

研究报告

川芎活性物质阿魏酸乙酯联合有氧运动改善阿尔茨海默病大鼠的认知功能研究

董晋,韩泽宇

(山西大学体育学院,山西太原 030006)

摘要:目的 探讨川芎活性物质阿魏酸乙酯(EFE)联合有氧运动(AE)对阿尔茨海默病(AD)大鼠认知功能的影响及作用机制。方法 将70只SD大鼠随机分为5组($n=12$):对照组、模型组、AE组、EFE组和AE+EFE组。通过对大鼠双侧海马注射 β -淀粉样蛋白1-42(A β 1-42)诱导AD大鼠模型。建模1周后,AE组和AE+EFE组大鼠进行有氧跑台运动,其他组大鼠不运动;EFE组和AE+EFE组大鼠灌胃2 mL 100 mg/kg的阿魏酸乙酯,其他组大鼠灌胃2 mL 0.5%羧甲基纤维素钠,共灌胃6周。给药结束后,通过Morris水迷宫实验评估大鼠的认知功能。根据试剂盒说明检测海马组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)水平。利用qRT-PCR检测海马组织 β -淀粉样前体蛋白裂解酶1(BACE1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、核因子红细胞2相关因子2(Nrf2)、Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Keap1)和血红素加氧酶1(HO-1)转录水平。通过Western blot检测海马组织BACE1和A β 1-42蛋白表达水平。结果 与AE组和EFE组比较,AE+EFE组的逃避潜伏期降低,60 s内穿越平台的次数显著升高($P<0.05$),海马组织SOD和CAT水平显著升高,海马组织MDA水平显著降低($P<0.05$)。与AE组和EFE组比较,AE+EFE组的海马组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和Keap1 mRNA相对表达量显著降低($P<0.05$),而Nrf2和HO-1 mRNA相对表达量显著升高。与AE组和EFE组比较,AE+EFE组的海马组织BACE1 mRNA、BACE1蛋白和A β 1-42蛋白相对表达量降低($P<0.05$)。结论 阿魏酸乙酯联合有氧运动可有效改善AD大鼠的认知功能,其机制可能与抑制氧化应激、炎症和A β 的积累有关。

关键词:阿魏酸乙酯;有氧运动;阿尔茨海默病;认知功能;淀粉样 β 蛋白

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)06-0659-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.06.004

Effects of combination of *Ligusticum chuanxiong* active substance ethyl ferulate and aerobic exercise on cognitive function of Alzheimer's disease rats

DONG Jin, HAN Zeyu

(School of Physical Education, Shanxi University, Shanxi Taiyuan 030006, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of combination of *Ligusticum chuanxiong* active substance ethyl ferulate (EFE) and aerobic exercise (AE) on cognitive function of rats with Alzheimer's disease (AD). **Methods** Seventy SD rats were randomly divided into 5 groups (Control group, Model group, AE group, EFE group and AE+EFE group $n=12$). The rat model of AD was induced by injecting β -amyloid 1-42 (A β 1-42) into the hippocampus of rats on both sides. One week after modeling, the rats in AE group and AE+EFE group took aerobic treadmill exercise, while the other groups did not exercise. And the rats in EFE group and AE+EFE group were gavaged with 2 mL 100 mg/kg ethyl ferulate, the rats in other groups were gavaged with 2 mL 0.5% sodium carboxymethyl cellulose. All groups were treated for 6 weeks. After administration, the rats' cognitive function was assessed by the Morris Water maze test. The levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) in hippocampal tissue were detected according to the instructions of the kit. Hippocampal β -amyloid precursor protein lyase 1 (BACE1), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), nuclear factor erythrocyte 2-associated factor 2 (Nrf2), Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) and heme oxygenase 1 (HO-1) transcription levels were detected by qRT-PCR. The expression levels of BACE1 and A β 1-42 in hippocampus were detected by western blot. **Results** Compared with AE

收稿日期:2023-02-27

基金项目:2022年度山西省高等学校重点研究基地项目(2022J008)

作者简介:董晋 男 副教授 研究方向为运动生理学 E-mail:1228332970@qq.com

group and EFE group, the escape latency of AE+EFE group decreased, and the number of crossing the platform within 60 s increased significantly ($P<0.05$). Compared with AE group and EFE group, SOD and CAT levels in the hippocampus of AE+EFE group increased, while MDA levels in the hippocampus decreased significantly ($P<0.05$). Compared with AE and EFE groups, the mRNA relative expressions of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in hippocampus of AE+EFE group decreased significantly ($P<0.05$). Compared with AE and EFE groups, the relative expression levels of Nrf2 and HO-1 mRNA in the hippocampus of AE+EFE group were increased, while the relative expression levels of Keap1 mRNA decreased significantly ($P<0.05$). Compared with AE and EFE groups, the relative expressions of BACE1 mRNA, BACE1 protein and A β 1-42 protein in the hippocampus of AE+EFE group decreased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** Ethyl ferulate combined with aerobic exercise can effectively improve the cognitive function of AD rats, and the mechanism may be related to the inhibition of oxidative stress, inflammation and accumulation of A β .

Key words: Ethyl ferulate; aerobic exercise; Alzheimer's disease; cognitive function; amyloid beta protein

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄相关的进行性神经退行性疾病,是导致老年痴呆的最常见原因^[1]。AD的临床表现主要为认知功能障碍和行为学改变。此外,患者还可能出现抑郁、焦虑、躁动、睡眠障碍等症状^[2]。虽然多项研究表明有氧运动可减轻AD大鼠海马组织受损及空间学习记忆能力障碍^[3-4],但目前还没有确切的治疗方法可以完全阻止AD相关的认知功能障碍。也有学者已经报道天然药物在治疗AD方面具有显著疗效,且安全性高^[5]。因此药物联合有氧运动可能是防治AD的有效途径。AD的主要病理特征是细胞外淀粉样 β 蛋白(β -amyloid, A β)斑块沉积和细胞内由过度磷酸化的tau蛋白组成的神经元纤维缠结^[6]。此外,氧化应激和神经炎症也是AD发生和发展的主要原因^[7]。因此,具有抑制A β 合成、抗氧化和抗炎特性的药物可能在防治AD的进展方面具有应用前景^[7]。

川芎是中医临床上最重要、最常用的活血化瘀药之一,川芎单独使用或与其他药物配伍使用可改善缺血性疾病、头痛和月经不调。同时,川芎在我国也被广泛用作保健食品,对预防脑血管疾病和妇科疾病具有保健作用。川芎是药食同源中草药目录中记录的药食同源中草药,其嫩叶和茎经常作为食物材料食用。根据原国家食品药品监督管理局的数据库,在中国市场上含有川芎提取物的保健食品有77种^[8]。川芎在治疗AD方面具有悠久历史^[9]。阿魏酸乙酯(Ethyl ferulate, EFE)是阿魏酸的天然亲脂性衍生物,分子量为222.24,分子式为C₁₂H₁₄O₄,最初来源于川芎,具有抗血栓形成、抗炎、抗氧化等药理作用^[10-11]。EFE的亲油性更强,对羟基自由基和超氧阴离子都具有更好的清除性能^[12]。研究表明, EFE可诱导血红素加氧酶-1(Heme oxygenase 1, HO-1)的表达,并保护大鼠神经元免受氧化应激^[13]。EFE还保护神经元免受 β -淀粉样蛋白1-42(A β 1-42)诱导的氧化应激和神经毒性^[14]。目前尚无学者

报道EFE在防治AD方面的研究。因此,本研究旨在揭示川芎活性物质EFE联合有氧运动对AD大鼠认知功能的影响及作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

70只8周龄雄性SPF级SD大鼠(300~340g)购自广东维通利华实验动物技术有限公司[生产许可证:SCXK(粤)2022-0063,使用许可证号:SYXK(晋)2022-0003],大鼠买回后先预适应饲养1周,然后进行后续实验,饲养期间环境条件保持恒定[(23 \pm 2) $^{\circ}$ C, (55 \pm 5)%湿度, 12h光暗交替],不限制饮食。大鼠饲料(产品代码:LAD1000M)购自南通特洛菲饲料科技有限公司。动物实验伦理审批号为(2022)科研第(13)号。

1.1.2 主要仪器与试剂

动物实验跑台(型号:ZH-PT/5S,安徽正华生物仪器设备有限公司);Morris水迷宫系统(型号: BHV-M1,北京必海微科技有限公司);分光光度计(型号:NanoDrop 1000,美国Thermo Scientific公司);实时定量PCR仪(型号:CFX96,美国Bio-Rad公司)。

EFE(货号:HY-N0061,纯度:99.89%,美国Med Chem Express公司);大鼠A β 1-42多肽(货号:MB3894,大连美仑生物技术有限公司);二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO, 货号:D2650,美国Sigma公司);羧甲基纤维素钠(货号:S14017,上海源叶生物科技有限公司);超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD, 货号:A001-3-2)、过氧化氢酶(Catalase, CAT, 货号:A007-1-1)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA, 货号:A003-1-2)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;PrimerScript RT试剂盒(货号:RR047A)、SYBR Premix Ex Taq II试剂盒(货号:RR820A)均购自日本TaKaRa公司,Trizol试剂(货号:R0016)、RIPA裂解液(货号:P0013B)、BCA试剂盒(货号:

P0009)、ECL 试剂盒(货号:P0018M)均购自碧云天生物技术研究所;BACE1 一抗(货号:ab183612)、 β -actin 一抗(货号:ab8226)、HRP 结合的 IgG 二抗(货号:ab6721)均购自美国 Abcam 公司;A β 1-42 一抗(货号:14974,购自美国 Cell Signaling Technology 公司);PVDF 膜(货号:YB101123-1,美国 Millipore 公司)。引物由生工生物工程股份有限公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 AD 大鼠模型的建立

参考文献[15]所述方法,通过对 55 只大鼠双侧海马注射 A β 1-42 诱导 AD 大鼠模型。实验前先对大鼠进行 Morris 水迷宫实验,剔除先天愚钝的大鼠。使用 50% DMSO 溶解 1 mg A β 1-42,再用生理盐水稀释成浓度为 2 μ g/ μ L 的溶液。37 $^{\circ}$ C 孵育 7 d。1% 戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉大鼠,脑立体定位仪上固定,75% 乙醇消毒延颅顶中线周围皮肤,并做 1 cm 纵形切口并找到前囟,定位双侧海马 CA1 区,使用牙钻打开颅骨,暴露硬脑膜,使用 5 μ L 微量注射器针头缓慢向双侧脑室注入 5 μ L A β 1-42。12 只假手术大鼠注射等体积的生理盐水。注射完成后缝合伤口。造模后 7 d 采用 Morris 迷宫实验对大鼠进行认知功能测试,存在明显认知缺陷的大鼠即为 AD 模型大鼠。

1.2.2 动物分组及处理

建模后,将大鼠随机分为 5 组($n=12$):对照组、模型组、AE 组、EFE 组和 AE+EFE 组。对照组为进行假手术的大鼠,其他组为 AD 建模成功的大鼠。建模 1 周后,AE 组和 AE+EFE 组大鼠进行有氧跑台运动,其他组大鼠不运动。运动方案^[16]为:第 1 周进行适应性训练,第 1~3 天跑台速度为 5 m/min,第 4 天为 10 m/min,第 5 天为 15 m/min。每天运动 1 次,每次 30 min,坡度为 0。第 2 周之后跑台速度保持 15 m/min 不变,运动时间为 1 h,坡度为 0。每周运动 5 d。共运动 6 周。大脑术后 1 周,EFE 组和 AE+EFE 组大鼠灌胃 2 mL 100 mg/kg 的 EFE(溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠),其他组大鼠灌胃 2 mL 0.5% 羧甲基纤维素钠。共灌胃 6 周。

1.2.3 Morris 水迷宫实验

给药结束后,通过 Morris 水迷宫实验评估大鼠的认知功能。Morris 水迷宫系统由视频分析系统和圆形水池(直径 150 cm、高 60 cm)组成,圆形水池第二象限中心放置距水面 2 cm 的大鼠站台(直径 12 cm)。水温设置为 23 $^{\circ}$ C,水深为 50 cm。

定位航行实验:大鼠随机选择某个象限入水,记录大鼠登陆站台的时间。每天训练 4 次,间隔 10 min,共训练 6 d,取大鼠 4 次入水到登陆站台的

时间平均值作为当天的逃避潜伏期。

空间探索实验:定位航行实验后移除站台,将大鼠从第四象限入水,记录 60 s 内穿越平台的次数。

1.2.4 海马组织氧化应激指标检测

Morris 水迷宫实验后,处死大鼠,分离海马组织并研磨、匀浆,4 $^{\circ}$ C 3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 8 cm),分离上清液,根据制造商说明检测海马组织 SOD、CAT 和 MDA 水平。

1.2.5 qRT-PCR

使用 Trizol 试剂提取大鼠海马组织总 RNA。使用分光光度计测定总 RNA 纯度。使用 PrimerScript RT 试剂盒逆转录。使用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒在 Bio-Rad CFX96 实时定量 PCR 仪上对 β -淀粉样前体蛋白裂解酶 1(β -amyloid precursor protein lyase 1, BACE1)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、核因子红细胞 2 相关因子 2(Nuclear factor erythrocyte 2-associated factor 2, Nrf2)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)和 HO-1 基因进行 PCR 扩增。PCR 扩增条件为:95 $^{\circ}$ C 1 min;95 $^{\circ}$ C 10 s, 58 $^{\circ}$ C 10 s, 72 $^{\circ}$ C 10 s, 40 个循环。 β -actin 作为内参基因。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量。引物序列如表 1 所示。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因名称	引物序列(5'-3')
BACE1	F:GACGGACGAGGAACCTGAGGAG
	R:GTGTAGGGCACATACACAGAC
TNF- α	F:CCGCTTGCTGGTTTGTACGAC
	R:GCTCCAACAAGGAGGAGAAGTTC
IL-1 β	F:GTGTAACCGCAGCTCAGTAACA
	R:TCAGCAAGCAGGAGTACGATG
IL-6	F:CTGCAAGAGACTTCCATCCAG
	R:AGTGTATAGACAGGTCTG TTGG
Nrf2	F:CTTGGCCTCAGTGATTCTGAAGTG
	R:CCTGAGATGGTGACAAGGGTTGTA
Keap1	F:ATCTAGGGCATCCCTGCTCCC
	R:ACAGAAGTTGGGTCATTGGCT
HO-1	F:CAGGAGCTGCTGACCCATGA
	R:AGCAACTGTCGCCACCAGAA
β -actin	F:CCCATCTATGAGGTTACGC
	R:TATAATGTCACGCACGATTTC

1.2.6 分子印迹(Western blot)

使用 RIPA 裂解液裂解海马组织,经 BCA 法测量蛋白质浓度后,取等量蛋白质在 12% SDS-PAGE 电泳并转移到 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶封闭 1 h,然后将膜与 BACE1(1:2 000)、A β 1-42(1:2 000)和 β -actin(1:5 000)一抗在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜,然后将膜与 HRP 结合的 IgG 二抗(1:5 000)37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h。

ECL 显影、ImageJ 软件分析条带灰度值。 β -actin 作为内参蛋白。

1.3 统计学分析

所有数据均使用 SPSS 22.0 软件分析,所有数据均先进行正态分布检验和方差齐性检验,符合正态分布和方差齐性的数据通过单因素方差分析及 LSD 检验比较组间差异, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

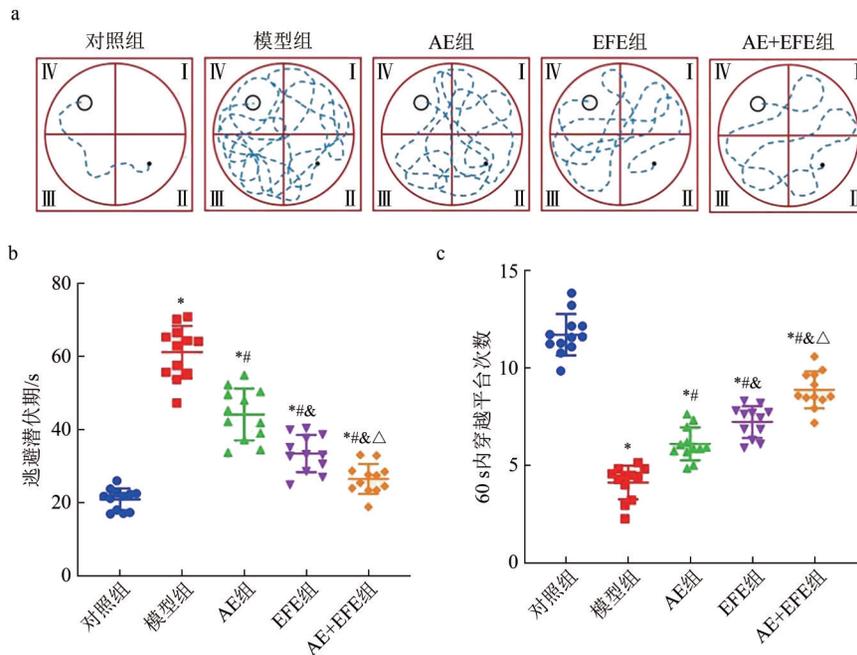
2.1 EFE 联合有氧运动对 AD 大鼠认知功能的影响

55 只进行 AD 建模的大鼠中有 48 只建模成功,建模成功率为 87.27%。Morris 水迷宫实验显示各组逃避潜伏期($F=99.574, P<0.001$)和穿越平台次数($F=119.104, P<0.001$)差异有统计学意义。与对照组比较,模型组的逃避潜伏期升高,60 s 内穿越平台的次数显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,

AE 组、EFE 组和 AE+EFE 组的逃避潜伏期显著降低,60 s 内穿越平台的次数显著升高($P<0.05$)。与 AE 组和 EFE 组比较,AE+EFE 组的逃避潜伏期显著降低,60 s 内穿越平台的次数显著升高($P<0.05$),见图 1。

2.2 EFE 联合有氧运动对 AD 大鼠海马组织氧化应激的影响

各组海马组织 SOD($F=42.219, P<0.001$)、CAT($F=163.191, P<0.001$)和 MDA($F=73.113, P<0.001$)水平差异有统计学意义。与对照组比较,模型组的海马组织 SOD 和 CAT 水平显著降低,海马组织 MDA 水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,AE 组、EFE 组和 AE+EFE 组的海马组织 SOD 和 CAT 水平显著升高,海马组织 MDA 水平显著降低($P<0.05$)。与 AE 组和 EFE 组比较,AE+EFE 组的海马组织 SOD 和 CAT 水平显著升高,海马组织 MDA 水平显著降低($P<0.05$),见图 2。



注:a:大鼠的游泳路径;b:大鼠的逃避潜伏期;c:60 s内穿越平台的次数;与对照组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$;与AE组相比,& $P<0.05$;与EFE组相比, $\Delta P<0.05$

图1 各组大鼠的Morris水迷宫实验结果

Figure 1 Morris Water maze experiment results of rats in each group

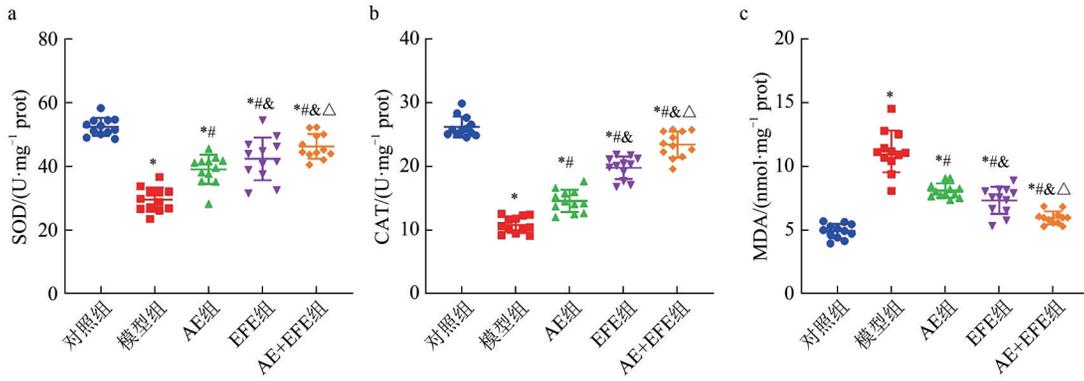
2.3 EFE 联合有氧运动对 AD 大鼠海马组织炎症因子转录的影响

各组海马组织 TNF- α ($F=225.614, P<0.001$)、IL-1 β ($F=126.219, P<0.001$)和 IL-6($F=208.879, P<0.001$)mRNA 水平差异有统计学意义。与对照组比较,模型组的海马组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 mRNA 相对表达量显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,AE 组、EFE 组和 AE+EFE 组的海马组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 mRNA 相对表达量显著降低

($P<0.05$)。与 AE 组和 EFE 组比较,AE+EFE 组的海马组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 mRNA 相对表达量显著降低($P<0.05$),见图 3。

2.4 EFE 联合有氧运动对 AD 大鼠海马组织 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路的影响

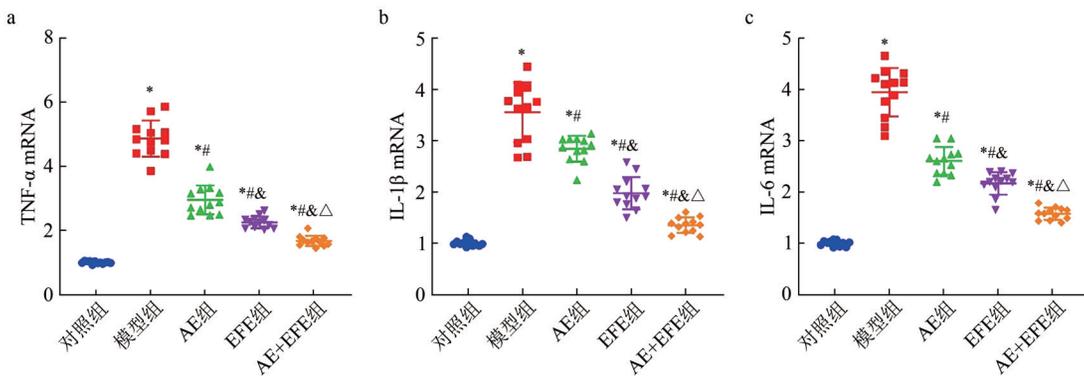
各组海马组织 Nrf2($F=190.744, P<0.001$)、Keap1($F=505.166, P<0.001$)和 HO-1($F=176.973, P<0.001$)mRNA 水平差异有统计学意义。与对照组比较,模型组的海马组织 Nrf2 和 HO-1 mRNA 相



注:a-c:依次为海马组织SOD、CAT和MDA水平;与对照组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$;与AE组相比,& $P<0.05$;与EFE组相比, $\Delta P<0.05$

图2 各组大鼠的海马组织氧化应激指标检测结果

Figure 2 Test results of oxidative stress indexes in hippocampal tissue of rats in each group



注:a-c:依次为海马组织TNF- α 、IL-1 β 和IL-6 mRNA相对表达量;与对照组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$;与AE组相比,& $P<0.05$;与EFE组相比, $\Delta P<0.05$

图3 各组大鼠的海马组织炎症因子转录检测结果

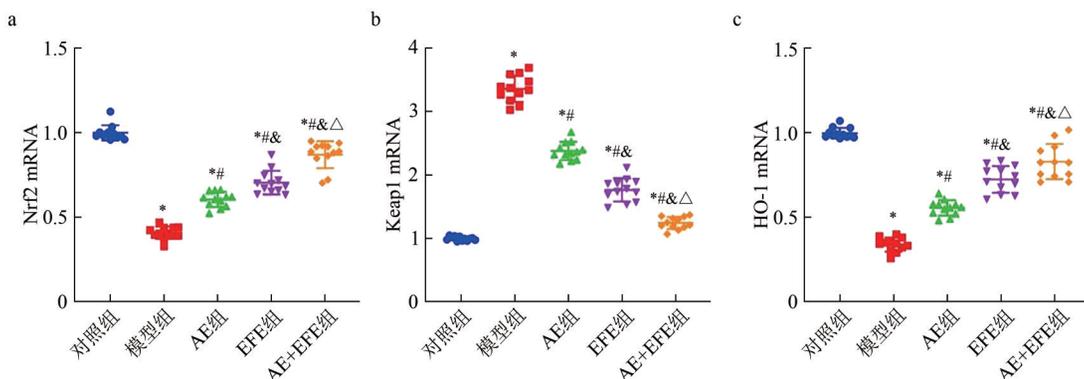
Figure 3 Transcription test results of hippocampal inflammatory cytokines in rats in each group

对表达量显著降低,海马组织 Keap1 mRNA 相对表达量显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,AE组、EFE组和AE+EFE组的海马组织 Nrf2和HO-1 mRNA 相对表达量显著升高,海马组织 Keap1 mRNA 相对表达量显著降低($P<0.05$)。与AE组和EFE组比较,AE+EFE组的海马组织 Nrf2和HO-1 mRNA 相对表达量显著升高,海马组织 Keap1 mRNA 相对

表达量降低($P<0.05$),见图4。

2.5 EFE联合有氧运动对AD大鼠海马组织BACE1和 $\text{A}\beta$ 1-42表达的影响

各组海马组织 BACE1 mRNA ($F=284.116, P<0.001$)、BACE1蛋白 ($F=371.153, P<0.001$)和 $\text{A}\beta$ 1-42蛋白 ($F=315.556, P<0.001$)水平差异有统计学意义。与对照组比较,模型组的海马组织



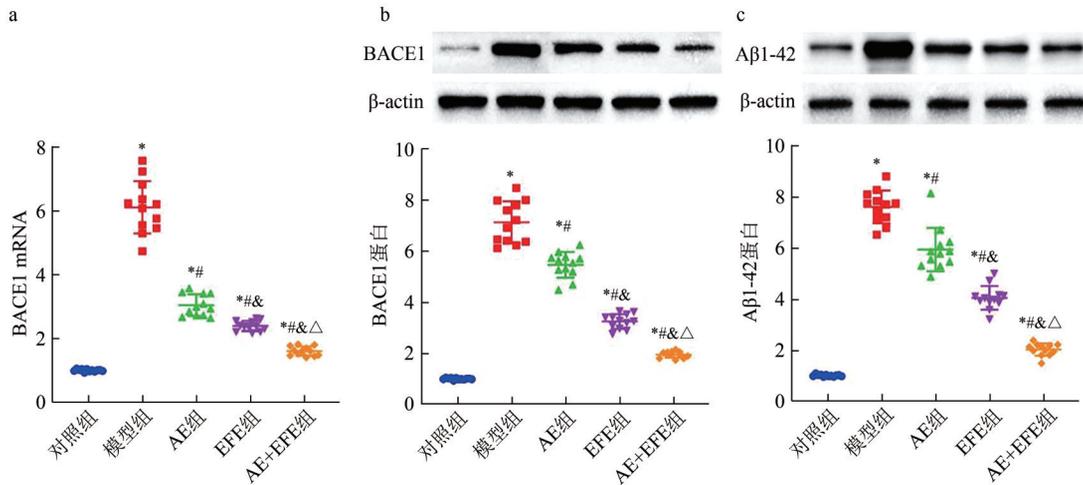
注:a-c:依次为海马组织Nrf2、Keap1和HO-1 mRNA相对表达量;与对照组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$;与AE组相比,& $P<0.05$;与EFE组相比, $\Delta P<0.05$

图4 各组大鼠的海马组织Nrf2/Keap1/HO-1信号通路相关基因转录检测结果

Figure 4 Transcriptional detection results of Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway related genes in hippocampal tissue of rats in each group

BACE1 mRNA、BACE1 蛋白和 A β 1-42 蛋白相对表达量显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, AE 组、EFE 组和 AE+EFE 组的海马组织 BACE1 mRNA、BACE1 蛋白和 A β 1-42 蛋白相对表达量显

著降低 ($P < 0.05$)。与 AE 组和 EFE 组比较, AE+EFE 组的海马组织 BACE1 mRNA、BACE1 蛋白和 A β 1-42 蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.05$), 见图 5。



注: a和b:海马组织 BACE1 mRNA 和蛋白相对表达量; c:海马组织 A β 1-42 蛋白相对表达量; 与对照组相比, * $P < 0.05$; 与模型组相比, # $P < 0.05$; 与 AE 组相比, & $P < 0.05$; 与 EFE 组相比, $\Delta P < 0.05$

图5 各组大鼠的海马组织 BACE1 和 A β 1-42 基因转录或表达检测结果

Figure 5 Results of BACE1 and A β 1-42 gene transcription or expression in hippocampal tissue of rats in each group

3 讨论

有氧运动可改善 AD 患者认知功能和精神神经症状^[17],降低 A β 1-42 的沉积^[18]。然而,单纯的有氧运动在治疗 AD 方面的效果有限,药物联合有氧运动可能是防治 AD 的重要途径。有研究表明,EFE 预处理原代海马培养物显著减弱了 A β 1-42 诱导的细胞毒性、细胞内活性氧积累、蛋白质氧化和脂质过氧化^[14],EFE 可能在治疗 AD 方面具有应用前景。本研究考察了 EFE 联合有氧运动对 AD 大鼠的治疗作用。结果表明,EFE 和有氧运动均有效改善了 AD 大鼠的认知功能。EFE 对 AD 大鼠认知功能的改善效果优于有氧运动,而 EFE 联合有氧运动可最大程度地改善认知功能。这些结果提示,EFE 联合有氧运动可能是防治 AD 的有效手段。

氧化应激在 AD 相关的认知和非认知缺陷的发病机制中起到至关重要的作用。中枢神经系统具有较高的耗氧量,因此容易受到活性氧的影响。A β 在 AD 患者大脑中的聚集通过引起氧化应激反应损伤神经元,氧化还原稳态不稳定是 AD 的主要标志^[19]。此外,氧化应激和炎症在 AD 病理进展中,共同发挥作用^[7]。A β 可持续激活小胶质细胞释放 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等促炎因子,引起 AD 患者脑中慢性炎症效应^[20]。其他文献报道,EFE 可降低脂多糖刺激的 RAW264.7 细胞和骨髓基质细胞中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的基因表达,降低细胞内活性

氧水平^[10,21]。本研究表明,EFE 和有氧运动均有效抑制了 A β 1-42 诱导的脑内氧化应激和炎症。此外,EFE 对 AD 大鼠海马组织氧化应激和炎症的抑制效果优于有氧运动,而二者联合效果最佳。

Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路是最主要的抗氧化信号通路。Nrf2 是大多数抗氧化剂的关键转录因子^[22]。Keap1 是 Nrf2 的胞浆伴侣分子,可泛素化和降解 Nrf2 来抑制其活性。应激条件下 Keap1 与 Nrf2 分离,随后 Nrf2 移位到细胞核激活下游抗氧化基因^[23]。HO-1 是 Nrf2 的下游抗氧化基因,HO-1 的活性降低与包括 AD 在内的多种神经退行性疾病的发病机制有关^[24]。Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路是治疗 AD 的重要靶标^[24]。其他文献报道,EFE 能显著激活 Nrf2/HO-1 通路,促进 Nrf2 核转位^[10,21]。EFE 能有效诱导大鼠星形胶质细胞 HO-1 的表达和活性^[13]。本研究表明,EFE 和有氧运动均有效激活了 AD 大鼠海马组织 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路。此外,EFE 对 AD 大鼠海马组织 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路的激活作用优于有氧运动,而二者联合效果最佳。

BACE1 是唯一的 β 分泌酶,可启动 A β 的产生,介导 A β 过度积累^[25]。BACE1 在 AD 脑和体液中的浓度和活性增加,因此,BACE1 是在 AD 早期减缓 A β 产生的主要药物靶点^[25]。有学者报道了 EFE 对 A β 1-42 的抑制作用^[14]。本研究表明,EFE

和有氧运动均有效抑制了 AD 大鼠海马组织 BACE1 的转录和表达并抑制了 A β 1-42 的积累。此外,EFE 对 AD 大鼠海马组织 BACE1 和 A β 1-42 的抑制作用优于有氧运动,而二者联合效果最佳。

综上所述,EFE 联合有氧运动可有效改善 AD 大鼠的认知功能,其机制可能与抑制氧化应激、炎症和 A β 的积累有关。

参考文献

- [1] TIWARI S, ATLURI V, KAUSHIK A, et al. Alzheimer's disease: Pathogenesis, diagnostics, and therapeutics [J]. International Journal of Nanomedicine, 2019, 14: 5541-5554.
- [2] NASERI N N, WANG H, GUO J, et al. The complexity of tau in Alzheimer's disease [J]. Neuroscience Letters, 2019, 705: 183-194.
- [3] 曹海信, 王小梅. 有氧运动可保护 β -淀粉样蛋白 1-42 诱导老年痴呆模型大鼠的大脑 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(11): 1675-1681.
- CAO H X, WANG X M. Aerobic exercise protects the rat brain against senile dementia induced by amyloid beta protein 1-42 [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2021, 25(11): 1675-1681.
- [4] 付燕, 张业廷, 罗笑, 等. 有氧运动对 A β 1-42 诱导阿尔茨海默病大鼠学习记忆能力及海马炎症状态的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2018, 37(8): 676-684.
- FU Y, ZHANG Y T, LUO X, et al. Effects of aerobic exercise on learning and memory abilities and hippocampal inflammation of AD rats induced by A β 1-42 [J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2018, 37(8): 676-684.
- [5] 王玥, 王旭, 于嵩, 等. 阿魏酸对阿尔茨海默病转基因小鼠脑内氧化应激和凋亡相关蛋白的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(5): 762-766.
- WANG Y, WANG X, YU S, et al. Effects of ferulic acid on oxidative stress and apoptosis related proteins in alzheimer's disease transgenic mice [J]. Natural Product Research and Development, 2017, 29(5): 762-766.
- [6] GUO T T, ZHANG D H, ZENG Y Z, et al. Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Molecular Neurodegeneration, 2020, 15(1): 40.
- [7] ELSHAMY S, ABDEL MOTAAL A, ABDEL-HALIM M, et al. Potential neuroprotective activity of *Mentha longifolia* L. in aluminum chloride-induced rat model of Alzheimer's disease [J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(4): 1770.
- [8] CHEN Z J, ZHANG C, GAO F, et al. A systematic review on the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort. (Chuanxiong) [J]. Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2018, 119: 309-325.
- [9] 尹芳, 宋祯彦, 李富周, 等. 基于网络药理学研究当归芍药散防治阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(2): 210-215.
- YIN F, SONG Z Y, LI F Z, et al. Study on Danggui-Shaoyao-San for treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology [J]. Drug Evaluation Research, 2018, 41(2): 210-215.
- [10] WU Y X, WANG Y Y, GAO Z Q, et al. Ethyl ferulate protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by activating AMPK/Nrf2 signaling pathway [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2021, 42(12): 2069-2081.
- [11] 王汝涛, 熊晓云, 刘莉, 等. 阿魏酸乙酯抗 ADP 诱导的血小板聚集及其机制 [J]. 第四军医大学学报, 2002(6): 537-539.
- WANG R T, XIONG X Y, LIU L, et al. Inhibitive effect and mechanism of Ethyl ferulate on platelet congregation induced by ADP [J]. Journal of the Fourth Military Medical University, 2002(6): 537-539.
- [12] KIKUZAKI H, HISAMOTO M, HIROSE K, et al. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(7): 2161-2168.
- [13] SCAPAGNINI G, ALLAN BUTTERFIELD D, COLOMBRITA C, et al. Ethyl ferulate, a lipophilic polyphenol, induces HO-1 and protects rat neurons against oxidative stress [J]. Antioxidants and Redox Signaling, 2004, 6(5): 811-818.
- [14] SULTANA R, RAVAGNA A, MOHAMMAD-ABDUL H, et al. Ferulic acid ethyl ester protects neurons against amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: Relationship to antioxidant activity [J]. Journal of Neurochemistry, 2005, 92(4): 749-758.
- [15] 苏丽燕·赛力木江. 基于氧化应激反应探讨阿里红多糖抗阿尔茨海默病的作用及机制 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2021.
- SULIYAN·SAILIMUJIANG. Study on the anti-alzheimer's disease effect and mechanism of alibaba red polysaccharide based on oxidative stress reaction [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2021.
- [16] 曹姣, 宋德军, 肖国强. 有氧运动和白藜芦醇对肥胖大鼠主动脉内皮细胞内分泌功能的影响 [J]. 体育科学, 2014, 34(5): 29-34.
- CAO J, SONG D J, XIAO G Q. Effects of aerobic exercise and resveratrol on endocrine function of aorta endothelium of obese rats [J]. China Sport Science, 2014, 34(5): 29-34.
- [17] 王英, 沈飞飞, 朱奕, 等. 中高强度有氧运动干预阿尔茨海默病的临床研究 [J]. 中国临床神经科学, 2014, 22(5): 504-509.
- WANG Y, SHEN F F, ZHU Y, et al. Clinical effects of aerobic exercises training with moderate and high intensity in Alzheimer's disease treatment [J]. Chinese Journal of Clinical Neurosciences, 2014, 22(5): 504-509.
- [18] 李垂坤, 张业廷, 魏翠兰, 等. 不同强度有氧运动对 APP/PS1 双转基因小鼠海马双皮质素及 β -淀粉样蛋白的影响 [J]. 西安体育学院学报, 2022, 39(2): 214-223.
- LI C K, ZHANG Y T, WEI C L, et al. Aerobic exercise of different intensity on double cortin and β -amyloid protein in dentate gyrus of *Hippocampus* in APP/PS1 double transgenic mice [J]. Journal of Xi'an Physical Education University, 2022, 39(2): 214-223.
- [19] PEÑA-BAUTISTA C, TIRLE T, LÓPEZ-NOGUEROLAS M, et al. Oxidative damage of DNA as early marker of Alzheimer's disease [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019,

- 20(24): 6136.
- [20] 高海燕, 王曙光, 段钢. 阿尔茨海默病患者脑脊液细胞因子研究[J]. 临床精神医学杂志, 2008, 18(5): 320-321.
GAO H Y, WANG S G, DUAN G. Study on the level of cytokine in cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer's disease [J]. Journal of Clinical Psychiatry, 2008, 18(5): 320-321.
- [21] WANG Y, ZHANG X, LI L E, et al. Correction: Ethyl ferulate contributes to the inhibition of the inflammatory responses in murine RAW 264.7 macrophage cells and acute lung injury in mice[J]. PLoS One, 2022, 17(6): e0270447.
- [22] LOBODA A, DAMULEWICZ M, PYZA E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: An evolutionarily conserved mechanism [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2016, 73(17): 3221-3247.
- [23] DONE A J, TRAUSTADÓTTIR T. Nrf2 mediates redox adaptations to exercise[J]. Redox Biology, 2016, 10: 191-199.
- [24] BIAN Y, CHEN Y, WANG X, et al. Oxyphylla A ameliorates cognitive deficits and alleviates neuropathology via the Akt-GSK3 β and Nrf2-Keap1-HO-1 pathways in *vitro* and in *vivo* murine models of Alzheimer's disease[J]. Journal of Advanced Research, 2021, 34: 1-12.
- [25] HAMPEL H, VASSAR R, DE STROOPER B, et al. The β -secretase BACE1 in alzheimer's disease[J]. Biological Psychiatry, 2021, 89(8): 745-756.