

黄芪总皂苷改善血管性痴呆大鼠的认知功能

张娟利,刘清,王菲

摘要 目的:研究黄芪总皂苷(AST)对血管性痴呆(VD)大鼠的认知功能及细胞凋亡、氧化应激的影响。**方法:**选取40只健康雄性SPF级SD大鼠,随机分为假手术组、模型组、阳性对照组和AST组,每组10只。模型组、阳性对照组和AST组均采用双侧颈总动脉结扎术(BCCAO)建立VD大鼠模型,阳性对照组每天灌胃甲磺酸二氢麦角碱缓释胶囊混悬液,AST组每天给予AST溶液,假手术组和模型组分别给予等体积的生理盐水,共给药7 d。采用Morris水迷宫实验测试各组大鼠的认知功能;试剂盒检测大鼠海马组织中多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)、乙酰胆碱酯酶(AchE)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和活性氧(ROS)的含量;Western blotting检测B-细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)和活化型半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白水解酶-3(cleaved Caspase-3)蛋白的表达。**结果:**Morris水迷宫实验显示,自第2天开始,阳性对照组和AST组大鼠逃逸潜伏期时间短于模型组($P<0.05$),阳性对照组和AST组大鼠在目标象限的停留时间长于模型组($P<0.05$)。模型组大鼠海马组织中DA、5-HT和AchE的含量均低于假手术组($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组和AST组大鼠海马组织中DA、5-HT和AchE的含量升高($P<0.05$)。与假手术组相比,模型组大鼠Bcl-2的相对表达降低,而Bax和cleaved Caspase-3的相对表达显著升高($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组和AST组Bcl-2的相对表达提高,Bax和cleaved Caspase-3的相对表达降低($P<0.05$)。模型组大鼠海马组织中SOD的含量低于假手术组,MDA和ROS的含量高于假手术组($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组和AST组大鼠海马组织中SOD的含量升高,MDA和ROS的含量降低($P<0.05$)。**结论:**AST可显著改善VD大鼠的认知功能,其作用机制可能与调节神经递质释放、抑制氧化应激和海马组织神经元细胞凋亡有关。

关键词 黄芪总皂苷;血管性痴呆;认知功能;凋亡;氧化应激

中图分类号 R741;R741.05;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20201291

本文引用格式:张娟利,刘清,王菲. 黄芪总皂苷改善血管性痴呆大鼠的认知功能[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(5): 281-284.

作者单位
西电集团医院神
经内科
西安 710077
收稿日期
2020-12-22
通讯作者
王菲
chuangxinjulia@
163.com

血管性痴呆(vascular dementia, VD)是一种由于脑血管疾病所致的智力、记忆力、理解力等综合思维能力障碍的综合征^[1]。在我国,VD是仅次于阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的痴呆类型,其发病率达1.1%~3.0%^[2],该病可导致患者记忆力、理解力、计算力和定向力等综合思维能力的下降,严重影响患者的日常生活和社会功能^[3]。VD作为一种进行性疾病,尚无有效的根治方法,临床主要侧重于防治卒中、改善认知功能障碍及控制心血管危险因素^[4]。祖国传统医学认为,“虚、火、风、痰、气、血”为脑血管性疾病的基本病机,气虚血瘀为本病的主要病因,故治疗应以益气活血化痰为主^[5]。黄芪总皂苷(astragaloside, AST)为传统益气补血中药黄芪的主要活性组分,具有理气活血、补气升阳之功效,对脑血管疾病具有良好的疗效^[6]。既往研究表明,慢性脑低灌注(chronic cerebral hypoperfusion, CCH)与VD的发生发展密切相关,CCH可引起海马组织神经元的凋亡、自噬、氧化应激等一系列的稳态改变,因此,对海马组织神经元细胞凋亡和氧化应激的控制可能会保护神经,从而起到治疗VD的作用^[7,8]。故本研究将AST作用于VD模型大鼠,观察其对大鼠认知功能、神经元细胞凋亡及氧化应激的影响,以期对VD的临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雄性SPF级SD大鼠40只,体质量为(200±20)g,购自南京青龙山动物繁殖场,许可证号:SCXK(苏)2020-0696,饲养于恒温(20℃~25℃)恒湿(45%~65%)的洁净动物房内,自由摄食饮水。

1.1.2 主要试剂及设备 AST,购自江苏省医药有限公司,批号200623;甲磺酸二氢麦角碱缓释胶囊,购自赛诺菲安万特(杭州)制药有限公司,规格2.5 mg/片,国药准字H20041355;多巴胺(dopamine, DA)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)和乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)试剂盒,购自上海碧云天生物技术有限公司;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒,购自南京建成生物工程有限公司;BCA蛋白检测试剂盒,购自日本TAKARA公司;水合氯醛,购自美国Sigma公司;抗B-细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)兔多克隆抗体、兔抗Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)多克隆抗体、兔抗活化型半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白水解酶-3(cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-3, cleaved Caspase-3)多克隆抗体和抗β-肌动蛋白(β-actin)兔多克隆抗体,购自美国Cell Technology公司。Morris水迷宫动物行为分析系统,购自上海欣软信息科技有

限公司;低温离心机,购自美国 Thermo 公司;电子天平,购自瑞士 Mettler 公司。

1.2 方法

1.2.1 VD 模型制备 采用双侧颈总动脉结扎术(bilateral common carotid artery occlusion, BCCAO)建立 VD 大鼠模型^[9],大鼠腹腔注射 10%水合氯醛,待麻醉满意后仰卧固定,消毒后沿正中中线切开颈部皮肤,分离双侧颈总动脉,腹腔注射 3.5 mg/kg 硝普钠,采用无创动脉夹夹闭双侧颈总动脉约 10 min,然后移去动脉夹恢复血流 10 min,重复 2 次。于手术处撒少量青霉素粉末,缝合伤口,待大鼠自然清醒,放回笼中。

1.2.2 分组及给药 将 40 只大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性对照组和 AST 组,每组 10 只。模型组、阳性对照组、AST 组均照上述方法建立 VD 模型,假手术组不夹闭颈总动脉、不注射硝普钠,其余操作相同。造模成功后,阳性对照组每天灌胃 0.45 mg/kg 甲磺酸二氢麦角碱缓释胶囊混悬液,AST 组每天给予 56 mg/kg 的 AST 溶液,假手术组和模型组分别给予等体积的生理盐水,共给药 7 d。

1.2.3 大鼠认知功能测试 采用 Morris 水迷宫实验^[10]测试各组大鼠的认知功能。Morris 水迷宫为高 50 cm、直径 120 cm 的圆筒形宫体,内部设有一直径 10 cm 的平台,将平台置于第一象限水下约 1 cm 处,水中加入钛白粉以阻止大鼠看见水下平台。提前将大鼠置于水迷宫所在房间使其充分适应。维持水温在 20 ℃~24 ℃,每次实验均将大鼠由象限中点面向宫体壁投入水中。实验分为学习阶段和记忆阶段:①学习阶段设计为 5 d,于每天同一时间将大鼠投入水中,摄像头记录大鼠在 120 s 内寻找水下平台所需的时间,即逃逸潜伏期,若未在 120 s 内找到平台则记为 120 s,每只大鼠每天学习 4 次;②第 6 天为记忆阶段,移去水下平台,将大鼠投入水中后观察大鼠 120 s 内在原先平台所在象限(第一象限)内停留的时间。

1.2.4 大鼠海马组织中 DA、5-HT、AChE 和 SOD、MDA、ROS 的含量测定 大鼠断颈处死,取海马组织,用冰 PBS 缓冲液冲洗,滤纸擦干,称重。在冰浴下研磨,以 PBS 缓冲液制备成 10%的匀浆液,低温离心机 4 000 rpm 离心 10 min,取上清,检测其中 DA、5-HT 和 AChE 的含量;采用黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)法检测其中 SOD 的含量,荧光酶标仪检测 ROS 的含量,硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)法检测 MDA 的含量,所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.5 Western blotting 检测 Bcl-2、Bax 和 cleaved Caspase-3 蛋白的表达 取部分海马组织,冰 PBS 缓冲液洗涤 3 次,剪碎,过 200 目钢筛研磨,收集研磨后的海马组织,加入 200 μL 裂解液,采用 BCA 法定量蛋白,取总蛋白 40 μg,以 5×样品缓冲液配平上样体积,置于 100 ℃沸水浴上 5 min 使蛋白变性,上样,SDS-PAGE 电泳 90 min 后转膜 60 min,以 5%TBST 脱脂奶粉封闭,加一抗,4 ℃反应过夜,TBST 漂洗液洗膜 5 min 3 次,加 HRP 标记的二抗,37 ℃振荡孵育 90 min,于室温下将 PVDF 膜置于 ECL 混合液中振荡温育,采用凝胶成像系统显影并分析 Bcl-2、Bax 和 cleaved Caspase-3 条带的灰度值,与 β-actin 的灰度的比值即为

Bcl-2、Bax 和 cleaved Caspase-3 蛋白的相对表达。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件分析数据,计量资料以(均数±标准差)表示,t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

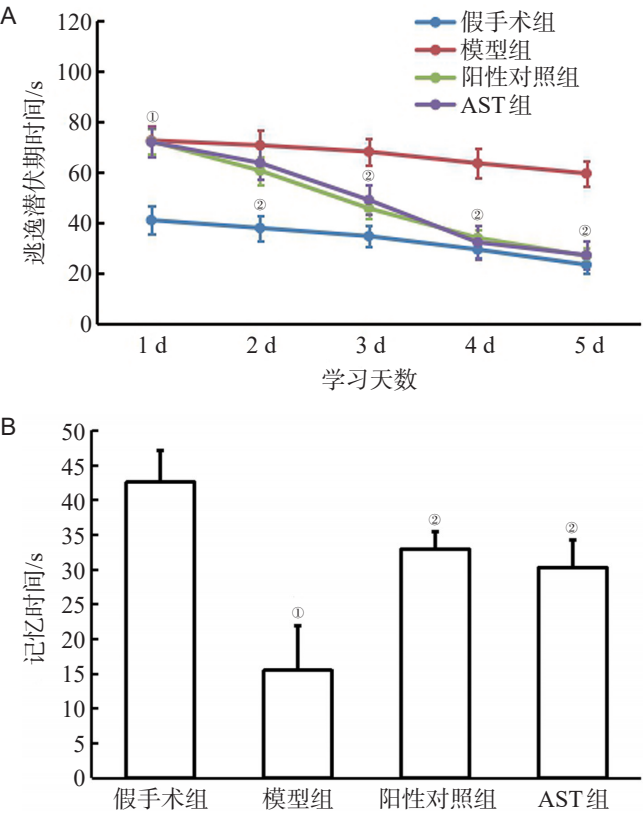
2 结果

2.1 大鼠一般情况

行 BCCAO 术后,模型组、阳性对照组和 AST 组大鼠苏醒后精神萎靡,不喜活动。模型组大鼠在整个实验期间摄食饮水减少,体重有所减轻,自发活动亦明显减少,部分大鼠出现眼睑下垂、毛发稀疏、缺乏光泽的现象,另有少数大鼠呼吸出现哮鸣音。阳性对照组和 AST 组大鼠在开始接受治疗后,上述症状均显著缓解,精神恢复正常,活动敏捷。各组大鼠在实验期间均未发生死亡。

2.2 大鼠认知功能比较

各组大鼠寻找水下平台的时间随着学习天数的增加均逐渐缩短,见图 1A;第 1 天时,模型组、阳性对照组和 AST 组大鼠寻找水下平台所需时间差异无统计学意义($P>0.05$);自第 2 天开始,阳性对照组和 AST 组大鼠所需时间短于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。第 6 天时,阳性对照组和 AST 组大鼠的停留时间长于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1B。



注:A:各组大鼠逃逸潜伏期比较;B:各组大鼠记忆时间比较。与假手术组比较,① $P<0.05$;与模型组比较,② $P<0.05$

图1 各组大鼠认知功能比较(n=10)

2.3 各组大鼠海马组织中 DA、5-HT 和 AChE 的含量比较

模型组大鼠海马组织中 DA、5-HT 和 AChE 的含量均低于假

手术组($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组和AST组大鼠海马组织中DA、5-HT和AChE的含量升高($P<0.05$);模型组大鼠海马组织中SOD的含量低于假手术组($P<0.05$),而MDA和ROS的含量高于假手术组($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组和AST组大鼠海马组织中SOD的含量升高($P<0.05$),同时MDA和ROS的含量降低($P<0.05$),见表1。

2.4 各组大鼠海马组织中Bcl-2、Bax和cleaved Caspase-3蛋白的相对表达

与假手术组相比,模型组大鼠Bcl-2的相对表达降低,而Bax和cleaved Caspase-3的相对表达升高($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组和AST组Bcl-2的相对表达提高,同时Bax和cleaved Caspase-3的相对表达降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2。

3 讨论

当今全球人口老龄化加剧,VD的发病率也日益增长,给患者家庭和社会带来极大的负担^[11]。传统中医认为,VD属“中风、文呆、武呆、健忘、郁证”的范畴,气虚血瘀、痰瘀互结为本病的主要病理机制,因此治疗应以益气活血化痰为主^[12]。现代药理学研究表明,AST具有抗炎、抗细胞自噬、抑制神经元细胞凋亡、改善脑组织能量代谢和抗氧化应激等作用,因此对脑血管疾病具有良好的疗效^[13,14]。

Morris水迷宫实验显示,自第2天开始,阳性对照组和AST组大鼠所需时间显著短于模型组,且第6天时阳性对照组和AST组大鼠在目标象限停留时间显著长于模型组,提示AST对VD模型大鼠的认知功能有显著的改善效果。认知功能与中枢胆碱能系统密切相关,临床研究认为中枢胆碱能系统受损是导致VD的重要原因之一^[15]。AChE分解生成重要的中枢神经系统神经递质—乙酰胆碱(acetylcholine, ACh),后者在海马组织及神经元活动中发挥关键作用。DA和5-HT作为单胺类神经递质,参与大脑的功能活动。张惠琴等^[16]的研究显示,大鼠海马区内单胺类递质的含量可反映VD模型大鼠的认知功能情况,DA、5-HT、AChE及去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)的含量升高,

说明大鼠认知功能越好。本研究中,模型组大鼠海马组织中DA、5-HT和AChE的含量均低于假手术组,而阳性对照组和AST组大鼠在接受治疗后,海马组织中DA、5-HT和AChE的含量升高,提示AST可通过提高海马组织神经递质的释放而达到改善VD大鼠认知功能的效果。

海马组织在学习、记忆等认知和综合思维能力方面起关键作用,但其对缺血缺氧等因素极为敏感。既往研究^[17,18]认为,氧化应激在VD发病过程中扮演重要的角色,当海马组织发生缺血缺氧损伤时,其ROS的表达水平便会升高。ROS具有高度氧化活性,可导致核酸、结构蛋白、糖类、脂类等氧化性损伤,进而造成组织细胞受损。SOD为机体内重要的氧自由基清除剂,对防止氧化应激损伤至关重要。MDA是机体氧化反应的产物之一,其表达水平可体现体内氧自由基的水平,进而反映机体氧化应激的损伤程度^[19]。在本研究中,模型组大鼠海马组织中SOD的含量低于假手术组、MDA和ROS的含量高于假手术组,阳性对照组和AST组大鼠经治疗后,海马组织中SOD的含量升高、MDA和ROS的含量显著降低,提示AST可抑制VD模型大鼠海马组织内的氧化应激,从而对VD起到治疗作用。李静娴等^[20]的研究同样表明,AST与三七总皂苷(panax notoginseng saponins, PNS)联合应用于缺血再灌注损伤模型大鼠,可有效改善其神经功能和认知功能,其作用机制与降低海马区氧化应激有关。

氧化应激与细胞凋亡之间存在紧密的联系,当细胞发生氧化损伤或应激反应时,凋亡调控程序即被激活^[21]。细胞内过量的氧自由基能诱导Caspase-3的活化,剪切多种关键蛋白,从而激活凋亡发生。Bax是一种重要的促凋亡蛋白,在受到凋亡信号刺激时即可发生构象改变,并转移至线粒体内,促使线粒体内细胞色素C(cytochrome c, cyt-c)的释放,而cyt-c的大量释放可激活Caspase-9,切割Caspase-3前体,启动Caspase级联放大反应,造成DNA损伤,进一步介导细胞凋亡。Bcl-2是一种重要的抗凋亡蛋白,可与Bax形成异源二聚体,阻碍Bax发挥促进线粒体内cyt-c释放的作用,从而抑制细胞凋亡的发生^[22,23]。单铁强等^[24]报道称,黄芪提取物可通过降低大鼠海马组织中NF-κB和

表1 各组大鼠海马组织中DA、5-HT、AChE、SOD、MDA和ROS的含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	DA/($\times 10^{-6}$)	5-HT/($\times 10^{-6}$)	AChE/(U/mg)	SOD/(U/mg)	MDA/(nmol/mg)	ROS/(RFU/ug)
假手术组	10	52.79±5.66	45.73±5.17	2.83±0.19	2.49±0.56	1.13±0.17	1.03±0.15
模型组	10	20.42±3.02 ^①	24.74±3.34 ^①	1.56±0.12 ^①	0.82±0.12 ^①	4.04±1.14 ^①	2.76±0.32 ^①
阳性对照组	10	39.67±5.05 ^②	39.18±4.85 ^②	2.42±0.23 ^②	1.67±0.15 ^②	1.88±0.55 ^②	1.38±0.33 ^②
AST组	10	36.87±4.31 ^②	35.99±4.32 ^②	2.33±0.27 ^②	1.59±0.21 ^②	1.83±0.62 ^②	1.43±0.37 ^②

注:与假手术组相比,^① $P<0.05$;与模型组相比,^② $P<0.05$

表2 各组大鼠海马组织中Bcl-2、Bax和cleaved Caspase-3蛋白的表达($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	Bcl-2	Bax	cleaved Caspase-3
假手术组	10	1.09±0.09	0.24±0.03	0.89±0.16
模型组	10	0.32±0.02 ^①	0.93±0.08 ^①	1.66±0.22 ^①
阳性对照组	10	0.81±0.05 ^②	0.64±0.05 ^②	1.09±0.13 ^②
AST组	10	0.77±0.06 ^②	0.61±0.05 ^②	1.13±0.17 ^②

注:与假手术组相比,^① $P<0.05$;与模型组相比,^② $P<0.05$

Caspase-3 蛋白的表达,从而抑制痴呆大鼠神经细胞的凋亡。李虎虎等^[25]的研究显示,黄芪注射液可升高糖尿病神经损伤模型大鼠海马区抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,并降低促凋亡基因 Bax 及 Caspase-3 的表达,从而改善大鼠的学习记忆能力。本研究结果显示,模型组大鼠 Bcl-2 的相对表达低于假手术组,而 Bax 和 cleaved Caspase-3 的相对表达高于假手术组;阳性对照组和 AST 组 Bcl-2 的相对表达提高、Bax 和 cleaved Caspase-3 的相对表达降低,提示 AST 可改善 VD 大鼠海马组织神经元细胞的凋亡,从而达到治疗 VD 的目的。

综上所述,本研究显示,AST 可显著改善 VD 大鼠的认知功能,其作用机制可能与调节神经递质释放、抑制氧化应激和海马组织神经元细胞凋亡有关。

参考文献

[1] Kalaria RN. The pathology and pathophysiology of vascular dementia [J]. *Neuropharmacology*, 2018, 134: 226-239.

[2] 廖张元. 血管性痴呆的研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2019, 22: 113-116.

[3] Geng YJ, Wu QH, Zhang RQ. Effect of propofol, sevoflurane, and isoflurane on postoperative cognitive dysfunction following laparoscopic cholecystectomy in elderly patients: a randomized controlled trial[J]. *J Clin Anesth*, 2017, 38: 165-171.

[4] 中国医师协会神经内科分会认知障碍专业委员会,《中国血管性认知障碍诊疗指南》编写组. 2019 年中国血管性认知障碍诊疗指南[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99: 2737-2744.

[5] 高丽红. 血管性痴呆中医证候及治疗效果研究[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14: 445-447.

[6] Huang XP, Ding H, Yang XQ, et al. Synergism and mechanism of astragaloside IV combined with ginsenoside Rg1 against autophagic injury of PC12 cells induced by oxygen glucose deprivation/reoxygenation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 124.

[7] Du SQ, Wang XR, Xiao LY, et al. Molecular mechanisms of vascular dementia: What can be learned from animal models of chronic cerebral hypoperfusion[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 3670-3682.

[8] Vijayan M, Reddy PH. Stroke, vascular dementia, and Alzheimer's disease: molecular links[J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 54: 427-443.

[9] Zhang LM, Jiang CX, Liu DW. Hydrogen sulfide attenuates neuronal injury induced by vascular dementia via inhibiting apoptosis in rats[J]. *Neurochem Res*, 2009, 34: 1984.

[10] Carter SD, Mifsud KR, Reul JM. Distinct epigenetic and gene

expression changes in rat hippocampal neurons after Morris water maze training[J]. *Front Behav Neuro*, 2015, 9: 156.

[11] Zhu NW, Yin XL, Lin R, et al. Possible mechanisms of lycopene amelioration of learning and memory impairment in rats with vascular dementia[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15: 332.

[12] 杨铭, 林海燕, 傅志泉. 黄芪注射液联合血管通治疗气虚血瘀型急性脑梗死临床疗效观察[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 23: 1077.

[13] Hu H, Yang R, Jin G, et al. Effect of Astragaloside IV on Neural Stem Cell Transplantation in Alzheimer's Disease Rat Models[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 23: 1-8.

[14] Cao YL, Chen CF, Wang AW, et al. Changes of peripheral-type benzodiazepine receptors in the penumbra area after cerebral ischemia-reperfusion injury and effects of astragaloside IV on rats[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14: 277-285.

[15] 王济淮, 陈文, 王玉良. 血管性痴呆大鼠脑室管膜下区和齿状回神经干细胞增殖分化的动态变化[J]. *中国应用生理学杂志*, 2013, 29: 170-173.

[16] 张惠琴, 张毅, 周丽雅, 等. 夏天无总碱对血管性痴呆大鼠海马神经元凋亡及认知功能的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54: 142-146.

[17] Zhao X, Liu J, Yang S, et al. Ling-Yang-Gou-Teng-decoction prevents vascular dementia through inhibiting oxidative stress induced neurovascular coupling dysfunction[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 10: 229-238.

[18] El-Dessouki AM, Galal MA, Awad AS, et al. Neuroprotective effects of simvastatin and cilostazol in L-methionine-induced vascular dementia in rats[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 5074-5084.

[19] Ling Y, Suli L, Wenwen T, et al. Biomimetic Superoxide Dismutase Stabilized by Photopolymerization for Superoxide Anions Biosensing and Cell Monitoring[J]. *Anal Chem*, 2014, 86: 4783-4790.

[20] 李静嫻, 杨筱倩, 唐标, 等. 黄芪甲苷和三七总皂苷伍抗大鼠脑缺血再灌注损伤及其药动学的研究[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42: 3786-3794.

[21] Chen XM, Yu YH, Wang L, et al. Effect of the JAK2/STAT3 signaling pathway on nerve cell apoptosis in rats with white matter injury[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23: 321-327.

[22] Badr R, Hashemi M, Javadi G, et al. Assessment of global ischemic/reperfusion and Tacrolimus administration on CA1 region of hippocampus: gene expression profiles of BAX and BCL2 genes[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2016, 117: 358-362.

[23] Buschhaus JM, Gibbons AE, Luker KE, et al. Fluorescence lifetime imaging of a caspase-3 apoptosis reporter[J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2017, 77: 12-21.

[24] 单铁强, 单铁英, 高立威, 等. 黄芪提取物对老年痴呆大鼠 NF- κ B 和 I κ B- α 蛋白表达的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2017, 7: 38-40.

[25] 李虎虎, 魏冰, 曾文赞. 黄芪注射液抑制糖尿病大鼠海马神经元凋亡的机制研究[J]. *天津中医药*, 2017, 34: 836-840.

(本文编辑:王晶)