论著

文章编号:1000-5404(2006)07-0688-03

舒降之对颈动脉狭窄大鼠空间记忆改变的实验研究

冉 鸿,陈康宁,段 炜,黄河清,柳春雨 (第三军医大学西南医院神经内科,重庆 400038)

提 要:目的 观察舒降之对双侧颈总动脉重度狭窄的血管性认知障碍大鼠模型认知功能障碍的影响。**方法** 用正常SD大鼠制作重度颈动脉狭窄模型后,分为舒降之治疗和生理盐水对照,2周后各组进行水迷宫行为学检测。**结果** 水迷宫行为学检测提示定位航行试验中:在实验的第2~5天,对照组大鼠逃避潜伏期显著长于治疗组($P<0.01$);空间探索试验中:治疗组的平台象限游泳的时间和总游泳时间之比(tP/tT)、平台象限距离和总距离之比(dP/dT)显著大于治疗组($P<0.01$)。**结论** 舒降之可改善血管性认知障碍大鼠的认知功能。

关键词:大鼠;颈总动脉狭窄;认知;舒降之

中图法分类号:R338.64;R749.13;R972.4 **文献标识码**:A

Effect of Statins on spatial memory of rats with carotid artery stenosis

RAN Hong, CHEN Kang-ning, DUAN Wei, HUANG He-qing, LIU Chun-yu (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish the rat models with severe carotid artery stenosis and to observe the effect of Statins on the spatial memory. Methods Sixteen SD rats were randomly assigned to receive intragastric administration of Statins or physiologic saline after rat models of severe carotid artery senosis by ligating two common carotid arteries were established. Two weeks later, cognitive ability was determined by Morris maze test. Results On day 2 to 5 of place navigation test, escape latency (EL) of control group was significantly longer than the Statins group. In the spatial probe test, the ratio of dP/dT, tP/tT of the Statins group was significantly higher than control group. Conclusion Statins can improve the learning and memory of the rats with carotid artery stenosis.

Key words: rat; carotid artery stenosis; cognition; Statins

血管性痴呆(vascular dementia, VaD)是继阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)之后第2位常见的老年期痴呆。血管性认知损害(vascular cognitive impairment, VCI)指由于血管因素引起的不同程度的认知障碍。这一概念的提出,能早期识别由于血管因素引起的智能衰退,通过积极干预,减缓或避免脑功能严重损害,因而引起了广泛关注[1]。加拿大健康与衰老研究调查了10 263例随机选择的社区居民和住院患者,65岁或以上人群患VCI的比例为5%[2],并逐年增多,它不仅给患者带来长期痛苦,严重影响其生活质量,而且给家庭、社会造成沉重负担。目前国内外对控制此病病程进展尚无有效办法和药物,因此几乎各国的老年病研究机构均将其列为未来10年的研究重点,我国亦将其纳入国家攻关项目。近年来研究表明舒降之与痴呆发病风险降低之间具有相关性。本实验拟在用舒降之对颈动脉狭窄大鼠进行干预,为血管性认知障碍的治疗提供了新的途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用健康成年SD大鼠,体质量(250±25) g,雌雄对半,由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供。置于24~25 ℃室温中喂养,雌雄分笼,每笼6~8只,给予固体颗粒饲料喂养,自由饮水。选用16只SD大鼠行颈动脉重度狭窄动物模型制作后随机分成2组,每组8只,A组予舒降之治疗,B组为生理盐水对照。

1.2 主要仪器

Morris水迷宫实验装置。

1.3 方法

1.3.1 模型制作 参照周振华等[3]的重度颈动脉狭窄动物

作者简介:冉 鸿(1972-),女,重庆市人,硕士研究生,主治医师,主要从事血管性痴呆的发病机制和临床治疗方面的研究。电话:13452848081,E-mail:ranhong0424@yahoo.com.cn

通讯作者:陈康宁,电话:(023)68765253,E-mail:ckn_640827@126.com

收稿日期:2006-01-17;修回日期:2006-03-07

模型制作方法并加以改进。术前将手术缝线用地塞米松浸泡 10 min。用乙醚麻醉大鼠，随后固定于手术台上，术中乙醚维持，颈正中去毛，碘酒乙醇消毒后，行颈正中切口，仔细分离皮肤和肌肉。显露并游离双侧颈总动脉，在颈总动脉近心侧距颈内动脉（internal carotid artery，ICA）和颈外动脉（external carotid artery，ECA）分叉处约 1.5 cm 处用 0 号手术缝线将颈总动脉和直径 0.45 mm 的注射器针头一并仔细扎紧丝线打成活结，然后小心拔出针头，青霉素（溶于生理盐水中）滴于手术野中。

1.3.2　药物治疗　　成模第 2 天药物治疗组的大鼠每天按 5 mg/kg舒降之悬浮于 10% 甘油中灌胃给药，每日 1 次，连续 2 周。对照组用等量生理盐水灌胃，每日 1 次，连续 2 周。

1.3.3　行为学检测（Morris 水迷宫实验）　　采用中国医学科学院药科研究所研制的水迷宫实验装置及动态图像采集分析系统。各组均在灌胃 2 周后进行检测。水温控制在（26 ± 1）℃，室温 24 ~ 26 ℃，屋顶和四壁表面光滑整洁，照明设备四周对称，训练期间整个水池及周围参照物保持不变。该实验分为两部分：

1.3.3.1　定位航行实验　　历时 5 d。第 1 天大鼠自由游泳 2 min，使其适应环境和人的抓握等相关操作。从第 2 天起，分别从水池 4 个象限内将大鼠面向池壁放入水中，计算机监测并记录大鼠从入水开始寻找至找到并爬上透明平台的路线、所需时间（潜伏期）等，即为 1 个训练程序，每个训练程序 4 次/只，每天分上、下午各 1 个训练程序。如果大鼠 2 min 内未找到平台，需将其牵引到平台，并停留 30 ~ 60 s，这时潜伏期记为 2 min。每次训练间隔 30 min。

1.3.3.2　空间搜索实验　　用于测量大鼠学会寻找平台后对平台空间位置记忆的能力，即在第 6 天的第 5 次训练时撤除平台，然后任选 1 个入水点将大鼠面向池壁放入水中，并记录：① 2 min 内大鼠在各象限内游泳的距离。②记录搜索平台的轨迹。

1.4　统计学分析

结果采用 SPSS 12.0 统计软件进行 t 检验。

2　结果

2.1　大鼠 4 d 的逃避潜伏期观察结果

实验第 2 ~ 5 天，对照组（B 组）大鼠逃避潜伏期显著长于舒降之治疗组（A 组）（$P<0.01$），见表 1。

表 1　两组大鼠逃避潜伏期比较（t/s，$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

组别	2 d	3 d	4 d	5 d
A	45.94 ± 7.73	31.71 ± 5.73	9.96 ± 2.2	3.56 ± 0.53
B	65.90 ± 10.65[a]	46.78 ± 9.64[a]	34.24 ± 6.70[a]	27.23 ± 7.70[a]

a：$P<0.01$，与 A 组比较

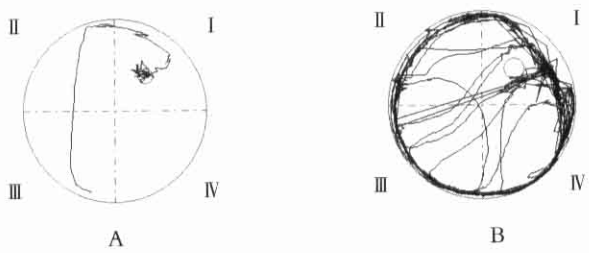
2.2　大鼠平台象限游泳的时间和总游泳时间（tP/tT），平台象限距离和总距离之比（dP/dT）

表 2 反映了两组大鼠 tP/tT 和 dP/dT 值直观比较，A 组的 tP/tT、dP/dT 显著大于 B 组（$P<0.01$）。游泳轨迹图见图 1、2。

表 2　大鼠空间探索实验结果（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）

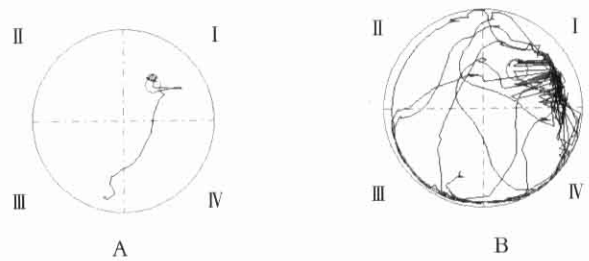
组别	dP/dT	tP/tT
A	43.22 ± 5.66	44.01 ± 5.60
B	36.57 ± 4.30[a]	35.15 ± 4.39[a]

a：$P<0.05$，与 A 组比较



A：A 组；B：B 组

图 1　大鼠第 2 天游泳轨迹图



A：A 组；B：B 组

图 2　大鼠第 5 天游泳轨迹图

3　讨论

周振华等[3]的重度颈动脉狭窄动物模型制作方法已证实能成功制成血管性认知障碍的痴呆大鼠。我们的实验采取此种动物模型，主要是考虑人们目前只重视颈动脉狭窄导致的卒中，而忽视颈动脉狭窄导致的认知功能障碍。而颈动脉狭窄导致的认知功能障碍在临床上是很常见的。

Morris 水迷宫法是一种测定动物空间学习记忆能力的行为学实验模型。它可提供较多的实验参数，系统而全面地考察空间认知加工过程的变化，尤其可将学习记忆障碍和感觉、运动、动机等缺损分离，且外界干扰性小，用来检验神经药物对动物的学习记忆和定向能力的影响，并且可利用此法来筛选促智药物[4]。我们通过动物实验观察，结果显示 B 组大鼠比 A 组大鼠逃避潜伏期显著延长。空间探索实验中 B 组大鼠的原平台象限时间与总时间和原平台象限路径与总路径比值明显低于 A 组。说明舒降之能改善 VCI 大鼠的认知功能。

舒降之改善认知功能可能的机制为：（1）在高胆固醇环境下，APP 的 β 分泌酶代谢途径活性增高，Aβ

产生增加[5]，促使可溶性 Aβ 转变为不溶性丝状物。舒降之可降低体外海马和人脑皮质神经细胞内 Aβ40 和 Aβ42 的含量[6]，他汀类药物通过降低胆固醇水平抑制 β 分泌酶的活性，从而抑制 APP 的 β 代谢途径，使 Aβ 的生成减少。(2)舒降之可降低卒中风险，胆固醇水平与脑血管事件的关系较其与心血事件的关系更为复杂。目前多数学者认为，高胆固醇血症是卒中，血管性卒中的高危因素。他汀类药物降低卒中和 VaD 风险的作用机制可能包括以下几方面：①降低血浆胆固醇水平和纤维蛋白原含量，抑制血小板血栓烷 A_2 和前列腺素 F_2 的产生，降低纤维蛋自原、血栓调节素和纤溶酶原激活物抑制剂-1 水平，降低红细胞和血小板膜的胆固醇含量，使血液的血栓形成能力减弱，凝血酶含量降至正常；②减少动脉粥样硬化斑块内的巨噬细胞，减少胆固醇堆积，增强斑块纤维帽完整性；③调节血管内皮功能；④增加内皮源性 NO 的释放，降低血压[7-9]。(3)在中枢神经系统中存在一类称为骨形成发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMP)的生长因子，它对中枢神经系统的发生、维持和成熟起重要作用，其中 MP-2、BMP-4、BMP-6、BMP-7、BMP-9 和 BMP-12 具有促进胆碱能神经元分化和维持的作用。他汀类药物能通过抑制 MVA 途径降低 GTP 酶的活性，从而增加 BMP-2 和其他 BMP 的表达，使脑内胆碱能神经元分泌的乙酰胆碱增加[10]。(4)目前血管性认知障碍的炎症发病机制是研究的热点，最近的研究已证实动脉粥样硬化及其临床并发症与炎症有关[11]。高脂血症与炎性标记物，如 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)，白细胞计数和补体 C_3 有关。Ridker 等[12]研究发现，校正年龄、体质指数、吸烟情况、血压和血脂水平后，他汀类治疗组和安慰剂组 CRP 中位数($P=0.007$)，平均 CRP 水平($P=0.002$)和 CRP 绝对平均值变化($P=0.003$)均有显著的统计学差异。这些炎性标记物的增高可能是内皮细胞激活(CRP、白细胞计数、C_3)和脂肪组织的脂肪酸代谢失衡(CRP、C_3)所致，而内皮细胞可由脂蛋白和三酰甘油在活性氧产物的作用下被激活。他汀类药物可抑制白细胞和(或)内皮细胞的激活，阻断白细胞与内皮细胞的粘附，在动脉粥样硬化最初的病理生理学环节上起到阻止作用。他汀类药物还可通过抑制织相容性受体复合物Ⅱ减少 T 细胞激活、抑制核因子 κB，诱导内皮型一氧化氮合酶和激活过氧化物酶体增生物激活受体产生抗炎作用。现已知道肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF-α)能削弱胰岛素样生长因子-1 促进神经元存活的作用，而他汀类药物可通过减少 TNF-α 的产生从而促进神经元存活，对痴呆防治起到积极作用[12]。

综上所述，舒降之可改善颈动脉狭窄所导致的血管性认知障碍，目前需要更多的循证医学证据来支持其临床应用，前景值得期待。我们将在今后的实验中进一步探讨血管性认知障碍的发病机制。

参考文献：

[1] BOWLER J V, STEENHUIS R, HACHINSKI V. Conceptual background to vascular cognitive impairment[J]. Alzheimer Dis Assoc Disord, 1999, 13(Suppl 3): S30 - S37.

[2] ROCKWOOD K, WENTZEL C, HACHINSKI V, *et al*. Prevalence and outcomes of vascular cognitive impairment. Vascular Cognitive Impairment Investigators of the Canadian Study of Health and Aging[J]. Neurology, 2000, 54(2): 447 - 451.

[3] 周振华，陈康宁，周 宇，等. 可控制狭窄程度的鼠颈动脉狭窄模型建立及认知功能改变[J]. 中国临床康复, 2005, 8(28): 6052 - 6054.

[4] 赵 勇，崔淑芳，汤 球. 血管性痴呆动物模型研究进展[J]. 上海实验动物科学, 2005, 25(1): 54 - 58.

[5] GIBSON-WOOD W, ECKERT G P, IGBAVBOA U, *et al*. Amyloid beta-protein interactions with membranes and cholesterol: causes or casualties of Alzheimer's disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1610(2): 281 - 290.

[6] FASSBENDER K, SIMONS M, BERGMANN C, *et al*. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta -amyloid peptides Abeta 42 and Abeta 40 *in vitro* and *in vivo*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(10): 5856 - 5861.

[7] BLAUW G J, LAGAAY A M, SMELT A H, *et al*. Stroke, statins, and cholesterol. A meta-analysis of randomized, placebo-controlled, double-blind trials with HMG-CoA reductase inhibitors[J]. Stroke, 1997, 28(5): 946 - 950.

[8] KEAMEY D, FIZGERALD D. Tlie The antithrombotic effect of statins [J]. J Am Cardiol, 1999, 33: 1305 - 1307.

[9] LAW M R, WALD N J, RUDNICKA A R. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2003, 326 (7404): 1423.

[10] DAS U N. Statins and the prevention of dementia[J]. CAMJ, 2001, 165(7): 908 - 909.

[11] Van-OOSTROM A J, Van-WIJK J, CABEZAS M C. Lipaemia, inflammation and atherosclerosis: novel opportunities in the understanding and treatment of atherosclerosis[J]. Drugs, 2004, 64(Suppl 2): 19 - 41.

[12] RIDKER P M, RIFAI N, PFEFFER M A, *et al*. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators[J]. Circulation, 1999, 100(3): 230 - 235.

(编辑 汪勤俭)