

慢性脑缺血大鼠学习记忆变化及甲状腺激素的影响

商永华¹ 王 群^{1,2} 陆兵勋¹ 刘海云¹

摘要 目的: 研究慢性脑缺血大鼠学习记忆的变化及甲状腺激素的影响。**方法:** 成年 SD 大鼠随机分为假手术组 10 只; 单纯双侧颈总动脉结扎手术组 7 只; 术后甲状腺激素治疗组 8 只。各组于 5 周后采用 Morris 水迷宫测试大鼠学习记忆能力。**结果:** 各组大鼠搜索策略趋向式和直线式所占比例比较: 单纯手术组较假手术组、术后治疗组显著减少 ($P<0.01$), 术后治疗组与假手术组之间差异无显著性意义; 定位航行试验: 单纯手术组较假手术组、术后治疗组逃避潜伏期明显延长 ($P<0.05$); 空间探索试验: 单纯手术组较假手术组显著缩短 ($P<0.01$)。**结论:** 慢性脑缺血大鼠学习记忆能力明显受损, 甲状腺激素治疗可以使其学习能力得到明显改善, 并在一定程度上提高其工作记忆功能。

关键词 血管性认知障碍; 学习记忆; 大鼠; 甲状腺激素

中图分类号: R493, R743 文献标识码: A 文章编号: 1001-1242(2007)-03-0209-03

The changes of ability of learning and memory in rats with chronic cerebral ischemia and the effects of thyroid hormone / SHANG Yonghua, WANG Qun, LU Bingxun, et al. // Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(3): 209—211

Abstract Objective: To study the changes ability of learning and memory in the rats with chronic cerebral ischemia and the effects of thyroid hormone. **Method:** Twenty-five male SD rats were randomly allocated into sham operation group (SO, $n=10$), operation group (PO, $n=7$), thyroid hormone treatment group (THT, $n=8$). Morris water maze test was performed at the end of experiment. **Result:** The average escape latency of PO rats was significantly longer than the other groups during platform orientation test ($P<0.05$). The probe time of the SO group was much shorter than the other two groups during spatial probe test ($P<0.05$). **Conclusion:** The ability of learning and memory of the rats with chronic cerebral ischemia was obviously impaired. Thyroid hormone can significantly improve the ability of learning, and the function of memory in some degree.

Author's address Department of Neurology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515

Key words vascular cognitive impairment; learning and memory; rat; thyroid hormone

血管性认知障碍 (vascular cognitive impairment, VCI) 是指由各种血管病变所引起的认知功能障碍, 其中以缺血性疾病最为常见, 但其具体机制尚不清楚。有研究显示颈动脉狭窄造成的脑血流慢性失代偿或脑结构损害可引起认知障碍, 临床研究发现血清 T_4 水平低的老年女性 3 年内认知功能障碍的发生危险率明显高于同年正常对照人群^[1]。另有研究显示, 血管性痴呆患者存在着血清甲状腺激素水平异常, 主要表现为血清 T_3 、游离 T_3 降低^[2], 提示认知能力变化与甲状腺激素浓度密切相关。本实验建立双侧颈总动脉结扎大鼠模型, 通过水迷宫实验观察慢性脑缺血大鼠学习记忆能力的变化及甲状腺激素对其的影响, 为临床治疗 VCI 提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组和处理

雄性成年清洁级 SD 大鼠 25 只, 体质量 368 ± 23 g, 由南方医科大学实验动物中心提供。饲养环境: 标准鼠笼饲养, 光照周期 12/12h, 相对湿度 45%—

50%, 环境温度 22—23℃。

随机分组。假手术组 10 只: 颈前切口, 钝性分离双侧颈总动脉, 不行结扎; 单纯手术组 7 只: 双侧颈总动脉结扎术后饲养 5 周; 术后治疗组 8 只: 双侧颈总动脉结扎术后当日始给予 L-甲状腺激素片灌胃, 每只鼠剂量为 20mg/d, 共 5 周。

1.2 学习记忆能力检测

各组于实验终点行 Morris 水迷宫测试。方法: 水迷宫的水池直径为 100cm, 高 60cm, 水深 42cm, 水温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 站台高度为 40cm, 站台顶端平面 $10\text{cm} \times 10\text{cm}$, 平台没于水面下 2cm, 水池周围参照物保持不变。实验包括: ①适应性训练: 实验前 1 天让动物在无安全平台的水中适应性游泳 2min; ②定位航行试验: 实验历时 4d, 每日分上、下午两个系列, 每个系列包括 4 次, 操作者将大鼠面向池壁从不同象限入

1 南方医科大学南方医院神经内科, 广州, 510515

2 通讯作者: 王群(南方医科大学南方医院神经内科, 广州, 510515)

作者简介: 商永华, 男, 硕士研究生

收稿日期: 2006-06-12

水,发现平台后,让其在平台上站立 30s,将大鼠从平台上拿下来休息 60s,再随机由下一象限入水进行试验,如果 120s 内找不到平台,则由操作者帮助其上平台,潜伏期记为最高分 120s。记录大鼠找到平台的时间(逃避潜伏期)和游泳路径(搜索策略);③空间探索试验:第 5d,撤去平台,取随机一点投大鼠入水池中,记录 2min 内大鼠穿过平台所在象限的时间。

1.3 统计学分析

各组数值以均数±标准差表示,用 SPSS10.0 统计软件比较各组之间相关测试指标的差别;统计学分析方法采用单因素方差分析进一步分析采用 LSD 法,检测水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠探索策略

大鼠探索策略分为边缘式、随机式、趋向式、直线式。首次探索策略多为边缘式和随机式。水迷宫试

验中各组大鼠趋向式和直线式所占比例分别为:假手术组:70.00%±8.61%,单纯手术组:34.01%±21.72%,术后治疗组:58.47%±12.49%;单纯手术组较假手术组、术后治疗组比例显著减少($P<0.01$),术后治疗组与假手术组之间差异无显著性意义。

2.2 不同组别大鼠水迷宫时间比较

定位航行试验(选用第 8 个系列首次入水的平均逃避潜伏期):单纯手术组较假手术组、术后治疗组逃避潜伏期明显延长($P<0.05$),术后治疗组与假手术组之间差异无显著性意义;空间探索试验:单纯手术组较假手术组显著缩短($P<0.01$),术后治疗组较单纯手术组有所延长,但较假手术组之间仍有显著性差异($P<0.05$)。

2.3 各组大鼠不同时间平均逃避潜伏期比较

假手术组:第 2—4 天潜伏期均较前一天明显缩短($P<0.05$);单纯手术组:不同天数之间潜伏期均无明显差异;术后治疗组:第 1 天较余者潜伏期明显延长($P<0.05$),其余各天间比较无显著差异。见表 1。

表 1 各组大鼠水迷宫时间及不同时间平均逃避潜伏期比较

($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	水迷宫		逃避潜伏期			
		定位航行	空间探索	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
假手术组	10	12.44±9.95	54.87±7.60	64.14±28.60	29.39±9.63 ^④	18.99±3.60 ^{⑤⑥}	13.83±2.61 ^{④⑤⑥}
单纯手术组	7	33.27±16.12 ^②	38.74±10.72 ^②	83.74±24.11	63.10±39.55	60.90±31.59	52.15±36.74
术后治疗组	8	16.37±9.94 ^③	44.43±5.86 ^①	73.98±24.71	46.56±31.15 ^④	31.33±20.78 ^④	30.14±24.39 ^④

与假手术组比较:① $P<0.05$,② $P<0.01$;与单纯手术组比较:③ $P<0.05$;与第 1 天比较:④ $P<0.05$,与第 2 天比较:⑤ $P<0.05$,与第 3 天比较:⑥ $P<0.05$

3 讨论

脑血管疾病可导致多种类型和不同程度的认知障碍,尸检证实:78%的老年患者有脑血管疾病,其中超过 80%有痴呆^[3]。血管性认知障碍是基于血管性痴呆的概念受既往知识的限制、带有许多认识上的不足而提出的,由于痴呆的诊断往往发生在认知障碍已严重到干扰患者的日常生活能力时^[4],此时的患者已失去了二级预防治疗作用,因此,在认知功能明显损害之前就发现并进行干预显得非常重要。VCI 包括所有脑血管源性认知损害而不一定有痴呆和显著的记忆缺失,另外,血管性病变更引起的认知障碍,是当前各种类型痴呆中最具可治性的一种,因此,研究 VCI 认知障碍的治疗具有极其重要的意义及可行性。

已有病理结果显示,大鼠双侧颈总动脉结扎后存活 30—120d 时,海马 CA1 区神经元数目显著减少^[5],并出现明显的海马和皮质区的星形胶质细胞神经胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)染色增强^[6],另外超微结构下可见与血管性痴呆相似的变化:毛细血管床基底膜增厚,大量胶原纤维沉积在毛细血管基底膜上,形成多发性

血管闭塞,并出现相应的梗死灶^[7]。有学者应用穿梭箱系统对双侧颈总动脉结扎大鼠进行行为学测试,发现缺血 2 个月时可出现学习记忆能力下降^[8]。

Morris 水迷宫主要用于评价海马的认知功能,它排除了动物在测试中排泄物等对成绩的影响,目前被认为是啮齿类动物学习记忆能力测试的标准实验之一,其中定位航行试验反应学习能力,空间探索试验反应的是空间长期记忆能力。在我们的实验中,单纯手术组两项成绩均最差,其探索策略中趋向式和直线式所占比例较其余两组显著减少,说明双侧颈总动脉结扎大鼠学习记忆能力明显受损,另外实验结果显示:随着训练次数增加,各组大鼠平均逃避潜伏期均逐渐缩短,其中假手术组第 2—4d 潜伏期均较前 1 天明显缩短,提示假手术组大鼠学习能力有不断加强趋势;而单纯手术组不同天数之间潜伏期均无明显差异,表明双侧颈总动脉结扎大鼠随着训练次数增加,其学习无明显进步。

我们以前的研究显示永久性结扎双侧颈总动脉大鼠脑组织 T_3 、 T_4 浓度及脱碘酶活性均明显下降,给予甲状腺激素治疗后各指标均有所恢复^[9],脑内甲状腺激素受体亦明显下降^[10],结果表明:缺血后脑实

质损伤通过某种机制直接造成脑内甲状腺激素代谢紊乱,包括作用活性物质甲状腺激素、起代谢作用的脱碘酶及甲状腺激素作用介导的甲状腺激素受体均呈明显下降。甲状腺激素对于神经系统的发育过程具有极其重要的作用,有研究发现它也调节学习记忆能力:长时程增强(long-term potentiation, LTP)是突触可塑性的功能指标,后者是学习记忆的神经生理学基础,成年甲状腺激素缺乏使海马 N-甲基-D-天冬氨酸受体 mRNA 表达减少致不能产生长时程增强^[1]。此外甲状腺激素还可以通过调节中枢乙酰胆碱递质及其合成相关的胆碱酯酶、胆碱乙酰转移酶对学习记忆产生重要影响。因此,大鼠慢性脑缺血后补充甲状腺激素可以纠正脑内甲状腺激素代谢紊乱,并改善学习记忆能力,本结果亦证实了这一点:双侧颈总动脉结扎大鼠给予甲状腺激素治疗后学习能力得到明显改善,工作记忆功能也有所恢复,另外术后治疗组第 2 天较第 1 天潜伏期明显缩短,提示甲状腺激素治疗后,其学习能力有一定程度的加强。

4 结论

大鼠慢性脑缺血 5 周时就可出现学习记忆能力损害,而甲状腺激素具有良好的改善慢性脑缺血大鼠学习记忆能力的作用,为应用甲状腺激素治疗慢性脑缺血所致的认知功能障碍提供实验支持,并为

痴呆的早期干预提供新思路。但甲状腺激素改善学习记忆能力具体机制仍需深入研究,其疗效亦需长期观察。

参考文献

- [1] Volpato S, Guralnik JM, Fried LP. Serum thyroxine level and cognitive decline in euthyroid older women [J]. *Neurology*, 2002, 58:1055.
- [2] Nakanishi T. Consideration on serum triiodothyronine (T3), thyroxine(T4), concentration and T3/T4 ratio in the patients of senile dementia is it possible to prevent cerebro-vascular dementia[J]. *Ikaku Kenkyu*, 1990, 60(1):18.
- [3] Neuropathology Group of the Medical Research Council Cognitive Function and Aging Study (MRC CFAS). Pathological correlates of late-onset dementia in a multicentre, community-based population in England and Wales[J]. *Lancet*, 2001, 357:169.
- [4] Bowler JV. The concept of vascular cognitive impairment[J]. *Neurological Sciences*, 2002, 11: 203—204.
- [5] Ni JW, Matsumoto K, Li HB, et al. Neuronal damage and decrease of central acetylcholine level following permanent occlusion of bilateral common carotid arteries in rat[J]. *Brain Res*, 1995, 73:29.
- [6] Nanri M, Ichibangase A, Nishikawa M, et al. Availability of 2VO rats as a model for chronic cerebrovascular disease[J]. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 1999, 113(2): 85—95.
- [7] De Jong GI, De Vos RA, Steur EN, et al. Cerebrovascular hypoperfusion: a risk factor for Alzheimer's disease? Animal model and postmortem human studies[J]. *Ann NY Acad Sci*, 1997, 826:56.
- [8] 范文辉, 朱鸿雁, 陈康宁, 等. 电刺激小脑顶核对血管性痴呆大鼠的治疗作用与机制[J]. *中国康复医学杂志*, 2000, 15(3):132.
- [9] 刘海云, 王群, 陆兵勋. 慢性脑缺血大鼠脑组织 T4-5'-脱碘酶及甲状腺激素的变化[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(22):104.
- [10] 王群, 李永军. 慢性缺血性大鼠认知功能障碍与甲状腺激素及其受体的关系[J]. *中华神经科杂志*, 2006, 39(2):132.
- [11] Lee PR, Brady D, Koenig JJ. Thyroid hormone regulation of N-methyl-D-aspartic acid receptor subunit mRNA expression in adult brain[J]. *J Neuroendocrinol*, 2003, 15(1):87.
- [12] objective screening test for dementia [J]. *J Am Geriatr Soc*, 1993, 41: 1235—1240.
- [13] Robertson IH, North NT. One hand is better than two: Motor extinction of left hand advantage in unilateral neglect [J]. *Neuropsychologia*, 1994, 32:1—11.
- [14] Beis J, Andre JM, Baumgarten A, et al. Eye-patching in unilateral spatial neglect: Efficacy of two methods [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 1999, 80:71—76.
- [15] Sterzi R, Bottini G, Celani MG, et al. Hemianopia, hemianesthesia and hemiplegia after right and left hemisphere damage. A hemispheric difference [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1993, 56: 308—310.
- [16] Wiart L, Bon-Saint Come A, Bebellex X, et al. Unilateral neglect syndrome rehabilitation by trunk rotation and scanning training [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 1997, 78: 424—429.
- [17] de Seze M, Wiart L, Bon-Saint-Come A, et al. Rehabilitation of postural disturbances of hemiplegic patients by using trunk control retraining during exploratory exercises [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2001, 82: 793—800.
- [18] Chan DYL, Chan CCH, Au DKS. Motor relearning programme for stroke patients: A randomized control trial [J]. *Clin Rehabil*, 2006, 20: 191—200.
- [19] Chan M, Chan B, Fong K, et al. Reliability and validity of the Chinese Behavioral Inattention Test (CBIT): Hong Kong version [M]. 2004 Occupational Therapy Symposium Proceedings, 2004. Hospital Authority, Hong Kong.
- [20] Watson YI, Arfken CL, Birge SJ. Clock completion: An objective screening test for dementia [J]. *J Am Geriatr Soc*, 1993, 41: 1235—1240.
- [21] Wilson B, Cockburn J, Halligan P. Development of a behavioral test of visuospatial neglect [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 1987, 68: 98—102.
- [22] Uniform Data System for Medical Rehabilitation. Functional Independence Measure Training Manual [M]. U.S.: U.B. Foundation Activities, 1994.
- [23] Chiu HFK, Lee HC, Chung WS, et al. Reliability and validity of the cantonese version of mini-mental state examination: A preliminary study [J]. *Journal of Hong Kong College of Psychiatry*, 1994, 4:25—28.
- [24] Paolucci A, Antonucci G, Guariglia C, et al. Facilitatory effect of neglect rehabilitation on the recovery of left hemiplegic stroke participants: A cross-over study [J]. *J Neurology*, 1996, 243: 308—396.
- [25] Mohr JD. Management of the trunk in adult hemiplegia: The Bobath concept [M]. Topics in Neurology. U.S.: American Physical Therapy Association, 1990.
- [26] Carey LM, Abbott DF, Egan GF, et al. Evolution of brain activation with good and poor recovery after stroke [J]. *Neurorehab Neural Re*, 2006, 20: 24—41.
- [27] Bowen A, Gardener E, Cross S, et al. Developing functional outcomes measures for unilateral neglect: A pilot study [J]. *Neuropsychol Rehabil*, 2005, 15:97—113.

(上接 205 页)

Neuropsychologia, 1993, 31: 293—300.