

甲状腺激素对慢性脑缺血大鼠认知功能障碍的改善作用

王 群,李永军,陆兵勋(南方医科大学南方医院神经内科,广东 广州 510515)

摘要:目的 研究慢性脑供血不足所致成年大鼠认知功能障碍的特点以及甲状腺激素对于认知功能的改善作用。方法 成年 SD 大鼠 31 只随机分为正常对照组 12 只;单纯手术组 6 只(双侧颈总动脉结扎术后 5 周);急性期给药组 7 只(双侧颈总动脉结扎术后当日始给予甲状腺激素灌胃,剂量 20 mg/只、频率 1 次/d、持续 5 周);慢性期给药组 6 只(双侧颈总动脉结扎术后第 6 周开始给予甲状腺激素灌胃,剂量 20 mg/只、频率 1 次/d、持续 5 周)。造模成功后用 Morris 水迷宫系统测试大鼠学习记忆能力。结果 定位航行实验单纯手术组之潜伏期较其他各组明显延长($P<0.05$);空间探索实验正常组与单纯手术组、急性期给药组和慢性期给药组之间有差异($P<0.05$);工作记忆正常组、急性期给药组与单纯手术组和慢性期给药组之间有显著差异($P<0.05$),其中以单纯手术组成绩最差。结论 慢性脑供血不足导致成年大鼠空间认知功能全面障碍,其特点是以短期记忆能力受损为主,且不能通过学习形成新的长期记忆,甲状腺激素对于其认知功能障碍有防治作用,脑缺血早期用药效果更好。

关键词:甲状腺激素;脑缺血;认知

中图分类号:Q572 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2005)01-0106-03

Effects of thyroid hormone on cognitive function in rats with chronic cerebral ischemia

WANG Qun, LI Yong-jun, LU Bing-xun

Department of Neurology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To study the characteristics of cognitive dysfunction in rats with chronic cerebral ischemia and the effects of thyroid hormone on the rats' cognitive function. **Methods** Thirty-one male SD rats were randomly allocated into normal control group ($n=12$), operation group (with bilateral carotid artery ligation and examined 5 weeks later, $n=6$), acute phase treatment group (APT, with bilateral carotid artery ligation and intragastric administration of thyroid hormone at 20 mg once daily for 5 weeks starting from the day of operation, $n=7$) and chronic phase treatment group (CPT, with the operation and thyroid hormone administration in an identical manner started from the sixth week following the operation, $n=6$). Morris water maze test was performed at the end of experiment. One-way ANOVA was used to estimate the differences in the learning and memory functions of the rats using SPSS10.0 for Windows. **Results** The average latent period of the operation group was significantly prolonged in comparison with that of the other groups ($P<0.05$) in spatial orientation test. The probe time (time spent in the quadrant where the platform was once situated) of normal control was much shorter than those of the operation, APT and CPT groups in spatial probe test ($P<0.05$), and the operation group had the poorest score. The average latent period of the operation and CPT was longer than that of the other groups ($P<0.05$) in working-memory task ($P<0.05$), and the operation group again had the poorest score. **Conclusion** Spatial cognitive function is totally damaged in rats with chronic cerebral ischemia, and learning can not induce the formation long-term memory because of short-term memory damage. Thyroid hormone may lessen but can not fully repair the damage of the cognitive dysfunction resulting from chronic cerebral ischemia, and early intervention with thyroid hormone may be beneficial for chronic cerebral ischemia.

Key words: cerebral ischemia; cognition; thyroid hormone

虽然缺血性病变尤其是多发性脑梗塞是血管性痴呆(VD)的主要病理基础,但 VD 的发病机制还在探索中。近年来,临床发现 VD 患者存在血清甲状腺激素水平异常,主要表现为低 T3 综合征,且其变化与痴呆程度密切相关^[1]。本实验通过永久性结扎双侧颈总动脉建模,研究慢性脑供血不足所致成年大鼠认知功能障碍的特点以及甲状腺激素对于认知功能的改善作用,以期临床 VD 的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及处理

雄性成年清洁级 SD 大鼠 31 只,体质量(350±46)g,由第一军医大学实验动物中心及南方医院动物实验所提供。饲养环境:标准鼠笼饲养,光照周期 12/12 h,相对湿度 45%~50%,环境温度 22~23℃。造模成功后随机分为正常对照组 12 只;单纯手术组 6 只(双侧颈总动脉结扎术后 5 周);急性期给药组 7 只(双侧颈总动脉结扎术后当日始给予 TH 灌胃,剂量 20 mg/只、频率 1 次/d、持续 5 周);慢性期给药组 6 只(双侧颈总动脉结扎术后第 6 周开始给予甲状腺激素灌胃,剂量 20 mg/只、频率 1 次/d、持续 5 周)。

收稿日期:2004-07-10

作者简介:王 群(1962-),女,1983年毕业于第一军医大学,硕士,副教授,副主任医师,E-mail:zhpn@fimmu.com

1.2 认知功能评价

各组实验动物于实验终点时用 Morris 水迷宫系统^[2]测试大鼠学习记忆能力。

1.2.1 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 2 min。

1.2.2 定位航行试验 连续训练 4 d, 每天分上、下午两个系列, 共训练 8 个系列, 每一系列又分 3 次。每次入池位置除站台所在的象限外, 分别于其他 3 个象限边 1/2 弧度处头朝池壁入水, 最长搜索时间为 120 s。发现平台后, 让其在平台上休息 30 s 后再行下一次检测。如果大鼠在 120 s 内仍未能找到平台, 则将其引导到平台, 潜伏期记为最高分 120 s。为排除工作记忆的影响, 选用第 8 个训练系列首次实验之潜伏期 (s) 评价其学习进度, 从而比较各组之间潜伏期的差异反应大鼠水迷宫学习进度。

1.2.3 空间探索试验 第 5 天撤去平台, 取随机任意一点投大鼠入水池中, 记录大鼠 1 min 内大鼠穿过平台所在位置象限的时间。

1.2.4 工作记忆测试 空间探索试验 2 d 后, 进行工作记忆测试, 迷宫设置同前, 但实施程序有下列差别: 共 4 个系列训练。4 系列测验中平台的位置互不相同, 分别位于 4 个不同的象限, 使大鼠不会在出发位置很容易偶然碰到平台。和以前一样, 每天分上、下午两个系列, 每一系列又分 3 次。入池位置在与站台所在象限相对称的象限。大鼠每次最长游泳 120 s, 让其在平台上休息 30 s 后再行下一次检测。在这个测试任务中, 每系列实验可以被看作为一个独立的任务, 前两次试验为搜索训练, 第 3 次试验测试大鼠对于刚刚结束的平台位置的记忆能力, 分别记录 4 个系列训练的潜伏期, 计算其算术平均数。

1.3 统计学处理

用 SPSS10.0 for Windows 统计软件比较各组之间相关测试成绩的差别。统计学方法采用单因素方差分析。

2 结果

各组之间游泳速度[正常组(22.29±4.72) cm/s; 单纯手术组(23.71±1.76) cm/s; 急性期给药组(22.80±2.44) cm/s; 慢性期给药组(23.31±3.01) cm/s]无显著性差异。定位航行试验潜伏期单纯手术组较其他各组明显延长($P<0.05$), 其余各组无明显差异; 空间探索实验正常组与其余各组之间差异具有显著性($P<0.05$); 工作记忆正常组和急性期给药组之间无显著性差异, 其余各组之间差异具有显著性($P<0.05$), 其中以单纯手术组成绩最差(表 1)。

表 1 水迷宫试验结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

Fig.1 Scores of Morris water maze test of each group (Mean±SD)

Group	Spatial orientation test	Spatial probe test	Working-memory task
Control	6.19±3.90	32.18±7.17	5.78±3.27
Operation	57.87±57.48*#▲	18.50±3.05*	62.84±50.26*#
APT	16.13±19.50	20.58±7.99*	12.65±12.79
CPT	25.16±27.12	19.38±4.80*	33.57±23.38*#

* $P<0.05$ vs control, # $P<0.05$ vs APT, ▲ $P<0.05$ vs CPT. APT:

Acute phase treatment; CPT: Chronic phase treatment

3 讨论

20 世纪 80 年代初, 英国心理学家 Morris 等设计了隐匿小站台的水迷宫实验模型, 通称为 Morris 水迷宫。由于其排除动物在完成作业而经过的途中所留下的排泄物和所分泌的外激素对其他动物作业成绩产生的影响, 所以广泛用于学习记忆功能研究。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。研究显示 Morris 水迷宫实验时大鼠学习行为能力下降的程度与海马神经元密度减低之间高度相关。与年轻对照组相比, 学习记忆能力下降的老年大鼠海马 CA1 和 CA3 区神经元减少了三分之一, 而正常的老年大鼠相同部位的神经元仅见少四分之一^[3]。所以 Morris 水迷宫实验主要用于评价海马的认知功能。

研究表明永久性结扎大鼠双侧颈总动脉 1~2 月后出现认知功能障碍, 随着术后生存时间的延长、痴呆程度逐渐加重, 至术后 4 月即可出现明显的痴呆^[4]。这种障碍可用 Morris 水迷宫等实验进行比较准确的评估。传统的测试项目仅以空间探索试验的成绩作为大鼠空间记忆的评价尺度。Wainwright^[5]首次增加工作记忆的测试。本实验还增加了定位航行试验的成绩。这样工作记忆测试大鼠对于刚刚结束的平台位置的记忆即短时记忆能力^[6], 空间探索试验反映的是一种空间长期记忆能力, 而定位航行试验则反映大鼠的学习进度。三项结合能比较全面地评价大鼠的认知功能。

慢性脑缺血特别是脑梗塞患者常存在甲状腺激素代谢异常, 一般表现为低 T3 综合症, 而且脑脊液中 FT3 和 FT4 均下降^[7]。Ichibangase 等研究发现血管性痴呆患者的认知能力与血清 FT3 浓度和心血管功能密切相关。血清 FT3 浓度可能是反映健康状况和认知能力的良好参数。高义等研究血管性痴呆与甲状腺轴功能关系的结果表明血管性痴呆组血清 T3、T4、FT3 水平较不伴有痴呆的脑血管病组及对照组明显降低, 且 FT3 降低程度与痴呆程度密切相关($r=0.86$)^[8]。提示甲状腺激素可能参与血管性痴呆的发生, 但尚无

甲状腺激素用于血管性痴呆认知功能障碍的报道。

本研究显示：单纯手术组各项测试成绩均最差，说明双侧颈总动脉结扎所造成的大鼠脑慢性缺血 1 月时即可出现显著的学习记忆能力损害，尽管其基本生活能力仍表现为正常。急性期给药组的工作记忆测试成绩明显优于慢性期给药组及单纯手术组，而与正常对照无明显差异，说明脑缺血早期给予甲状腺激素对于大鼠的短时记忆减退有预防和改善作用；慢性期给药组与单纯手术组工作记忆测试成绩也有显著性差异，提示脑缺血恢复期再给予甲状腺素也有助于提高其工作记忆功能，但是这种作用没有缺血早期给予甲状腺激素的预防作用显著。

参考文献：

[1] Ichibangase A, Nishikawa M, Iwasaka T, *et al.* Relation between thyroid and cardiac functions and the geriatric rating scale [J]. *Acta Neurol Scand*, 1990, 81(6): 491-8.

[2] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 1984, 11: 47-60.

[3] Wickelgren I. Is hippocampal cell death a myth[J]? *Science*, 1996,

271(5253): 1229-30.

[4] 赵宪林, 房宝玉, 方秀斌, 等. 血管性痴呆大鼠海马神经元凋亡的研究[J]. *中国医科大学学报*, 2000, 29(4): 264-6.
Zhao XL, Fang BY, Fang XB, *et al.* Study on apoptosis of hippocampal neurons in rats with vascular dementia [J]. *J Chin Med Univ*, 2000, 29(4):264-6.

[5] Wainwright PE, Xing HC, Ward GR, *et al.* Water maze performance is unaffected in artificially reared rats fed diets supplemented with arachidonic acid and docosahexaenoic acid[J]. *J Nutr*, 1999, 129(5): 1079-90.

[6] Goldman-Rakic PS. Cellular basis of working memory[J]. *Neuron*, 1995, 14: 477-85.

[7] 王群, 高晓, 方忠耀. 20 例脑梗塞脑脊液甲状腺激素代谢初步研究 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 1996, 22(4): 236-7.
Wang Q, Gao X, Fang ZY, *et al.* The study on the metabolize of thyroid hormone in cerebrospinal fluid of the patients with cerebral infarction[J]. *Chin J Nerv Ment Dis*, 1996, 22(4): 236-7.

[8] 高义, 蒲传强, 王玉敏, 等. 老年人血管性痴呆与甲状腺轴功能关系的研究[J]. *中华老年医学杂志*, 2001, 20(1): 29-31.
Gao Y, Pu CQ, Wang YM, *et al.* The relationship between vascular dementia and thyroid function in the elderly [J]. *Chin J Geriatr*, 2001, 20(1):29-31.

(上接 98 页)

入支架后血管呈现一种持续的、过度的高反应状态，其中 AT1R 的上调起着一定的重要作用。因此，是否可以通过局部应用 AT1R 的拮抗剂来达到减少内膜的增生的效果，尤其是应用 AT1R 涂层的药物支架，其疗效和作用机制还有待于进一步研究。

参考文献：

[1] Daemen MJ, Lombardi DM, Bosman FT, *et al.* Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall[J]. *Circ Res*, 1991, 68(2): 450-6.

[2] Nickenig G, Sachinidis A, Michaelsen F, *et al.* Upregulation of vascular angiotensin II receptor gene expression by low-density lipoprotein in vascular smooth muscle cells[J]. *Circulation*, 1997, 95(2): 473-8.

[3] Faxon DP. Effect of high dose angiotensin-converting enzyme inhibition on restenosis: final results of the MARCATOR Study, a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of cilazapril: The Multicenter American Research Trial With Cilazapril After

Angioplasty to Prevent Transluminal Coronary Obstruction and Restenosis (MARCATOR) Study Group [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1995, 25(2): 362-9.

[4] Ribichini F, Wijns W, Ferrero V, *et al.* Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on restenosis after coronary stenting [J]. *Am J Cardiol*, 2003, 91(2): 154-8.

[5] Schwartz RS, Chronos NA, Virmani R. Preclinical restenosis models and drug-eluting stents: still important, still much to learn[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(7):1373-85.

[6] Dunder Y, Hill RA, Bakhai A, *et al.* Angioplasty and stents in coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Scand Cardiovasc J*, 2004, 38(4): 200-10.

[7] Kaschina E, Unger T. Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function[J]. *Blood Press*, 2003, 12(2): 70-88.

[8] Ohishi M, Ueda M, Rakugi H, *et al.* Upregulation of angiotensin-converting enzyme during the healing process after injury at the site of percutaneous transluminal coronary angioplasty in humans [J]. *Circulation*, 1997, 96(10): 328-37.

[9] Andres V, Castro C. Antiproliferative strategies for the treatment of vascular proliferative disease [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2003, 1: 85-98.