论著

文章编号:1000-5404(2007)22-2174-02

烟碱对Alzheimer病大鼠学习记忆功能的影响

严家川,周华东,蒋晓江,邓 娟,王延江 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨烟碱对Alzheimer病(AD)的预防治疗作用。**方法** 将$A\beta_{25-35}$注射于大鼠海马部位,建立AD动物模型,通过Morris水迷宫实验,观察大鼠学习记忆功能的变化。**结果** 在定位航行实验中,烟碱AD组的潜伏期随训练天数的增加而逐渐缩短,AD组则无明显的变化。在空间探索实验中,烟碱AD组在平台象限游泳时间百分比和游泳距离百分均较AD组增加,差异显著($P<0.01$)。**结论** 烟碱对$A\beta_{25-35}$所致学习记忆障碍具有预防和治疗作用,其机制可能与烟碱促使神经递质释放有关。

关键词:烟碱;Alzheimer病;β-淀粉样蛋白$_{25-35}$

中图法分类号:R338.64;R749.16;R971 **文献标识码**:A

Preventive effect of nicotine on learning and memory functions in Alzheimer rats

YAN Jia-chuan, ZHOU Hua-dong, JIANG Xiao-jiang, DENG Juan, WANG Yan-jiang (Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To explore the role of nicotine pretreatment on Alzheimer disease (AD). Methods Totally 26 SD rats orally took 5 μg/ml nicotine in 2% sugar solution daily, and then 7 d later, they (nicotine AD group) and other 26 rats (AD group) received the injection of amyloid peptideβ_{25-35} into their hippocampus to establish AD rat model. Another 8 rats served as normal control. Functions of learning and memory were evaluated by Morris test. Results During the place navigation test, the latency of the nicotine AD group was decreased compared with the AD group, and the percentages of swimming time and swimming distance at the target quadrant were higher than the AD group. Conclusion Nicotine prevents the dysfunction of learning and memory induced by $A\beta_{25-35}$. The mechanism may be related with neurotransmitter release promoted by nicotine.

Key words: nicotine; Alzheimer's disease; amyloid peptideβ_{25-35}

Alzheimer病(Alzheimer's disease, AD)是老年期痴呆的主要类型,在发达国家,AD已成为老年人继心脏病、肿瘤和卒中之后的第4位死亡原因。我国AD的发病率也呈逐年上升趋势,成为仅次于血管性痴呆的主要痴呆类型。

AD症状缓慢发展,表现为学习、记忆能力下降,智能减退,生活自理能力降低。AD的典型病理特点为老年斑、神经原纤维缠结、海马锥体细胞颗粒空泡变性、皮层大量神经元及其突触丢失等[1]。目前对其确切病因、发病机制尚未阐明,也缺乏特效治疗。本研究通过在大鼠海马区注射β-淀粉样蛋白$_{25-35}$(β-amyloid peptide$_{25-35}$, $A\beta_{25-35}$),建立AD动物模型,以期探讨烟碱对AD大鼠学习记忆功能的影响。

作者简介:严家川(1966-),男,云南省巧家县人,博士,主治医师,讲师,主要从事老年性痴呆和急性脑血管病方面的研究。电话:(023)68757863

通讯作者:周华东,电话:(023)68757254

收稿日期:2007-01-12;修回日期:2007-04-10

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

烟碱(Merck公司),$A\beta_{25-35}$(北京中杉公司),Morris水迷宫实验装置(LW-Ⅱ型,中国医学科学院药物研究所),江湾Ⅰ型脑立体定向仪(上海)。

1.2 动物与分组

健康雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠60只,70~90日龄,体质量250~270 g,由本院实验动物中心提供,分为正常对照组(8只),烟碱AD组(26只),AD对照组(26只)。

1.3 动物模型

参照文献[2]制作AD大鼠动物模型(AD组)。烟碱AD组:实验前7 d,参考文献[3]的方法,将烟碱(浓度为5 μg/ml)加入2%的蔗糖溶液中给大鼠口服,使大鼠低剂量摄入烟碱。7 d后向海马内注射$A\beta_{25-35}$,建立烟碱AD组,烟碱AD模型建立后,继续口服烟碱。正常对照组:不作任何处理。各实验组均大鼠自由饮水和取食,环境温度控制在25~28 ℃,观察15 d后进行行为学测试。

1.4 Morris水迷宫实验

1.4.1 Morris水迷宫装置 由一不锈钢制成的圆柱形水池

和一可移动位置的圆柱形站台组成。水池直径 120 cm，高 50 cm。站台直径 12 cm，高 24 cm。水池上方通过摄像机与监视电视和计算机连接，利用计算机软件对大鼠活动进行全程跟踪，并记录游泳轨迹、找到站台所需的时间（潜伏期）、总的游泳距离、每一象限的游泳时间和距离。

1.4.2　实验方法　　每只大鼠每天训练 8 次，每次采用不同的入水点，每次训练 2 min。训练时将大鼠面朝池壁轻轻放入水中，同时启动记录装置，开始记录。大鼠找到并爬上站台后，让其停留 30 s，若大鼠入水后 2 min 内未能找到或爬上站台，则将其放置于站台上站立 30 s。之后，将大鼠从站台上取下休息至少 30 min，再进行下一次训练。结果以大鼠寻找站台的潜伏期、总的游泳距离、在目标象限的时间及距离表示。

1.5　统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，应用 SPSS 12.0 统计软件进行组间 t 检验和单因素方差分析。

2　结果

2.1　平台定位航行实验

正常对照组大鼠在 3 d 内就学会寻找平台，潜伏期迅速下降，从第 3 天起，潜伏期趋平稳，只需 5 ~ 10 s 就能找到平台，烟碱 AD 组大鼠寻找平台的潜伏期逐渐缩短，其趋势与正常对照组类似，而 AD 组大鼠虽有下降趋势，但不稳定，与正常对照组、烟碱 AD 组相比差异明显（$P<0.05$，$P<0.01$）。见表 1。

表 1　各组大鼠平台定位航行实验潜伏期比较（s，$\bar{x} \pm s$）

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	76.0 ± 4.0	50.1 ± 6.5	24.6 ± 8.8	12.1 ± 5.6	7.8 ± 2.6
AD 组	87.6 ± 3.1^{ac}	78.6 ± 6.8^{ac}	70.2 ± 6.0^{ac}	69.3 ± 22.9^{ac}	60.9 ± 14.2^{ac}
烟碱 AD 组	79.5 ± 5.3	61.1 ± 10.7	40.5 ± 11.3^{b}	32.3 ± 16.7^{b}	26.8 ± 4.3^{a}

a：$P<0.01$，b：$P<0.05$，与正常对照组比较；c：$P<0.01$，与烟碱 AD 组比较

2.2　空间探索实验

正常对照组和烟碱 AD 组在目标象限搜索次数较多，AD 组在目标象限搜索次数较少，目的性不明确。烟碱 AD 组大鼠在平台象限的游泳时间百分比[（56.47 ± 7.50）%]和游泳距离百分比[（50.41 ± 6.72）%]较正常对照组降低[分别为（64.94 ± 4.68）%、（52.36 ± 5.21）%，$P<0.05$]，但高于 AD 组[分别为（22.33 ± 4.02）%、（26.91 ± 5.16）%，$P<0.01$]。AD 组大鼠在平台象限搜索次数较少，目的性不明确，与烟碱 AD 组、正常对照组相比差异明显（$P<0.01$）。

3　讨论

研究表明，吸烟可降低 AD 发病的危险性，老年吸烟非 AD 患者其海马、大脑皮质老年斑的密度明显低于同龄的非吸烟者[4]。也有研究表明，吸烟者每年简易精神智能状态评分降低程度比非吸烟者大，因而指出吸烟能加速非痴呆老年人认知功能的下降，使患 AD 的危险性增加[5]。研究结果之间出现互相矛盾的结论，促使人们对此开展进一步的研究。

大鼠海马注射 $A\beta_{25-35}$ 后，大鼠海马 CA1 ~ CA4 区及齿状回神经元数量明显减少，神经元细胞质浓染，核固缩；将 $A\beta_{25-35}$ 注射于大鼠脑室或海马可复制出 AD 动物模型[6]。本实验表明，大鼠海马区注射 $A\beta_{25-35}$ 后，AD 组大鼠寻找平台的潜伏期有下降的趋势（$P<0.05$，$P<0.01$），而在正常对照组和烟碱 AD 组中，大鼠寻找平台的潜伏期逐渐缩短，两组平台象限的游泳时间百分比和游泳距离百分比均较 AD 组高。证实注射 $A\beta_{25-35}$ 后可导致大鼠海马神经元损伤，出现学习记忆功能障碍。

White 等[7]给 AD 患者使用烟碱贴剂后，患者在 CPT 测试中忽略性错误和替代性错误均明显减少，回答准确性、反应时间变量与正常对照组相比也得到明显改善。Nordberg 等[8]给 APPsw 转基因鼠口服烟碱后观察到，在额-顶叶、颞叶、纹状体等区域 Aβ 反应阳性的斑块密度明显降低，提示烟碱可有效降低 Aβ 在神经系统的聚积。

烟碱可与突触前 α7 烟碱型乙酰胆碱受体结合，增加乙酰胆碱释放，提高突触处乙酰胆碱含量。而突触处乙酰胆碱含量的升高，有利于学习记忆功能的恢复和保持。本实验中，烟碱 AD 组大鼠寻找平台的潜伏期逐渐缩短，平台象限的游泳时间百分比和游泳距离百分比均较 AD 组高，故学习记忆能力与 AD 组大鼠相比损伤较轻，证实烟碱可改善学习记忆功能。因此，我们认为，烟碱对 AD 具有预防、治疗的作用，但其机制还需进一步研究。

参考文献：

[1] 宋　敏，唐　军，李达兵，等. PS1/APP 双转基因阿尔茨海默病模型传代小鼠的基因型鉴定及其组织学分析[J]. 第三军医大学学报，2006，28(14)：1453 - 1456.

[2] Tohda C，Tamura T，Komatsu K. Repair of amyloid beta(25 - 35)-induced memory impairment and synaptic loss by a Kampo formula，Zokumei-to[J]. Brain Res，2003，990(1 - 2)：141 - 147.

[3] Heranndez C M，Terry A V，Jr.. Repeated nicotine exposure in rats：effects on memory function，cholinergic markers and nerve growth factor[J]. Neuroscience，2005，130(4)：997 - 1012.

[4] Perry E，Martin-Ruiz C，Lee M，*et al*. Nicotinic receptor subtypes in human brain ageing，Alzheimer and Lewy body diseases[J]. Eur J Pharmacol，2000，393(1 - 3)：215 - 222.

[5] Ott A，Andersen K，Dewey M E，*et al*. Effect of smoking on global cognitive function in nondemented elderly[J]. Neurology，2004，62(6)：920 - 924.

[6] 毕建忠，王　萍，许顺良，等. 注射 Aβ25 - 35 后大鼠海马超微结构及 caspase-3 表达的改变[J]. 山东大学学报：医学版，2005，43(11)：1010 - 1014，1022.

[7] White H K，Levin E D. Four-week nicotine skin patch treatment effects on cognitive performance in Alzheimer's disease[J]. Psychopharmacology (Berl)，1999，143(2)：158 - 165.

[8] Nordberg A，Hellstrom-Lindahl E，Lee M，*et al*. Chronic nicotine treatment reduces beta-amyloidosis in the brain of a mouse model of Alzheimer's disease (APPsw) [J]. J Neurochem，2002，81(3)：655 - 658.

（编辑　薛国文）