神经病学

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000903

姜黄素在脑血流低灌注致血管性痴呆青年鼠和老年鼠中的作用及差异比较

戴颂阳[1],向　月[1],张　鹏[1],田茗源[1],杨　军[1],张　雄[2],李　昱[1]
（重庆医科大学基础医学院 1. 病理教研室;2. 神经科学中心,重庆　400016）

【摘　要】**目的**:观察姜黄素(curcumin)对脑血流低灌注所致血管性痴呆(vascular dementia,VD)青年鼠和老年鼠学习记忆能力以及海马组织形态学的影响,并进一步观察比较姜黄素对 VD 的疗效是否有年龄差异性。**方法**:分别将 50 只青年及 50 只老年 Sprague-Dawley(SD)大鼠随机分为正常对照组、假手术组、单纯缺血组(2VO)组、低剂量组(curcumin,50 mg/kg)及高剂量组(100 mg/kg),每组各 10 只,采用永久性双侧颈总动脉结扎法(2VO 法)制备 VD 模型。药物治疗组于术后 24 h 开始每日腹腔注射 curcumin,连续给药 30 d;采用 Morris 水迷宫实验测试两个年龄段各组大鼠的学习和空间记忆能力变化;采用 HE 染色和尼氏(Nissl)染色观察两个年龄段各组大鼠海马 CA1 区组织形态学改变。**结果**:Morris 水迷宫试验表明,脑血流低灌注可导致老年大鼠及青年大鼠学习记忆能力下降($P<0.05$),经姜黄素处理后学习记忆能力均明显改善($P<0.05$);HE 染色及尼氏染色显示脑血流低灌注可导致老年及青年 VD 大鼠海马 CA1 区出现病理形态学改变,姜黄素能减轻老年及青年 VD 大鼠海马 CA1 区的病理形态学改变;但 2 个年龄段大鼠间的学习记忆能力及病理改变差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论**:姜黄素能减轻老年及青年 VD 大鼠的脑损伤并改善认知功能障碍,其治疗效果具有一定的量效关系,但无年龄差异性;减轻海马组织的病理性损伤可能是姜黄素改善 VD 大鼠认知功能障碍的机制之一。

【关键词】血管性痴呆;姜黄素;学习记忆;海马;组织病理学;Morris 水迷宫
【中图分类号】R363.2+1　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-09-25

Curcumin reduce brain damage and improve cognitive dysfunction of vascular dementia rats in dose-dependent manner without age difference

Dai Songyang[1], Xiang Yue[1], Zhang Peng[1], Tian Mingyuan[1], Yang Jun[1], Zhang Xiong[2], Li Yu[1]
(1. Teaching and Research Section of Pathology; 2. Institute of Neuroscience, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】***Objective***: To observe the effect of curcumin on learning and memory ability and the morphology of the hippocampus of young and aged rats with vascular dementia(VD) induced by cerebral hypoperfusion, then to further explore if the effect of curcumin has any difference in different ages. ***Methods***: Both young and aged rats were randomly divided into normal group, sham-operated group, 2VO group, 2VO+curcumin 50 mg/kg group and 2VO+curcumin 100 mg/kg group(10 rats in each group). Permanent occlusion of bilateral common carotid arteries ligation(2VO) method was used to set up cerebral ischemia model. The rats were injected intraperitoneally with curcumin or DMSO once daily for 30 d. The changes of learning and memory ability of rats were tested in the Morris water maze; the pathological changes of CA1 region of the hippocampus were measured by HE and Nissl staining. ***Results***: Morris water test showed that 2VO method could reduce learning and memory of young and aged VD rats($P<0.05$), while curcumin could improve them($P<0.05$). HE and Nissl staining results showed that 2VO method led to pathological changes of CA1 region in young and aged VD rats($P<0.05$), and curcumin could reduce the injury($P<0.05$). No notable difference was found between rats at different ages($P>0.05$). ***Conclusion***: Curcumin can reduce the brain damage in young and aged VD rats and improve cognitive dysfunction, and the effect was dose-dependent, without age difference. Our study suggests that the pathological injury of the hippocampus might be one of the mechanisms of curcumin on improving cognitive impairment of VD rats.

【Key words】vascular dementia; curcumin; learning and memory; hippocampus; histopathology; Morris water maze

作者介绍:戴颂阳,Email:297188846@qq.com,
研究方向:老年痴呆的发病机制。
通信作者:李　昱,Email:liyu100@163.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81271426)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160325.1116.006.html (2016-03-25)

血管性痴呆（vascular dementia，VD）是指由各种脑血管疾病导致脑损伤而引起的获得性渐进性智能损害综合征，是仅次于阿尔茨海默病的第二大痴呆类型[1]。目前导致 VD 的确切病因尚不十分清楚，普遍认为缺血性脑血管疾病是导致 VD 的主要因素之一[2-3]。流行病学研究发现高血脂、高血压、糖尿病、不良饮食习惯、烟酒嗜好等是脑血管疾病的危险因素。随着社会生活水平的不断提高，这些危险因素在青年人群中的出现率越来越高，但目前对于 VD 的基础研究大多是以老龄化动物模型为主，对于青年模型的研究报道很少。

姜黄素（curcumin），是姜科草本植物姜黄根茎的主要成分，具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗肿瘤等药理作用，由于其毒性低，具有良好的临床应用潜力。研究已经发现，姜黄素对阿尔茨海默病（Alzheimer's disease，AD）等神经退行性疾病具有神经保护作用[4-5]。但姜黄素对脑血流低灌注导致的脑损伤的作用目前还不清楚。本实验拟采用永久性双侧颈总动脉结扎术（two-vesselocclusin，2VO）方法建立 VD 大鼠模型，观察脑血流低灌注对青年鼠及老年鼠认知功能障碍以及病理形态学的影响，并观察比较其影响是否有年龄差异性，然后观察姜黄素对 VD 老年鼠及青年鼠认知功能障碍以及病理形态学的作用，并进一步探讨其作用是否有年龄差异性，为 VD 的研究和防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

姜黄素与二甲基亚砜（DMSO）均购自美国 Sigma Aldrich 公司；苏木素、伊红染液由重庆医科大学临床病理诊断中心提供；SLY-WMS2.0 Morris 水迷宫选自北京硕林苑科技有限公司。

1.2 实验动物及分组

100 只健康 Sprague-Dawley 大鼠（其中 50 只 3~6 月龄，50 只 18~24 月龄，雌雄不限），体质量 250~300 g，均购自重庆医科大学动物实验中心（动物许可证号：SCXK2007-0001）。将两个年龄段大鼠分别随机分为 5 组，每组各 10 只。即：正常对照组，假手术组，单纯缺血组，药物处理组分为高剂量组（姜黄素 100 mg/kg）和低剂量组（姜黄素 50 mg/kg）。姜黄素用 DMSO 溶解（1%，v/v），治疗组于术后 24 h 开始腹腔注射，正常对照组、假手术组、单纯缺血组用等量的 DMSO 腹腔灌注，共持续 1 月。30 d 后进行 Morris 水迷宫行为学测试。手术处理前后所有大鼠于 SPF 级动物房喂养，温度 24 ℃~25 ℃，湿度 40%~70%，每日 8:00 至 20:00 给予光照。实验中所涉及的动物均得到重庆医科大学动物委员会的认可。

1.3 VD 大鼠模型的制备

将大鼠用浓度为 3.5%的水合氯醛溶液，按照 0.35 mg/g 的剂量进行腹腔注射麻醉后，颈部备皮并消毒，然后沿颈正中切开皮肤并钝性分离皮肤，分别在双侧颈前三角区找到双侧颈总动脉并将其钝性分离暴露，缺血组（2VO）用双重手术缝线结扎动脉血管，然后单纯间断缝合皮肤、对皮、酒精消毒；假手术组只分离双侧颈总动脉而不结扎，其余过程与手术组相同。

1.4 Morris 水迷宫行为学测试

试验方法采用经典 Morris 水迷宫实验方法。实验于给药 30 d 后进行。在老年鼠和青年鼠中分别随机选取 29 只大鼠进行实验，其中包括正常组 7 只，假手术组 7 只，2VO 组 5只，低剂量组（curcumin 50 mg/kg）5 只，高剂量组（100 mg/kg）5 只，实验共进行 6 d。所有实验过程中水迷宫测试的房间内要保持安静，且训练期间迷宫外的参照物保持不变，以免影响实验结果。

1.4.1 定位航行实验 用该实验对大鼠进行训练，从而观测 2VO 大鼠对水迷宫空间学习和记忆的获取能力。实验共进行 5 d，第 1 天进行可视平台实验：平台露出水面约 1 cm，实验前先将大鼠置于平台上适应 5 s，随后分别从 4 个象限的固定点面壁置入池内，通过影像系统记录大鼠在 60 s 内找到平台所用时间及所经过路程。如果大鼠在 60 s 仍未找到平台，则由实验者牵引其到平台上，并让大鼠停留约 10 s，再放回，并记录时间为 60 s。第 1 天每只大鼠进行 4 次实验，训练间隔时间应为 1 h。第 2~5 天进行隐蔽平台实验：将平台置于水下 0.5 cm，并用白色无毒油漆使水变为白色浑浊状，致肉眼看不清水下平台，将各大鼠分别从 4 个象限的固定点面壁置入池内。训练方式与可视平台实验相同。每天游 4 次，间隔 1 h。

1.4.2 空间探索实验 在水迷宫实验的第 6 天，撤去水下平台，在第 1 或者第 4 象限（本实验选择第 1 象限）的同一入水点将大鼠面向池壁放入水中，让大鼠在水池内搜索平台 60 s，观察并记录下大鼠在原平台所停留的时间（s）以及游泳的距离（m），作为评价大鼠空间学习和记忆能力的指标。

1.5 动物脑组织病理形态检测

1.5.1 动物脑组织切片制备 在水迷宫实验结束后，在青年鼠和老年鼠的各组大鼠中随机选取 2 只用 3.5%水合氯醛进行腹腔注射麻醉 1 ml/100 g），暴露心脏，从心尖部注入 PBS 缓冲液（1×，pH7.4），当由右心耳流出无色、透明的液体时，开始注入 4%的多聚甲醛至四肢僵硬后，停止灌注。迅速断头取脑，将脑组织放入 4%多聚甲醛溶液中固定，24 h 后进行梯度酒精脱水，二甲苯透明，常规石蜡包埋切片（厚度约 4~5 μm）。

1.5.2 HE 染色 将制备好的脑组织切片进行二甲苯脱蜡、梯度酒精脱水，然后放入双蒸水中浸泡 3 min，苏木素染液染色 10 min 后流水冲洗 3 min，然后放入 1%盐酸酒精浸泡 15 s 后流水洗 3 min，促蓝液浸泡 20 s 后流水洗 15 min，伊红复染 5 min 后流水冲洗 3 min，然后经梯度酒精脱水，各 3~5 min，

然后用二甲苯透明，各 3~5 min，最后用中性树胶封片。在光学显微镜下观察，对每张玻片的海马 CA1 区，在高倍镜下（200×）随机选取 4 个视野计数神经元数量，取平均值[6]。

1.5.3 尼氏染色 将脑切片进行脱蜡，然后用双蒸水冲洗切片 3 min 后将切片放入 1%的甲苯胺溶液中，室温条件下浸染 35 min，然后用双蒸水冲洗切片 5 min，然后将切片置于梯度酒精脱水，每个浓度 3 min，然后用二甲苯使切片透明，各 3 min，最后用中性树胶封片，然后在每张玻片的海马区，于高倍镜下（200×）随机选取 5 个视野计数尼氏染色阳性细胞，取平均值[7]。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 18.0 软件对各组数据进行统计分析，所有数据均用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。各组数据比较采用单因素方差分析和多因素重复测量方差分析，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 姜黄素改善脑血流低灌注老年大鼠及青年大鼠的学习和空间记忆能力

各组大鼠在给予不同的处理 30 d 后进行 Morris 水迷宫实验，经过连续 5 d 的训练，在第 6 天拆掉平台后，记录下每组大鼠在原平台所在的象限停留的时间(s)以及游泳的距离(m)。结果显示：老年大鼠及青年大鼠 2VO 组的停留时间及象限内游泳的距离均低于相应的正常组及假手术组。表明老年及青年大鼠的 2VO 组均有明显的空间学习和记忆障碍。而用姜黄素处理后，2 种年龄大鼠姜黄素低剂量组及高剂量组的上述 2 项数据分别较 2VO 组明显升高。表明姜黄素对 2 个年龄段的 VD 模型大鼠空间学习和记忆障碍具有改善作用(见表 1)。

但经析因设计方差分析发现(见表 2 及表 3)，在 2 个年龄段的大鼠之间，象限停留时间无差异(F=0.309，P=0.581)，游泳距离也无差异(F=1.191，P=0.281)。

2.2 姜黄素对脑血流低灌注老年大鼠和青年大鼠海马形态学变化的比较

如图 1 及表 4 的结果所示，在老年及青年脑血流低灌注大鼠模型中，相应的正常组(Normal)及假手术组(Sham)的海马锥体细胞排列整齐，细胞完整，核仁清楚。2VO 组与相应的对照组及假手术组相比，均发生了明显变化：椎体细胞突起断裂、变短或消失，轮廓模糊，椎体神经元及胶质细胞严重皱缩、深染，核仁不清，部分椎体神经元脱失。姜黄素处理组海马 CA1 区的异常形态学变化均明显减轻。统计结果显示，2VO 术后，老年及青年大鼠海马 CA1 区神经元数为相较于正常对照组和假手术组明显减少。姜黄素处理后，老年及青年大鼠海马 CA1 区神经元数量较 2VO 组均明显增加，且差异有统计学意义。但 2 个年龄阶段大鼠模型神经元数目并无统计学差异。

如图 1 及表 4 结果所示，2VO 术后，老年及青年大鼠海马 CA1 区尼氏染色阳性的神经元数较正常对照组和假手术组均明显减少。姜黄素处理后，尼氏染色阳性的神经元数与 2VO 组比较，数量均明显增加，且差异有统计学意义。

但经析因设计方差分析发现，在 2 个年龄段的大鼠之间，各组海马 CA1 区椎体细胞数(F=0.824，P=0.369)及尼氏染色阳性细胞数(F=1.488，P=0.230)的数据均未见明显的统计学差异(见表 5、6)。

表 1 各组老年大鼠及青年大鼠的象限停留时间及游泳距离（$\bar{x}\pm s$）

Tab.1 Residence time and swimming distance of each group（$\bar{x}\pm s$）

分组	象限停留时间（s）		游泳距离（m）	
	老年大鼠	青年大鼠	老年大鼠	青年大鼠
正常组（n=7）	12.3±1.4[a]	12.8±1.7[a]	2.37±0.1[a]	2.56±0.2[a]
假手术组（n=7）	12.1±0.5[a]	12.7±0.7[a]	2.34±0.2[a]	2.49±0.23[a]
2VO 组（n=5）	6.2±1.2	6.5±2.1	1.26±0.3	1.38±0.25
姜黄素低剂量组（n=5）	12.6±1.7[b]	11.1±1.3	2.09±0.3[b]	2.24±0.3[b]
姜黄素高剂量组（n=5）	12.7±0.7[a]	13.5±1.5[a]	2.32±0.2[a]	2.48±0.3[a]
F值	3.296	3.233	4.846	3.980
P值	0.027	0.029	0.005	0.013

注：a，与 2VO 组比较 P<0.01；b：与 2VO 组比较 P<0.05

表 2 象限停留时间影响的析因设计方差分析（年龄×处理因素）

Tab.2 Factorial variance analysis of residence time（age×processing factors）

变异来源	SS	df	MS	F	P
年龄	3.758	1	3.758	0.309	0.581[a]
处理因素	316.982	4	79.245	6.511	0.000
年龄×处理因素	0.693	4	0.173	0.014	1.000[b]
误差	584.202	48	12.171	-	-

注：a，P>0.05；b：P>0.05

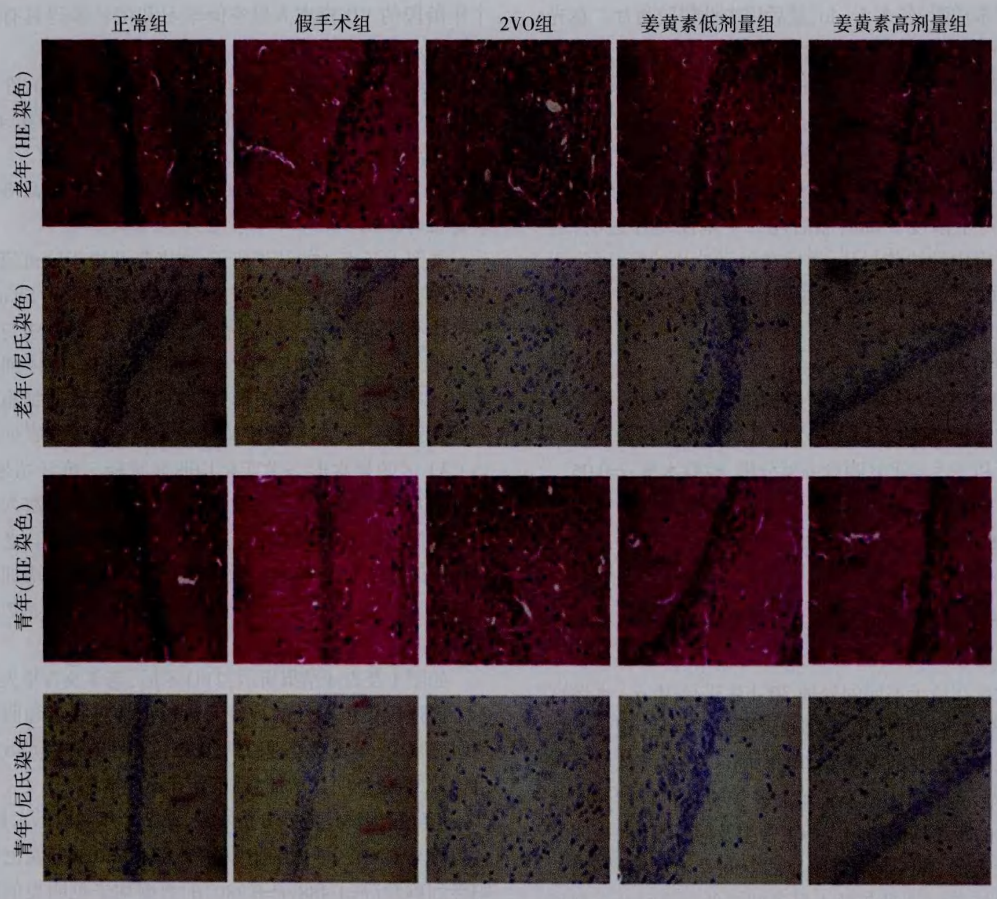


图 1　老年及青年 SD 大鼠各组海马 CA1 区形态学变化

Fig.1　Pathology changes of CA1 region in aging rats and young rats

表 3　游泳距离的析因设计方差分析（年龄×处理因素）

Tab.3　Factorial variance analysis of swimming distance（aging*processing factors）

变异来源	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P*
年龄	0.335	1	0.335	1.191	0.281[a]
处理因素	9.789	4	2.447	8.698	0.000
年龄×处理因素	0.007	4	0.002	0.006	1.000[b]
误差	13.506	48	0.281	–	–

注：a，$P>0.05$；b：$P>0.05$

表 4　各组老年大鼠及青年大鼠海马 CA1 区的锥体细胞数及尼氏染色阳性细胞数（$\bar{x}\pm s$）

Tab.4　Number of pyramidal cells and nissl bodies of CA1 region in each group（$\bar{x}\pm s$）

分组	HE染色锥体细胞数		尼氏染色阳性神经元数	
	老年大鼠	青年大鼠	老年大鼠	青年大鼠
正常组（n=5）	101.80 ± 12.75[a]	105.80 ± 11.86[a]	106.00 ± 11.62[a]	110.00 ± 9.84[a]
假手术组（n=5）	100.80 ± 9.06[a]	105.60 ± 7.07[a]	100.00 ± 8.05[a]	103.00 ± 6.26[b]
2VO 组（n=5）	57.60 ± 6.72	60.20 ± 6.59	54.00 ± 6.26	65.00 ± 8.05
姜黄素低剂量组（n=5）	85.60 ± 9.30[b]	91.60 ± 10.87[b]	85.00 ± 11.63[b]	94.00 ± 13.42
姜黄素高剂量组（n=5）	88.20 ± 8.62[b]	98.20 ± 10.34[b]	93.00 ± 8.94[a]	104.00 ± 11.63[b]
F 值	3.535	3.877	4.559	3.078
P 值	0.024	0.017	0.009	0.040

注：a，与 2VO 组比较 $P<0.01$；b：与 2VO 组比较 $P<0.05$

表 5 海马 CA1 区锥体细胞数影响的析因设计方差分析（年龄×处理因素）

Tab.5 Factorial variance analysis of the number of pyramidal cells (aging × processing factors)

变异来源	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P*
年龄	353.380	1	375.380	0.824	0.369[a]
处理因素	13 430.320	4	3 357.580	7.371	0.000
年龄×处理因素	79.120	4	19.780	0.043	0.996[b]
误差	18 219.600	40	455.490	–	–

注：a，$P>0.05$；b：$P>0.05$

表 6 海马 CA1 区尼氏染色阳性细胞数影响的析因设计方差分析（年龄×处理因素）

Tab.6 Factorial variance analysis of the number of nissl bodies (aging × processing factors)

变异来源	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P*
年龄	722	1	722	1.488	0.230[a]
处理因素	14 492	4	3 623	7.467	0.000
年龄×处理因素	148	4	37	0.076	0.989[b]
误差	19 408	40	485.2	–	–

注：a，$P>0.05$；b：$P>0.05$

3 讨 论

目前认为导致 VD 的基础疾病是脑血管疾病，而缺血性损害是其主要原因之一。研究已经证实，脑血流低灌注是导致 VD 等神经退行性疾病的重要病理过程[6-9]。由于目前对 VD 尚无完整而统一的认识，因此建立一种能够模拟临床上 VD 病人病情发生发展过程的 VD 动物模型对于其基础研究有非常重要的意义。大鼠具有完整的大脑 Willis 环侧枝循环通路。在血管阻塞后，Willis 环后交通支过度开放，能为大脑提供部分血流，使其有较好的代偿和适应能力。可以造成比较稳定而持久的全脑性脑血流灌注不足，适合用来观察血流灌注不足的长期效应。因此，本实验选择大鼠作为来制作研究 VD 的模型。Tsuchiya 等[10]研究发现，大鼠在 2VO 术后 2.5 h，海马 CA1 区脑血流量下降为正常的 51.2%。Otori 等[11]发现，在 2VO 术后 2 d，海马 CA1 区脑血流量为正常对照组的 33%~58%，术后 1 周仍然有类似的下降，术后 4 周逐渐恢复正常，差异有统计学意义。提示 2VO 模型确实能有效的造成脑血流低灌注的状态，并且海马是脑缺血的敏感区之一。另外，近年来的研究发现 2VO 术后大鼠会出现明显认知功能和记忆功能的障碍[10]。因此，大鼠 2VO 模型可以作为模拟血管性痴呆研究的理想模型之一。水迷宫实验已经被证实为评价大鼠空间学习和记忆能力的一种有效方式[11]。本实验中 Morris 水迷宫实验结果表明，2VO 术后的老年鼠和青年鼠均出现严重的学习记忆障碍。表现为相比于对照组和假手术组，2VO 组在原平台所停留的时间明显缩短，以及游泳的距离明显延长，这可以表明我们的模型模拟是有效的。

海马是大脑中与认知和记忆功能有关的关键区域之一。研究发现海马内神经元损伤可以通过直接影响神经元突触的可塑性，从而对信息的传递和处理产生影响，进一步导致认知和记忆功能障碍[12]。研究发现，海马是对脑缺血最敏感的部位之一[13]。尼氏小体是神经元胞体内的特征性结构之一，主要由核糖核酸和蛋白质构成。呈粒状、微粒状或虎斑状，分散在神经元胞质的内部。是合成蛋白质的场所，主要分布于神经元胞体和树突内，由发达的粗面内质网和游离的核糖体构成。正常情况下，各种神经元的尼氏小体均有特定的数量和特征性形态。当神经元受到损伤时，可引起尼氏小体由正常的网状结构崩解为细沙颗粒状，同时伴随颜色变浅，甚至溶解消失。但是，尼氏小体的病变是可逆的，当病因去除后，若神经元胞体没有死亡，溶解的尼氏小体则可以重新出现，细胞代谢也可逐渐恢复[14]。人们通常通过病理学方法观察尼氏小体的数量和形态，来判断神经元是否发生病理变化[15]。因此，本实验通过海马区椎体细胞的形态学观察及计数，以及对尼氏染色阳性的神经元计数，来寻求脑血流低灌注所致的血管性痴呆的机制。

本实验结果表明，2VO 组的海马损害严重，CA1 区的椎体细胞层变薄，神经元变性，部分神经元脱失，神经元的数目明显降低；老年鼠组与青年鼠组之间的改变无显著性差异，并且两个年龄段大鼠的病理表现与其行为学变化相一致。说明海马椎体细胞的坏死可能是脑血流灌注不足导致痴呆的病理学基础之一，同时也说明海马区的缺血可能是导致 VD 大鼠认知和记忆功能障碍的原因。

研究表明，在各种痴呆类型中，VD 是可以防治的类型之一。针对危险因素的治疗可在早期改善脑血供，从而去除罹患 VD 的危险因子。因此很多学者认为对 VD 的研究应该主要集中在起始阶段，在初始阶段就给予干预和治疗，可以延缓甚至逆转病情的发生发展。但迄今为止还没有发现一种可以防治

VD的确切有效的药物[14]。姜黄素具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗肿瘤、抗凝、降低血脂等广泛的药理作用，还具有广泛的化学预防特性，对AD、帕金森氏病等中枢神经退行性疾病也有良好的保护作用[4-5]，具有良好的临床应用潜力。目前关于姜黄素对脑血管疾病的防治作用相关报道有很多，但到目前为止，姜黄素治疗 VD 的具体机制尚无定论。本实验中，2VO 后的老年大鼠和青年大鼠在连续每日饲喂姜黄素 1 个月后，空间学习和记忆能力都明显得到改善，且海马病理损伤也都明显减轻。这可能是姜黄素通过其广泛的生物学效应调节胶质细胞和神经元的形态和功能，进而增强海马组织对缺血的耐受性。也可能是姜黄素通过某些机制刺激了神经的发生，进而代替了丢失神经元的功能。通过比较分析后发现。姜黄素对血管性痴呆的疗效在老年鼠组和青年鼠组无显著性差异，说明在本实验中所使用的姜黄素治疗剂量对 VD 的疗效可能没有年龄差异性。这种结果，可能是由于 VD 的发生发展往往涉及多种复杂的机制，而姜黄素在中枢系统中具有广泛的作用靶点，可通过多种机制来发挥神经保护作用。

总之，本实验结果证实了脑血流灌注不足可以导致海马区发生明显的病理性改变，并且这种病理改变可能是认知功能障碍的病理基础之一。另外，本实验结果提示，姜黄素不仅能改善老年鼠的认知功能障碍和病理损伤，还能改善 2VO 对青年鼠的影响，但未见显著年龄差异性。这一结果可以为临床利用姜黄素对脑缺血患者进行早期的干预治疗，减轻海马区病理损伤，并最大限度发挥脑保护功能，进而预防脑缺血患者进一步发展为 VD 提供理论依据，并为不同年龄脑缺血人群的临床用药提供理论指导。然而，姜黄素对 VD 的神经保护作用的分子机制尚不清楚，仍有待进一步深入研究探讨。

参 考 文 献

[1] Winter Y, Korchounov A, Bertschi NE, et al. Depression in elderly patients with Alzheimer dementia or vascular dementia and its influence on their quality of life[J]. Neurosci Rural Pract, 2012, 2(1): 27-32.

[2] Lahousse L, Tiemeier H, Ikram MA, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and cerebrovascular disease: a comprehensive review[J]. Respir Med, 2015, 109(11): 1371-1380.

[3] Wang L, Zhang X, Lü L, et al. Dynamic changes of Apo A1 mediated by LXR/RXR/ABCA1 pathway in brains of the aging rats with cerebral hypoperfusion[J]. Brain Res Bull, 2014(100): 84-92.

[4] 张 雄，李 昱. 姜黄素通过抑制 GSK-3β 的活性防治 AD 的体外研究[J]. 中国药理学通报，2009，25(11)：1507-1512.

[5] 孙洁芸，李 丹，王 晨，等. 姜黄素对 APPswe/PSEN1De9 双转基因小鼠学习记忆能力及大脑中 Aβ42 表达的影响[J]. 中国药理学通报，2013，29(8)：1084-1088.

[6] 孙洁芸，余天平，张 雄，等. 血管性痴呆大鼠模型中海马的组织病理学和超微结构变化[J]. 重庆医科大学学报，2013，38(3)：225-229.

[7] 李 丹，孙洁芸，高敏娜，等. 血管性痴呆大鼠海马尼氏体和神经元核抗原的表达变化[J]. 激光杂志，2013，34(3)：87-89.

[8] Lee JS, Im DS, An YS, et al. Chronic cerebral hypoperfusion in a mouse model of Alzheimer's disease: an additional contributing factor of cognitive impairment[J]. Neurosci Lett, 2011, 489(2): 84-88.

[9] Brown WR, Thore CR. Review: cerebral microvascular pathology in ageing and neurodegeneration[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2011, 37(1): 56-74.

[10] Tsuchiya M, Sako K, Yura S, et al. erebral blood flow and histopathological changes following permanent bilateral carotid artery ligation in Wistar rats[J]. Exp Brain Res, 1992, 89(1): 87-92.

[11] Otori T, Katsumata T, Muramastsu H, et al. Long-term measurement of cerebral blood flow and metabolism in a rat chronic hypoperfusion model[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2003, 30(4): 266-272.

[12] Melani A, Cipriani S, Corti F, et al. Effect of intravenous administration of dipyridamole in a rat model of chronic cerebral ischemia[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010(1207): 89-96.

[13] Vorhees CV, Williams MT. Value of water mazes for assessing spetial and egocentric learning and memory in rodent basic research and regulatory studies[J]. Neurotoxicol Teratol, 2014, (45): 75-90.

[14] Liu R, Lei J X, Luo C, et al. Increased EID1 nuclear translocation impairs synaptic plasticity and memory function associated with pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Dis, 2012, 45(3): 902-912.

[15] Xu X, Li Z, Yang Z, et al. Decrease of synaptic plasticity associated with alteration of information flow in a rat model of vascular dementia[J]. Neuroscience, 2012(206): 136-143.

[16] Wasilew SKAB, Najdzion J, Szteyn S. The neuronal structure of the globus pallidus in the rabbit-Nissl and Golgi studies[J]. Folia Morphologica, 2002, 61(4): 251.

[17] Li J, Wen PY, Li WW, et al. Upregulation effects of Tanshinone ⅡA on the expressions of NeuN, Nissl body, and IkB and downregulation effects on the expressions of GFAP and NF-kB in the brain tissues of rat models of Alzheimer's disease[J]. Neurotrport, 2015, 26(13): 758-766.

[18] Zavoreol I, Madzar Z, Demarin V, et al. Vascular cognitive impairment in diabetes mellitus: are prevention and treatment effective[J]. Acta Clin Croat, 2014, 53(3): 326-333.

（责任编辑：张辉洁）