

牛雨晴, 秦合伟, 姬令山, 等. 血管性认知障碍和卒中后认知障碍动物模型初步评价 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 121-127.

Niu YQ, Qin HW, Ji LS et al. Preliminary evaluation of animal models of vascular and post-stroke cognitive impairments [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(5): 121-127.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 05. 018

血管性认知障碍和卒中后认知障碍动物模型 初步评价

牛雨晴¹, 秦合伟^{1,2*}, 姬令山², 李伟峰¹, 郭 宁¹, 宋雪梅¹

(1.河南中医药大学, 郑州 450046; 2.河南省中医院, 郑州 450002)

【摘要】 血管性认知障碍 (vascular cognitive impairment, VCI) 是脑血管病变及血管危险因素导致至少一个认知域损害的临床综合征, 病理表现有血管功能的改变、组织的损伤以及神经的退行性病变等。卒中后认知障碍 (post-stroke cognitive impairment, PSCI) 是 VCI 的一个重要亚型, 占 VCI 的大部分。以往 PSCI 多依赖 VCI 动物模型来进行病理机制研究、药物研发等。随着学者们对 PSCI 概念的提出和深入探讨, 我们发现两者的病理特征和主要受损害的认知区域并非完全相同, 因此有必要尝试建立具有 PSCI 临床特征的动物模型。VCI 实验动物模型有多种类型, PSCI 研究模型应区别于 VCI 动物模型。本文对 VCI 和 PSCI 的特征和受损的认知域进行介绍, 从构建模型的角度总结和初步评价了常见 VCI 和 PSCI 实验动物模型, 尝试为 VCI 和 PSCI 的研究提供有用建议。

【关键词】 血管性认知障碍; 卒中后认知障碍; 动物模型; 初步评价

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 05-0121-07

Preliminary evaluation of animal models of vascular and post-stroke cognitive impairments

NIU Yuqing¹, QIN Hewei^{1,2*}, JI Lingshan², LI Weifeng¹, GUO Ning¹, SONG Xuemei¹

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.

2. Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002)

【Abstract】 Vascular cognitive impairment (VCI) is a clinical syndrome in which at least one cognitive domain is damaged by cerebrovascular disease and vascular risk factors. The pathological manifestations include changes in vascular function, tissue damage, and nerve degeneration. Post-stroke cognitive impairment (PSCI) is a major subtype of VCI, which accounts for most VCI. Pathological mechanism research and drug development for PSCI have mostly relied on VCI animal models. As researchers have put forward and discussed in-depth the PSCI concept, we found that the pathological characteristics and main damaged cognitive areas of the two are not exactly the same. Therefore, it is necessary to establish an animal model with the clinical features of PSCI. There are many types of experimental animal models for VCI, and a PSCI research model should be distinguished from a VCI animal model. This article introduces the characteristics and impaired cognitive domains of VCI and PSCI, summarizes and preliminarily evaluates common VCI and PSCI experimental animal models from the perspective of model construction, and provides useful suggestions for VCI and PSCI research.

【Keywords】 vascular cognitive impairment; cognitive impairment after stroke; animal model; preliminary evaluation

【基金项目】 中原英才计划中原青年拔尖人才资助 (豫人才办[2021]1号); 河南省中医药科学研究专项课题 (20-21ZY2122, 20-21ZY1054); 河南省中医药拔尖人才培养项目资助 (豫卫中医函[2021]15号)。

【作者简介】 牛雨晴 (1997—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 心脑血管疾病的康复。E-mail: niuyuqing2020@126.com

【通信作者】 秦合伟 (1982—), 男, 副主任医师, 医学博士, 硕士生导师, 研究方向: 心脑血管疾病研究。E-mail: qinhewei2012@126.com

血管性认知障碍(vascular cognitive impairment, VCI)是由脑血管病或血管危险因素导致或促成认知衰退的疾病,认知功能损害从轻度认知障碍到痴呆不等,包括轻度和重度血管性认知障碍^[1]。VCI被认为是继阿尔兹海默症之后第2大常见的痴呆类型,具有慢性进行性认知损害的特点,患者的认知损害主要涉及学习记忆能力、语言能力和行为功能障碍等几个方面。脑卒中后认知障碍(post-stroke cognitive impairment, PSCI)是指卒中事件发生后6个月以内开始和(或)延迟出现的认知衰退、认知障碍持续存在3个月以上^[2],患者额叶功能、执行功能、视空间和注意转移能力障碍是最常见的受损域^[3]。根据认知障碍受损的程度,可分为卒中后非痴呆(PSCIND)和卒中后痴呆(PSD)^[4]。VCI包括一切与血管损伤及其相关因素引起的认知障碍,PSCI重点关注的是缺血性或出血性卒中事件发生后6个月之内出现的认知障碍。PSCI是VCI的一个亚型,且PSCI引起的认知功能的损害具有不可逆的特点^[5]。脑血管病已成为我国首位致残性疾病^[6],脑卒中占脑血管病的大部分,国内部分社区调查研究显示PSCI的患病率为30.00%~80.97%不等^[7-9]。因此,如果能够在卒中后早期有效干预,将可能大大降低认知障碍的发生。

随着对VCI的深入研究,PSCI日益受到学者重视,卒中后认知障碍的筛查评估、规范用药及综合管理,国内专家已达成共识^[1]。为了进行PSCI发病机制研究以及药物筛选和研发,成功建立具有PSCI特征的动物模型非常必要。但目前建立的认知障碍模型以VCI居多,如何在此基础上建立凸显PSCI特征的模型还存在一定的困难。故本综述从VCI的发病机制和临床分型入手,通过介绍常用VCI和PSCI实验动物模型的研究进展,从模型建立的角度对其进行总结和初步评价,为开展PSCI的研究提供参考。

1 VCI和PSCI特征

关于VCI的发病机制目前仍不明确,大多认为与胆碱能系统受损、脑白质高信号、氧化应激、血管炎症反应、脑血流量下降、脑灌注不足、神经病变以及退行性改变、神经细胞凋亡、血管内皮功能障碍和损伤、 β -淀粉样蛋白沉积增加、神经递质和受体的异常、神经毒性作用、血脑屏障的通透性改变等有关^[10-12]。目前氧化应激、神经炎症与认知障碍的关

系研究较多^[13]。VCI可由缺血性和出血性脑血管病变引起,其常见的血管病变多与深部脑白质核团血液供应的小血管缺血有关;脑白质的高信号、基底节区的梗塞、高血压、糖尿病也常会导致或加速VCI^[14]。PSCI的发生多与皮质和皮质下大血管的梗死、微出血以及小血管的梗死有关^[15],还与高血压、房颤以及动脉粥样硬化等血管危险因素密切相关。PSCI多表现在额叶皮层下、角回、颞叶内侧部分的损害,而VCI患者可发现海马、丘脑、基底节等部位的病变^[16-17]。卒中等血管相关因素影响脑血的血液供应常会导致VCI,而脑血流量的减少或持续加重会进一步引发PSCI。

PSCI作为VCI的一个亚型,两者的病因相似,但又不完全相同。根据发病原因,VCI可分为以下几种类型:血管危险因素相关性、缺血性(大血管性、小血管性和低灌注性)、出血性(脑实质出血、蛛网膜下腔出血以及硬膜下血肿等)、其他脑血管病性、脑血管病合并AD(脑血管病伴AD和AD伴脑血管病)等^[18]。结合PSCI的临床分型和特征^[1],VCI分型中缺血性认知障碍中的大血管性、小血管性和出血性VCI符合卒中事件的定义。结合PSCI的诊断、筛查原则以及病理表现^[1,3],PSCI动物模型的理想特征应有明确脑卒中(脑出血、脑缺血和脑梗死)事件、与认知密切相关的功能区损伤、认知障碍明显、认知障碍的出现和脑卒中事件有明确的因果和时间关系等,至少出现以上两种特征,即可认为是合理的PSCI模型。这与张勇等^[3]认为研究PSCI主要的特征化受损认知域有助于定义和发现该病的病理学性质的观点一致。综上所述,VCI和PSCI实验动物模型之间的区分标准应包括模型动物认知障碍发生的原因、认知障碍损害发生的时间和主要的特征化认知受损域。

2 动物模型及造模方法

VCI和PSCI的动物模型大致分为两类:一是遗传模型,即通过改变动物基因获得的动物模型,常用的有转基因、脑淀粉样改变动物模型等;二是手术模型,通过人为的介入物理、化学等致病因素,使实验动物呈现部分或全部疾病特征,如脑缺血、脑血栓、脑出血和其他模型等,本文主要讨论后者。

2.1 常用VCI动物模型

VCI的主要脑血管病理学是缺血导致的梗塞和白质高信号^[19],认知损害主要涉及学习记忆能力、

语言能力和行为功能障碍,目前大多基于脑缺血开发 VCI 动物模型,啮齿动物是 VCI 动物模型中最常见的动物类型。

2.1.1 脑缺血或缺血再灌注模型

(1) 瞬间全脑缺血模型

全脑瞬间缺血可产生持续性脑组织损伤和认知障碍^[20],目前常用的 VCI 全脑缺血模型主要有四血管阻塞法(4-VO)和二血管阻塞法(2-VO),造模动物主要是大鼠。4-VO 自 1979 创立以来,虽经过不断改良,但基本原理还是永久或短暂阻断两侧颈总动脉和椎动脉,通常阻断 5~20 min,常可导致脑组织发生不可逆性损伤,海马锥体细胞 CA1 区的神经元急性坏死或死亡,导致学习和记忆障碍^[21]。

2-VO 是通过阻断双侧的颈总动脉达到短暂脑缺血。造模动物主要有沙鼠、大鼠和 C57BL/6 变异小鼠动物类型^[22]。由于沙鼠和 C57BL/6 变异小鼠大脑动脉环的后交通动脉缺乏或非常纤细,颈内动脉系统和椎-基底动脉系统之间没有血液贯通。因此,结扎双侧颈总动脉可造成全脑缺血。通常持续时间是 5~15 min,与 5 min 相比,15 min 的脑缺血,可见星形细胞和微胶质细胞在海马区明显增殖和肥大。与 4-VO 相比,2-VO 病变主要在海马体,特别是 CA1 区神经元的损失^[23]。

(2) 慢性脑缺血模型

双侧颈总动脉阻塞(BACO),是通过结扎双侧颈总动脉造成大鼠慢性全脑缺血,是制作慢性脑缺血模型的经典方法。造模动物主要是大鼠。该方法夹闭大鼠颈总动脉后,大鼠脑部仍有椎动脉系统供血,因此不同于 2-VO,又没有 4-VO 严重。术后模型动物的脑血流量会明显减少,术后 14 d 出现白质脱髓鞘病变,术后四周进行水迷宫实验可发现空间学习能力受损,术后 3 个月脑血流量几乎恢复到原来的水平,但是认知功能仍严重受损^[24]。Mansour 等^[25]通过针结技术诱导双侧颈总动脉狭窄生成改良 BACO 模型,降低了动物死亡率和模型制作难度。Vidyanti 等^[26]通过先永久结扎大鼠右侧颈总动脉,1 周后再短暂结扎左侧颈总动脉 30 min,形成改良 BACO 慢性脑缺血模型,降低了动物死亡率。

双侧颈总动脉狭窄(BACS),是通过在两条颈总动脉周围放置部分隐匿的微线圈引起的慢性低灌注小鼠模型,线圈的直径会影响闭塞的严重程度。造模动物通常是小鼠。0.18 mm 线圈是最常用的,因为与 0.18 mm 线圈(15%)相比,0.16 mm 线

圈的死亡率很高(75%),0.18 mm 线圈在 2 h 后导致脑血流量减少 60%~70%^[27]。脑血流量的减少会增加血脑屏障的通透性,BACS 可诱发脑白质的病变和行为障碍,在造模后的 5~6 个月,进行水迷宫测试,可观察到模型鼠出现记忆受损^[28]。

非对称颈总动脉阻塞模型(ACAS),是通过在 C57BL/6 小鼠左右颈总动脉植入不同的设备生成。造模动物通常是小鼠。通过在右侧颈总动脉处放置缩窄器,在左侧颈总动脉处放置微线圈导致大约 50%的动脉狭窄。该模型导致的脑血流量的减少较 BACS 温和,Y-迷宫测试显示 ACAS 14 d 之后小鼠出现空间记忆受损。研究表明,ACAS 后该动物表现出肌肉无力和步态异常等运动障碍,协调和平衡功能受损^[24]。

大脑中动脉闭塞模型(MCAO),该模型是通过单侧丝线阻塞大脑中动脉制备的局灶性脑缺血模型。造模动物大小鼠均有。多采用线栓法、灯丝法、开颅手术法闭塞大脑中动脉来制备模型,此模型可用于制作永久脑缺血或缺血再灌注模型,是目前最常用的脑缺血卒中模型之一。丝线阻塞大脑中动脉对大小鼠产生明确定位的脑缺血损伤,受损的区域主要是包括皮层、海马和纹状体^[27]。Delattre 等^[27]通过水迷宫测试发现,在脑缺血 6 个月后 MCAO 大鼠出现学习和空间记忆损伤,CA1、CA3 区域的海马体显著变形和皮质变薄。

2.1.2 脑栓塞模型

(1) 光化学诱导脑栓塞模型

该方法是通过在动物体静脉系统(大鼠)或腹腔(小鼠)内注射光化学敏感染料(孟加拉玫瑰红或红斑狼疮 B),然后通过特定(通常是 480~560 nm)的荧光或激光照射脑部区域,诱发大脑内产生光化学反应,释放氧自由基,导致皮质血管内皮受损,启动凝血机制使得血小板聚集,引起皮质的缺血以及脑细胞的死亡,形成缺血区域的局限性脑梗死模型^[29-30]。造模动物大小鼠均有。在组织学水平,大脑皮层在栓塞后的 4 h 可观察到神经元、胶质细胞的退化。光照射后 1~4 h 可观察到细胞毒性、血管和细胞水肿等^[31]。

(2) 内皮素模型

内皮素-1 是一种由内皮细胞产生的强效血管收缩剂肽,通常采用血管注射或在大脑表面立体定向注射来制备,与血管功能障碍和心血管疾病相关^[32]。造模动物通常为小鼠。Dojo Soeandy 等^[33]

通过在小鼠体内注射内皮素-1 制备高度可重复性脑梗塞模型。在细胞内注射内皮素-1 可导致 CD1 和 C57BL/6 小鼠缺血引起细胞死亡,内皮素-1 引起的缺氧损伤反应影响早期神经元调节,在损伤反应后期阶段,粒细胞和微胶质介导效应可能突出上升。此外经内皮素-1 介导后经化学染色和免疫组化可观察到皮质组织缺氧和皮质神经元细胞死亡。

(3) 微栓子模型

微栓子模型通常在颈内动脉和颈外动脉处采用微栓子、自体血栓、复合血栓等栓状材料进行建模。造模动物通常为大鼠。微栓子模型是通过抽取自体新鲜动脉血 0.5 mL,注入 50 cm 长的 PE50 管内,室温放置 2 h,4℃ 冰箱放置 22 h,剪取其中 5 cm 一段,吸入 PE50 管内。套管两端各连接 1 个充有生理盐水的注射器,使生理盐水反复通过套管,制成一个含纤维蛋白的单个栓子^[34]。自体血栓是在导管内注入 2 mL 全血,立即加入 125 单位凝血酶形成血栓,40 min 后切成 0.2 mm×0.5 mm 大小,用生理盐水制成 1 mL 血栓混合液。复合血栓采用二磷酸腺苷、凝血酶和肾上腺素制备大鼠多发性脑血栓模型^[34]。微栓子模型、自体血栓模型经形态学观察可发现大鼠出现典型行为障碍,经 TTC 染色可见明显的梗死灶,光镜下均可见以纤维蛋白、血小板为主的血栓。复合血栓模型经伊文思蓝脑屏障通透性检测,可见模型组双侧大脑伊文思蓝含量、脑重量增加,血栓形成侧大脑可见毛细血管扩张、细胞间质水肿及脑细胞散在的卫星现象^[34]。

(4) 三氯化铁诱发脑血栓模型

该方法采用三氯化铁(FeCl_3)损伤大脑中动脉管壁,引起动脉血栓形成,继而造成局部脑梗死及动物行为障碍。造模动物通常为大鼠。 FeCl_3 可诱导血管内皮和胶原纤维的损伤、血小板凝集和血栓形成,产生活性氧化物和血管炎性反应^[35-36]。TTC 染色显示模型动物,梗死区域呈白色,脑梗死面积明显增大。行为障碍评分进行评估可发现模型动物在麻醉清醒后即出现偏瘫样症状,大鼠在血栓形成 4、8 及 24 h 后行为障碍维持在高峰阶段^[34]。

2.1.3 脑出血模型

(1) 自体血注射大鼠脑出血模型

该模型是以非肝素化自体血注入大鼠脑内特定部位形成血肿,出现脑水肿和颅内压升高,血肿压迫脑组织引起周围脑组织缺血和血流改变,并形成局部氧自由基损伤等病理改变。造模动物通常

为小鼠。自体血注入脑内的方式主要有开颅直视下脑内注血、按解剖定位钻孔注血和脑立体定位注血 3 种方法^[34],注射的部位多为尾状核。自体血来源有股动脉、颈动脉、心脏穿刺以及为动脉穿刺,应用较多的是尾动脉穿刺。注血次数有 1、2 和 3 次之分^[37-38]。采用立体定位法在大鼠尾状核注射自身尾动脉血来造模是较为理想的造模方法。注射自体血后,注血对侧肢体可有不同程度的瘫痪。光镜下可观察到注血侧出血区有明显的血凝块形成,周围水肿区组织结构破坏,神经元数目明显减少,排列紊乱,基质明显水肿,可见较多的中性粒细胞浸润和小胶质细胞的增生肥大。

(2) 胶原酶和肝素注射脑出血模型

采用Ⅶ型胶原酶和肝素生理盐水溶液注入大鼠脑尾状核诱发脑出血模型,其造模原理是利用胶原酶能分解细胞间质和血管基膜的胶原蛋白,引起局部渗血,肝素使得渗出的血液不凝固,增大血肿体积。造模动物多为小鼠。该模型在脑内单独注射胶原酶的基础上加上肝素生理盐水,缩短了血肿形成的时长,接近临床急性脑出血情况。经神经功能评分,经该方法造模的小鼠在脑血肿形成后会出现明显的神经功能障碍。

(3) 自发性高血压脑出血模型

自发性高血压小鼠脑出血模型是目前应用较多的模型,包括改变遗传基因开发的自发性高血压小鼠(SHR)和易卒中型高血压小鼠(SHRSP)模型。此种动物模型也可在已有高血压基因小鼠的基础上进行近交繁殖、或者是喂养高盐饮食,使模型动物血压升高。在 SHRSP 小鼠 MRI 中可观察到白质的渐进性损伤^[22]。Mustapha 等^[39]研究发现 SHRSP 小鼠小脑体积的减少可能导致执行功能缺陷,如空间工作记忆和注意力,以及运动功能障碍。

2.1.4 其他模型

根据血管性认知障碍的相关危险因素和从基因层面开发出一些新模型,如脑淀粉样血管病(CAA)模型^[40]、常染色体显性脑病伴皮下梗死和脑白质病(CADASIL)模型^[41]、二型糖尿病模型^[42]、脑小血管疾病模型(CSVD)^[43]。将中医的证候特征和西医的疾病诊断结合起来开发的病症结合动物模型(如气虚血瘀型^[44]),这些新的模型为研究血管性认知障碍提供了更多可能。

2.2 常用 PSCI 动物模型

PSCI 病理基础主要与大脑前额叶皮层损伤有

关,认知障碍出现的时间是卒中事件发生后的 6 个月内,持续存在 3 个月以上;执行功能、视空间和注意转移能力障碍是最常见的认知功能受损域。

在基础实验研究方面,VCI 实验动物模型有多种类型,且动物造模方法较为成熟,目前根据 VCI 特征已开发出一些新的模型^[40-44]。PSCI 的动物模型相对较少,大多还是应用 VCI 造模方法来复制模型。但根据 PSCI 的定义及主要的损伤认知域,可知 PSCI 动物模型的脑部造模区域及评估方式都应该区别于 VCI。VCI 模型中的光化学诱导栓塞模型和内皮素模型有报道用于 PSCI 模型的制备,但与 VCI 不同的是,这些模型的受损域是前额叶皮层。PSCI 最明显的障碍是执行功能,大脑前动脉的损伤会影响执行功能、计划能力和认知灵活性。因此,PSCI 动物模型造模的受损域应在前额叶皮层或大脑前动脉而非大脑中动脉,且在损伤后的卒中后 6 个月内出现明显的认知障碍,这样才更符合 PSCI 的特征。Sadigh-Eteghad 等^[45]通过在雄性 BALB/c 小鼠体内注射孟加拉玫瑰红(150 $\mu\text{g/g}$)光敏燃料,利用激光在小鼠双侧前额叶皮层区域照射 15 min 诱导形成 PSCI 模型。Livingston-Thomas 等^[46]通过在雄性 SD 大鼠脑内双侧前额叶皮层立体定位注射内皮素-1 诱导局灶性脑缺血模型,认知功能在造模后的 1~4 个月采用若干物体识别测试、注意力转移、明暗盒、自发交替、巴恩斯迷宫等进行评估。结果显示,该模型导致的前额叶皮层受损使得动物的物体识别能力、行为灵活性方面发生显著变化,而这种变化与人类中风后的认知障碍极为相似,因此可能有助于研究新的干预措施以减轻卒中后认知障碍。

3 模型评价

通过模型总结发现:以上几种动物模型均可引起认知功能的障碍,但不同的动物模型呈现不同的特点。瞬间全脑缺血模型可导致大脑严重缺血并具有良好的可重复性,但此类模型在损伤脑组织的同时也会影响其他器官,对认知障碍的评定会出现偏差。MCAO 是最常用的脑缺血模型,该模型与人类缺血性脑卒中最为相似。但该模型的缺点是会导致大鼠自发体温过高,这在人类身上是罕见的^[47]。BACO 是应用最广泛的慢性脑灌注不足大鼠模型之一,该模型可表现出认知障碍和胆碱能损害,类似于人类脑灌注不足引起的脑白质的损伤。但该模型会对视神经造成损伤,影响认知功能的评

估。BCAS 不涉及视神经的损伤,且该模型的死亡率较低,易控制脑缺血的严重程度,具有良好的可重复性,可以很好的观察脑白质的病变和海马萎缩和海马神经元的丧失,被认为是研究 VCI 的最佳动物模型。但该模型的缺点是要在造模后的 6 个月以上才能获得明显的病理和行为特征^[48],且在手术后会缺乏运动功能障碍和出现脑血流量的突然下降,模型评价周期较长。ACAS 可观察到脑血流量的逐渐减少、白质梗死、胶质细胞的增生、运动障碍和海马神经元的损失,能够较好的模仿人类慢性脑灌注不足的神经学临床状况。但该模型的缺点是 ACAS 小鼠不发生微血管的病变,且手术难度较高,造模所用器材较昂贵。光化学模型可利用立体定位在特定的大脑区域进行光化学栓塞,具有高重复性、死亡率、梗死区域大小确定等优点^[49]。但该模型的缺点是光化学栓塞诱导的细胞毒性和血管性水肿同时发生,且血脑屏障迅速破裂,这与急性脑卒中出现的细胞毒性水肿显著不同。另外,该模型缺血区域缺乏半暗带,模型的转化效果较差。内皮素模型缺血的区域较明确,内皮素的浓度会影响缺血的严重程度、持续时间以及由此产生的梗死灶的大小。但该模型的缺点是应用内皮素后,缺血发展缓慢,仅伴随轻微的水肿。因此,该模型不能准确的模拟人类脑卒中状态。微栓子模型可用于 rt-PA 自发性和医源性溶栓的研究,其病理生理学与人类栓塞性脑卒中较为一致,但也存在栓子的大小不可控、麻醉时间较长、死亡率较高且有脑出血的风险的缺点^[49-50]。三氯化铁诱导脑血栓模型,与临床血栓形成的病理过程相似,血栓部位固定,是一种快速评价抗栓药和溶栓药疗效的脑血栓模型。但该模型不足之处是动物的颧弓被去除后会影响到动物摄食,不利于长期观察。自体血注射脑出血模型是应用最多的脑出血动物模型之一,主要用于观察药物对血肿的吸收、脑水肿、颅内压升高、局部脑缺血和神经功能改善的效果。但缺点为防止血液凝固使得整个采血和注血的过程要求在较短时间内完成,这对操作人员的熟练度和技术要求较高。另外,针道穿刺可能损伤脑实质,并伴有针孔反流现象。胶原酶加肝素注射模型操作简单、血肿大小基本一致、重复性好、造模成功率高。该模型克服了以往单独注入胶原酶导致的以渗血为主、血肿形成时间长、与人类急性脑出血病理过程不一致等缺点,但胶原酶的剂量过大会导致动物过早死亡。自

发性高血压脑出血模型是模拟高血压导致大脑微小血管变化引起认知衰退的动物模型。该模型可观察到大脑白质的渐进性损伤,类似于 VCI 中的皮质下缺血性脑血管病,大鼠脑体积的缩小可能导致执行功能障碍,且认知功能的变化仍需要更多的运动功能评测来证明。

VCI 和 PSCI 的临床诊断方法包括神经心理学评估、神经生化标志物、神经影像技术、影像学检查、实验室检查、基因检测和脑脊液检查等,并分别制定了详细的筛查评估、诊断标准和治疗指南。在基础研究方面,PSCI 的动物模型应区别于 VCI。VCI 动物模型相对成熟,但是 PSCI 动物模型尚没有详细且明确的造模方法,大多还是依据 VCI 动物模型。所以针对基础研究的 PSCI 阶段,目前需要考虑两个问题,第 1:PSCI 模型应采用何种方法使得模型动物前额叶皮层受损;第 2:PSCI 模型采用何种评估方式来评价模型动物是否出现执行功能、注意转移能力障碍。明确的造模方法,清晰统一的评价体系对于建立 PSCI 动物模型必不可少。

4 小结

目前用于研究 VCI 的动物种类和方法众多,每个模型都有各自的造模方法和优缺点,研究者可从研究目的和模型特点出发,进行选择匹配度较高的模型用于研究。PSCI 的动物模型的复制应明确认知障碍的受损域且尽可能地与人类卒中后认知障碍相似。由于 VCI、PSCI 疾病本身的复杂性,单一造模不能很好的复制人类疾病,目前已开发出一些复合模型,但尚缺乏对单一造模和复合造模效果的比较研究,由于 VCI 和 PSCI 的病因和发病机制涉及到多种途径,且涉及的分子机制和致病因素复杂多样,目前尚未开发出能够完美复制符合人类 VCI、PSCI 病理特征的动物模型。多数研究者认为,采用复合方法造模能有望复制出更为接近 VCI 或 PSCI 特征的模型动物。随着基因编辑、基因检测等技术的发展和不同评估指标的联合应用,将为认知障碍的药物研究和分子治疗靶点提出更深入的研究方向和更多可能。结合中医的证候理论和西医的疾病诊断开发的病症结合的动物模型,为挖掘和验证中医药疗法治疗认知功能障碍开拓了前景。

参考文献:

[1] 中国卒中学会,卒中后认知障碍管理专家委员会.卒中后认知障碍管理专家共识[J].中国卒中杂志,2017,12(6):

519-531.

- [2] 国家卫生健康委办公厅.血管性认知障碍的诊疗规范(2020年版)[J].全科医学临床与教育,2021,19(3):197-199.
- [3] 张勇,杨百瑜,张振馨,等.卒中后认知障碍的概念、病理生理和受损认知域[J].中国老年学杂志,2016,36(2):509-511.
- [4] Erkinjuntti T. Vascular cognitive deterioration and stroke [J]. Cerebrovasc Dis, 2007, 24(1): 189-194.
- [5] Iadecola C, Duering M, Hachinski V, et al. Vascular cognitive impairment and dementia: JACC scientific expert panel [J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 73(25): 3326-3344.
- [6] 王陇德.《中国脑卒中防治报告 2019》概要[J].中国脑血管病杂志,2020,17(5):272-281.
- [7] Zhou DH, Wang JY, Li J, et al. Frequency and risk factors of vascular cognitive impairment three months after ischemic stroke in china; the chongqing stroke study [J]. Neuroepidemiology, 2005, 24(1-2): 87-95.
- [8] Zhang Y, Zhang Z, Yang B, et al. Incidence and risk factors of cognitive impairment 3 months after first-ever stroke: a cross-sectional study of 5 geographic areas of China [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2012, 32(6): 906-911.
- [9] Qu Y, Zhuo L, Li N, et al. Prevalence of post-stroke cognitive impairment in china: a community-based, cross-sectional study [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122864.
- [10] Forte G, Casagrande M. Effects of blood pressure on cognitive performance in aging: a systematic review [J]. Brain Sci, 2020, 10(12): 919.
- [11] Skrobot OA, Attems J, Esiri M, et al. Vascular cognitive impairment neuropathology guidelines (VCING): the contribution of cerebrovascular pathology to cognitive impairment [J]. Brain, 2016, 139(11): 2957-2969.
- [12] Bergkamp MI, Wissink JGJ, van Leijssen EMC, et al. Risk of nursing home admission in cerebral small vessel disease [J]. Stroke, 2018, 49(11): 2659-2665.
- [13] Hort J, Vališ M, Kuca K, et al. Vascular cognitive impairment: information from animal models on the pathogenic mechanisms of cognitive deficits [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(10): 2405.
- [14] Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration [J]. Lancet Neurol, 2013, 12(8): 822-838.
- [15] Kalaria RN, Akinyemi R, Ihara M. Stroke injury, cognitive impairment and vascular dementia [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1862(5): 915-925.
- [16] Gorelick PB, Counts SE, Nyenhuis D. Vascular cognitive impairment and dementia [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1862(5): 860-868.
- [17] Graff-Radford J. Vascular cognitive impairment [J]. Continuum (Minneapolis), 2019, 25(1): 147-164.
- [18] 中国医师协会神经内科分会认知障碍专业委员会.2019年中国血管性认知障碍诊治指南[J].中华医学杂志,2019,99(35):2737-2744.
- [19] Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, et al. Vascular contributions

- to cognitive impairment and dementia; a statement for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association [J]. *Stroke*, 2011, 42(9): 2672-2713.
- [20] Neumann JT, Cohan CH, Dave KR, et al. Global cerebral ischemia; synaptic and cognitive dysfunction [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(1): 20-35.
- [21] Chung Eh, Iwasaki K, Mishima K, et al. Repeated cerebral ischemia induced hippocampal cell death and impairments of spatial cognition in the rat [J]. *Life Sci*, 2002, 72(4-5): 609-619.
- [22] Tuo QZ, Zou JJ, Lei P. Rodent models of vascular cognitive impairment [J]. *J Mol Neurosci*. 2021, 71(5): 1-12.
- [23] Lee TK, Kim H, Song M, et al. Time-course pattern of neuronal loss and gliosis in gerbil hippocampi following mild, severe, or lethal transient global cerebral ischemia [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(8): 1394-1403.
- [24] Washida K, Hattori Y, Ihara M. Animal models of chronic cerebral hypoperfusion: from mouse to primate [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6176.
- [25] Mansour A, Niizuma K, Rashad S, et al. A refined model of chronic cerebral hypoperfusion resulting in cognitive impairment and a low mortality rate in rats [J]. *J Neurosurg*, 2018, 131(3): 892-902.
- [26] Vidyanti AN, Hsieh JY, Lin KJ, et al. Role of HMGB1 in an animal model of vascular cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 2176.
- [27] Delattre C, Bournonville C, Auger F, et al. Hippocampal deformations and entorhinal cortex atrophy as an anatomical signature of long-term cognitive impairment: from the MCAO rat model to the stroke patient [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(3): 294-305.
- [28] Bink DI, Ritz K, Aronica E, et al. Mouse models to study the effect of cardiovascular risk factors on brain structure and cognition [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(11): 1666-1684.
- [29] Frauenknecht K, Diederich K, Leukel P, et al. Functional improvement after photothrombotic stroke in rats is associated with different patterns of dendritic plasticity after G-CSF treatment and G-CSF treatment combined with concomitant or sequential constraint-induced movement therapy [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146679.
- [30] Labat-gest V, Tomasi S. Photothrombotic ischemia: a minimally invasive and reproducible photochemical cortical lesion model for mouse stroke studies [J]. *J Vis Exp*, 2013, 76: 50370.
- [31] Uzdensky AB. Photothrombotic stroke as a model of ischemic stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(5): 437-451.
- [32] Nepal G, Ojha R, Dulal HP, et al. Association between Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene and ischemic stroke: A meta-analysis [J]. *Brain Behav*, 2019, 9(10): e01424.
- [33] Dojo Soeandy C, Salmasi F, Latif M, et al. Endothelin-1-mediated cerebral ischemia in mice; early cellular events and the role of caspase-3 [J]. *Apoptosis*, 2019, 24(7-8): 578-595.
- [34] 李才, 任立群. 人类疾病动物模型的复制 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [35] Bang J, Jeon WK. Mumefural improves blood flow in a rat model of FeCl₃-Induced arterial thrombosis [J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3795.
- [36] Kurz KD, Main BW, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride [J]. *Thromb Res*, 1990, 60(4): 269-280.
- [37] 李玉呈, 齐文涛, 段晓春. 脑出血动物模型与临床转化研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(2): 388-392.
- [38] 闫峰, 吉训明, 罗玉敏. 多种实验动物脑出血模型的制作 [J]. *实验动物科学*, 2009, 26(1): 38-40, 51.
- [39] Mustapha M, Nassir CMNCM, Aminuddin N, et al. Cerebral small vessel disease (CSVD)-lessons from the animal models [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1317.
- [40] Jäkel L, Van Nostrand WE, Nicoll JAR, et al. Animal models of cerebral amyloid angiopathy [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2017, 131(19): 2469-2488.
- [41] Wallays G, Nuyens D, Silasi-Mansat R, et al. Notch3 Arg170Cys knock-in mice display pathologic and clinical features of the neurovascular disorder cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(12): 2881-2888.
- [42] Niedowicz DM, Reeves VL, Platt TL, et al. Obesity and diabetes cause cognitive dysfunction in the absence of accelerated β -amyloid deposition in a novel murine model of mixed or vascular dementia [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, 2: 64.
- [43] 董成亚, 王伊龙, 刘向荣. 脑小血管病脑白质损伤动物模型 [J]. *中国卒中杂志*, 2019, 14(5): 497-503.
- [44] 李莹, 王磊沙, 刘建勋, 等. 脑梗死气虚血瘀证大鼠模型表征及病理生理变化研究 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(4): 786-793.
- [45] Sadigh-Eteghad S, Geranmayeh MH, Majidi A, et al. Intranasal cerebrolysin improves cognitive function and structural synaptic plasticity in photothrombotic mouse model of medial prefrontal cortex ischemia [J]. *Neuropeptides*, 2018, 71: 61-69.
- [46] Livingston-Thomas JM, Jeffers MS, Nguemeni C, et al. Assessing cognitive function following medial prefrontal stroke in the rat [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 294: 102-110.
- [47] Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality [J]. *Acta Neuropathol*, 2017, 133(2): 245-261.
- [48] Lee ES, Yoon JH, Choi J, et al. A mouse model of subcortical vascular dementia reflecting degeneration of cerebral white matter and microcirculation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(1): 44-57.
- [49] Barthels D, Das H. Current advances in ischemic stroke research and therapies [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(4): 165260.
- [50] 翟羽佳, 穆寒露, 何蓉蓉, 等. 光照血栓中风模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(8): 135-141.

[收稿日期]2021-04-19