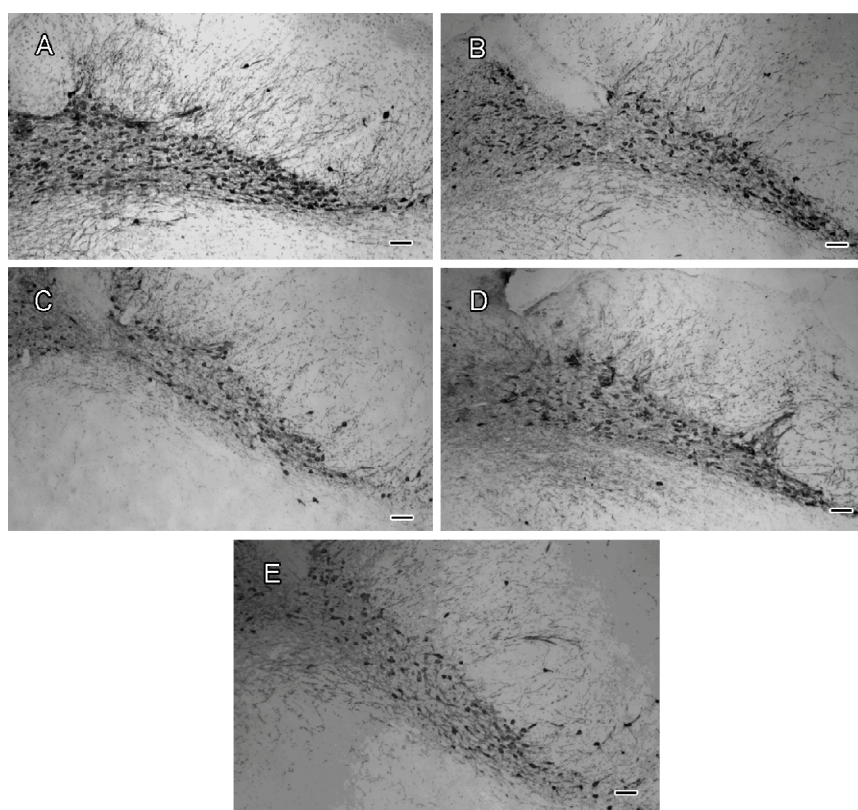


图 2. 正常雌、雄大鼠, 去性腺大鼠和去卵巢后短时间回补雌激素大鼠右侧黑质 TH⁺ 细胞密度

Fig. 2. The density of TH⁺ cells in the substantia nigra (SN) in F-INT, M-INT, OVX, CAST and OVX-E₂ groups. A: There was a high TH⁺ cell density in the SN in F-INT group. All of the TH⁺ cells had long, heavily immunostained dendrites. B: The TH⁺ cells were relative sparse in M-INT group. C: In OVX group, the TH⁺ cells were more sparse, and many of them did not exhibit immunostained dendrites. D: In CAST group, no differences in the density of TH⁺ cells were found in the SN compared to that in M-INT group. E: In OVX-E₂ group, there were no differences in the density of TH⁺ cells in the SN compared to that in F-INT group. Scale bar, 100 μm.

2.2 去性腺大鼠黑质 P50 和 TH⁺ 细胞数目变化

去卵巢组大鼠黑质 P50 的 T/C 比值为 44.05 ± 7.70 , 较正常雌鼠 (63.71 ± 6.37) 降低 30.85% ($P < 0.01$); 而去睾组大鼠黑质 P50 的 T/C 比值 (41.38 ± 8.60) 与正常雄鼠的 41.59 ± 8.25 相比, 没有显著性差异(图 1)。

免疫组织化学结果显示: 去卵巢组大鼠黑质 TH⁺ 细胞数目(左侧 125 ± 29 , 右侧 128 ± 25)较正常雌鼠(左侧 195 ± 23 , 右侧 178 ± 15)明显下降($P < 0.01$)。去睾组大鼠黑质 TH⁺ 细胞数目(左侧 118 ± 17 , 右侧 116 ± 11)与正常雄鼠(左侧 123 ± 24 , 右侧 138 ± 23)相比没有明显减少, 无统计学差异(图 1)。

在 40 倍光镜下可见, 与正常雌鼠相比, 去卵巢组大鼠黑质 TH⁺ 细胞密度明显下降, 纤维变短、稀疏、排列紊乱(图 2C)。与正常雄鼠相比, 去睾组大鼠黑质 TH⁺ 细胞密度以及纤维结构没有明显

改变(图 2D)。

2.3 去卵巢大鼠给予生理剂量雌激素后黑质 P50 和 TH⁺ 细胞数目变化

去卵巢后第 7 天大鼠连续 3 d 补充生理剂量的雌激素, 可观察到随时间延长, OVX-E₂ 组大鼠黑质 P50 的 T/C 比值逐渐回升, 短期补充生理剂量的雌激素后 15~20 d 的 T/C 比值基本回升至去卵巢前水平 (61.17 ± 5.81), 与正常雌鼠相比无显著性差异; 此时 OVX-E₂ 组大鼠黑质 TH⁺ 细胞数(左侧 190 ± 22 , 右侧 177 ± 28)也随之增加到正常雌鼠的水平(图 3)。

在 40 倍光镜下, 去卵巢大鼠黑质 TH⁺ 细胞减少, 纤维变短, 断裂, 排列紊乱(图 2C), 当给予雌激素回补 20 d 后, 可观察到 OVX-E₂ 组大鼠 TH⁺ 细胞和纤维数目较去卵巢组大鼠增多, 纤维排列规则(图 2E)。

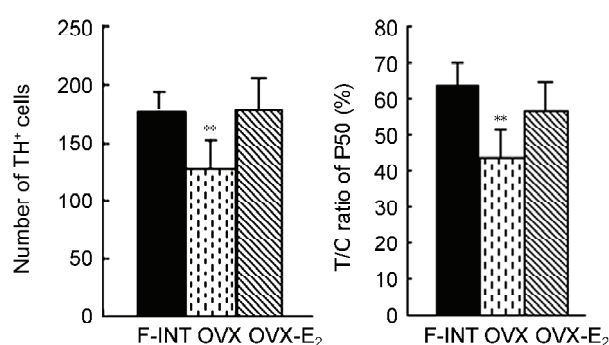


图 3. 正常雌鼠去卵巢和去卵巢短期补充雌激素后 15~20 d 大鼠右侧黑质 TH⁺ 细胞数目以及补充雌激素后第 10 天的 P50 听觉诱发电位的 T/C 值

Fig. 3. The number of TH⁺ cells and T/C ratio of P50 in the right substantia nigra in F-INT, OVX and OVX-E₂ groups. ***P*<0.01 vs F-INT.

3 讨论

大量研究已证明神经系统发育过程中, 性激素参与中枢神经系统的性分化。有研究发现, 将大脑的某些区域在特定时期长久地暴露在雄激素或者雌激素的条件下, 会引起脑的性分化^[7], 这些分化包括某些脑区体积大小、脑细胞体积、神经元数目或功能差异, 脑的性分化将造成成年后某些脑区结构和机能发生永久性生理性变化, 即出现脑的二型性。Stacy 等(1993)用定量微透析法首次证明, 成年大鼠纹状体 DA 递质的释放存在性别差异^[8], 但黑质纹状体系统中黑质在结构和功能活动上是否存在性分化尚未见报道, 本实验就此问题在成年大鼠上进行研究。结果发现, 正常雄鼠黑质的 TH⁺ 细胞数目较正常雌鼠少 22.47%, 此外雄鼠黑质的 TH⁺ 染色纤维也相对稀少(图 2A、B)。Leranth 等^[9]在灵长类的研究中也观察到非洲雌性绿猴脑内 DA 细胞的密度较雄性高。结果提示, 正常大鼠中脑黑质 DA 能神经元在数量和结构存在性别差异。

SG 是大脑的一种正常保护性适应功能。本研究观察到, 正常雄鼠黑质 P50 的 T/C 比值比正常雌鼠低 34.72%, 提示大鼠黑质在 SG 功能上也存在明显的性别差异。结合上述正常雄鼠黑质 DA 能神经元明显少于正常雌鼠, 提示大鼠黑质的 SG 功能与黑质 DA 能神经元的数量密切相关, 而造成黑质 DA 能神经元结构和功能差异的可能是雌、雄鼠脑内和性腺雌激素水平的差异。

近年来大量研究证实, 雌激素对哺乳动物中枢神经系统具有神经营养和调节神经功能的双重能

力, 包括促进细胞存活、抗凋亡和影响神经轴突及树突生长等作用。本研究对比了成年雌、雄鼠去性腺前后以及去卵巢后回补雌激素后黑质 DA 能神经元结构和功能的变化。结果显示, 去卵巢 20~30 d 可导致雌鼠黑质 TH⁺ 神经元大量死亡, 其 P50 的 T/C 比值也大幅降低, 而在大鼠双侧去卵巢后第 7 天短暂补充生理剂量的雌激素 20 d 时可观察到黑质 TH⁺ 细胞数和 P50 的 T/C 比值基本回升至去卵巢前正常水平。结果提示, 在短期剥夺性腺雌激素来源后, 及时补充生理剂量的雌激素可预防和阻止黑质 DA 能神经元的死亡。Leranth 等^[9]也报道, 对非洲雌性绿猴切除卵巢后第 10 天应用短暂雌激素治疗即可恢复黑质 TH⁺ 细胞密度。最近有报道, 在大鼠双侧去卵巢后 10 d 短暂给予雌二醇后的 1~3 d 内, 可观察到杏仁核 DA 释放量升高, 且 DA 释放量与血清的雌二醇含量有量-效关系^[10]。本研究提示, 性腺雌激素对雌性大鼠黑质 DA 能神经元的存活和功能活动有明显的支持作用。Morale 等^[11]研究认为雌激素是通过星形胶质细胞和小胶质细胞发挥保护黑质 DA 能神经元的作用, 并且保护强度与雌激素水平有关。以往一些研究表明, 在脑发育的关键时期, 雄激素在使脑向雄性化方向分化中有重要作用, 但在成年脑, 雄激素对其作用一直有争议。Glenda 等报道^[12], 正常成年雄性大鼠纹状体 TH⁺ 细胞数明显多于正常成年雌性大鼠, 提出存在着一异类的 DA 能神经元群的猜想。本实验结果显示, 正常雄鼠黑质 TH⁺ 细胞数目和 P50 的 T/C 比值均较正常雌鼠显著减少, 并且去睾丸后大鼠黑质 DA 能神经元数量和 P50 的 T/C 比值与正常雄鼠相比无显著变化, 提示生理水平的雌激素除可支持和维护黑质 DA 能神经元的生存外, 还可增强其功能活动, 而睾丸激素对于正常黑质 DA 能神经元的生存和功能或许没有影响, 这可能是大鼠中脑黑质 DA 能神经元数量、结构和功能存在性别差异的原因, 也表明生理水平的雌激素在维持黑质 DA 系统完整性及调节其功能活动中有重要作用。

本实验虽然没有直接测定黑质内 DA 含量, 但 TH 是儿茶酚胺类活性物质生物合成的限速酶, 在 DA 生物合成的调节中发挥重要作用, 而以往大量研究已表明 PD 动物模型及 PD 患者的 TH 从基因表达达到蛋白含量及活性都有广泛的异常改变^[13]; 黑质内 TH⁺ 细胞的计数可以反映 DA 含量变化; 很多中枢神经递质都会影响 P50, 其中以 DA 的影响最为

显著, DA 受体激动剂会增加 P50 的 T/C 比值, 而耗竭 DA 可使 P50 的 T/C 比值降低^[14,15]; 还有研究报道, 在整个性周期中纹状体 DA 发生改变^[16]。而我研究室前期则观察到正常雌鼠动情周期 4 个时期的纹状体 P50 的 T/C 比值之间虽没有显著性差异, 但是随动情周期雌激素的生理波动而同步波动^[17]。结合本实验中大鼠中脑黑质 DA 能神经元数量和结构存在性别差异的事实, 以及大鼠黑质 SG 同步随黑质内 DA 能神经元数量的改变而变动, 提示黑质 P50 的 T/C 值变化在一定程度上能够间接反应黑质内 DA 含量变化。

综上所述, 大鼠中脑黑质 DA 能神经元在数量、结构和功能活动上存在性别差异, 引起这种性别差异的主要因素是雌、雄大鼠脑内雌激素水平差异, 而脑内雌激素水平受性腺雌激素水平的影响。至于引起大鼠脑的二型性性分化的时期, 有人认为是在大鼠出生后的短时间内完成的。大鼠中脑黑质 DA 能神经元的性分化在何时发生和完成, 以及此性分化对成年脑黑质的潜在影响机制值得进一步探索。

* * *

致谢: 感谢马原野研究员(中国科学院昆明动物研究所灵长类认知实验室)对本研究无私的技术支持。

参考文献

- 1 Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, Nelson LM. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *Am J Epidemiol* 2003; 157(11): 1015-1022.
- 2 Shulman LM, Bhat V. Gender disparities in Parkinson's disease. *Expert Rev Neurother* 2006; 6(3): 407-416.
- 3 Smith DA, Boutros NN, Schwarzkopf SB. Reliability of P50 auditory event-related potential indices of sensory gating. *Psychophysiology* 1994; 31(5): 495.
- 4 Boutros NN, Korzyukov O, Jansen B, Feingold A, Bell M. Sensory gating deficits during the mid-latency phase of information processing in medicated schizophrenia patients. *Psychiatry Res* 2004; 126(3): 203-215.
- 5 Meng JL (孟金兰), He M, Luo HY, Xiong WC, Wei SJ. P50 auditory evoked potential in substantia nigra of normal female rats and female rats models of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Chin J Clin Rehab (中国临床康复)* 2005; 9(48): 68-70 (Chinese, English abstract).
- 6 Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1999.
- 7 Kawata M. Roles of steroid hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. *Neurosci Res* 1995; 24(1): 1-46.
- 8 Castner SA, Xiao L, Becker JB. Sex differences in striatal dopamine: *in vivo* microdialysis and behavioral studies. *Brain Res* 1993; 610: 127-134.
- 9 Leranth C, Roth RH, Elsworth JD, Naftolin F, Horvath TL, Redmond DE Jr. Estrogen is essential for maintaining nigrostriatal dopamine neurons in primates: implications for Parkinson's disease and memory. *J Neurosci* 2000; 20(23): 8604-8609.
- 10 Xie JX (谢俊霞), Liu B. Effect of estrogen on dopamine release evoked by electric stimulation of central amygdaloid nucleus. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2001; 53(3): 107-174 (Chinese, English abstract).
- 11 Morale MC, Serra PA, L'episcopo F, Tirolo C, Caniglia S, Testa N, Gennuso F, Giaquinta G, Rocchitta G, Desole MS, Miele E, Marchetti B. Estrogen, neuroinflammation and neuroprotection in Parkinson's disease: glia dictates resistance *versus* vulnerability to neurodegeneration. *Neuroscience* 2006; 138(3): 869-878.
- 12 Gillies GE, Murray HE, Dexter D, McArthur S. Sex dimorphisms in the neuroprotective effects of estrogen in an animal model of Parkinson's disease. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 78: 513-522.
- 13 De La Cruz CP, Revilla E, Venero JL, Ayala A, Cano J, Machado A. Oxidative inactivation of tyrosine hydroxylase in substantia nigra of aged rat. *Free Rad Biol Med* 1996(1); 20(1): 53-61.
- 14 Adler LE, Hoffer L, Nagamoto HT, Waldo MC, Kisley MA, Giffith JM. Yohimbine impairs P50 auditory sensory gating in normal subjects. *Neuropsychopharmacology* 1994; 10(4): 249-257.
- 15 Stevens KE, Luthman J, Lindqvist E, Johnson RG, Rose GM. Effects of neonatal dopamine depletion on sensory inhibition in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53(4): 817-823.
- 16 Becker JB. Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 64(4): 803-812.
- 17 Kong SZ (孔淑贞), Yang LJ, Ma YY, He M. The fluctuation of estrogen on the auditory evoked potential P50 in the rat striatum in estrus cycle. *Chin J Appl Physiol (中国应用生理学杂志)* 2007; 23(2): 188-203 (Chinese, English abstract).