

# 脑康胶囊对血管性痴呆大鼠行为学及 海马区凋亡基因的影响

武鹏<sup>1</sup>, 罗远带<sup>2</sup>, 甄丽芳<sup>2</sup>, 廖一诺<sup>1</sup>, 薛惠元<sup>1</sup>, 黄福开<sup>2\*</sup>, 肖炜<sup>1\*</sup>

(1. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515; 2. 中国藏学研究中心北京藏医院, 北京 100029)

**[摘要]** **目的:**探讨脑康胶囊对血管性痴呆大鼠行为学及海马区凋亡基因的影响。**方法:**健康 SD 大鼠,采用双侧颈总动脉永久性结扎方法制备血管性痴呆模型,随机分为假手术组、模型组、脑康组及银杏叶提取物组。ig 4 周后,对各组大鼠进行 Morris 水迷宫行为学测定,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测大鼠海马组织超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)表达水平;用实时荧光定量核酸扩增(qPCR),免疫印迹法(Western blot)检测 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 基因(Bax) mRNA,蛋白水平及 Bcl-2/Bax。**结果:**与假手术组比较,模型组逃避潜伏期明显延长,穿越平台次数和平台象限路径百分比明显减少;SOD 活性明显降低,MDA 活性明显升高;Bax mRNA 与蛋白水平显著增高,Bcl-2 mRNA 与蛋白水平显著降低,Bcl-2/Bax 降低。与模型组比较,脑康组逃避潜伏期明显缩短,穿越平台次数和平台象限路径百分比明显增加;SOD 活性明显升高,MDA 含量明显降低;Bax mRNA 与蛋白水平显著降低,Bcl-2 mRNA 与蛋白水平显著增高,Bcl-2/Bax 升高。**结论:**脑康胶囊可显著改善 VD 大鼠的学习和记忆能力,其机制可能与抗氧化应激,抑制海马区细胞凋亡有关。

**[关键词]** 脑康胶囊; 血管性痴呆; 行为学; Bax; Bcl-2; Bcl-2/Bax

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0111-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016090111

## Effect of Naokang Capsule on Vascular Dementia and Hippocampal Apoptosis Genes in Rats

WU Peng<sup>1</sup>, LUO Yuan-dai<sup>2</sup>, ZHEN Li-fang<sup>2</sup>, LIAO Yi-nuo<sup>1</sup>, XUE Hui-yuan<sup>1</sup>,  
HUANG Fu-kai<sup>2\*</sup>, XIAO Wei<sup>1\*</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;  
2. Beijing Tibetan Hospital, China Tibetology Research Center, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Naokang capsule on vascular dementia and hippocampal apoptosis genes in rats. **Method:** Vascular dementia models were established by permanent bilateral common carotid arteries occlusion in healthy male sprague-dawley rats, then were randomly divided into sham-operation group, model group, Naokang capsule group and ginkgo biloba extract (EGB) group. Morris water maze (MWM) was used to evaluate the learning and memory ability of rats after 4 weeks of intragastric administration. Expression levels of superoxide dismutase (SOD) and malonaldehyde (MDA) in hippocampal tissues of rats were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA and protein expression of Bcl-2 and Bax as well as Bcl-2/Bax ratio in hippocampus were detected by Real-time quantitative PCR and Western blot. **Result:** Compared with sham-operation group, the escape latency of model group was significantly prolonged; frequency of

**[收稿日期]** 20151023(004)

**[基金项目]** 国家重大财政专项(1981220400006);国家自然科学基金项目(81001674);广东省 211 工程三期重点学科建设项目(粤发改社 2009 431 号)

**[第一作者]** 武鹏,在读硕士,医师,从事中西医结合脑病工作,Tel:010-64932647,E-mail:wupeng\_19881123@163.com

**[通讯作者]** \*黄福开,硕士,副主任医师,从事中西医结合脑病工作,Tel:010-64933518,E-mail:huangfk58@163.com;

\*肖炜,博士,从事中药新药研究与开发,Tel:020-61648152,E-mail:xw76888@126.com

crossing platform and swimming distance were obviously shortened, SOD activity was decreased significantly and MDA activity was increased significantly, mRNA and protein expression levels of Bax were significantly increased and the levels of Bcl-2 were significantly decreased, resulting in a decreased Bcl-2/Bax ratio in hippocampus. Compared with the model group, the escape latency of the rats in Naokang group was significantly shortened, frequency of the crossing platform and swimming distance were obviously increased, SOD activity was increased significantly and MDA activity was decreased significantly, mRNA and protein expression levels of Bax were significantly decreased and the levels of Bcl-2 were significantly increased, resulting in an increased Bcl-2/Bax ratio. **Conclusion:** Naokang capsule could significantly improve the learning and memory ability of vascular dementia rats and the mechanism may be related to antioxidant stress and inhibiting hippocampal apoptosis genes expression.

**[Key words]** Naokang capsule; vascular dementia; behavior; Bax; Bcl-2; Bcl-2/Bax

血管性痴呆(VD)是由各种脑血管病引起的脑功能障碍而产生的获得性智能损害综合征,以记忆、认知功能缺损为主,可伴有语言、视空间技能及人格障碍。其发病率仅次于阿尔茨海默病<sup>[1]</sup>。近年流行病学表明,VD在65岁以上老年人中的患病率达到1.2%~4.2%,占有痴呆总数的10%~50%<sup>[2]</sup>,给社会、家庭带来巨大的经济负担<sup>[3-4]</sup>。目前发现VD的发生与许多因素如氧自由基大量生成、细胞凋亡、兴奋性氨基酸毒性、细胞信号转导等相关。其中自由基的大量产生是脑缺血缺氧后神经元损伤的重要因素之一,过多的自由基可攻击中枢神经系统脂质膜中的不饱和脂肪酸,产生大量的脂质过氧化物,进而使细胞膜的完整性遭到破坏,线粒体变性,使细胞发生不可逆改变,而最终导致细胞凋亡<sup>[5]</sup>。目前常用的治疗药物主要有乙酰胆碱脂酶抑制剂、胆碱能受体激动药、自由基清除剂和抗氧化剂类药物等<sup>[6]</sup>。然而由于VD的病因及病理基础尚未完全清楚,单一的靶向治疗药物往往很难达到满意的治疗效果。

脑康胶囊是北京藏医院用于治疗脑血管病的医院制剂,由何首乌、地龙、黄精、菟丝子、枸杞子、冬虫夏草、女贞子、当归、龟甲、石菖蒲、五味子、桃仁、西红花、珍珠粉、覆盆子、甘草共16味中药材组成,具有补肾益智、开窍豁痰、活血通络的功效,前期研究发现脑康胶囊具有改善脑细胞代谢,促进脑细胞发育,提高脑功能的作用,临床上常用于阿尔茨海默病、脑瘫、唐氏综合征等疾病的治疗<sup>[7-8]</sup>,但对于血管性痴呆的基础研究却鲜有报道。本实验旨在通过双侧颈总动脉永久性结扎方法(2VO)制备VD模型,并从自由基和细胞凋亡的水平变化来探讨其可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级健康SD大鼠52只,体重220~

240 g,由斯贝福(北京)实验动物科技有限公司提供,合格证号SCXK(京)2011-0004。

**1.2 药品与试剂** 脑康胶囊(北京藏医院制剂室,批准号20150107),银杏叶提取物片(德国威玛舒培博士药厂,注册证号H20090296);超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)酶联免疫(ELISA)试剂盒(北京诚林生物技术有限公司,批号分别为E-30266,E-30265);B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2,Abcam公司,批号ab32503),Bcl-2相关X基因(Bax,Novus Biologicals公司,批号NB100-92142);实时荧光定量PCR(qPCR)逆转录试剂盒,qPCR检测试剂盒(美国Fermentas公司,批号分别为k1631,k0221)。

**1.3 仪器** ZS-001morris型Morris水迷宫(北京众实迪创科技发展有限公司),Tanon 1220型凝胶图像分析仪(上海天能科技有限公司),BioPhotometer plus型核酸蛋白测定仪(德国Eppendorf公司),Step One Plus system型qPCR仪(美国Applied Biosystems公司)。

## 2 方法

**2.1 分组** 52只大鼠进行水迷宫筛选,去除5只在90 s之内未找到平台的大鼠<sup>[9]</sup>,将剩下48只大鼠随机选取10只作为假手术组,其余均采用2VO方法制备模型<sup>[10]</sup>,去除术中及术后死亡8只,将剩余的30只随机分为模型组、脑康(336.53 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)组、银杏叶提取物组(17.03 mg·kg<sup>-1</sup>),每组10只。术后第7天开始ig,连续4周,假手术组和模型组分别ig等体积的生理盐水。

**2.2 模型建立** 大鼠术前禁食不禁水12 h,称重后固定于自制的手术板上,水合氯醛腹腔麻醉(350 mg·kg<sup>-1</sup>)后暴露颈部,常规消毒,于颈部行正中切口,逐层分离肌肉和组织,玻璃分针钝性分离迷走神经和颈总动脉,用4号丝线分别结扎近心端和远心

端,并从中剪断,依次缝合伤口,术后 7 d 伤口常规碘伏消毒,假手术组仅分离颈总动脉但不结扎。

**2.3 药物剂量选择** 在预实验中对脑康胶囊进行不同剂量的筛选,根据体表面积法进行剂量换算,剂量设置为低(1/2 倍),中(1 倍),高(2 倍),连续 ig 4 周后进行水迷宫行为学检测,结果表明低、高剂量与模型组无明显差异,故本实验中采用中剂量进行实验。

**2.4 行为学检测** Morris 水迷宫共进行 6 d,前 5 d 为定位航行实验,将大鼠于固定的第 2 象限面向水池依次放入水中,记录大鼠在 90 s 内找到并爬上平台的时间即为逃避潜伏期,在规定时间内未找到平台的大鼠将其引导到平台上,并记录潜伏期为 90 s。所有大鼠均在平台上停留 30 s,4 次/d。第 6 天进行空间探索实验,将隐蔽的平台撤去,大鼠于第 1 象限入水,观察其穿越原平台的次数,及在目标象限的游泳路径占总路径的百分比。

**2.5 SOD,MDA 检测** 行为学实验结束后,大鼠水合氯醛腹腔麻醉后于冰上快速分离双侧海马,用滤纸吸干,精密称取海马,用预冷生理盐水制备成 10% 的脑组织匀浆,3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,取上清液,用考马斯亮蓝法测定海马组织蛋白含量,按试剂盒说明书测定 SOD,MDA 含量。

**2.6 免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白** 将分离出的海马组织提取总蛋白,10% SDS-PAGE 凝胶电泳,4 ℃,60 V 恒压转膜 2 h,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h;5% 脱脂奶粉稀释一抗(1:1 000),4 ℃ 孵育过夜。抗兔荧光二抗反应 1 h,凝胶图像分析仪分析目标条带。

表 1 脑康胶囊对血管性痴呆模型大鼠逃避潜伏期的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of Naokang capsule on escape latency in rat models of vascular dementia ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
假手术	-	78.93 ± 9.45	65.04 ± 14.79	43.98 ± 2.44	35.94 ± 2.58	20.11 ± 4.05
模型	-	83.80 ± 4.28	74.73 ± 12.40	53.26 ± 5.67 <sup>1)</sup>	42.46 ± 3.12 <sup>1)</sup>	34.03 ± 2.65 <sup>1)</sup>
脑康	336.53	80.95 ± 5.74	67.38 ± 11.94	44.67 ± 5.30 <sup>2)</sup>	35.33 ± 3.58 <sup>2)</sup>	24.06 ± 4.10 <sup>1,2)</sup>
银杏叶提取物	17.03	80.64 ± 7.26	67.05 ± 14.77	44.38 ± 6.55 <sup>2)</sup>	34.45 ± 5.13 <sup>2)</sup>	24.21 ± 4.30 <sup>1,2)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表 2~3 同)。

**3.2 脑康胶囊对大鼠海马组织总 SOD,MDA 含量的影响** 与假手术组比较,模型组海马组织 SOD 含量明显降低( $P < 0.05$ ),MDA 含量明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,脑康组、银杏叶提取物组海马组织 SOD 活性含量升高( $P < 0.05$ ),MDA 含量明显降低( $P < 0.05$ )。见表 3。

**3.3 脑康胶囊对大鼠海马组织 Bcl-2, Bax mRNA**

**2.7 qPCR 检测相关基因** 海马组织匀浆后,Trizol 法提取样品总 RNA,检测 RNA 纯度,取 1 μg 总 RNA 样品进行逆转录 cDNA,进行实时荧光定量检测。引物序列由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成, Bcl-2 (208 bp): 5'-GGGACGCGAAGTGCTATTGGT-3', 5'-CTCAGGCTGGAAGGAGAAGAT-3'; Bax (265 bp): 5'-GTTTCATCCAGGATCGAGCAGA-3', 5'-GCAAAGTAGAAGAGGGCAACCAC-3'; β-actin (150 bp): 5'-AGGGAAATCGTGCGTGACAT, 5'-GAACCGCTCATTGCCGATAG-3'。具体反应条件:95 ℃ 预变性 10 min,95 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火延伸 1 min,40 个循环。实验重复 3 次,数据采用  $\Delta\Delta C_t$  方法进行统计分析。

**2.8 统计学方法** 使用 SPSS 13.0 软件,计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较方差齐时用 LSD 检验,方差不齐时用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 脑康胶囊对大鼠行为学影响** 水迷宫定位航行中,各组逃避潜伏期随着训练天数的增加均有不同程度的缩短,第 3~5 天,与假手术组比较,模型组逃避潜伏期明显延长( $P < 0.05$ ),与模型组比较,脑康组、银杏叶提取物组逃避潜伏期均明显缩短( $P < 0.05$ )。水迷宫空间探索中,与假手术组比较,模型组穿越平台次数和平台象限路径百分比明显减少( $P < 0.05$ ),与模型组比较,脑康组和银杏叶提取物组穿越平台次数和平台象限路径百分比明显增加( $P < 0.05$ )。见表 1,2。

**表达的影响** 与假手术组比较,模型组海马组织 Bax mRNA 的转录水平明显增高( $P < 0.05$ ),Bcl-2 mRNA 的转录水平明显降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,脑康组、银杏叶提取物组海马 Bax mRNA 的转录水平明显降低( $P < 0.05$ ),Bcl-2 mRNA 转录水平明显增加( $P < 0.05$ ),与银杏叶提取物组比较,脑康组 Bax mRNA 的转录水平明显降低( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 2 脑康胶囊对血管性痴呆模型大鼠空间探索的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of Naokang capsule on spatial probe test results in rat models of vascular dementia ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	穿越平台次数/次	平台象限时间 百分比/%
假手术	-	4.50 ± 2.35	35.50 ± 0.33
模型	-	2.00 ± 1.26 <sup>1)</sup>	23.97 ± 0.36 <sup>1)</sup>
脑康	336.53	4.17 ± 0.75 <sup>2)</sup>	32.60 ± 0.81 <sup>2)</sup>
银杏叶提取物	17.03	4.33 ± 1.51 <sup>2)</sup>	32.26 ± 0.75 <sup>2)</sup>

表 3 脑康胶囊对血管性痴呆模型大鼠 SOD, MDA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

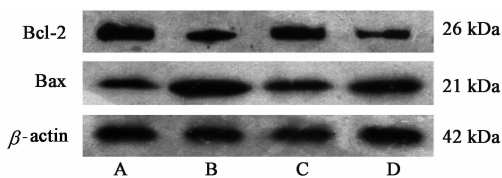
Table 3 Effect of Naokang capsule on SOD and MDA levels in rat models of vascular dementia ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	SOD/U·L <sup>-1</sup>	MDA/nmol·L <sup>-1</sup>
假手术	-	83.30 ± 20.40	2.10 ± 0.29
模型	-	20.16 ± 12.39 <sup>1)</sup>	2.82 ± 0.37 <sup>1)</sup>
脑康	336.53	73.51 ± 13.83 <sup>2)</sup>	2.38 ± 0.26 <sup>2)</sup>
银杏叶提取物	17.03	63.68 ± 10.88 <sup>1,2)</sup>	2.30 ± 0.40 <sup>2)</sup>

表 5 脑康胶囊对血管性痴呆模型大鼠 Bcl-2, Bax, Bcl-2/Bax 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 5 Effect of Naokang capsule on bcl-2, Bax protein expressions, Bcl-2/Bax in rat models of vascular dementia ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	Bax/g·L <sup>-1</sup>	Bcl-2/g·L <sup>-1</sup>	Bcl-2/Bax
假手术	-	0.57 ± 0.00	0.83 ± 0.06	1.44 ± 0.11
模型	-	1.18 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.47 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.39 ± 0.00 <sup>1)</sup>
脑康	336.53	0.69 ± 0.02 <sup>1,2,3)</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>1,2)</sup>	0.93 ± 0.05 <sup>1,2,3)</sup>
银杏叶提取物	17.03	0.95 ± 0.04 <sup>1,2)</sup>	0.57 ± 0.10 <sup>1,2)</sup>	0.60 ± 0.03 <sup>1,2)</sup>



A. 正常组; B. 模型组; C. 脑康胶囊组; D. 银杏叶提取物组

图 1 脑康胶囊对血管性痴呆模型大鼠蛋白含量的影响

Fig. 1 Effect of Naokang capsule on protein content in rat models of vascular dementia

#### 4 讨论

VD 属中医学“呆证”、“健忘”等范畴,病性多为本虚标实,以虚实夹杂多见,病机多为髓海不足,神机失用,气滞、痰浊、血瘀相兼为病。脑康胶囊由何首乌、地龙、黄精、菟丝子、枸杞子、冬虫夏草、女贞子、当归、龟甲、石菖蒲、五味子、桃仁、西红花、珍珠粉、覆盆子、甘草 16 味中药材组成,具有补肾益智、开窍豁痰、活血通络的功效。

目前基础研究中 VD 模型有许多种,本研究采

3.4 脑康胶囊对大鼠海马组织 Bcl-2, Bax 蛋白表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 Bax 蛋白表达明显增高 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2, Bcl-2/Bax 蛋白表达明显减少 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较,脑康组、银杏叶提取物组大鼠海马 Bax 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2, Bcl-2/Bax 蛋白表达明显增多 ( $P < 0.05$ ); 与银杏叶提取物组比较,脑康组 Bax 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2/Bax 明显增加 ( $P < 0.05$ )。见表 5, 图 1。

表 4 脑康胶囊对血管性痴呆模型大鼠 Bcl-2, Bax mRNA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of Naokang capsule on Bcl-2 and Bax mRNA expressions in rat models of vascular dementia ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) g·L<sup>-1</sup>

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	Bax	Bcl-2
假手术	-	0.08 ± 0.02	0.37 ± 0.11
模型	-	0.62 ± 0.33 <sup>1)</sup>	0.04 ± 0.02 <sup>1)</sup>
脑康	336.53	0.10 ± 0.05 <sup>2,3)</sup>	0.18 ± 0.10 <sup>1,2)</sup>
银杏叶提取物	17.03	0.21 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.10 ± 0.02 <sup>1,2)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; 与银杏叶提取物组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$  (表 5 同)。

用 2VO 模型<sup>[10]</sup>, 此造模方法可导致大鼠大脑皮质和海马区不可逆损伤, 而海马区被认为与学习和记忆能力密切相关, 对缺血损伤高度敏感<sup>[11-12]</sup>。本实验水迷宫结果显示, 与假手术组比较, 模型组逃避潜伏期明显延长, 穿越平台次数和平台象限路径百分比明显减少, 表明模型制备成功。

生物体内存在许多种类的氧自由基, 如超氧阴离子自由基、羟自由基、脂氧自由基等, 过多的氧自由基可引起正常细胞和组织的损坏, 与许多疾病的发生密切相关 (如肿瘤、心血管疾病等)<sup>[13]</sup>。正常情况下, 体内有许多氧自由基清除剂 (SOD, 过氧化氢酶等), 可使氧自由基的产生和清除保持动态平衡。当脑组织发生长期慢性低灌注时, 会产生大量氧自由基, 远远超过机体本身的清除能力, 最终导致痴呆<sup>[14]</sup>。SOD 是生物体内重要的抗氧化酶, 其含量的高低直接反应机体清除氧自由基的能力, 而 MDA 是氧自由基代谢中产生的脂质过氧化物, 其水平可

反映机体中脂质过氧化自由基的存在及严重程度。在本实验中,模型组 SOD 含量明显降低,MDA 水平明显增高,而给予脑康治疗后,SOD 含量明显升高,MDA 水平明显下降,表明脑康胶囊可通过调节脑内的自由基代谢来达到治疗 VD 的目的。

细胞凋亡在脑缺血再灌注损伤中起到关键作用,而海马区细胞凋亡是 VD 形成的机制之一<sup>[15-16]</sup>。Bcl-2, Bax 是 Bcl-2 蛋白家族中起主要调控细胞凋亡的两个成员,Bcl-2 通过阻止细胞色素 C 释放进入细胞质来达到抗凋亡的作用,Bax 可自身形成同源二聚体,破坏线粒体膜,促使细胞色素 C 的释放而达到促凋亡的作用,通过二者自身表达的高低来决定细胞是否凋亡。本实验结果显示,与假手术组比较,模型组 Bax mRNA 与蛋白水平明显升高,Bcl-2 mRNA 与蛋白水平明显降低,Bcl-2/Bax 降低,而脑康组大鼠 Bax mRNA 与蛋白水平明显降低,Bcl-2 mRNA 与蛋白表达水平明显增高,Bcl-2/Bax 增高,表明 VD 大鼠存在细胞凋亡的水平表达异常,脑康胶囊可通过逆转 VD 大鼠海马区细胞凋亡来达到学习记忆能力的改善。

综上,脑康胶囊可改善血管性痴呆大鼠的学习和记忆能力,其机制可能与抗氧化,抑制海马区细胞凋亡有关。

#### [参考文献]

[ 1 ] Sudduth T L, Powell D K, Smith C D, et al. Induction of hyperhomocysteinemia models vascular dementia by induction of cerebral microhemorrhages and neuroinflammation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(5):708-715.

[ 2 ] Knopman D S, Parisi J E, Boeve B F, et al. Vascular dementia in a population-based autopsy study [J]. *Arch Neurol*, 2003, 60(4):569-575.

[ 3 ] Iemolo F, Duro G, Rizzo C, et al. Pathophysiology of vascular dementia [J]. *Immun Ageing*, 2009, 6(1):1-9.

[ 4 ] Kalaria R N, Arizaga M R, Fried R P, et al. Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors [J]. *Lancet Neurology*, 2008, 7(9):812-826.

[ 5 ] 田瑜,赵瑛,宋春燕. 慢性脑缺血致血管性痴呆的研究现状[J]. *中国脑血管病杂志*, 2010, 7(9):496-500.

[ 6 ] 闫凤霞,高维娟. 血管性痴呆发病机制研究进展[J]. *承德医学院学报*, 2011, 28(1):77-80.

[ 7 ] 瞿泸. 脑力智宝治疗脑梗死后遗症的疗效观察[J]. *昆明医学院学报*, 2005(2B):51-53.

[ 8 ] 李子中,卜定方,穆莹,等. 李氏 5 号方治疗各种脑病的回顾性调查[C]. 合肥:第三届全国中西医结合神经系统疾病学术会议, 2000.

[ 9 ] 钱晓路,孙蓉. 筛选训练对 Morris 水迷宫测试成绩的影响[J]. *中国药物警戒*, 2013, 10(4):193-195.

[ 10 ] Liu C, Wu J, Gu J, et al. Baicalein improves cognitive deficits induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2007, 86(3):423-430.

[ 11 ] Xi Y, Wang M, Zhang W, et al. Neuronal damage, central cholinergic dysfunction and oxidative damage correlate with cognitive deficits in rats with chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, 109(3):7-19.

[ 12 ] Lee J Y, Lee H E, Kang S R, et al. Fluoxetine inhibits transient global ischemia-induced hippocampal neuronal death and memory impairment by preventing blood-brain barrier disruption [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 79(4):161-171.

[ 13 ] Zhao R R, Xu F, Xu X C, et al. Effects of alpha-lipoic acid on spatial learning and memory, oxidative stress, and central cholinergic system in a rat model of vascular dementia [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 587:113-119.

[ 14 ] Kaewkaen P, Tong-un T, Wattanathorn J, et al. Mulberry fruit extract protects against memory impairment and hippocampal damage in animal model of vascular dementia [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi:10.1155/2012/263520.

[ 15 ] Baskys A, Hou A C. Vascular dementia: pharmacological treatment approaches and perspectives [J]. *Clin Interv Aging*, 2007, 2(3):327-335.

[ 16 ] Hab L, Ji Z, Chen W, et al. Protective effects of Tao-Hong-Si-Wu decoction on memory impairment and hippocampal damage in animal model of vascular dementia [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, doi:10.1155/2015/195835.

[责任编辑 张丰丰]