

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.06.02

❖ 论著 ❖

肉苁蓉总苷对 β -淀粉样蛋白致实验性 AD 大鼠海马 CA1 区病理形态学的影响初步研究

罗兰¹, 王晓雯², 时扣荣¹, 顾伟鹰¹

(1. 上海中医药大学附属第七人民医院药学部, 上海 200137; 2. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的: 探讨肉苁蓉总苷 (GCs) 对 β -淀粉样蛋白致 Alzheimer 病 (AD) 大鼠海马 CA1 区神经元病理形态学的影响。**方法:** 将 60 只 SD 雄性大鼠随机分为 6 组, 分别为假手术组、 β -淀粉样蛋白组 (模型组)、维生素 E 阳性药组 (Vit E 组)、GCs 40 mg/kg 组 (小剂量组)、GCs 80 mg/kg 组 (中剂量组)、GCs 160 mg/kg 组 (高剂量组)。灌胃给药, 1 次/d, 连续 14 d。给药结束后, 处死大鼠, 制备其脑组织切片备用。经苏木精-伊红染色 (HE) 和 Bielschowski's 银染色法观察海马 CA1 区神经元的病理结构改变, 且通过电子显微镜观察神经元超微结构变化。**结果:** (1) GCs 给药组的大鼠海马 CA1 区细胞排列整齐, 形态正常, 未见凋亡坏死细胞, 结构与假手术组类似。(2) GCs 各给药组的大鼠神经元细胞核圆, 核膜完整, 核仁明显, 线粒体结构完整, 神经原纤维排列较整齐, 结构几乎接近于假手术组和维生素 E 阳性药对照组。(3) GCs 给药组的大鼠海马 CA1 区神经原纤维排列较规则, 神经元结构较完整, 无明显肿胀、增粗, 损伤明显减轻, 组织结构基本接近于假手术和维生素 E 阳性药对照组。**结论:** GCs 能减轻 AD 模型大鼠受损神经细胞的病理性改变及超微结构的损伤。

【关键词】 阿尔茨海默病; 肉苁蓉总苷; β -淀粉样蛋白; 海马; 神经元; 大鼠

【中图分类号】 R285 **【文献标志码】** A

Preliminary study on the pathomorphology of the Glycosides of Cistanche Herba on the hippocampal CA1 area of experimental AD rats induced by β -amyloid

LUO Lan¹, WANG Xiao-wen², SHI Kou-rong¹, GU Wei-ying¹

(1. Department of Pharmacy, Seventh People's Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200137; 2. Department of Pharmacology, Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054, Xijiang, China)

【Abstract】Objective: To explore the effects of Glycosides of Cistanche (GCs) on the pathomorphology of neurons in the hippocampal CA1 area of Alzheimer's disease (AD) rats induced by β -amyloid. **Methods:** 60 male SD rats were randomly divided into 6 groups: sham operation group, amyloid beta group (model group), vitamin E positive drug group (Vit E group), GCS 40 mg/kg group (low dose group), GCS 80 mg/kg group (medium dose group) and GCS 160 mg/kg group (high dose group). The drug was given by gavage once a day for 14 days. After the administration, the rats were sacrificed and their brain tissues were prepared. The hematoxylin-eosin (HE) staining and Bielschowski's silver staining were used to observe the pathological structures of neurons in the CA1 region of the hippocampus. Also, the ultrastructural changes of neurons were observed by transmission electron microscope. **Results:** (1) The hippocampal CA1 region of the GCs group were normal, and no apoptotic necrotic cells were observed, which was similar to that of the sham operation group. (2) The neuronal nuclei of rats in each GCs administration group were round and their nuclear membranes were complete. Besides, their nucleoli were obvious and mitochondrial structures were complete. Moreover, their neurofibrils were arranged neatly and the structures were almost similar with that in the sham operation group and vitamin E positive group. (3) The neurofibrils in the hippocampal CA1 region of the rats in the GCs administration group were arranged regularly and their neuron structure was complete, indicating that there was no obvious swelling, thickening and the damage was significantly reduced. Additionally, their structure of tissue was basically close to the sham operation and vitamin E positive group. **Conclusion:** GCs reduce the pathological changes and ultrastructural damage of injured nerve cells in AD rats.

【Key words】 Alzheimer disease (AD); Glycosides of Cistanche Herba; β -amyloid; Hippocampus; Neuron; Rats

基金项目: 上海市卫生健康委员会中医药传承和科技创新项目 (ZYKC2019029); 上海市浦东新区中医药科技孵化专项 (PDZYKJFH-201809)

作者简介: 罗兰 (1968 -), 女, 博士, 主任药师。E-mail: 983096589@qq.com

通讯作者: 顾伟鹰。E-mail: pdguweiying@163.com

阿尔茨海默病 (alzheimer's disease, AD) 亦称老年性痴呆症, 是一种老年神经系统退行性疾病, 随人口老龄化, 其患病率也明显增高, 给国家、社会和家庭带来沉重负担。AD 患者主要临床表现为记忆力减退、认知功能障碍以及人格改变等。对于 AD 发病机理和防治的研究已经成为近年来国内外关注的热点之一^[1]。较为公认的 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 级联反应假说认为: 脑内在遗传及内外环境因素发生变化刺激下生成 $A\beta$, $A\beta$ 在脑内的聚集, 生成斑块、神经纤维缠结和 tau 蛋白磷酸化, 进而产生神经毒性, 造成神经突触损伤、神经元凋亡, 最终引发认知障碍^[2]。另外, 中医认为老年痴呆的病因主要在于年老腑脏疲惫, 心血渐耗。脑为髓海, “肾”与脑功能存在密切的联系, 通过“补肾填髓”可以防治衰老引起的记忆力降低, 起到“益脑髓”作用。与此同时, “补肾填髓”治疗方法已应用于临床多年, 无论是在提高智能方面, 还是在改善临床症状与体征方面, 均获得了可靠的疗效^[3]。

肉苁蓉俗名大芸, 为列当科植物, 是一味著名的药食两用的补肾益气类中药^[3], 在民间已用于治疗老年性痴呆多年, 效果颇佳。目前市面上已有复方肉苁蓉益智胶囊问世, 很有研究价值和应用前途。肉苁蓉总苷 (glycosides of cistanche herba, GCs) 是从肉苁蓉中提取的一类多酚羟基类化合物, 主要成分为松果菊苷和毛蕊花糖苷两类苯乙醇总苷 (化学结构式见图 1), 具有抗氧化^[4]、清除自由基^[5]、保护心肌缺血^[6]、抗辐射^[7]、增加人体免疫功能、延缓衰老等功效。我国传统中医也认为补肾益精类中药肉苁蓉具有抗衰老、改善记忆的功效。另有研究^[8]发现, 肉苁蓉总苷可改善实验性 AD 大鼠的记忆学习障碍, 对脑组织损伤具有保护作用, 这可归因于其抗脂质过氧化和抑制细胞凋亡功效。这种抗脂质过氧化和抑制细胞凋亡作用与中医治疗 AD 的主要治疗原则“补肾填髓”相吻合。GCs 不仅可以提高 AD 样大、小鼠脑组织中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 及谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 的活性, 还降低了丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的含量, 说明 GCs 可增强自由基清除酶活性, 减少自由基对机体的损伤, 防止脂质的过氧化作用, 抑制细胞损伤^[8-9]。但对于 GCs 是如何作用于 AD 模型大鼠海马 CA1 区的病理形态改变, 尚未见相关报道。本研究拟将 $A\beta_{25-35}$ 注入大鼠脑室海马致 Alzheimer 病, 建立实验性 AD 动物模型, 观察 GCs 对该实验性 AD 大鼠海马 CA1 区的病理形态变化和超微结构的影响, 观察 GCs 对大鼠脑内病变部位的改善情况, 为中药治疗 AD 提供实验

依据。

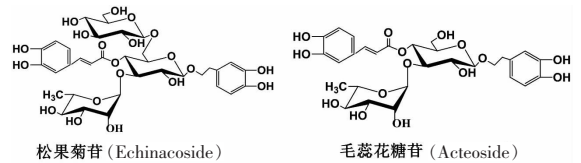


图 1 松果菊苷和毛蕊花糖苷的结构式

1 材料与方 法

1.1 仪器

脑立体定位仪 (中国人民解放军第二军医大学)、Leica RM 2135 切片机 (德国莱卡公司)、Nikon YS100 型显微镜 (日本尼康公司)、Leica H1 1210 展片机 (德国莱卡公司)、Motic Med 6.0 数码医学图像分析系统 (Motic Med 公司)、JEDL-1230 透射电子显微镜 (日本)。

1.2 试剂

$A\beta_{25-35}$ 、DAB 免疫组化显色试剂盒 (Sigma 化学公司)、药用维生素 E (vitamin E, VitE) (上海建安制药厂)、硫代硫酸钠 (西安化学试剂厂)、过碘酸 (北京化工厂)、六次甲基四胺 (天津市百世化学有限公司)、双色酸 (上海试剂三厂)、磷钨酸 (天津市化学试剂公司分公司)、灿烂绿 (天津市汇英化学试剂有限公司)、硝酸银 (天津市大茂化学试剂厂)。所有化学试剂均为分析纯级别 (analytically pure, AR)。

1.3 药材

肉苁蓉总苷由新疆医科大学药学院天然药物教研室从新疆肉苁蓉中提取。

1.4 动物

SPF 级 SD 大鼠雄性大鼠 60 只, 体重 (250 ± 20) g。动物及饲料购自新疆医科大学实验动物, 实验动物生产证号: 医动字第 16-003 号。

1.5 实验方法

1.5.1 $A\beta$ 的孵育 将 $A\beta_{25-35}$ 1 mg 溶解于 200 μ L 灭菌生理盐水中, 制成 5 nmol/L 的溶液, 溶液密封后置于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中, 经 7 d 后形成凝聚态, 备用。

1.5.2 大鼠的给药方式 将 60 只试验大鼠随机分为 6 组, 分别为阴性对照组 (假手术组)、 $A\beta$ 组 (模型组)、Vit E 阳性药组 (Vit E 组)、GCs 40 mg/kg 组 (小剂量组)、GCs 80 mg/kg 组 (中剂量组)、GCs 160 mg/kg 组 (高剂量组)。灌胃给药, 1 次/d, 连续 14 d。

1.5.3 AD 模型的建立 先用水合氯醛 (400 mg/kg) 腹腔注射, 以麻醉大鼠, 并进行常规备皮消毒。然后, 切开大鼠的颅顶部正中的皮肤, 用脑立体定位仪

固定大鼠。定位方式为:取平颅头位,确定右侧 3.8 mm、中线旁 2.5 mm,颅骨表面下达到 3.0 mm 处为右海马背侧部。最后,回抽脑脊液,并用 10 μ L 微量注射器于 5 min 内缓慢注入 1 μ L $A\beta_{25-35}$,留针 10 min。建模方法参照文献报道^[8]。

1.5.4 标本采集 电迷宫实验结束后,每组随机选取 3 只动物,用水合氯醛(400 mg/kg)麻醉,依次剪开皮肤、胸腔,充分暴露心脏,剪开心尖部,以灌注针朝主动脉方向插入,止血钳夹闭,灌注生理盐水,于右心耳处,生理盐水灌注 15 ~ 20 min,至流出液变清,换用 4% 甲醛溶液继续灌注 15 ~ 20 min,直至动物全身僵硬,肝脏发白为止,然后断头取脑,用刀片切除前部脑端和后部小脑,将脑组织放入 10% 福尔马林溶液继续固定 24 h,石蜡包埋,制作大鼠海马 CA1 区 4 μ m 厚的横断面脑切片。切片分别用于苏木精-伊红(HE)染色和 Bielschowski's 银染色。

1.5.5 HE 染色观察实验性 AD 大鼠海马 CA1 区超微结构 石蜡切片脱蜡、乙醇梯度脱水。二甲苯 5 min,10 min(共两次),无水乙醇(1次),95% 酒精(两次),80% 酒精(1次)各 5 s,水洗。苏木素染液 5 ~ 10 min。自来水洗,洗去多余染液。盐酸乙醇分化(将切片在盐酸乙醇内快速沾一下,立即入自来水使切片返蓝 1 min)。伊红染液 3 ~ 5 min。自来水洗,洗去多余染液。脱水(系列酒精:80% 酒精、95% 酒精、95% 酒精、无水乙醇各 5 s)。透化(二甲苯两次各 5 s)取出封片。

1.5.6 透射电子显微镜观察实验性 AD 大鼠海马 CA1 区超微结构 剪开大鼠的头皮,暴露颅骨,由枕骨大孔迅速剪开颅骨,剥离脑组织,取一侧海马组织,在含 2.5% 预冷的戊二醛溶液中固定,将海马 CA1 区剪切成约 1 mm 厚的横断薄片,30 min 后再次固定 2 h。系列乙醇和丙酮混合液脱水后,置于 100% 丙酮,同时用溶于 70% 乙醇的醋酸双氧铀进行染色。环氧树脂包埋液渗透 24 h,枸橼酸铅双铀染色后,用透射电子显微镜观察薄片的结构。

1.5.7 Bielschowski's 镀银染色观察实验性 AD 大鼠海马 CA1 区病理结构 将脑组织用 1% 过碘酸固定 15 min,蒸馏水洗 3 次。然后将六氨银工作液预热至 56 $^{\circ}$ C,切片放入其中浸染 45 ~ 55 min,重蒸水洗。再用 0.2% 氯化金调色处理,流水冲洗;用 3% 硫代硫酸钠固定 5 min,流水冲洗。紧接着用亮绿复染 5 min,流水冲洗后。最终脱水,切片变透明,再用流水冲洗。

2 结果

2.1 GCs 对实验性 AD 大鼠海马 CA1 区病理结构

的影响

在光学显微镜下观察:假手术组大鼠海马 CA1 区,细胞排列整齐,神经元细胞的中央有一个细胞核,形状圆而大,核内异染色质少,色浅,核仁内胞质丰富(图 2A)。模型组可见散在大量的凋亡细胞,表现为细胞质为淡红色,浓缩样样;个别可见核碎裂,甚至核仁消失现象;局部神经元数目减少,并且神经纤维肿胀成宽带状或条索状,增粗(图 2B)。与模型组比较,GCs 给药组和 Vit E 阳性药组,大鼠海马 CA1 区神经元结构基本正常,没有发现凋亡坏死细胞出现(图 2C-2F)。

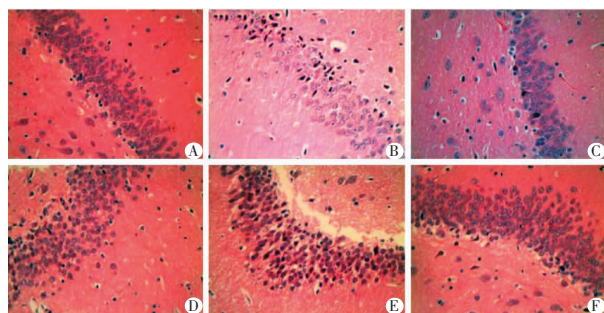


图 2 大鼠海马 CA1 区病理结构的影响(HE \times 100)

A.假手术组;B.模型组;C.Vit E 组;D.GCs 小剂量组(40 mg/kg);E.GCs 中剂量组(80 mg/kg);F.GCs 高剂量组(160 mg/kg)。

2.2 GCs 对实验性 AD 大鼠海马 CA1 区超微结构的影响

透射电镜观察:假手术组的大鼠海马 CA1 区中神经元细胞核圆,核膜完整,核仁明显,无明显空泡结构,细胞基质密度均匀、细腻。细胞器多,可见线粒体、尼氏小体、高尔基体,结构为正常,且粗面内质网和核糖体数量丰富(图 3A 假手术组);神经细胞突触前膜、突触后膜清晰,突触数量多、突触小泡丰富(图 3B 假手术组)。神经原纤维和微管排列整齐(图 3C 假手术组);胶质细胞的细胞核圆,细胞基质均匀(图 3D 假手术组)。模型组的大鼠海马 CA1 区的神经细胞里细胞核边集,细胞基质不均匀,核糖体数目降低,线粒体有空泡现象,内质网不丰富,粗面内质网有脱颗粒现象即畸形线粒体现象(图 3A 模型组);突触结构模糊,突触间隙消失,突触前膜、突触后膜不清晰,突触小泡空泡样改变,数量减少(图 3B 模型组);神经原纤维、微管排列不整齐,有交错排列现象出现(图 3C 模型组);胶质细胞中细胞核基质变淡,线粒体空泡样改变,细胞器分布不均匀(图 3D 模型组)。与模型组比较,高、中、低 GCs 剂量组和 Vit E 阳性药组,核染色质均匀分布,神经元的核膜清晰,神经原微管排列整齐(图 3A 高、中、低 GCs 剂量组和 Vit E 阳性药组);突触:神经细胞多,突触前后膜清晰、突触小泡丰富、数量多,形态和数

量与假手术组接近,结果见(图 3B 高、中、低 GCs 剂量组和 Vit E 阳性药组):神经元纤维、微管排列整齐(图 3C 高、中 GCs 剂量组);胶质细胞核圆,细胞基质均匀,异染色质丰富(图 3D 高、中、低 GCs 剂量组和 Vit E 阳性药组)。提示 GCs 高、中剂量组和 Vit E 阳性药组中的 β 淀粉样蛋白所致的 AD 大鼠海马 CA1 区结构变化较小,进而推测 GCs 可能具有维持神经细胞基本结构的作用。

2.3 Bielschowski's 银染色观察实验性 AD 大鼠海马 CA1 区超微结构的变化

银染结果:假手术组中的大鼠海马 CA1 区中神

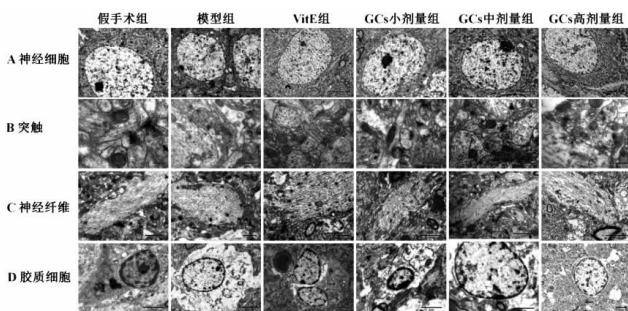


图 3 电镜下 AD 模型大鼠海马 CA1 区超微结构的影响

A. 神经细胞($\times 8\ 000$); B. 突触($\times 40\ 000$); C. 神经纤维($\times 2\ 0\ 000$); D. 胶质细胞($\times 15\ 000$)。

3 讨论

AD 的主要病理特征是在大脑皮层和海马区出现老年斑 (senile plaques, SP)、细胞内神经元纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)、神经元突触功能异常以及神经细胞减少等^[10-11]。海马可分为 CA1、CA2、CA3、CA4 四个区,其中 CA1 区是海马生理功能发挥最为重要的部位,是病理变化发生最早的部位,对外来病理因素最为敏感^[12-13]。AD 引起的神经元损害被认为是一种重要的病理特征之一^[14]。目前, $A\beta$ 的神经毒机制是 AD 研究中最活跃的领域。体外研究实验证明 $A\beta$ 在极低浓度下即可产生神经毒性并可诱导神经元凋亡^[15]。因此,本研究采用 $A\beta_{25-35}$ 为诱导剂。

HE 染色方法可用于了解组织的正常和病理学改变,使用 HE 染色方法可观察到神经元和神经纤维的全貌,但细微的结构和某些特殊成分还需用特殊的 Bielschowski's 银染色方法,此法可以在神经元胞浆中观察到许多交错成网的细丝,并伸入树突中,这在 HE 染色中很难观察到^[16]。透射电镜可以较好地观察细胞的膜结构、线粒体及突触的形态和分布情况,以阐明细胞的化学和生化功能^[17]。本实验通过电镜、HE 染色和银染染色观察 β 淀粉样蛋白

经元排列紧密、整齐、形态完整(图 4A)。模型组海马神经元数目减少,残留的海马神经原纤维走行紊乱,肿胀融合成宽带状,轴突深染,细胞明显损伤,局部神经元可见缺失(图 4B)。提示 β 淀粉样蛋白对大鼠海马神经元具有很强的毒性,可损伤神经细胞骨架系统,产生早期 AD 样病理改变。与模型组比较,GCs 组和 Vit E 阳性药组中的大鼠海马 CA1 区神经元损伤明显减轻,神经元突起保留较完整,神经原纤维排列规则,无明显肿胀、增粗,尤其是 GCs 高剂量组,组织结构基本接近于假手术组,提示 GCs 对海马神经元具有一定的保护作用(图 4C-F)。

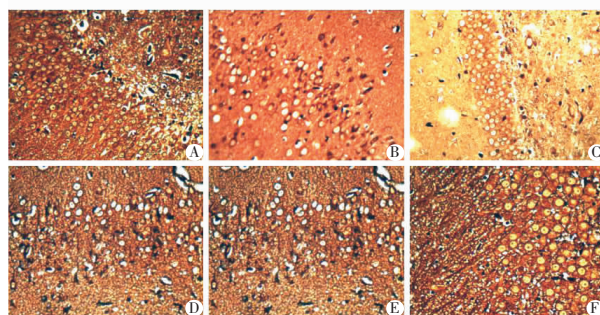


图 4 大鼠海马 CA1 区的影响(Bielschowski's 镀银 $\times 100$)

A. 假手术组; B. 模型组; C. Vit E 组; D. GCs 小剂量组(40 mg/kg); E. GCs 中剂量组(80 mg/kg); F. GCs 高剂量组(160 mg/kg)。

诱导的大鼠海马 CA1 区神经元超微结构变化,结果发现:与模型组相比,假手术组的大鼠海马 CA1 区神经元细胞分布较为均匀,层次清晰,排列整齐紧密。而模型组的大鼠海马 CA1 区因损伤出现神经元细胞凋亡等退行性改变,提示 $A\beta_{25-35}$ 对大鼠海马神经元的骨架系统具有很强的毒性,可产生早期 AD 样病理改变。经 GCs 高中低剂量组干预后,其海马 CA1 区细胞形态及结构均有不同程度改善,可减轻 β 淀粉样蛋白对神经元细胞的损伤作用,缓解由此所致的神经毒性。目前,AD 的病因和发病机制十分复杂尚不完全清楚,氧化应激理论认为 β -淀粉样蛋白产生神经毒性的机制之一。研究认为氧化应激存在于包括 AD 在内的很多神经退行性病变中,被认为是影响认知和记忆的危险因素之一^[18]。AD 患者体内组织细胞中自由基代谢平衡失调,因此机体对自由基的防御能力下降,自由基过多会破坏细胞膜结构,最后导致细胞无法维持正常代谢而死亡。研究发现 Vit E 主要以其抗氧化能力和清除自由基的作用在 AD 的预防和治疗中发挥作用,并且在正常剂量下对机体不构成伤害^[19]。Vit E 可抑制 $A\beta$ 的表达,减少 $A\beta$ 在海马 CA1 区的沉积,减少海马区神经退化,延缓 AD 病程进展,因此, Vit E 的抗氧化作用是防治 AD 的理论基础^[20],进而本研究

选用 Vit E 作为阳性对照药。

本研究组前期实验研究^[8]发现,通过 GCs 高、中、低剂量给药,观察 GCs 对 $A\beta$ 诱导的实验性 AD 大鼠的学习记忆的影响,结果表明,GCs 对 $A\beta$ 所致实验性 AD 大鼠的学习记忆能力明显提高。本研究经 HE 染色、Bielschowski's 银染色法和电镜技术对 GCs 对 $A\beta$ 所致实验性 AD 大鼠海马病理形态学及超微结构进行观察,结果显示经 GCs 干预后,能减轻实验性 AD 大鼠海马 CA1 区受损神经细胞的病理改变及海马神经元超微结构的损伤,初步提示 GCs 具有改善 AD 模型大鼠脑区病理改变而发挥拮抗 AD 的作用。这可能是 GCs 防治 AD 的机制之一,其相关机制和通路值得进一步探讨。

参考文献

[1] 王延江,卜先乐.从系统角度探索阿尔茨海默病[J].中华老年心脑血管病杂志,2018,20(4):337-339.

[2] 赵志英,胡志强,高洋洋.当归醇苷对 β -淀粉样蛋白诱导神经细胞损伤模型 GSK-3 β 及 Akt 表达的影响[J].中国老年学杂志,2017,37(20):4969-4971.

[3] 杨翠平,苏薇薇.肉苁蓉研究进展[J].中药材,2001,24(12):907-909.

[4] 王晓雯,李琳琳,木胡牙提,等.肉苁蓉总苷对小鼠组织的抗氧化作用[J].中国中药杂志,1998,23(9):554-555.

[5] 李琳琳,王晓雯,毛新民,等.肉苁蓉总苷的抗脂质过氧化和抗辐射作用[J].中草药,1997,22(6):364-367.

[6] 毛新民,王晓雯,李琳琳,等.肉苁蓉总苷对大鼠心肌缺血的保护作用[J].中草药,1999,30(2):118-120.

[7] 蒋晓燕,王晓雯,王雪飞,等.肉苁蓉总苷对 60 Co γ 射线照射小鼠造血系统损伤的保护作用的研究[J].中国药理学通报,2000,16(3):332-335.

[8] 罗兰,吴小川,高惠静,等.肉苁蓉总苷对阿尔茨海默病模型大鼠的保护作用研究[J].中国药房,2013,24(23):2122-2125.

[9] 罗兰,阿尔孜古丽·吐尔逊,王晓雯.肉苁蓉总苷对 β -淀粉样蛋白 25-35 诱导 PC12 细胞凋亡的保护作用[J].中国新药与

临床杂志,2010,29(2):115-118.

[10] Wang J, Jing Y, Song L, et al. Neuroprotective effects of Wnt/ β -catenin signaling pathway against $A\beta$ -induced Tau protein overphosphorylation in PC12 cells[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 2016, 471(4):628-632.

[11] 蔡春红,储照虎.阿尔茨海默病发病机制的研究进展[J].国际老年医学杂志,2017,38(2):84-87.

[12] Planche V, Koubiyr I, Romero JE, et al. Regional hippocampal vulnerability in early multiple sclerosis: Dynamic pathological spreading from dentate gyrus to CA1[J]. Human Brain Mapping, 2018, 39(8):1156-1165.

[13] Kafa, Ari IM, Kurt I, et al. Morphometric Investigation of Neurons in the Hippocampal CA1, CA3 Areas and Dentate Gyrus in a Rat Model of Sepsis [J]. International Journal of Morphology, 2010, 28(1):183-192.

[14] Oana C, Lucian H, Marius M, et al. Cognitive-enhancing and antioxidant activities of inhaled coriander volatile oil in amyloid β (1-42) rat model of Alzheimer's [J]. Physiology & Behavior, 2013, 120(15):193-202.

[15] Jaruzewski KM, Curran GL, Swaminathan SK, et al. Multimodal nanoprobes to target cerebrovascular amyloid in Alzheimer's disease brain[J]. Biomaterials, 2014, 35(6):1967-1976.

[16] 苏红,熊正文,胡海霞,等.神经纤维染色及应用体会[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2001,10(1):107-108.

[17] 梁洁,康清梅,张雄,等.姜黄素改善 N2a/APP695swe 细胞线粒体功能和抑制细胞凋亡的作用[J].重庆医科大学学报,2018, 43(2):155-161.

[18] Domernico P. Evidence of oxidative stress in Alzheimer's disease brain and antioxidant therapy: lights and shadows [J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1147:70-78.

[19] Ramkumar K, Sekar TV, Bhakkiyalakshmi E, et al. The impact of oxidative stress on islet transplantation and monitoring the graft survival by non-invasive imaging [J]. Current medical chemistry, 2013, 20(9):1127-1146.

[20] 赵琳,魏敏杰,金万宝. Vit E 在阿尔茨海默病防治中的研究进展[J].国外医学.老年医学分册,2005;26(5):202-205.

(收稿日期:2020-06-09 学术编辑:张传涛)