文章编号:1000-5404(2006)11-1215-03

论著

改善颈动脉狭窄所致认知功能障碍的实验研究

段 炜,陈康宁,柳春雨,周振华,陈长宇,刘国军 (第三军医大学西南医院神经内科,重庆 400038)

提 要:目的 研究解除颈动脉不完全狭窄后是否对不同程度颈动脉狭窄后所致认知功能障碍有治疗作用。**方法** 用SD大鼠制作不同程度颈动脉狭窄模型,2周后将颈动脉狭窄解除,分别在解除2周、4周后各组进行水迷宫行为学检测、P300检测,同时取颈动脉狭窄处比较狭窄解除前后颈动脉横截面积狭窄率的变化。**结果** 解除狭窄2、4周后对照组大鼠P300潜伏期、水迷宫实验逃避潜伏期均比假手术组大鼠明显延长,狭窄解除组大鼠的颈动脉面积狭窄率同对照组比较明显减少,并且P300潜伏期、水迷宫实验逃避潜伏期明显缩短。**结论** 颈动脉狭窄可以导致认知功能障碍,同时认知功能障碍的程度与颈动脉狭窄程度呈正相关,并且解除颈动脉狭窄对轻度认知功能障碍有显著的治疗作用,并且随着解除时间延长认知功能障碍改善更加明显。

关键词:轻度认知功能障碍;颈动脉狭窄;血管性痴呆
中图法分类号:R-332;R543.405;R741 **文献标识码**:A

Removal of carotid artery stenosis improves stenosis-induced cognitive impairment in rat

DUAN Wei, CHEN Kang-ning, LIU Chun-yu, ZHOU Zhen-hua, CHEN Chang-yu, LIU Guo-jun (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of removing carotid artery stenosis on improving cognitive impairment induced by carotid artery stenosis of different degree in rats. **Methods** The animal model of carotid artery stenosis was established in 48 SD rats, 24 of severe stenosis and 24 of moderate stenosis (the diameter of the carotid artery is respectively 0.45 mm and 0.6 mm), and another rats underwent sham operation as normal control. Two weeks later, the removal of carotid artery stenosis was performed in half rats of severe stenosis and half of moderate stenosis, the left rat models as controls. In 2, 4 weeks after removal of stenosis, the change of cross section area of stenosis part was analyzed by calculating the value of $[1-S_{stenosis}/S_{normal}]$, P300 event-related potential was detected and Morris water maze was performed. **Results** Two, four weeks after removal of stenosis, the P300 latency and the escape latency of Morris water maze in the control rats of severe and moderate stenosis was longer than that of sham operation group ($P<0.01$), the value of $[1-S_{stenosis}/S_{normal}]$ in the stenosis removal rats was less than the control of severe and moderate stenosis, with significantly less P300 latency and escape latency ($P<0.01$). **Conclusion** Cognitive impairment is induced by carotid artery stenosis. The severer carotid artery stenosis is, the more the cognitive impairment is. Stenosis removal can improve mild cognitive impairment, and the effect is better on the 4th week after stenosis removal than the 2nd week.

Key words: mild cognitive impairment; carotid artery stenosis; vascular dementia

Mathiesen等[1]临床研究发现无中风史的颈动脉狭窄患者在数个神经心理测试量表的评分中都要比无颈动脉狭窄患者差。国内已有动物实验研究证实双侧颈动脉狭窄率>30%即可导致认知功能障碍[2]。颈动脉狭窄造成认知功能障碍已经受到重视,并且颈动脉狭窄导致的临床症状往往很轻,只有短暂性脑缺血发作或者轻微的记忆障碍,常常未引起患者的足够重视,如果在病变的早期阶段及时治疗,解除颈动脉病变,恢复大脑血流量,则可以减少卒中的发病率,从而减少其并发症(如血管性痴呆)的发生,提高患者的生活质量。

作者简介:段 炜(1981-),女,山西省侯马市人,硕士研究生,主要从事脑血管疾病方面的研究。电话:(023)60991991, E-mail:sxduanwei@163.com
通讯作者:陈康宁,电话:(023)68765253
收稿日期:2005-12-28;修回日期:2006-03-14

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用健康成年 SD 大鼠 60 只，体质量(250 ± 25) g，雌雄对半，由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。分成 5 组，每组 12 只，即分别为重度狭窄对照组、中度狭窄对照组、重度狭窄解除组、中度狭窄解除组和假手术组。置于 24 ~ 25 ℃室温中喂养。

1.2 主要仪器

丹麦产 Medtronic 型诱发电位仪、冰冻切片机、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[2]的不同程度颈动脉狭窄动物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。大鼠乙醚麻醉后固定，行颈正中切口，分离肌肉并游离双侧颈总动脉，在颈总动脉近心侧距颈内动脉和颈外动脉分叉处约 0.5 cm 处用 0 号手术缝线将双侧颈总动脉和 2 种不同直径(0.45 mm 和 0.6 mm)的注射器针头一起扎紧并打成活结，留置线头，然后拔出针头。假手术组只暴露双侧颈总动脉但不结扎，其余处理同模型组。大鼠重度狭窄颈动脉面积狭窄率为 70% ~ 99%，中度狭窄颈动脉面积狭窄率为 30% ~ 69%。

1.3.2 狭窄解除 造模 2 周后将狭窄解除组的大鼠再次乙醚麻醉后固定，行颈正中切口，分离肌肉后找到留置的线头，将线头完全游离，将结扎的活结打开，小心抽出缝线。狭窄解除持续 2、4 周。

1.3.3 颈总动脉狭窄处面积狭窄率的测定 造模后 2 周和狭窄解除后 2、4 周将各组中大鼠用过量水合氯醛麻醉，断头后分离颈总动脉后狭窄处横截面冰冻切片，取狭窄处前后各 3 个切面分析，输入图像分析系统，计算每个切面的面积狭窄率，求取平均值。计算公式：狭窄率 = $[1 - S_1/S_2] \times 100\%$ (S_1、S_2 分别代表狭窄部分和正常血管相同部位横断面积)。

1.3.4 事件相关诱发电位 ERP 中 P300 的检测 将大鼠固定在立体定位仪上，用 3.3 cm 检测电极刺入矢状缝与两外耳道连线交点头皮下，斜向前约 0.5 cm 接记录电极；分别于双耳乳突部刺入 3.3 cm 检测电极，并连接参考电极；地线接 3.3 cm 检测电极刺入鼠尾根部。双耳通过隔音音罩接受听觉信号，叠加次数为 300 次，分析时间为 800 ms。各组大鼠在给予解除 2、4 周后进行检测。

1.3.5 行为学检测(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。在各组大鼠狭窄解除后 2、4 周进行检测。水温控制在(26 ± 1)℃，室温 24 ~ 26 ℃，训练期间整个水池及周围参照物保持不变。该实验分为以下两部分。

1.3.5.1 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，每个训练程序 4 次/只，分上、下午各 1 个训练程序。如果 2 min 内未找到平台，这时潜伏期记为 2 min。每次训练间隔 60 s。

1.3.5.2 空间搜索实验 定位航行实验后拆除透明平台，然后任选 1 个入水点将大鼠面向池壁放入水中，并记录：①2 min 内大鼠在各象限内游泳的距离；②搜索平台的轨迹。

1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 11.0 统计软件。两两比较采用 t 检验，多组总体均值比较采用单因素方差分析，其中用 LSD 法进行各组均值的两两比较。

2 结果

2.1 狭窄解除 2、4 周后大鼠颈动脉横截面狭窄率的变化

2 个时相点均发现狭窄解除组大鼠颈动脉横截面狭窄率解除前后均有显著性差异($P < 0.01$)，同时重度狭窄组大鼠狭窄解除后颈动脉横截面狭窄率同中度狭窄组大鼠的颈动脉狭窄横截面狭窄率比较同样具有显著性差异($P < 0.01$)。见表 1、图 1。

表 1 狭窄解除前后大鼠颈动脉狭窄处面积狭窄率的比较($n = 5$, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	狭窄率	组别	狭窄率
重度狭窄组	93.08 ± 2.68[a]	中度狭窄组	68.71 ± 2.34[a]
重度狭窄解除组(2 周)	64.37 ± 3.66[b]	中度狭窄解除组(2 周)	55.99 ± 3.40
重度狭窄解除组(4 周)	59.37 ± 3.75[b]	中度狭窄解除组(4 周)	48.20 ± 3.24

a：$P < 0.01$，与重度狭窄解除组比较；b：$P < 0.05$，与中度狭窄组比较



A：正常血管；B：重度狭窄组大鼠血管；C：狭窄解除组大鼠血管

图 1 狭窄颈动脉解除后和正常大鼠颈总动脉横截面冰冻切片 (HE × 40)

2.2 解除 2、4 周后大鼠 P300 潜伏期的变化

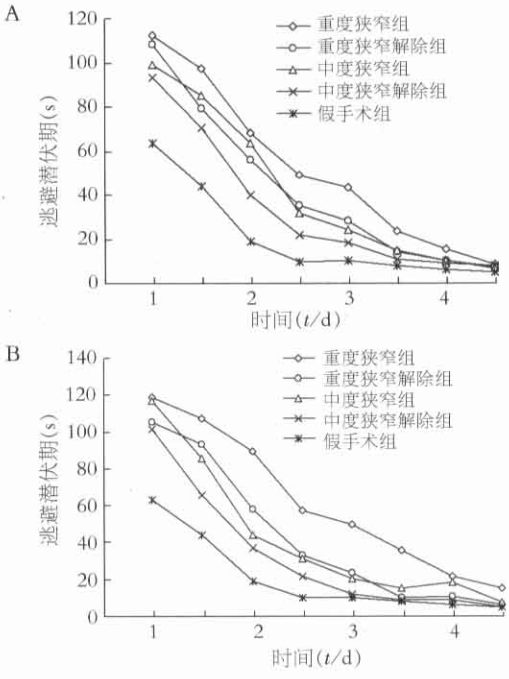
2 个时相点均发现对照组大鼠的 P300 潜伏期与假手术组大鼠比较明显延长($P < 0.01$)，狭窄解除后，两狭窄解除组大鼠的 P300 潜伏期分别与对照组比较显著降低($P < 0.01$)，但与假手术组比较二者则显著延长($P < 0.01$)。同时发现对照组大鼠 P300 潜伏期随着狭窄时间延长而延长，狭窄解除组大鼠 P300 潜伏期随着持续时间延长而缩短。

2.3 解除 2、4 周后各组大鼠水迷宫实验结果

2.3.1 各组大鼠的平均逃避潜伏期 2 个时相点均发现对照组大鼠的平均逃避潜伏期分别与假手术组大鼠比较明显延长($P < 0.01$)，2 个狭窄解除组大鼠的平均逃避潜伏期分别与对照组比较明显缩短($P < 0.01$)，比假手术组大鼠的平均逃避潜伏期显著延长($P < 0.01$)，见图 2。

2.3.2 各组大鼠平台象限的游泳距离占总游泳距离的百分比

2 个时间点均发现对照组大鼠的百分比与假手术组比较明显减少($P < 0.01$)，2 个狭窄解除组大鼠的百分比分别较对照组明显增加($P < 0.01$)，同假手术组比较显著减少($P < 0.01$)。并且随着解除狭窄持续时间加长，大鼠游泳距离百分比增加。见表 2。



A：治疗 2 周；B：治疗 4 周

图 2　解除 2、4 周后狭窄组和假手术组大鼠的平均逃避潜伏期变化

表 2　解除后各组大鼠在平台象限的游泳距离占总游泳距离的百分比[$n=6$，($\bar{x}\pm s$)%]

狭窄程度	假手术组	解除组		对照组	
		2 周	4 周	2 周	4 周
重度狭窄	53.63 ±4.46	44.30 ±1.10[ab]	46.75 ±2.45[ab]	40.74 ±2.78[b]	34.93 ±5.55[b]
中度狭窄	53.63 ±4.46	47.94 ±1.11[ab]	49.66 ±3.36[ab]	45.15 ±2.41[b]	43.97 ±1.67[b]

a：$P<0.01$，与对照组比较；b：$P<0.01$，与假手术组比较

3　讨论

VD 的治疗方法还是以药物治疗为主。随着神经介入的广泛开展，众多临床资料显示颈动脉支架置入术能显著改善患者临床症状，并且术后并发症较少[3]。最近 Moftakhar 等[4]回顾性研究发现颅内血管支架置入术后患者认知功能显著改善，并且改善程度与术后脑血流量的恢复程度成正比。

通过实验，我们证实颈动脉狭窄后可以造成认知功能障碍，并且认知功能障碍程度与颈动脉狭窄程度和狭窄持续时间相关。同时初步研究解除颈动脉狭窄对大鼠认知功能的改善作用。

狭窄解除 2、4 周后颈动脉狭窄处横截面狭窄率比狭窄解除前明显增加（$P<0.01$），故大鼠脑血流低灌注状态有所减轻，并且随着解除时间延长，颈动脉面狭窄率显著下降。说明随着时间延长，解除颈动脉狭窄后脑血流量会越多。中、重度狭窄组中解除组大鼠在解除 2、4 周后 P300 潜伏期比解除前明显下降（$P<0.01$），说明狭窄解除后大鼠认知功能明显恢复，同时随着狭窄解除时间延长，P300 潜伏期下降更加明显。2 组狭窄解除大鼠解除后 Morris 水迷宫实验的平均逃避潜伏期与解除前相比明显缩短（$P<0.01$），两组颈动脉狭窄大鼠在平台象限的游泳距离占总游泳距离的百分比在狭窄解除前后均有显著性差异（$P<0.01$），并且解除 4 周后大鼠游泳距离百分比与假手术组大鼠更接近，说明狭窄解除后大鼠的认知功能明显恢复，并且解除持续时间越长，认知功能恢复越好。

从以上可以发现解除颈动脉狭窄对认知功能障碍具有一定的改善作用，随着解除持续时间越长，改善程度越明显。

颈动脉狭窄导致认知功能障碍的机制目前尚未明确，除了慢性脑血流低灌注，室周及深部白质脑区的缺血性损害[5]，颈动脉斑块脱落造成脑内多发的微小的腔隙性梗死灶以外[6]，最近发现颈动脉粥样斑块导致颈动脉压力感受器和化学感受器功能紊乱，出现了缺氧和低血压的错误刺激，造成交感神经系统功能亢进、脑血管自身调节功能紊乱，随即引发炎症反应、血凝增高等一系列病变促使颈动脉高度狭窄甚至闭塞导致认知功能障碍[7]。然而颈动脉狭窄解除后认知功能障碍恢复的机制尚不清楚，推测可能是狭窄解除后大脑血流量增加，改善局部神经元缺血状态，消除缺血时产生的自由基、兴奋性氨基酸等有害物质，维持细胞内外的钙离子平衡，从而减轻缺血缺氧对神经元的损伤，减少神经元的凋亡。

参考文献：

[1] MATHIESEN E B, WATERLOO K, JOAKIMSEN O, *et al*. Reduced neuropsychological test performance in asymptomatic carotid stenosis: The Tromso Study[J]. Neurology, 2004, 62(5): 695 - 701.

[2] 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.

[3] DIETER R S, LAIRD J R. Carotid artery stenting: update[J]. Int J Cardiovasc Intervent, 2005, 7(3): 126 - 133.

[4] MOFTAKHAR S, TURK A S, NIEMAN D B, *et al*. Effects of carotid or vertebrobasilar stent placement on cerebral perfusion and cognition [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2005, 26(7): 1772 - 1780.

[5] SHIBATA M, OHTANI R, IHARA M, *et al*. White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion[J]. Stroke, 2004, 35(11): 2598 - 2603.

[6] RAO R, JACKSON S, HOWARD R. Neuropsychological impairment in stroke, carotid stenosis, and peripheral vascular disease, A comparison with healthy community residents[J]. Stroke, 1999, 30(10): 2167 - 2173.

[7] DOUX J D, YUN A J. The link between carotid artery disease and ischemic stroke may be partially attributable to autonomic dysfunction and failure of cerebrovascular autoregulation triggered by Darwinian maladaptation of the carotid baroreceptors and chemoreceptors[J]. Med Hypotheses, 2006, 66(1): 176 - 181.

（编辑　陈聪连）