

白藜芦醇对长期高热量饮食小鼠的认知功能保护及突触相关机制研究

董雯, 刘奔, 伦永志(莆田学院药学与医学技术学院医学检验系, 医学微生态学福建省高校重点实验室, 福建 莆田 351100)

摘要:目的 观察白藜芦醇(resveratrol, RES)对长期高热量饮食(high-calorie diet, HCD)小鼠认知功能的影响并探讨其相关机制。方法 50只 C57BL/6 小鼠随机均分为对照组、HCD 组、HCD+25 mg·kg⁻¹RES 组(低剂量组)、HCD+50 mg·kg⁻¹RES 组(中剂量组)和 HCD+100 mg·kg⁻¹RES 组(高剂量组)。6 个月后, 检测小鼠基本生理指标, 并利用 Morris 水迷宫和条件恐惧试验检测认知水平, RT-PCR 和 ELISA 分别检测海马 BDNF、Trk B、SYP 和 PSD95 mRNA 及蛋白水平。结果 与 HCD 组比较, RES 干预使小鼠体质量、肥胖指数和脂肪系数均明显降低, 空腹血糖、胰岛素和 HOMA-IR 明显降低, 海马依赖性学习记忆明显提高, 海马组织 BDNF、Trk B、SYP 和 PSD95 mRNA 和蛋白水平明显升高, 以高剂量组更显著。结论 RES 可通过上调海马 BDNF、Trk B、SYP、PSD95 基因和蛋白表达改善 HCD 小鼠学习记忆能力。

关键词: 白藜芦醇; 高热量饮食; 认知障碍; 突触

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2020)14-1692-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.14.005

引用本文: 董雯, 刘奔, 伦永志. 白藜芦醇对长期高热量饮食小鼠的认知功能保护及突触相关机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(14): 1692-1697.

Protective Effect of Resveratrol on Cognitive Function of Mice Fed Long-term High-calorie Diet and Its Synapse-related Mechanisms

DONG Wen, LIU Ben, LUN Yongzhi[Department of Laboratory Medicine, School of Pharmacy and Medical Technology, Putian University, Key Laboratory of Medical Microecology(Putian University), Fujian Province University, Putian 351100, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the protective effect of resveratrol(RES) on cognitive function of mice fed long-term high-calorie diet(HCD) and its synapse-related mechanisms. **METHODS** Fifty male C57BL/6 mice were randomly divided equally into control group, HCD group, HCD+25 mg·kg⁻¹ RES group(low dose group), HCD+50 mg·kg⁻¹ RES group(middle dose group) and HCD+100 mg·kg⁻¹ RES(high dose group). Six months later, the basic physiological indexes of mice were measured. The cognitive level was measured by Morris water maze and conditional fear test. And the mRNA and protein levels of BDNF, Trk B, SYP and PSD95 in hippocampus were detected by RT-PCR and ELISA, respectively. **RESULTS** Compared with HCD group, the RES groups demonstrated decreased the body mass, obesity index and fat index of mice, decreased the value of fasting blood glucose and insulin, and HOMA-IR, improved the level of hippocampus-dependent learning and memory, increased the mRNA and protein levels of BDNF, Trk B, SYP and PSD95 in hippocampus, especially for the high dose group. **CONCLUSION** RES can improve the learning and memory ability of HCD mice by up-regulating the expression of BDNF, Trk B, SYP and PSD95 in hippocampus.

KEYWORDS: resveratrol; high-calorie diet; cognitive impairment; synapse

随着社会经济的发展和物质生活水平的提高, 人们的日常饮食结构正发生着变化, 高脂高糖等高热量食物摄入逐渐增加。长期高热量饮食易导致个体超重甚至肥胖^[1]。肥胖已成为一个全球性公共健康问题, 根据统计, 全球约有三分之一的人超重或肥胖。肥胖与包括糖尿病、心脑血管疾病、呼吸系统疾病在内的许多代谢性疾病相关^[2-3]。新近又发现^[4-5], 肥胖会加速神经认知障碍及相关疾病的发生发展。而高脂饮食易致动物肥胖, 引发胰岛素抵抗, 出现认知行为受损症状^[6-7]。众所周知, 白

藜芦醇(resveratrol, RES)具有抗炎、抗氧化、抗凋亡等神经保护作用^[8-9]。研究发现, RES 对肥胖所致认知功能障碍动物模型亦具有一定神经保护作用, 但其作用机制尚不明确^[10]。本研究以高热量饮食诱导的肥胖相关认知功能障碍小鼠为模型, 拟采用不同浓度 RES 进行干预治疗, 研究 RES 神经保护作用的浓度-效应关系, 并探讨其可能机制。

1 材料

1.1 动物

6 周龄 SPF 级 C57BL/6 小鼠 50 只, 体质量

基金项目: 福建省教育厅中青年教育科研项目(JAT170514); 莆田学院校内国家基金预研项目(2017072)

作者简介: 董雯, 男, 博士, 讲师 Tel: 15160253181 E-mail: 76127564@qq.com

(20±2) g, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司, 许可证号: SCXK(沪)2017-0005。饲养于 12 h 昼夜交替, 室温(22±2)℃, 相对湿度(50±10)%的环境, 自由饮水, 持续 6 个月。

1.2 试剂与仪器

RES(美国 Sigma 公司, 批号: R5010; 纯度 ≥99%); 高脂高糖饲料(上海普路腾生物科技有限公司, 普通饲料 60%、猪油 15%、蔗糖 15%、酪蛋白 5%、胆固醇 5%); 胰岛素定量分析 ELISA 试剂盒(安徽巧伊生物科技有限公司, 批号: JEM-051); PCR 引物(上海生工生物工程有限公司); 脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、酪氨酸激酶受体 B(tyrosine kinase receptor B, Trk B)ELISA 试剂盒(批号: EK0309, EK0849)均购自武汉博士德生物工程有限公司; 突触后致密蛋白-95(postsynaptic density-95, PSD-95)和突触素(synaptophysin, SYP) ELISA 试剂盒(批号: ab114158, ab114166)均购自 Abcam。Morris 水迷宫及记录分析系统(中国医学科学院药物研究所); 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物分组及喂养

适应性喂养 1 周后, 小鼠随机分为对照组、高热量饮食(high-calorie diet, HCD)组、HCD+25 mg·kg⁻¹RES 组(低剂量组)、HCD+50 mg·kg⁻¹RES 组(中剂量组)和 HCD+100 mg·kg⁻¹RES 组(高剂量组), 每组 10 只。对照组喂养正常饲料, 其余各组喂养高糖高脂饲料。根据文献^[11-12], 将 RES 制成相应浓度, 分别对低、中、高剂量组进行灌胃, 其余各组以等体积生理盐水灌胃。

2.2 动物认知水平检测

喂养 6 个月后, 各组小鼠进行 Morris 水迷宫和条件恐惧试验。

Morris 水迷宫用于评估小鼠的空间学习记忆能力^[13]。试验前, 各组小鼠进行适应性训练 1 d。之后, 分别进行 1~5 d 的定位航行试验, 记录动物到达平台的游泳时间和游泳路程, 即逃避潜伏期和逃避潜伏流程, 作为学习成绩。第 6 天, 进行空间探索实验, 即将隐蔽平台撤除后, 记录小鼠穿越原平台位置次数及在 4 个象限的停留时间, 作为记忆成绩。

条件恐惧试验用于评估小鼠的焦虑状态和环境条件刺激记忆的功能^[14]。各组小鼠提前 1 d 放入测试箱进行环境适应, 之后进行为期 3 d 的测试。

第 1 天, 训练小鼠, 将其放入测试箱, 给予一个声音信号, 即条件刺激, 紧接着给予电击, 即非条件刺激, 观察其反应。第 2 天, 进行关联性条件恐惧试验, 将小鼠放回环境相同的测试箱, 不给予声音和电刺激, 记录场景联系僵直反应(除呼吸运动外无其他任何行为活动的不动状态)时间。第 3 天, 进行线索性条件恐惧试验, 将该小鼠放入环境不同的测试箱, 适应 2 min 后, 给予相同的声音信号, 记录声音联系僵直反应时间。小鼠僵直比=僵直反应时间/进行场景或声音刺激试验时间×100%, 用于衡量其对条件恐惧刺激的记忆程度。

2.3 动物空腹血糖和胰岛素检测

认知水平检测结束后, 小鼠禁食不禁水过夜, 尾部取血, 用于检测空腹血糖和空腹胰岛素水平。

胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=空腹胰岛素(mmol·L⁻¹)×空腹血糖(mmol·L⁻¹)/22.5

2.4 样品采集与处理

处死动物前, 用乙醚将其麻醉, 测量小鼠身长(从鼻尖到肛门的长度)和体质量。动物脱颈处死后, 分离附睾周围脂肪、摘取肝脏及脑组织, 分别称重记录。

肥胖指数= $\sqrt[3]{\text{体质量}} \times 10^3 / \text{身长}$

脂肪系数=(脂肪质量/体质量)×100%

脏器系数=(脏器质量/体质量)×100%

在相对无菌的条件下, 在冰上迅速分离脑中海马组织, 置于无菌冻存管, 液氮保存备用。

2.5 海马组织 BDNF、Trk B、SYP 和 PSD95 mRNA 水平检测

将各组海马组织匀浆后, 用 Trizol 法提取 RNA, 并反转录合成 cDNA, 取 1 μL 进行 PCR 反应, 体系 20 μL。反应程序: 95 ℃ 3 min; 95 ℃ 5 s、63 ℃ 40 s、72 ℃ 1 min, 共 40 个循环; 72 ℃ 5 min。以 GAPDH 为内参, 每个实验重复 3 次。目的基因的相对表达量采用 2^{-ΔΔCt} 法计算。PCR 引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Tab. 1 Primer sequences for PCR

引物	上游	下游
BDNF	5'-AGCTGAGCGTGTGTG ACAGT-3'	5'-ACCCATGGGATTACAC TTGG-3'
Trk B	5'-TTATGCCTGCTGGTCT TGGG-3'	5'-TCCTGGACAACTCG TCAGC-3'
SYP	5'-GAACACATGCAAGGA ACTG-3'	5'-CACGAACCATAAGTT GCCA-3'
PSD95	5'-CCCCCAACATGGACT GTCTC-3'	5'-TGTTCCGTTTCACCTGC AACT-3'
GAPDH	5'-AGACAGCCGCATCTT CTTGT-3'	5'-TGATGGCAACAATGT CCACT-3'

2.6 海马组织 BDNF、Trk B、SYP 和 PSD95 蛋白水平检测

在各组动物的海马样品中,加入裂解液匀浆,4℃离心,取上清,按 ELISA 试剂盒说明书测定 BDNF、Trk B、SYP 和 PSD95 蛋白浓度。

2.7 统计分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 进行分析。组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 RES 对 HCD 小鼠基本生理指标的影响

与对照组比较,HCD 组小鼠体质量明显增加($P < 0.05$),肥胖指数和脂肪系数也明显升高($P < 0.05$);与 HCD 组比较,高剂量组小鼠体质量明显减少($P < 0.05$),肥胖指数和脂肪系数也明显降低($P < 0.05$)。

与对照组比较,HCD 组和低剂量组小鼠空腹血糖和血清胰岛素值显著升高($P < 0.05$),HOMA-IR 亦显著升高($P < 0.05$);与 HCD 组比较,中剂量组和高剂量组小鼠空腹血糖和血清胰岛素值显著降低($P < 0.05$),HOMA-IR 亦显著降低($P < 0.05$)。各组小鼠脑系数无显著性差异,但与对照组比较,HCD 组和低剂量组小鼠肝脏系数显著减少($P < 0.05$);与 HCD 组比较,高剂量组小鼠肝脏系数显著增加($P < 0.05$)。结果见表 2。

3.2 RES 对 HCD 小鼠认知水平的影响

3.2.1 Morris 水迷宫 在定位航行试验中,第 1 天和第 2 天,各组小鼠逃避潜伏期无显著性差异;第 3 天,与对照组比较,HCD 组显著延长($P < 0.05$);第 4 天和第 5 天,与对照组比较,HCD 组和低剂量组显著延长($P < 0.05$),与 HCD 组相比,高剂量组显著缩短($P < 0.05$),其中第 5 天,与低剂量组比较,高剂量组显著缩短($P < 0.05$)。见图 1。

表 2 RES 对 HCD 小鼠基本生理指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 2 Effects of RES on basic physiological indexes in mice fed with high-calorie diet($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	体质量/g	肥胖指数/ $10^3 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-1}$	脂肪系数	空腹血糖/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	空腹血清胰岛素/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	胰岛素抵抗指数	脑系数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	肝脏系数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
对照组	22.48±1.25	0.28±0.09	1.62±0.23	5.64±0.37	0.73±0.07	1.06±0.25	2.10±0.27	6.32±0.42
HCD 组	39.40±1.37 ¹⁾	0.33±0.08 ¹⁾	3.51±0.26 ¹⁾	18.34±0.58 ¹⁾	1.57±0.09 ¹⁾	4.62±0.31 ¹⁾	1.13±0.12	4.63±0.31 ¹⁾
低剂量组	36.46±1.13	0.31±0.08	3.20±0.37 ¹⁾	14.46±0.34 ¹⁾	1.41±0.09 ¹⁾	3.20±0.29 ¹⁾	1.18±0.16	4.77±0.38 ¹⁾
中剂量组	33.98±1.32	0.31±0.09	2.78±0.18	13.83±0.36 ²⁾	1.29±0.12 ²⁾	2.86±0.17 ²⁾	1.34±0.11	5.18±0.41
高剂量组	29.78±1.57 ²⁾	0.30±0.08 ²⁾	2.26±0.24 ²⁾³⁾	12.17±0.44 ²⁾	1.14±0.08 ²⁾	1.98±0.24 ²⁾	1.64±0.15	5.97±0.39 ²⁾³⁾

注:与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 HCD 组比较,²⁾ $P < 0.05$;与低剂量组比较,³⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with HCD group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with low dose group, ³⁾ $P < 0.05$.

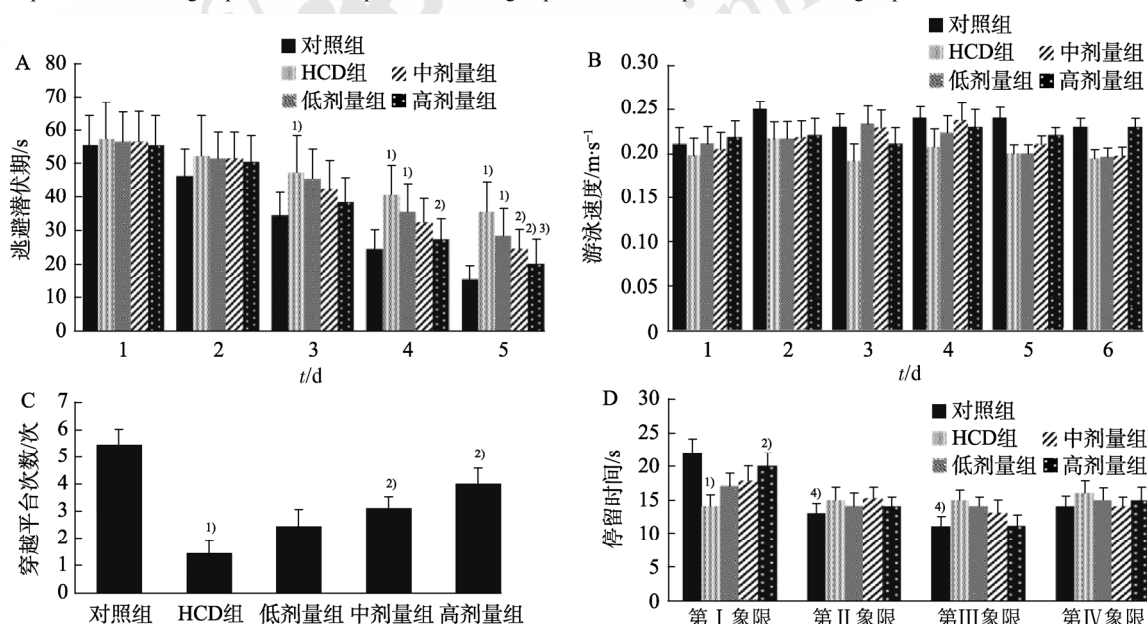


图 1 RES 对 HCD 小鼠逃避潜伏期(A)、游泳速度(B)、穿越平台次数(C)和各象限停留时间(D)的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 HCD 组比较,²⁾ $P < 0.05$;与低剂量组比较,³⁾ $P < 0.05$;与第 I 象限(目标象限)比较,⁴⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effects of RES on escape latency(A), swimming speed(B), number of platform crossings(C) and time stayed in the plate quadrant(D) in mice fed with high-calorie diet($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with HCD group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with low dose group, ³⁾ $P < 0.05$; compared with quadrant I(target quadrant), ⁴⁾ $P < 0.05$.

在第6天的空间探索试验中,与对照组比较,HCD组小鼠穿越原平台次数和在第I象限(原平台象限)停留时间显著减少($P<0.05$),而与HCD组比较,中剂量组和高剂量组穿越原平台次数显著增加($P<0.05$),高剂量组在第I象限停留时间亦显著增加($P<0.05$)。结果见图1。

在6d的试验中,各组小鼠的平均游泳速度无显著性差异。结果见图1。

3.2.2 条件恐惧试验 在关联性条件恐惧试验中,与对照组比较,HCD组小鼠僵直比显著降低($P<0.05$),而与HCD组比较,高剂量组显著增加($P<0.05$)。在线索性条件恐惧试验,各组小鼠僵直比无显著性差异。结果见图2。

3.3 RES对HCD小鼠海马BDNF及其受体Trk B的影响

RT-PCR结果显示,与对照组比较,HCD组和低剂量组小鼠海马BDNF mRNA表达显著减少($P<0.05$),HCD组小鼠海马Trk B mRNA表达显著减少($P<0.05$);与HCD组比较,中剂量组和高剂量组BDNF mRNA表达显著增加($P<0.05$),高剂量

组Trk B mRNA表达显著增加($P<0.05$);与低剂量组比较,高剂量组BDNF mRNA表达显著增加($P<0.05$)。结果见图3。

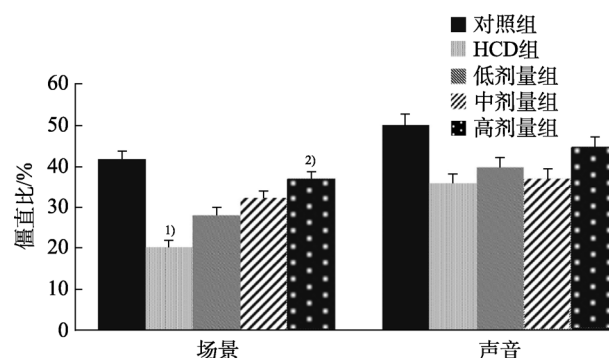


图2 RES对HCD小鼠场景联系僵直比和声音联系僵直比的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与HCD组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 Effects of RES on contextual and cued fear conditioning task in mice fed with high-calorie diet($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with HCD group, ²⁾ $P<0.05$.

ELISA结果显示,与对照组比较,HCD组和低剂量组小鼠海马BDNF和Trk B蛋白表达显著减少($P<0.05$);与HCD组比较,高剂量组BDNF

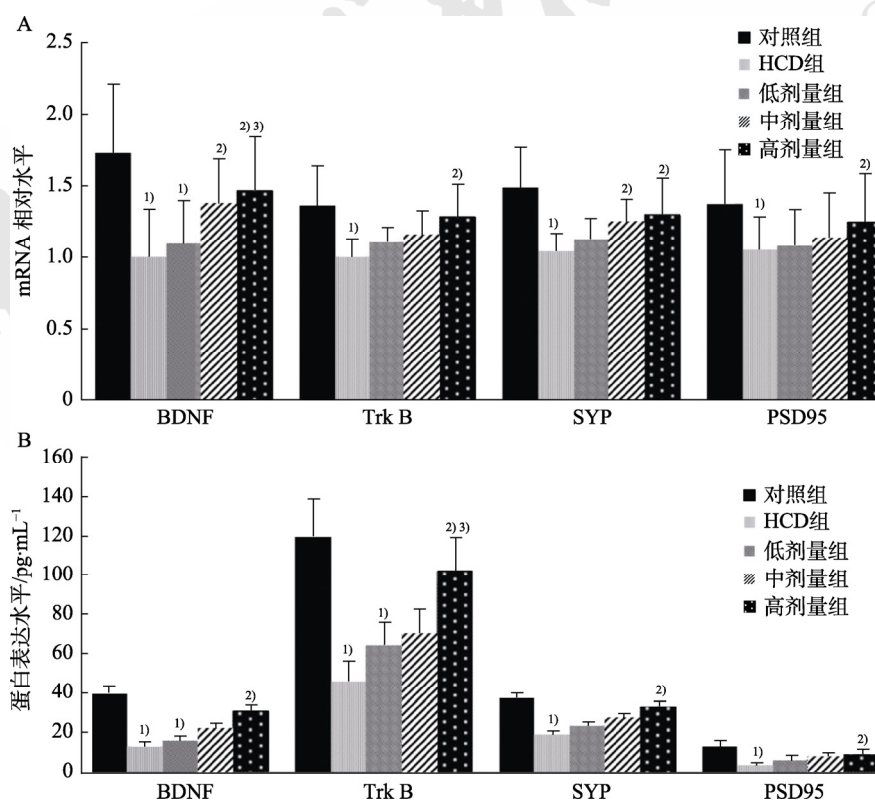


图3 RES对HCD小鼠海马BDNF、Trk B、SYP和PSD95 mRNA(A)和蛋白(B)水平影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与HCD组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与低剂量组比较, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 3 Effects of RES on mRNA(A) and protein(B) levels of BDNF, Trk B, SYP and PSD95 in hippocampus of mice fed with high-calorie diet($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with HCD group, ²⁾ $P<0.05$; compared with low dose group, ³⁾ $P<0.05$.

和 Trk B 蛋白表达显著增加($P<0.05$);与低剂量组比较,高剂量组 Trk B 蛋白表达显著增加($P<0.05$)。结果见图 3。

3.4 RES 对 HCD 小鼠海马突触相关蛋白 SYP 和 PSD95 的影响

RT-PCR 结果显示,与对照组比较,HCD 组小鼠海马 SYP 和 PSD95 mRNA 表达显著减少($P<0.05$);与 HCD 组比较,中剂量组和高剂量组 SYP mRNA 表达显著增加($P<0.05$),HCD 组 PSD95 mRNA 表达显著增加($P<0.05$)。结果见图 3。

ELISA 结果显示,与对照组比较,HCD 组小鼠海马 SYP 和 PSD95 蛋白表达显著减少($P<0.05$);与 HCD 组比较,高剂量组 SYP 和 PSD95 蛋白表达显著增加($P<0.05$)。结果见图 3。

4 讨论

近年来不断有研究发现,高糖高脂等高热量饮食可导致机体超重或肥胖,并伴有学习记忆减退、认知功能障碍等问题^[15-16],然其机制尚不十分明确。HCD 引起的机体肥胖和胰岛素抵抗是导致脑认知功能紊乱的重要原因之一^[17]。研究发现,RES 具有改善高脂诱导的机体糖脂代谢紊乱,缓解其胰岛素抵抗的作用^[18]。本研究显示,高热量饮食喂养 C57BL/6 小鼠 6 个月,其体质量、肥胖指数和脂肪系数较对照组均明显升高,肝脏系数明显减少,空腹血糖、胰岛素和 HOMA-IR 明显升高,且行为学检测显示其认知水平明显下降,表明肥胖相关认知功能障碍模型建立成功;高剂量 RES 干预使小鼠体质量、肥胖指数和脂肪系数较 HCD 组均明显降低,空腹血糖、胰岛素和 HOMA-IR 也明显降低,行为学检测显示其海马依赖性学习记忆明显提高;低剂量干预使小鼠空腹血糖、胰岛素和 HOMA-IR 均明显高于中、高剂量组, Morris 水迷宫逃避潜伏期也明显延长,且均与 HCD 组无显著性差异,表明 RES 对 HCD 小鼠基本生理指标和认知水平具有改善作用,且存在部分剂量依赖性,高剂量 RES 的作用最明显。

大脑海马结构是学习记忆的关键部位,海马神经突触是学习记忆的神经生物学基础。研究发现,认知功能障碍患者不仅存在突触结构和数量的变化,且与突触可塑性调节相关的蛋白有关,如 BDNF、Trk B、SYP 和 PSD95^[19]。BDNF 作为一种重要的神经营养因子,通过与其受体 Trk B 作用后,起到促进神经细胞生长与分化,调节轴突

的导向和树突的生长,调控神经递质释放,调节突触传递和突触可塑性等作用,与学习记忆的维持和提高密切相关。研究表明,增加 BDNF 水平或刺激 BDNF-Trk B 相关信号通路都可提高海马突触可塑性,提高海马依赖性的学习和记忆功能^[20]。本研究显示,HCD 小鼠 BDNF、Trk B mRNA 和蛋白表达水平较对照组显著降低,RES 干预后 BDNF 和 Trk B mRNA 和蛋白表达水平显著提高,且高剂量组提高效果具显著性。这表明,HCD 所致肥胖相关认知功能障碍可能与海马组织 BDNF 和 Trk B 水平降低有关,RES 可通过 BDNF-Trk B 通路保护认知,且具剂量依赖性。SYP 广泛存在于突触前膜及其囊泡中,具有调节囊泡的转运、释放,增强递质与突触后膜受体的结合等作用,是突触前神经元功能标志蛋白之一。PSD95 是突触后膜标志蛋白之一,位于突触后致密区,是突触后信号复合体的中心组织者,介导整合多方位突触传导信息,对突触稳定性和可塑性起重要作用。SYP 和 PSD95 共同促进突触形成,与囊泡转运和递质释放、突触可塑性密切相关,并通过突触效能作用影响学习记忆功能^[21]。本研究显示,HCD 小鼠 SYP 和 PSD95 mRNA 和蛋白表达水平较对照组显著降低,高剂量 RES 干预后 SYP、PSD95 mRNA 和蛋白表达水平显著提高。这表明,HCD 所致肥胖相关认知功能障碍可能与海马组织突触标志蛋白 SYP 和 PSD95 水平降低有关,RES 可通过增强其表达,增加突触数量,改善囊泡循环与递质释放,提高突触效能,达到保护认知的效果,且具剂量依赖性。

综上所述,RES 干预可明显改善 HCD 小鼠认知功能障碍,且具剂量依赖性。RES 可能通过改善 HCD 小鼠的糖脂代谢和胰岛素抵抗,调节海马 BDNF-Trk B 与突触相关蛋白 SYP 和 PSD95 的相互关系,共同改善受损的突触可塑性,发挥神经保护作用,提高认知水平。本研究为肥胖及其所致认知功能障碍疾病的有效防治提供了更多的理论支持。

REFERENCES

- [1] MORETTO T L, BENFATO I D, DE CARVALHO F P, et al. The effects of calorie-matched high-fat diet consumption on spontaneous physical activity and development of obesity [J]. Life Sci, 2017(179): 30-36.
- [2] KARPOVETS T P, KONOPELNYUK V V, GALENOVA T I,

- et al. High-calorie diet as a factor of prediabetes development in rats [J]. Bull Exp Biol Med, 2014, 156(5): 639-641.
- [3] YU T Y, LOU X K, YANG S B, et al. Evaluation of slimming function of combination of tea pigment and hawthorn extract [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(10): 1517-1520.
- [4] LIU Y, YANG Y, DONG H, et al. Thiodorexin-2 overexpression fails to rescue chronic high calorie diet induced hippocampal dysfunction [J]. Exp Neurol, 2016, 275(1): 126-132.
- [5] AUER M K, SACK M, LENZ J N, et al. Effects of a high-caloric diet and physical exercise on brain metabolite levels: A combined proton MRS and histologic study [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2015, 35(4): 554-564.
- [6] TREVIÑO S, AGUILAR-ALONSO P, FLORES HERNANDEZ J A, et al. A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats [J]. Synapse, 2015, 69(9): 421-433.
- [7] DONG W, WANG R, MA L N, et al. Influence of age-related learning and memory capacity of mice: Different effects of a high and low caloric diet [J]. Aging Clin Exp Res, 2016, 28(2): 303-311.
- [8] DONG W, WANG S A, CHEN X J, et al. Research progress on the mechanism of resveratrol in the prevention and treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(11): 1745-1748.
- [9] ZHU J H, FAN H Q. Resveratrol ameliorates the inhibitory effect of A β on the proliferation of C17.2 cells by up-regulating the expression of Hsp75 protein [J]. Pharm Today(今日药理学), 2017, 27(7): 475-478, 482.
- [10] XU B L, ZHANG H, MA L N, et al. Resveratrol prevents high-calorie diet-induced learning and memory dysfunction in juvenile C57BL/6J mice [J]. Neurol Res, 2018, 40(8): 709-715.
- [11] WANG L J, DENG T X, ZHANG J L, et al. Resveratrol ameliorates inflammatory pain via inhibiting the COX-2/PGE2 signaling pathway in mice [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2017, 33(4): 35-38.
- [12] LIU G S, YANG B, ZHANG Z S, et al. Effects of resveratrol on learning, memory and brain antioxidant abilities in D-galactose-induced aging mice [J]. Food Sci(食品科学), 2014, 35(5): 204-207.
- [13] BARRY D N, COMMINS S. A novel control condition for spatial learning in the Morris water maze [J]. J Neurosci Methods, 2019, 318: 1-5.
- [14] IQBAL G, AHMED T. Co-exposure of metals and high fat diet causes aging like neuropathological changes in non-aged mice brain [J]. Brain Res Bull, 2019(147): 148-158.
- [15] QIN S P, SUN D X, ZHANG C, et al. Downregulation of sonic hedgehog signaling in the hippocampus leads to neuronal apoptosis in high-fat diet-fed mice [J]. Behav Brain Res, 2019(367): 91-100.
- [16] WEI L, YAO M M, ZHAO Z M, et al. High-fat diet aggravates postoperative cognitive dysfunction in aged mice [J]. BMC Anesthesiol, 2018, 18(1): 1-7.
- [17] KASPER J M, MILTON A J, SMITH A E, et al. Cognitive deficits associated with a high-fat diet and insulin resistance are potentiated by overexpression of ecto-nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase-1 [J]. Int J Dev Neurosci, 2018, 64(1): 48-53.
- [18] IKUTA T, SAITO S, TANI H, et al. Resveratrol derivative-rich melinjo(*Gnetum gnemon* L.) seed extract improves obesity and survival of C57BL/6 mice fed a high-fat diet [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(12): 2044-2049.
- [19] MA J, ZHANG Z C, KANG L, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation(rTMS) influences spatial cognition and modulates hippocampal structural synaptic plasticity in aging mice [J]. Exp Gerontol, 2014(58): 256-268.
- [20] NICULESCU D, MICHAELSEN-PREUSSE K, GÜNER Ü, et al. A BDNF-mediated push-pull plasticity mechanism for synaptic clustering [J]. Cell Rep, 2018, 24(8): 2063-2074.
- [21] LI S, KANG L, ZHANG Y, et al. Detecting the presence of hippocampus membrane androgen receptors in male SAMP8 mice and their induced synaptic plasticity [J]. Mol Cell Endocrinol, 2015(414): 82-90.

收稿日期: 2019-07-04
(本文责编: 沈倩)