

[文章编号] 1671-587X(2025)05-1333-07

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250520

阿尔茨海默病老年患者外周血相关生物学标志物表达及富硒食品的干预效果

孙维琦¹, 朱凌羽¹, 徐小磊¹, 刘莹², 吕红梅², 赖亚辉¹

(1. 北华大学公共卫生学院营养与食品卫生教研室, 吉林 吉林 132013; 2. 吉林省吉林市人民医院临床营养科, 吉林 吉林 132002)

[摘要] **目的:** 检测阿尔茨海默病(AD)患者外周血中AD相关生物学标志物, 探讨AD患者血液中抗氧化功能指标活性和水平、相关基因和蛋白表达及富硒饮食干预后的变化情况。**方法:** 采用简易智力量表(MMSE)结合脑电图或脑CT及临床医生诊断进行AD筛查。纳入75~90岁老年AD患者56例, 其中28例作为AD正常饮食组(AD组), 28例作为饮食硒干预组(Se-AD组), 同时抽取30名同年龄者作为健康对照组。Se-AD组患者给予日常饮食硒补充(每日增加饮食硒15~20 μg), 持续3个月。采用试剂盒和酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测各组研究对象血清中超氧化物歧化酶(SOD)、胆碱酯酶(CHE)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及丙二醛(MDA)、同型半胱氨酸(Hcy)和一氧化氮(NO)水平以及血清中β淀粉样蛋白(Aβ)、微管相关蛋白(Tau)和磷酸化微管相关蛋白(p-Tau)水平, 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)法检测各组研究对象血液中载脂蛋白E4(ApoE4)、早老素1(PS1)、早老素2(PS2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Caspase3)、分拣相关蛋白受体1(SORL1)、β淀粉样前体蛋白裂解酶1(BACE1)、缺氧诱导因子1(HIF1)、核因子κB(NF-κB)、β淀粉样前体蛋白(APP)、蛋白激酶C(PKC)和Aβ mRNA表达水平。**结果:** 与健康对照组比较, Se-AD组和AD组患者血清中SOD活性明显降低($P<0.05$), CHE活性和MDA及Hcy水平明显升高($P<0.05$); AD组患者血清中GSH-Px活性明显降低($P<0.05$), NO水平明显升高($P<0.05$)。与Se-AD组比较, AD组患者血清中CHE活性和Hcy水平明显升高($P<0.05$)。Se-AD组和AD组患者血液中ApoE4、PS1、Caspase3、BACE1、NF-κB和APP mRNA表达水平均明显升高($P<0.05$), PKC mRNA表达水平均明显降低($P<0.05$); AD组患者血液中PS2 mRNA表达水平明显升高($P<0.05$); Se-AD组和AD组患者血液中Aβ mRNA表达水平明显升高($P<0.05$)。**结论:** AD患者血清中SOD、GSH-Px和CHE活性, MDA、NO和Hcy水平, Aβ、Tau蛋白和p-Tau蛋白水平以及外周血液中ApoE4、PS1、Caspase3、BACE1、NF-κB、PKC、PS2、Aβ和APP mRNA表达水平有变化, 可用于AD患者临床诊断的参考; 富硒食品对AD有一定改善作用, 其作用机制与减少脑组织氧化损伤及降低AD相关基因PS2和Aβ表达有关。

[关键词] 阿尔茨海默病; 富硒食物; β淀粉样蛋白; 同型半胱氨酸; 微管相关蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2024-09-25 [录用日期] 2024-11-19

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目(20210203093SF, 20220101312JC)

[作者简介] 孙维琦(1972—), 女, 吉林省吉林市人, 副教授, 医学博士, 主要从事营养毒理学方面的研究。

[通信作者] 赖亚辉, 教授, 硕士研究生导师(E-mail: 519862868@qq.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Expressions of peripheral blood related biological markers in elderly patients with Alzheimer's disease and intervention effect of selenium-rich food

SUN Weiqi¹, ZHU Lingyu¹, XU Xiaolei¹, LIU Ying², LYU Hongmei², LAI Yahui¹

(1. Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Beihua University, Jilin 132013, China; 2. Department of Clinical Nutrition, People's Hospital, Jilin City, Jilin Province, Jilin 132002, China)

ABSTRACT Objective: To detect the biological markers related to Alzheimer's disease (AD) in the peripheral blood of AD patients, and to explore the activities and levels of the antioxidant function indexes and the expressions of related genes and proteins in the blood of AD patients and the changes after intervention of selenium-rich food. **Methods:** The Mini-Mental State Examination (MMSE) combined with electroencephalogram or brain CT and clinician diagnosis were used for screening AD. Fifty-six elderly patients with AD aged 75–90 years old were selected. Among them, 28 cases were selected as normal diet group for AD (AD group), and 28 cases were selected as dietary selenium intervention group (Se-AD group). The patients in Se-AD group were given daily dietary selenium supplementation (increasing dietary selenium by 15–20 µg per day) for 3 months. Meanwhile, 30 people with the same age were selected as healthy control group. The activities of serum superoxide dismutase (SOD), cholinesterase (CHE), and glutathione peroxidase (GSH-Px) and the levels of serum malondialdehyde (MDA), homocysteine (Hcy), and nitric oxide (NO) as well as reagent kit the levels of serum β -amyloid protein ($A\beta$), and microtubule-associated protein (Tau) and phosphorylated microtubule-associated protein (p-Tau) of the subjects in various groups were detected by and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method; the expression levels of apolipoprotein E4 (ApoE4), presenilin 1 (PS1), presenilin 2 (PS2), cysteinyl aspartate specific proteinase 3 (Caspase3), sorting associated protein receptor 1 (SORL1), β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1), hypoxia-inducible factor 1 (HIF1), nuclear factor-kappa B (NF- κ B), β -amyloid precursor protein (APP), protein kinase C (PKC), and $A\beta$ mRNA in peripheral blood of the subjects various groups were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method. **Results:** Compared with healthy control group, the serum SOD activities of the patients in Se-AD group and AD group were significantly decreased ($P < 0.05$), while serum CHE activity and the levels of MDA and Hcy were significantly increased ($P < 0.05$); the serum GSH-Px activity of the patients in AD group was significantly decreased ($P < 0.05$), and the level of NO was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with Se-AD group, serum CHE activity and the level of Hcy of the patients in AD group were significantly increased ($P < 0.05$). The expression levels of ApoE4, PS1, Caspase3, BACE1, NF- κ B and APP mRNA of the patients in Se-AD group and AD group were significantly increased ($P < 0.05$), and the expression levels of PKC mRNA were significantly decreased ($P < 0.05$); the expression level of PS2 mRNA of the patients in AD group was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression levels of $A\beta$ mRNA of the patients in Se-AD group and AD group were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** The activities of serum SOD, GSH-Px and CHE and the levels of MDA, Hcy and NO, the levels of $A\beta$, Tau and p-Tau proteins, and the expression levels of ApoE4, PS1, Caspase3, BACE1, NF- κ B, PKC, PS2, $A\beta$ and APP mRNA in peripheral blood of the AD patients may vary and can be used for clinical diagnosis of the AD patients. Selenium-rich food can improve AD to some extent, and its mechanism is related to reducing the oxidative damage of brain tissue and decreasing the expression of AD related genes PS2 and $A\beta$.

KEYWORDS Alzheimer's disease; Selenium-rich food; β -amyloid protein; Homocysteine;

Microtubule-associated protein

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种无法治愈的神经退行性疾病, AD 病例呈现散发状况, 65 岁以上人群高发。目前医学上尚无特定的方法预防和治疗 AD。研究^[1-3]显示: 许多生物标志物, 如 β 淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 和微管相关蛋白 (microtubule-associated protein, Tau) 在 AD 临床症状出现前已在患者脑组织中异常增加, 这些物质升高的水平与 AD 患者海马和皮层的氧化产物水平呈正相关关系, 表明这些物质可能导致脑组织的氧化应激和凋亡等, 产生相关酶、氧化损伤指标及相关蛋白的改变。硒是人体重要的微量元素, 硒对维持中枢神经系统的生物功能具有重要作用, 与 AD 发生有关联, 补充微量元素硒可改善认知功能^[4]; AD 患者脑细胞具有高氧化应激水平, 硒蛋白及硒酶在脑中抗氧化功能可通过多种途径实现^[5]; 硒蛋白的表达与 A β 形成及脂质过氧化有密切关联^[6]。人脑中硒蛋白在促表达、抗氧化、增强蛋氨酸亚砷还原酶活性方面发挥协同作用^[7-8]。富硒饮食干预具有良好的安全性和可行性^[9], 目前已成为关注的热点。吉林省属于缺硒地区, 且老龄化较为严重, 截至 2023 年底吉林省 60 周岁以上人口 626.83 万人, 目前吉林省 AD 的发病情况尚未见报道。本研究检测 AD 老年人外周血中相关基因, 以寻找相关标志物, 并采用富硒饮食干预, 研究 AD 患者外周血中相关标志物、富硒干预与 AD 发生的相关性, 为 AD 的临床诊断及富硒食品的开发提供依据。

1 资料与方法

1.1 主要试剂和仪器 RNA 提取液、RNA 溶解液和引物购自武汉赛维尔生物科技有限公司, 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、胆碱酯酶 (cholinesterase, CHE)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 检测试剂盒购自南京建成生物研究所, A β 、Tau 和磷酸化微管相关蛋白 (phosphorylated microtubule associated protein, p-Tau) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自武汉伊莱瑞特科技股份有限公司。台式高速冷冻型微量离心机 (型号: D3024R) 购自北京大龙兴创实

验仪器有限公司, 实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR) 仪 (型号: CFX Connect) 和全自动酶标仪 (型号: EL10C) 购自美国 Bio-Rad 公司, PCR 仪 (型号: ETC811) 购自北京东胜创新生物科技有限公司。

1.2 样本收集 2022—2023 年于吉林省吉林市市区 4 个养老机构和临床医院随机抽取 75~90 岁老年人, 采用简易智力量表 (Mini-Mental State Examination, MMSE) 结合脑电图或脑 CT 和临床医生诊断进行 AD 筛查, 纳入无其他疾病的 AD 患者及同龄正常老年人作为研究对象。AD 患者纳入标准: ①符合 AD 最新诊断标准; ②无其他严重器质性疾病; ③病历资料完整; ④由临床医生确诊。排除标准: ①出于其他原因的痴呆患者; ②并发其他精神疾病者; ③并发意识障碍者; ④严重肝肾功能障碍者; ⑤当前处于某种疾病的晚期且预期寿命 \leq 6 个月。所有受试者 (或法定监护人) 签署知情同意书, 本研究经北华大学附属医院医学伦理委员会审批 (伦理审批号: 2020-26)。

1.3 样本分组 共纳入 MMSE 量表得分 \leq 24 分的老年 AD 患者 56 例, 其中 28 例作为 AD 正常饮食组 (AD 组), 28 例作为饮食硒干预组 (Se-AD 组), 同时抽取同年龄的 MMSE 量表得分 $>$ 25 分的研究对象 30 人作为健康对照组。其中 Se-AD 组患者日常饮食中以富硒大米为主食 (硒含量 $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 或富硒鸡蛋 (硒含量 $380 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 补硒, 持续 3 个月, 每日增加饮食硒在 $15\sim 20 \mu\text{g}$ 。

1.4 血液处理 补硒结束后, Se-AD 组、AD 组和健康对照组老人清晨空腹进行血液采集, 通过静脉穿刺将外周血样本一部分收集到无抗凝剂的真空管中, 在室温下凝固 30 min 后, 将血液样品离心得到血清以进行相关酶和蛋白检测; 另取 3 mL 全血加入提前装有枸橼酸钾抗凝剂的试管中, -80°C 冰箱中保存, 用于检测相关基因 mRNA 表达。

1.5 试剂盒检测各组研究对象血清中 SOD、CHE 和 GSH-Px 活性及 MDA、Hcy 和 NO 水平 按照试剂盒说明书进行操作, 检测各指标对应波长下各组吸光度 (A) 值, 按照试剂盒说明书计算相关指标活性和水平。

1.6 ELISA 法检测各组研究对象血清中 A β 、Tau 和 p-Tau 蛋白水平 采用 ELISA 法, 根据试剂盒说明书进行操作, 使用全自动酶标仪于 450 nm

处检测A值,根据试剂盒说明书计算相关蛋白水平。

1.7 RT-qPCR检测各组研究对象血液中载脂蛋白E4(apolipoprotein E4, ApoE4)、早老素1(presenilin 1, PS1)、早老素2(presenilin 2, PS2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(cysteiny aspartate specific proteinase 3, Caspase3)、分选相关蛋白受体1(sorting associated protein receptor 1, SORL1)、 β -淀粉样前体蛋白裂解酶1(β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1, BACE1)、缺氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor 1, HIF1)、核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、 β -淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor protein, APP)、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和A β mRNA表达水平 取1 mL全血加入3 mL红细胞裂解液,加入1 mL RNA提取液、100 μ L氯仿替代物、550 μ L异丙醇、1 mL 75%乙醇和15 μ L RNA溶解液溶解RNA,提取总RNA。检测RNA浓度后进行及纯度逆转录反应,使其终浓度为200 μ g \cdot L⁻¹。取10 μ L

总RNA反转录反应,反应条件:25 $^{\circ}$ C、5 min,42 $^{\circ}$ C、30 min,85 $^{\circ}$ C、5 s。取2.0 μ L反转录产物(cDNA)于RT-qPCR仪上完成扩增,扩增条件:95 $^{\circ}$ C、30 s预变性,95 $^{\circ}$ C、15 s变性,60 $^{\circ}$ C、30 s退火/延伸,40个循环;65 $^{\circ}$ C~95 $^{\circ}$ C、每升温0.5 $^{\circ}$ C,采集1次荧光信号。采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算目的基因mRNA表达水平。引物序列见表1。

1.8 统计学分析 采用SPSS 26.0统计软件进行统计学分析。各组研究对象血清中SOD、CHE和GSH-Px活性,MDA、Hcy和NO水平,A β 蛋白、Tau蛋白和p-Tau蛋白水平及血液中ApoE4、PS1、PS2、Caspase3、SORL1、BACE1、HIF1、NF- κ B、APP、PKC和A β mRNA表达水平均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用SNK-*q*检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组研究对象血清中SOD、CHE和GSH-Px活性以及MDA、Hcy和NO水平 与健康对照组比较,

表1 RT-qPCR引物序列
Tab. 1 Primer sequences of RT-qPCR

Primer	Sequence	Fragment length (bp)
ApoE4	F:5'-CTGCGTTGCTGGTCACATTC-3'	146
	R:5'-GTAATCCCAAAGCGACCCAG-3'	
PS1	F:5'-TTACCTGCACCGTTGTCTACTT-3'	188
	R:5'-TCTTCTCCTCATCTTGCTCCAC-3'	
PS2	F:5'-GAGCAGAGAGGAGCAATGG-3'	191
	R:5'-CGAAACAGCAGCCCTTATTTG-3'	
Caspase3	F:5'-TGGAAGCGAATCAATGGACTCT-3'	170
	R:5'-TGGAAGCGAATCAATGGACTCT-3'	
SORL1	F:5'-TCTACATTGAACGACATGAACCCTC-3'	298
	R:5'-ACACACACAAACACCTGGTCCT-3'	
BACE1	F:5'-TCATTGTGCGGGTGGAGAT-3'	149
	R:5'-GGCTGCCTTGATGGATTTG-3'	
HIF1	F:5'-TGATTGCATCTCCATCTCCTACC-3'	177
	R:5'-GACTCAAAGCGACAGATAACACG-3'	
NF- κ B	F:5'-GACGCATTGCTGTGCCTTC-3'	91
	R:5'-TTGATGGTGCTCAGGGATGAC-3'	
APP	F:5'-TGCAATCATTGGACTCATGG-3'	164
	R:5'-TCTGCTGCATCTTGGACAGG-3'	
PKC	F:5'-TGACTACATCGCCCAGAGA-3'	82
	R:5'-ATAAAGGAGAACCCCGAAGGA-3'	
A β	F:5'-GGGTTCAAACAAAGGTGCAATC-3'	198
	R:5'-GTTGGATTTTCGTAGCCGTTCT-3'	

Se-AD组和AD组患者血清中SOD活性明显降低 ($P<0.05$), MDA水平明显升高 ($P<0.05$); Se-AD组与AD组SOD活性和MDA水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与健康对照组比较, Se-AD组和AD组患者血清中CHE活性和Hcy水平明显升高 ($P<0.05$); 与Se-AD组比较, AD组患者血清中

CHE活性和Hcy水平明显升高 ($P<0.05$)。与健康对照组比较, AD组患者血清中GSH-Px活性明显降低 ($P<0.05$), NO水平明显升高 ($P<0.05$); 健康对照组与Se-AD组GSH-Px活性和NO水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表2。

表2 各组研究对象血清中相关指标活性和水平

Tab. 2 Activities and levels of related indexes in serum of subjects in various groups ($\bar{x}\pm s$)

Group	<i>n</i>	SOD [$\lambda_B/(U\cdot mL^{-1})$]	CHE [$\lambda_B/(U\cdot mL^{-1})$]	GSH-Px [$c_B/(\mu mol\cdot L^{-1})$]	MDA [$c_B/(\mu mol\cdot L^{-1})$]	Hcy [$c_B/(\mu mol\cdot L^{-1})$]	NO [$c_B/(mmol\cdot L^{-1})$]
Healthy control	30	116.03±15.82	8.78±2.43	18.41±3.23	33.50±10.45	18.01±5.91	17.45±1.48
Se-AD	28	102.47±7.28*	13.65±3.74*	16.44±2.78	45.70±8.11*	26.51±7.36*	20.13±3.26
AD	28	85.67±7.90*	18.49±3.64 [△]	13.04±2.40*	63.09±6.92*	38.78±8.56 [△]	22.57±3.59*

* $P<0.05$ vs healthy control group; [△] $P<0.05$ vs Se-AD group.

2.2 各组研究对象血清中A β 、Tau和p-Tau蛋白水平 与健康对照组比较, Se-AD组和AD组患者血清中A β 、Tau和p-Tau蛋白水平均明显升高 ($P<0.05$); Se-AD组与AD组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表3。

表3 各组研究对象血清中相关蛋白水平

Tab. 3 Levels of related proteins in serum of subjects in various groups ($\bar{x}\pm s, \rho_B/(\mu g\cdot L^{-1})$)

Group	<i>n</i>	A β	Tau	p-Tau
Healthy control	30	0.35±0.08	0.28±0.07	0.80±0.14
Se-AD	28	0.40±0.09*	0.34±0.09*	0.95±0.16*
AD	28	0.42±0.13*	0.37±0.11*	0.98±0.21*

* $P<0.05$ vs healthy control group.

2.3 各组研究对象血液中ApoE4、PS1、PS2、Caspase3、SORL1、BACE1、HIF1、NF- κ B、APP、PKC和A β mRNA表达水平 与健康对照组比较,

Se-AD组和AD组研究对象血液中ApoE4、PS1、Caspase3、BACE1、NF- κ B和APP mRNA表达水平均明显升高 ($P<0.05$), PKC mRNA表达水平均明显降低 ($P<0.05$)。与健康对照组比较, AD组患者血液中PS2 mRNA表达水平明显升高 ($P<0.05$); 健康对照组与Se-AD组PS2 mRNA表达水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与健康对照组比较, Se-AD组和AD组患者血液中A β mRNA表达水平均明显升高 ($P<0.05$); 与Se-AD组比较, AD组患者血液中A β mRNA表达水平明显升高 ($P<0.05$)。各组研究对象血液中SORL1和HIF1 mRNA表达水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表4。

3 讨论

AD发生发展的原因及机制复杂, 目前多认为氧化应激、神经元死亡和神经递质失调等过程在

表4 各组研究对象血液中AD相关基因mRNA表达水平

Tab. 4 Expression levels of AD related gene mRNA in blood of subjects in various groups ($\bar{x}\pm s$)

Group	<i>n</i>	ApoE4	PS1	PS2	Caspase3	SORL1	
Healthy control	30	0.33±0.08	0.54±0.10	0.28±0.10	0.61±0.18	0.76±0.17	
Se-AD	28	0.57±0.15*	0.83±0.15*	0.34±0.09	0.97±0.16*	0.73±0.16	
AD	28	0.65±0.13*	0.92±0.12*	0.61±0.22*	1.12±0.20*	0.69±0.19	
Group	<i>n</i>	BACE1	HIF1	NF- κ B	APP	PKC	A β
Healthy control	30	1.16±0.13	0.91±0.20	0.37±0.09	0.38±0.11	0.70±0.12	0.44±0.09
Se-AD	28	1.47±0.14*	0.98±0.19	0.56±0.07*	0.59±0.14*	0.53±0.08*	0.62±0.16*
AD	28	1.58±0.09*	1.00±0.23	0.58±0.12*	0.70±0.15*	0.49±0.10*	0.81±0.14 [△]

* $P<0.05$ vs healthy control group; [△] $P<0.05$ vs Se-AD group.

AD发生发展中起重要作用^[10]。本研究结果显示:AD患者血清中SOD和GSH-Px活性降低,MDA、Hcy和NO水平及CHE活性升高,说明AD患者抗氧化系统损伤,处于氧化应激状态,抗氧化能力下降,引起脑细胞损伤甚至死亡,影响脑细胞功能,导致认知障碍。经过3个月膳食硒补充进行干预后,Se-AD组患者血清中GSH-Px活性和NO水平与健康对照组接近。既往研究^[11-13]显示:许多生物标志物在AD临床症状出现前已在脑组织中异常增加,这些物质升高的水平与AD患者海马和皮层的氧化产物水平呈正相关关系,表明这些物质可能导致脑组织的氧化应激,即抗氧化系统的不平衡,导致AD患者神经毒性蛋白质积累。抗氧化系统由外源性和内源性抗氧化剂组成,以维持体内平衡^[14]。SOD和GSH-Px能够清除人体生理代谢过程中产生的自由基,保护脑细胞不受毒性氧自由基的损伤^[15]。胆碱能系统是负责正常衰老和AD认知功能障碍的主要神经递质系统,因此,胆碱能功能的恢复可以改善认知功能。CHE在胆碱能假说中起至关重要作用。胆碱能假说认为,胆碱能神经损伤和突触乙酰胆碱缺乏是AD发生的原因之一^[16],AD患者胆碱能神经传递的破坏表现为记忆和学习过程恶化以及神经行为症状^[17]。MDA是氧化损伤的已知生物标志物,其水平能够反映人体内自由基的清除能力^[15]。NO作为一种神经递质,在神经系统中有重要作用,且与记忆和学习有密切联系^[14]。Hcy是甲硫氨酸代谢的中间产物,已有研究^[18]把Hcy水平升高作为AD的生物标志物。

本研究结果显示:Se-AD组和AD组患者血清中A β 、Tau和p-Tau蛋白水平较健康对照组明显升高。与健康对照组比较,Se-AD组和AD组患者血液中ApoE4、PS1、Caspase3、BACE1、NF- κ B和APP mRNA表达均明显升高,PKC mRNA表达水平明显降低。与健康对照组比较,AD组患者血液中PS2 mRNA表达水平明显升高,Se-AD组无明显变化;Se-AD组和AD组患者血液中A β mRNA表达水平较健康对照组明显升高;3组受试者SORL1和HIF1 mRNA表达水平比较差异无统计学意义。

研究^[19]显示:在AD早期,海马区首先受累,较公认的假说是该部位A β 淀粉样学说和Tau蛋白学说。AD有遗传性,与基因(如APP)突变有关,APP被分解产生A β ,会导致A β 和Tau蛋白的

异常积累,形成早老蛋白(presenilin, PS),从而引发神经炎症、氧化应激和线粒体功能障碍等一系列病理变化,可引发AD^[20]。SORL1使APP重分配,减少A β 的形成,Caspase3作为凋亡通路的一员,使神经细胞退化和凋亡,促进AD的发展^[21]。BACE1又称 β -分泌酶,在胰腺和脑组织中BACE1 mRNA表达水平较高。研究^[22]显示:APP和BACE1 mRNA在AD脑组织海马区神经元中表达水平明显升高。目前ApoE基因多态性与AD的相关性研究比较多,ApoE4(载体蛋白E的一种)多存在于血液中的乳糜微粒中,与A β 有较强的亲和力,是AD的高风险因素之一^[23]。NF- κ B具有激活转录的功能,能够通过激活抗氧化基因和调节细胞因子,进而促进炎症反应和凋亡。研究^[24]表明:AD患者脑海马组织中NF- κ B呈游离状态进入细胞核中促进Caspase3逆转录,使其表达增强。PKC能够磷酸化APP上的丝氨酸,进而使 α -分泌酶对APP的酶切作用增强,减少A β 的形成,减少认知功能障碍,因此PKC表达减少可促进AD的形成^[25]。

本研究中Se-AD组老年人经过3个月的富硒食物干预,血液中PS2和A β mRNA表达水平明显降低。PS1与PS2同属于PS基因,PS2能够催化 γ 分泌酶使APP裂解,从而产生不同长度的A β ,说明硒在脑组织中能够降低PS2的表达,进一步减少A β 产生,对AD有一定改善作用。

本研究中Se-AD组与AD组患者血清中SOD和GSH-Px活性及MDA和NO水平,A β 蛋白、Tau蛋白和p-Tau蛋白水平以及患者血液中ApoE4、PS1、PS2、Caspase3、BACE1、APP和PKC mRNA表达水平比较差异均无统计学意义,但其数值有向健康对照组改善的趋势。该现象可能与本研究补硒时间短有关,也为进一步研究长期补充富硒食物防治AD疾病奠定了基础。

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。

作者贡献声明:

孙维琦参与实验操作、数据统计分析和论文撰写,朱凌羽和徐小磊参与实验操作及数据整理,刘莹和吕红梅参与临床诊断及样本采集,赖亚辉参与实验设计、实验操作和论文修改。

[参考文献]

[1] TAHAMI MONFARED A A, BYRNES M J,

- WHITE L A, et al. Alzheimer's disease: epidemiology and clinical progression[J]. *Neurol Ther*, 2022, 11(2): 553-569.
- [2] ZHANG H Q, WEI W, ZHAO M, et al. Interaction between A β and Tau in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(9): 2181-2192.
- [3] STEFANOSKA K, GAJWANI M, TAN A R P, et al. Alzheimer's disease: ablating single master site abolishes tau hyperphosphorylation[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(27): eabl8809.
- [4] ROSTAGNO A A. Pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 107.
- [5] SHI T R, SONG J X, YOU G Y, et al. The function of selenium in central nervous system: lessons from MsrB1 knockout mouse models[J]. *Molecules*, 2021, 26(5): 1372.
- [6] GHELICHKHANI F, GONZALEZ F A, KAPITONOVA M A, et al. Selenoprotein S: a versatile disordered protein[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 731: 109427.
- [7] YU S S, DU J L. Current views on selenoprotein S in the pathophysiological processes of diabetes-induced atherosclerosis: potential therapeutics and underlying biomarkers[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2024, 16(1): 5.
- [8] LI F N, SHI Z, CHENG M N, et al. Biology and roles in diseases of selenoprotein I characterized by ethanolamine phosphotransferase activity and antioxidant potential[J]. *J Nutr*, 2023, 153(11): 3164-3172.
- [9] MASUDA R, KUWANO S, GOTO K. Modeling selenoprotein Se-nitrosation: synthesis of a Se-nitrososelenocysteine with persistent stability[J]. *J Am Chem Soc*, 2023, 145(26): 14184-14189.
- [10] 胡承平, 陶凤芝, 王 灿, 等. 星形胶质细胞在阿尔茨海默病中的研究进展[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2023, 44(05): 740-746.
- [11] SHERIFF S, SHEN T, ABDAL S, et al. Retinal thickness and vascular parameters using optical coherence tomography in Alzheimer's disease: a meta-analysis[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(11): 2504-2513.
- [12] VOGEL J W, ITURRIA-MEDINA Y, STRANDBERG O T, et al. Spread of pathological tau proteins through communicating neurons in human Alzheimer's disease[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2612.
- [13] KAC P R, GONZALEZ-ORTIZ F, SIMRÉN J, et al. Diagnostic value of serum versus plasma phospho-tau for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2022, 14(1): 65.
- [14] YUE Q, HOI M P M. Emerging roles of astrocytes in blood-brain barrier disruption upon amyloid-beta insults in Alzheimer's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(9): 1890-1902.
- [15] FENG W X, ZHANG Y L, SUN P, et al. Acquired immunity and Alzheimer's disease[J]. *J Biomed Res*, 2022, 37(1): 15-29.
- [16] CHEN Z Y, ZHANG Y. Animal models of Alzheimer's disease: Applications, evaluation, and perspectives[J]. *Zool Res*, 2022, 43(6): 1026-1040.
- [17] SU L N, LI R Q, ZHANG Z Q, et al. Identification of altered exosomal microRNAs and mRNAs in Alzheimer's disease[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 73: 101497.
- [18] BOTTO R, CALLAI N, CERPELLI A, et al. Anxiety and depression in Alzheimer's disease: a systematic review of pathogenetic mechanisms and relation to cognitive decline[J]. *Neurol Sci*, 2022, 43(7): 4107-4124.
- [19] CIOFFI F, ADAM R H I, BANSAL R, et al. A review of oxidative stress products and related genes in early Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 83(3): 977-1001.
- [20] WU Y G, SONG L J, YIN L J, et al. The effects and potential of microglial polarization and crosstalk with other cells of the central nervous system in the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(5): 947-954.
- [21] HUANG C W, RUST N C, WU H F, et al. Altered O-GlcNAcylation and mitochondrial dysfunction, a molecular link between brain glucose dysregulation and sporadic Alzheimer's disease [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(4): 779-783.
- [22] YEATES C, DESHPANDE P, KANGO-SINGH M, et al. Signaling interactions among neurons impact cell fitness and death in Alzheimer's disease [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(4): 784-789.
- [23] SI Z Z, ZOU C J, MEI X, et al. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease: from mechanisms to clinical applications [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(4): 708-715.
- [24] MAISAM M, KHAN M T, LODHI M S, et al. Alzheimer's disease: mechanism, mutations, and applications of nano-medicine[J]. *Front Biosci*, 2023, 28(10): 258.
- [25] GHOLAMI A. Alzheimer's disease: The role of proteins in formation, mechanisms, and new therapeutic approaches[J]. *Neurosci Lett*, 2023, 817: 137532.