

·论 著·

健脾填精方改善血管性痴呆大鼠学习记忆能力的机制探究

王志伟 何迎春 朱青

[摘要] **目的** 研究健脾填精方对血管性痴呆(VD)大鼠学习记忆能力的影响及其机制。**方法** SD大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性药对照组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,采用双侧颈总动脉结扎法制作VD模型,并进行水迷宫实验,比较各组大鼠脑匀浆中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、胆碱酯酶(CHE)含量的变化,并进行脑组织病理切片观察。**结果** 与假手术组相比,模型组大鼠的逃避潜伏期、探索距离延长,穿越有效区时间缩短,穿越次数减少(t 分别=9.01、4.02、-5.20、-5.98, P 均 <0.05)。与模型组相比,中药高剂量组、中药中剂量组大鼠逃避潜伏期、探索距离均明显缩短,穿越有效区时间明显延长,穿越次数明显增多(t 分别=4.75、3.01; 3.89、2.33; 2.37、3.63; 2.25、3.72, P 均 <0.05)。不同剂量健脾填精方各组逃避潜伏期、探索距离、穿越有效区时间、穿越次数比较,差异均有统计学意义(F 分别=5.18、5.24、6.68、7.05, P 均 <0.05)。模型组大鼠海马区、额叶有明显的病理学改变。与假手术组比较,模型组GSH-PX含量下降, CHE含量升高(t 分别=-2.91、7.61, P 均 <0.05);与模型组比较,阳性药对照组、中药中剂量组GSH-PX含量明显升高(t 分别=4.89、3.94, P 均 <0.05), CHE含量明显降低(t 分别=4.56、4.71, P 均 <0.05)。不同剂量健脾填精方各组之间GSH-PX、CHE含量比较,差异有统计学意义(F 分别=8.28、5.16, P 均 <0.05)。**结论** 健脾填精方能明显改善VD大鼠学习记忆能力,提高VD大鼠海马组织GSH-PX的含量、减少VD大鼠海马组织CHE含量、减轻神经细胞损伤是其可能的机制。

[关键词] 健脾填精方; 血管性痴呆; 凋亡; 机制

Study on the mechanism of Jianpi Tianjing recipe improving learning and memory ability of vascular dementia rats WANG Zhiwei, HE Yingchun, ZHU Qing. Department of Neurology, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China.

[Abstract] **Objective** To study the effects of the Jianpi Tianjing recipe on the learning and memory ability in vascular dementia rats and its mechanism. **Methods** Rats were divided into sham group, model group, positive drug control group, high-dose Chinese medicine group, medium-dose Chinese medicine group, and low-dose Chinese medicine group. The two-sided cervical aortic ligation method was used to make an vascular dementia model on SD rats. The water maze test was performed, and the changes of glutathione peroxidase (GSH-PX), cholinesterase (CHE) content, and pathological biopsy of brain tissue were observed. **Results** Compared with the sham group, the escape latency and exploration distance of the model group were prolonged, the time of crossing the effective area was shortened and the number of crossings was reduced ($t=9.01, 4.02, -5.20, -5.98, P<0.05$). Compared with the model group, the escape latency and exploration distance of the rats in the high-dose Chinese medicine group and the medium-dose Chinese medicine group were significantly shortened, the time of crossing the effective area was prolonged and the number of crossings was increased ($t=4.75, 3.01, 3.89, 2.33, 2.37, 3.63, 2.25, 3.72, P<0.05$). There were statistically significant differences in the exploratory distance, time of crossing the effective area, and the number of crossings among different doses of Jianpi Tianjing recipe ($F=5.18, 5.24, 6.68, 7.05, P<0.05$). There were obvious pathological changes in the hippocampus and frontal lobe of rats in the model group. Compared with the sham group, the GSH-PX content in the model group decreased, while the CHE content

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2021.004.003

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2018ZA087)

作者单位:310007 浙江杭州,杭州市中医院神经内科
(王志伟),老年病科(何迎春、朱青)

increased ($t=-2.91, 7.61, P<0.05$). Compared with the model group, the GSH-PX content in the positive drug control group and the traditional Chinese medicine dose group was significantly increased ($t=4.89, 3.94, P<0.05$), while the CHE content was significantly reduced ($t=4.56, 4.71, P<0.05$). There were statistical differences in GSH-PX and CHE content among the different dose of Jianpi Tianjing recipe ($F=8.28, 5.16, P<0.05$). **Conclusion** Jianpi Tianjing recipe can significantly improve the learning and memory ability of vascular dementia rats. Its mechanism maybe increasing the content of GSH-Px in the hippocampus, reducing the content of CHE in the hippocampus, and reducing the damage of nerve cells.

[Key words] Jianpi Tianjing recipe; vascular dementia; apoptosis; mechanism

血管性痴呆(vascular dementia, VD)是指因缺血/出血性脑卒中和引起记忆、认知、行为等脑区低灌注的脑血管疾病导致的认知功能障碍综合征^[1]。截至2018年,世界范围内受VD影响的人数在5 000万左右,预计至2050年该数据可增加至两倍左右^[2]。VD发病率逐年升高的同时,医疗费用也随之升高,已成为世界各国重要的公共卫生问题^[2]。该病发病机制尚未完全阐明,可能与神经元凋亡、炎症反应、胆碱系统紊乱、兴奋性氨基酸毒性等因素诱发的神经元损伤有关^[3]。西医治疗以对症支持治疗为主,尚缺乏特效药物,而近年来中药复方制剂通过多途径、多靶点、多层次、多系统的综合治疗方式,彰显了独特的优势^[4]。健脾填精方是本院市级名中医何迎春教授治疗痴呆的经验方,在临床实践中已经证实其对轻度认知障碍有明显改善作用,对痴呆的防治有重要作用^[5]。为进一步探究其作用机制,本次研究采用健脾填精方处理VD大鼠,观察其对大鼠海马细胞凋亡,谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)含量及学习记忆能力的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取Sprague-Dawley(SD)大鼠85只,雄性,鼠龄8~12周,体重220~280g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。SD大鼠均在标准环境下进行分笼饲养,实验温度控制在20℃~24℃,湿度65%~80%。本次实验于浙江中医药大学动物实验中心进行。

1.2 主要试剂及仪器 GSH-PX试剂盒、CHE试剂盒、总蛋白测试试剂盒均由南京建成生物工程研究所生产。Morris水迷宫购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司,MP6001小动物行为记录分析系统由西班牙Panlab生产,Smart-MASS VARIOSKAN FLASH多功能酶标仪由美国赛默飞世尔科技公司生产;Nikon eclipse 80i显微镜由Nikon公司生产,Imaging

Systems由Carl Zeiss公司生产,DRP-9052型电热恒温箱由上海森信实验仪器有限公司生产。

1.3 方法

1.3.1 分组与给药 将存活SD大鼠随机分为:假手术组、模型组、阳性药对照组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,每组各10只大鼠。假手术组大鼠仅分离动脉,但不结扎。假手术组及模型组大鼠给予0.9%氯化钠注射液1 ml/100 g,灌胃,每天1次;中药高剂量组给予16 g/ml的健脾填精方 $28.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、中剂量组给予8 g/ml的健脾填精方 $14.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、低剂量组给予4 g/ml的健脾填精方 $7.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,三组均采用灌胃给药。健脾填精方处方组成:炒白术15 g、黄连6 g、人参10 g、天麻10 g、补骨脂12 g。阳性药对照组给予盐酸多奈哌齐片[由卫材(中国)药业有限公司生产] $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,连续灌胃28 d。

1.3.2 VD模型建立 采用双侧颈总动脉永久结扎法制作VD模型。各组SD大鼠术前12 h禁食,术前4 h禁水,于造模前半小时灌胃1次,以3 ml/kg水合氯醛腹腔注射麻醉,固定大鼠呈仰卧位,备皮、消毒后,沿颈正中逐层分离出双侧颈总动脉,并以双重丝线结扎。以庆大霉素局部喷洒处理,防止感染。缝合切口后,送动物房饲养。术后3 d给予青霉素2 U/kg肌肉注射预防感染。并取存活大鼠进行后续试验。

1.3.3 Morris水迷宫实验 给药第28天灌胃1 h后,各组随机选取8只大鼠,进行连续4 d的水迷宫试验。每日分上午、下午两个时间段,每个时间段又分别从I、II、III、IV4个象限正中位置,将大鼠面向池壁投入水中,记录120 s内逃避潜伏期、搜索距离。第5天撤除平台,随机选择1个象限的正中位置,将大鼠以同样方法投入水中,记录大鼠120 s内跨过虚拟平台的穿越次数、及在目标象限的游泳时间。

1.3.4 海马组织病理学观察 水迷宫试验完毕后,从中随机选取4只大鼠,海马组织取材后,以4%多聚甲醛固定48 h,石蜡包埋,冠状切片,切片厚度5 μm 。取3张切片进行苏木精-伊红染色,封片,光镜下观察脑组织病变。

1.3.5 海马组织中自由基含量及酶活力测定 剩余6只大鼠颈椎脱臼处死,取脑,迅速放入预冷的生0.9%氯化钠注射液中漂洗,吸干水分后,分离海马组织,并称重。匀浆器匀浆,制成质量体积比10%

的组织匀浆,3 500 r/min离心10 min,取上清液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。采用酶联免疫吸附法检测海马组织匀浆中GSH-PX、CHE含量。

1.4 统计学方法 采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析和 t 检验。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠水迷宫实验结果见表1

表1 各组大鼠水迷宫实验结果比较

组别	n	逃避潜伏期/s	探索距离/cm	穿越有效区时间/s	穿越次数/次
假手术组	8	24.90 \pm 15.41	299.56 \pm 275.86	2.90 \pm 0.59	4.40 \pm 1.17
模型组	8	101.18 \pm 18.33 [#]	1275.45 \pm 628.99 [#]	0.78 \pm 0.99 [#]	1.09 \pm 1.04 [#]
阳性药对照组	8	70.33 \pm 36.30	814.15 \pm 557.94	2.25 \pm 1.45	2.58 \pm 1.56
中药高剂量组	8	37.08 \pm 33.51*	339.62 \pm 258.74*	3.02 \pm 1.44*	4.00 \pm 1.95* Δ
中药中剂量组	8	62.00 \pm 31.91*	687.16 \pm 341.29*	2.08 \pm 1.68*	3.00 \pm 2.26* Δ
中药低剂量组	8	83.08 \pm 39.04	836.13 \pm 500.72	1.30 \pm 2.13	1.38 \pm 1.53

注: *:与模型组比较, $P<0.05$; #:与假手术组比较, $P<0.05$; Δ :与阳性药对照组比较, $P<0.05$ 。

由表1可见,水迷宫定位航行实验中,与假手术组相比,模型组的逃避潜伏期、探索距离延长(t 分别=9.01、4.02, P 均 <0.05)。与模型组相比,中药高剂量组、中药中剂量组大鼠逃避潜伏期、探索距离均明显缩短(t 分别=4.75、3.01; 3.89、2.33, P 均 <0.05)。

水迷宫空间探索实验中,与假手术组相比,模型组大鼠穿越有效区时间缩短,穿越次数减少(t 分别=-5.20、-5.98, P 均 <0.05)。与模型组比较,中药高剂量组、中药中剂量组大鼠穿越有效区时间明显延长,穿越次数明显增多(t 分别=2.37、3.63; 2.25、3.72, P 均 <0.05)。与阳性药对照组比较,中药高剂量组、中药中剂量组在增加有效区穿越次数方面均有明显优势(t 分别=2.27、2.48, P 均 <0.05)。

不同剂量健脾填精方各组逃避潜伏期、探索距离、穿越有效区时间、穿越次数比较,差异均有统计学意义(F 分别=5.18、5.24、6.68、7.05, P 均 <0.05)。剂量浓度越高,逃避潜伏期和探索距离越短,穿越有效区时间越长,穿越次数越多。

2.2 海马组织病理改变见图1

由封二图1可见,假手术组大鼠海马区神经元排列规则,胞质丰富,胞核大。模型组大鼠海马神经元出现大量变性、坏死,细胞体积缩小,部分神经元细胞核深染,个别核固缩,破裂明显。与模型组

比较,阳性药对照组少量神经元细胞核深染,个别核固缩;中药低剂量组局部神经元细胞核深染,个别核固缩;中药中、高剂量组均显示个别神经元细胞核深染,偶见个别核固缩。

2.3 健脾填精方对VD大鼠海马组织GSH-PX和CHE的影响见表2

表2 健脾填精方对VD大鼠海马组织GSH-PX和CHE的影响/ $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{prot}$

组别	n	GSH-PX	CHE
假手术组	6	492.34 \pm 111.26	7.13 \pm 1.02
模型组	6	352.11 \pm 38.77 [#]	10.81 \pm 0.60 [#]
阳性药对照组	6	464.71 \pm 40.82*	8.78 \pm 0.91*
中药高剂量组	6	391.37 \pm 71.89	7.33 \pm 0.83*
中药中剂量组	6	469.65 \pm 61.99*	7.35 \pm 1.31*
中药低剂量组	6	393.60 \pm 87.05	8.40 \pm 1.10*

注: *:与模型组比较, $P<0.05$; #:与假手术组比较, $P<0.05$ 。

由表2可见,与假手术组比较,模型组GSH-PX含量下降($t=-2.91$, $P<0.05$),CHE含量升高($t=7.61$, $P<0.05$);与模型组比较,阳性药对照组、中药中剂量组GSH-PX含量明显升高(t 分别=4.89、3.94, P 均 <0.05),但中药低剂量组和中药高剂量组GSH-PX含量与模型组比较变化不明显(t 分别=1.06、1.18, P 均 >0.05)。与模型组比较,阳性药

对照组、中药低剂量组、中剂量组、高剂量组 CHE 含量均明显降低(t 分别=4.56、4.71、5.88、8.32, P 均 <0.05)。健脾填精方不同剂量组之间 GSH-PX、CHE 含量比较, 差异有统计学意义(F 分别=8.28、5.16, P 均 <0.05)。

3 讨论

VD 是脑血管疾病所致的认知功能障碍, 最突出的表现是学习与记忆能力的下降。采用水迷宫实验可以进行大鼠神经认知模型的验证和神经认知治疗可行性的评估^[6,7], 大鼠逃避时间、探索距离越短, 穿越次数、目标象限活动时间越长, 提示大鼠学习记忆能力越强。本次研究水迷宫实验结果提示, 健脾填精方能减少大鼠逃避潜伏期和探索距离, 增加穿越次数和目标象限活动时间, 表明健脾填精方可明显改善 VD 大鼠的学习记忆能力。

有报道表明, VD 大鼠海马区神经元大量凋亡, 为 VD 发病的病理基础^[8]。本研究通过永久性双侧颈总动脉结扎法制作 VD 大鼠模型, 并在实验中观察到 VD 模型大鼠海马区神经元出现大量变性、死亡, 细胞体积缩小。细胞染色呈深红色, 细胞核固缩, 可见明显破裂, 证实 VD 大鼠存在海马神经元凋亡。而海马神经元的大量凋亡, 也是 VD 发生发展的病理基础, 神经细胞凋亡受到抑制, VD 的发生可被延迟甚至逆转^[9-12]。本研究发现, 不同剂量中药组与模型组比较, 海马区神经元变性死亡明显减轻, 可见健脾填精方有抑制海马神经元凋亡的作用。

机体内氧自由基释放过多, 可使机体出现氧化应激损伤, 这也是导致 VD 的重要因素之一。清除过多的自由基, 可延缓 VD 病情进展^[13]。GSH-PX 为机体内存在的自由基清除剂, 可保护细胞膜结构及功能完整, 组织中含量高低可作用评价机体清除自由基能力高低的主要指标。本研究表明健脾填精方可明显提高 GSH-PX 的含量, 且不同剂量健脾填精方提高 GSH-PX 的效果有所区别, 中剂量组升高 GSH-PX 的效果最好, 而高剂量组及低剂量组的效果不及中剂量组。提示健脾填精方具有较好的抗氧化能力, 从而保护 VD 后继发的神经元的损伤, 可能为健脾填精方改善 VD 学习记忆功能的机制之一。剂量差异导致的 GSH-PX 升高幅度不同可能与下述原因有关: 随着剂量的增加, GSH-PX 升高幅度增加, 剂量效应在中剂量时达峰值, 随后逐渐下降。提示中剂量中药具有更好的改善

GSH-PX 效果。

学习记忆功能的神经系统是多个系统参与的复杂神经活动, 其中胆碱酯能系统为最为重要的系统之一。乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)为中枢胆碱能通路的重要神经递质, 海马及大脑皮质细胞减少时, 脑内的 ACh 水平下降, 学习记忆能力也随之下降^[14], 由于 ACh 性质极不稳定, 容易水解, 极难准确测定其含量, 故尚无有效的直接测定 ACh 的方法^[15]; 而 CHE 在胆碱能神经元内含量较高, 它又是 ACh 的降解酶, 因而测定脑组织中 CHE 活性, 即可判断脑内 ACh 含量的变化。通过检测 CHE 含量可准确反应神经元细胞受损情况^[16]。在本研究中, 测定大鼠海马组织 CHE 含量, 结果显示, 模型组大鼠海马的 CHE 含量高于假手术组, 提示脑缺血时存在胆碱能神经元蜕变, 促进 CHE 释放, 使脑组织可溶性 CHE 含量增加, 降低 ACh 水平, 学习记忆功能下降。阳性药物组及健脾填精方各剂量组均可以明显降低 VD 大鼠内 CHE 活性, 改善胆碱能系统的功能, 调节脑内 ACh 生理代谢, 从而达到治疗 VD 的目的。这种降低 CHE 活性也与剂量存在关系, 中剂量与高剂量下降幅度大于低剂量组, 提示中剂量后药物作用效果达平台期, 继续增加药物剂量并无明显的改善效果。这可能是其改善 VD 模型大鼠的学习记忆功能的另一个机制。

综上所述, 健脾填精方能减少 VD 大鼠水迷宫实验中逃避潜伏期、探索距离, 增加目标象限活动时间、穿越次数, 提示健脾填精方可改善 VD 大鼠的学习记忆障碍, 作用机制为: 提高 VD 大鼠海马组织 GSH-PX 的含量; 减少 VD 大鼠海马组织的 CHE 含量, 从而减少海马组织神经元细胞的损伤。

参考文献

- 1 Gannon J, Robison LS, Custozzo AJ, et al. Sex differences in risk factors for vascular contributions to cognitive impairment & dementia[J]. *Neurochem Int*, 2019, 127(1): 38-55.
- 2 Iadecola C, Duering M, Hachinski V, et al. Vascular cognitive impairment and dementia[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(25): 3326-3344.
- 3 Calabrese V, Glordano J, Sgnonile A, et al. Major pathogenic mechanisms in vascular dementia: roles of cellular stress response and hormesis in neuroprotection[J]. *J Neurosci Res*, 2016, 94(12): 1588-1603.

(下转第300页)

- idence of aneurysmal subarachnoid hemorrhage according to region, time period, blood pressure, and smoking prevalence in the population: A systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Neurol*, 2019, 76(5): 588-597.
- 3 Fung C, Inglin F, Murek M, et al. Reconsidering the logic of world federation of neurosurgical societies grading in patients with severe subarachnoid hemorrhage[J]. *J Neurosurg*, 2016, 124(2): 299-304.
 - 4 Zhang DD, Yan HY, Wei YX, et al. C-reactive protein/albumin ratio correlates with disease severity and predicts outcome in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(2): 480-490.
 - 5 Drake CG, Hunt WE, Sano K, et al. Report of world federation of neurological surgeons committee on a universal subarachnoid hemorrhage grading scale[J]. *J Neuro Surg*, 1988, 68(6): 985-986.
 - 6 Aggarwal A, Dhandapani S, Praneeth K, et al. Comparative evaluation of H&H and WFNS grading scales with modified H&H (sans systemic disease): A study on 1000 patients with subarachnoid hemorrhage[J]. *Neurosurg Rev*, 2018, 41(1): 241-247.
 - 7 Lasek-Bal A, Jedrzejowska-Szypulka H, Student S. The importance of selected markers of inflammation and blood-brain barrier damage for short-term ischemic stroke prognosis[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2019, 70(2): 209-217.
 - 8 王翠兰, 许位, 石秋艳. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血后血糖变化及其对预后的影响[J]. *贵州医药*, 2020, 44(8): 1192-1194.
 - 9 Yang BH, He Q, Ding CY, et al. High-sensitivity C-reactive protein as a predictive factor of acute kidney injury following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A prospective observational study[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2019, 161(9): 1783-1791.

(收稿日期 2020-07-17)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第296页)

- 4 Adel Ghorani-Azam, Samaneh Sepahi, Elham Khodaverdi, Seyed Ahmad Mohajeri. Herbal medicine as a promising therapeutic approach for the management of vascular dementia: A systematic literature review[J]. *PTR*, 2018, 32(9): 1720-1728.
- 5 何迎春, 何焯, 李谨等. 健脾填精方治疗轻度认知障碍21例疗效观察[J]. *新中医*, 2005, 37(12): 42-43.
- 6 Hartman RE, Lee JM, Zipfel GJ, et al. Characterizing learning deficits and hippocampal neuron loss following transient-global cerebral ischemia in rats [J]. *Brain Res*, 2005, 1043(1-2): 48-56.
- 7 叶翠飞, 张丽, 艾厚喜, 等. 两种水迷宫实验对拟痴呆模型学习记忆功能测试的比较[J]. *中国行为医学科学杂志*, 2004, 13(3): 252-253.
- 8 Zhao T, Fu Y, Sun H, et al. Ligustrazine suppresses neuron apoptosis via the Bax/Bcl-2 and caspase-3 pathway in PC12 cells and in rats with vascular dementia[J]. *IUBMB Life*, 2018, 70(1): 60-70.
- 9 罗永坚, 蔺心敬, 李吕力, 等. 血管性痴呆模型大鼠海马神经元凋亡和病理改变的实验研究[J]. *中国老年学杂志*, 2008(18): 1788-1790.
- 10 Qi YY, Feng XF, Qiu L, et al. 3-n-butylphthalide inhibits the apoptosis of nerve cells in rats with cerebral small vessel disease via the PI3K/Akt pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(10): 4474-4480.
- 11 靳贺超, 于文涛, 刘晓, 等. 补肾活血方对血管性痴呆大鼠海马细胞凋亡及 ERK2, CREB 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(12): 129-135.
- 12 刘明, 刘杨, 邓颖, 等. 蓝布正提取物对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及海马 NT-3, BDNF 蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(17): 154-158.
- 13 徐青, 孙强三, 王晓红, 等. 升黄益智方对痴呆模型小鼠脑组织 SOD 活性的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2007, 27(8): 734-735.
- 14 苗建亭, 游国雄, 王者晋. 血管性痴呆大鼠记忆障碍与海马胆碱能神经元关系的研究[J]. *中华老年医学杂志*, 1997, 16(6): 327-330.
- 15 徐斌, 陈俊抛, 周光斗, 等. 去松果体对大鼠学习记忆及大脑皮质胆碱能纤维的影响[J]. *中华神经科杂志*, 2000, 33(3): 153-155.
- 16 黄新武, 李国春, 李华, 等. 聪灵胶囊对血管性痴呆模型大鼠脑组织乙酰胆碱酯酶的影响[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(10): 2468-2469.

(收稿日期 2020-12-25)

(本文编辑 蔡华波)