

孙榕,毛忠南,支晓东,等. 非手术动物模型在血管性认知障碍中的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(9): 1222-1232.

SUN R, MAO Z N, ZHI X D, et al. Advances in non-surgical animal models of vascular cognitive impairment [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(9): 1222-1232.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.09.014

非手术动物模型在血管性认知障碍中的研究进展

孙榕¹, 毛忠南^{2*}, 支晓东², 宋雪霞², 李莎莎², 张世瑞²

(1. 甘肃中医药大学针灸推拿学院, 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730000)

【摘要】 血管性认知障碍(vascular cognitive impairment, VCI)包含从轻度认知障碍到全面痴呆的一系列疾病,可由不同原因的血管病变及其危险因素引起。建立适宜的动物模型对于发病机制研究和药物研发具有重要意义,然而到目前为止,没有一种动物模型可以完美模拟VCI的发病机制。目前的VCI造模以颈动脉及椎动脉狭窄或闭塞为主流方法,但近年来越来越多的非手术方法的涌现,为研究这一疾病提供了新的思路和前景。本综述就VCI非手术动物模型的构建方法、模型机制、模型特点进行讨论,为研究者选择更合适的动物模型提供参考。

【关键词】 血管性认知障碍;非手术动物模型;建模方法;模型机制;模型特点

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2024)09-1222-11

Advances in non-surgical animal models of vascular cognitive impairment

SUN Rong¹, MAO Zhongnan^{2*}, ZHI Xiaodong², SONG Xuexia², LI Shasha², ZHANG Shirui²

(1. College of Acupuncture and Massage, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Corresponding author: MAO Zhongnan. E-mail: Kyg1b912@163.com

【Abstract】 Vascular cognitive impairment (VCI) includes a range of illnesses from mild cognitive impairment to dementia, attributable to cerebrovascular factors. Although appropriate animal models are needed to allow clinicopathological research and drug development, there are currently no animal models that can perfectly simulate the pathogenesis of VCI. At present, carotid artery and vertebral artery stenosis or occlusion are the main method for VCI modeling; however, increasing numbers of non-surgical method have recently emerged, providing new ideas and prospects for the study of this disease. In this paper, we consider the construction method, model mechanisms, and model characteristics of non-surgical animal models of VCI, to provide a reference to help researchers choose the most suitable animal model.

【Keywords】 vascular cognitive impairment; non-surgical animal model; modeling method; model mechanism; model characteristics

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment, VCI)是由脑血管病危险因素(如高血压病、糖尿病和高脂血症等)、显性脑血管病如脑梗死和脑出血(cerebral hemorrhage, ICH)、非显性脑血管

【基金项目】 兰州市科技发展指导性计划项目(2022-5-116), 中医药康复服务能力的提升项目 002081003(2023KF-03), 甘肃省科技厅 2022 自然科学基金一般项目(22JR5RA609)。

Funded by Guiding Plan Project of Scientific and Technological Development in Lanzhou City (2022-5-116), Chinese Medicine Rehabilitation Service Capacity Improvement Project 002081003(2023KF-03), General Program of Natural Science Foundation of Gansu Provincial Science and Technology Department in 2022(22JR5RA609).

【作者简介】 孙榕,女,在读硕士研究生,研究方向:针灸康复。Email: 2781053590@qq.com

【通信作者】 毛忠南,男,主任医师,硕士生导师,研究方向:针灸康复。Email: Kyg1b912@163.com

病(如白质损伤、灰质萎缩和慢性脑缺血)等引起的从轻度认知损害到痴呆的临床综合征,是从轻度认知障碍到血管性痴呆的任一阶段和类型,也是继阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)的第二大认知障碍疾病。近年来 VCI 的发病率逐年增高,在全球范围内,痴呆症患者人数从 1990 年的 2020 万增加到 2016 年的 4380 万,而这一数字预计在 2050 年将增加两倍多^[1]。在中国,2019 年 65 岁以上人群的痴呆患病率为 5.60%^[2]。目前,许多临床实验已展示出一些积极的效果。但这些实验中的认知功能改善程度往往是适度的,故亟需寻求更接近人类的动物模型,为疾病的预防和药物研发提供依据。但 VCI 的发病机理复杂,可同时合并综合性因素,因此对其病机和病理过程的模仿面临巨大挑战。

目前为止,临床研究的 VCI 啮齿类动物模型有手术模型和非手术动物模型两大类,手术模型以颈动脉狭窄或闭塞为主,包括大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)、双侧颈动脉闭塞(bilateral carotid artery stenosis and occlusion, BCAO)、双侧颈总动脉狭窄(bilateral common carotid artery stenosis, BCAS)、2 血管闭塞法(2-vessel occlusion, 2-VO)、4 血管闭塞法(transient 4-vessel occlusion, 4-VO),非手术模型主要包括自发性高血压/卒中易感性(spontaneous hypertensive stroke susceptibility, SHR/SP)、2 型糖尿病(type 2 diabetic mellitus, T2DM)模型、脑淀粉样血管病(cerebral amyloid angiopathy, CAA)、常染色体显性遗传性脑动脉病伴皮质下梗死和白质脑病(cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, CADASIL)、高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)。由于手术动物模型的操作难度高、致死率高,而建立非手术动物模型更加便捷、经济、耗时较少且对动物的伤害更小,多数 VCI 的发生并非由大动脉直接闭塞引起,血栓、基因突变、饮食习惯、遗传因素、小血管病变等均可能为发病因素,这使得非手术模型可能在应用中具有更好的前景。故本文主要探讨非手术动物模型在 VCI 中的应用,为研究者们选择更可行性的 VCI 动物模型提供参考价值。

1 发病机理

有研究发现 VCI 是由脑供血减少,导致受影响的脑区域神经元损伤和脑部结构功能受损,最终导

致认知障碍。其发病机理涉及血管壁异常、缺血梗死、小动脉硬化等多种因素。

1.1 缺血因素

血管阻塞,无论大小,都可能引发 VCI 和痴呆,且它的发病往往具有延后性。大血管阻塞如缺血性中风,小血管阻塞如动脉硬化,均可导致 VCI。在中风时,血管壁中的炎症物质和淀粉样蛋白的沉积,对 VCI 的发展有重要影响^[3-4]。中风后,认知能力的下降较快(相较于其他形式的 VCI,不到一年)^[5-6],而小血管阻塞则发展缓慢^[6]。长期的脑灌注不足,可能导致白色物质损伤和认知功能突然下降,最终导致多个认知领域受到损害^[7-9]。

1.2 出血因素

ICH 后也可能发生血管功能障碍和认知缺陷^[8-9]。尤其是老年人、女性、有既往 ICH 病史、初始神经功能缺损更严重及早期收缩压持续偏高的患者,更容易受到这种认知障碍的影响。CAA 引起的颅内出血可能会导致认知功能障碍,并导致脑水肿和继发性缺血。此外,蛛网膜下腔出血若累及海马体和额颞区,也可导致视觉空间记忆和语言缺陷综合征^[10]。在这种情况下,VCI 的发生可能与硬膜淋巴引流受影响有关^[11]。

1.3 其他因素

VCI 可与 AD 等疾病合并出现,这些疾病通常由血管和脑组织蛋白质结构变化引起^[12]。此外,高血压和糖尿病是 AD 的独立风险因素,可与 VCI 合并。吸烟、维生素 E 缺乏、体力活动不足和低教育水平等生活方式因素也可能与 VCI 有关。然而,这些因素对 VCI 认知缺陷的影响目前仍存在争议^[13]。

2 分子生物学机制

动物模型可用于研究脑血管损伤期间大脑中发生的分子变化,以及这些变化最终如何引起认知缺陷。脑循环保证了足够的血液输送到大脑。缺氧或慢性脑灌注不足可能导致神经血管单位中能量底物的递送和代谢废物的清除之间的平衡改变。就认知缺陷而言,病理机制可能涵盖从氧化应激到血管清除有毒废物如 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β),以及从神经炎症到小胶质细胞、星形胶质细胞和内皮细胞功能受损。下面将从这几个方面描述 VCI 的分子机制。

2.1 星形胶质细胞的作用

研究表明,星形胶质细胞是导致 VCI 的重要因

素。作为神经血管单元的重要组成部分,星形胶质细胞的主要作用是调节脑血流量,血脑屏障渗透性、神经免疫反应和神经血管重构^[14],同时也在血管向神经元提供能量方面发挥着至关重要的作用。其通过特有的突起(星形细胞端足)与脑血管周围的内皮细胞直接互动,从而调节脑部血流^[15]。星形细胞的端足作为一个特殊单位,主要起维持大脑离子和渗透稳态的作用。有研究发现,端足破坏会导致小胶质细胞活化和促炎细胞因子的释放。WEEKMAN 等^[16]证实,在炎症过程中,星形胶质细胞和端足可能因基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)的释放而发生变性,MMPs 将破坏端足和血管系统基底膜上的 α - β 肌营养不良聚糖复合物。端足变性导致神经血管耦合受损,进而影响钾稳态,使神经元兴奋性增加,最终导致认知障碍^[17]。此外,星形胶质细胞也可以通过星形胶质细胞 CN/活化 T 细胞核因子(activating t nuclear factor, NFAT)机制,促进炎症细胞因子的释放,进而影响认知功能。

2.2 小胶质细胞的作用

氧化应激可以引起神经血管炎症^[18]。因此,VCI 的病理生理过程也与炎症因子有关^[19]。对大鼠模型的研究发现,小胶质细胞可以在缺血缺氧条件下释放 MMPs,使血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)破坏,并且使髓纤维被破坏^[20]而产生认知障碍。此外,活化的小胶质细胞可以释放白细胞介素(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎性因子在 VCI 中发挥重要作用^[21]。在脑卒中动物模型和人类中,脑卒中发生后,血清和脑脊液中的 IL-6 水平会升高^[22-23]。此外,有研究显示,对于有血管危险因素的患者,IL-6 水平升高可能会增加他们患痴呆的风险。因此,在 VD 患者的血清中 IL-6 水平也较高^[24],提示 VCI 发展过程中有炎症成分存在。

2.3 神经元细胞的氧化应激作用

氧化应激可由脑微血管内皮中活性氧(reactive oxygen, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的产生增加而引起^[25]。亦可由血管相关的病理状态引起,包括高血压、糖尿病和动脉硬化。此外,有研究证明,神经退行性疾病的一种常见现象,是蛋白质的过度氧化,这被认为与认知缺陷相关^[26-27]。而在 VCI 中,多项研究均证实氧化应激是认知障碍发病的主要因素。

已有研究探索了动物模型中氧化应激的分子机制。ROS 的产生增加是氧化应激的特征^[28],这也是心血管病理生理学和神经退行性病变的原因^[29]。神经元的突触活动和神经传递可能由于 ROS 和抗氧化防御的降低而受到直接影响,从而导致认知功能障碍。研究发现,在认知障碍中,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶可以引起 ROS 的过量产生^[30]。NADPH 氧化酶是一种存在于多种细胞中的多单位酶,包括中性粒细胞和血管细胞,特别是发现其在脑血管中存在,来源于 NADPH 氧化酶的 ROS 是脑血管失调的关键致病效应物,这种失调可能引发细胞功能障碍和细胞死亡,进而导致认知障碍。

2.4 周细胞

周细胞是包裹毛细血管和静脉中内皮细胞的多功能壁细胞^[31]。周细胞的主要作用是维持 BBB 完整性,清除中枢代谢废物,而在调节脑血流量(cerebral blood flow, CBF)收缩中也起着至关重要的作用。

有研究表明,周细胞可表达多种标志物,而最常用的细胞标志物包括: α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、神经元神经胶质抗原(neuronal glial antigen, NG2)和血小板衍生生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor beta, PDGFR β)^[32],通过评估这些标志物在周细胞中的表达情况,可进一步研究周细胞的形态^[33]。然而,目前为止,这些标志物的使用仍存在一些挑战,因为这些标志物在其他类型细胞中也表达。周细胞和内皮细胞的相互作用通过微结构连接形成^[34],这种相互作用对两种细胞的生存和能否正常发挥其功能都至关重要,内皮细胞的分化和生存依赖于周细胞,同理,内皮细胞释放的血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF-B)对周细胞的增殖和迁徙具有关键的调控作用。PDGF-B 与位于周细胞膜的受体 PDGFR β 结合,激活包括转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)和 Notch 在内的信号转导途径,使周细胞增殖并将其迁移到新生血管上。因此,周细胞的缺失会对内皮细胞和血脑屏障的通透性产生不良影响。

在 VCI 的动物模型和死后组织学研究中,VCI 中周细胞丢失的机制尚未阐明。有数据显示,血管因素(高血压、高血糖),可导致周细胞损失^[35]。同

时,周细胞的丢失可引起内皮细胞死亡,并可加重血管功能障碍,导致微血管退化,进而导致慢性缺氧。

这些研究表明周细胞在诱发 VCI 的记忆缺陷中可能有显著作用,而周细胞具体如何诱导 VCI 还需进一步研究。

2.5 内皮细胞和一氧化氮(nitric oxide, NO)

内皮细胞形成全身所有血管的内壁^[36],是神经血管单元的一部分,覆盖在脑血管的内表面。许多研究表明,内皮细胞在 VCI 中起着重要作用。氧化应激损伤的内皮细胞可导致脑血管损伤和神经血管解耦^[37]。除此之外,这种与认知功能障碍的联系似乎是由于这些细胞对 NO 产生的影响^[38]。

NO 是一氧化氮合酶的内皮亚型在内皮细胞中分泌的一种反应性气体,它被强直释放以控制中枢神经系统的血管张力和神经元活动。在慢性 VCI 脑低灌注模型^[39]和高血压大鼠^[40]中,已观察到内皮源性 NO 生物利用度降低,这种降低可能是认知障碍的原因。这一假说的进一步支持来自 AD 动物模型的研究,其中,NO 的减少增加了 A β 对认知的负面影响,而 NO 对 A β 沉积有保护作用^[41]。

目前许多研究都集中在恢复 VCI 模型正常条件下 NO 水平的治疗上。NO 对认知过程的影响已经被研究过,发现它们是由多种机制介导的。一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)与 N-甲基-D-天冬氨酸(n-methyl-d-aspartate, NMDA)受体突触后共定位。Ca²⁺内流进入突触后神经元后,NO 作为一种逆行信使,提供一种正反馈机制来维持突触前谷氨酸释放,谷氨酸与各种突触后 NMDA 受体结合,加强海马记忆相关过程,如长期电位增强(long-term potentiometric enhancement, LTP)。NO 还通过参与突触传递和细胞内运输的蛋白质的翻译后修饰(S-亚硝基化和 3-硝基酪氨酸化)调控其他途径^[41]。

然而,同时需要注意的是,NO 的过度产生可能通过过度刺激 NMDA 受体(兴奋性毒性)产生负面影响,在正常情况下,相同的 NO 通过诱导环磷酸鸟苷(cyclic guanosine phosphate, cGMP)介导的信号通路来抵消这种影响^[42]。因此,内皮细胞 NO 释放的减少可能在解释血管病变和认知障碍之间的关系中发挥了非常重要的作用。然而,为了更好地定义 NO 在 VCI 中的神经保护作用 and 神经毒性作用,还需要其他研究。

3 非手术动物模型

PULSINELLI 等^[43]在 1979 年提出了 4-VO 后,各种改良手术方法相继出现。手术模型主要以脑组织缺血坏死、缺血再灌注损伤等机制诱发 VCI,但该方法会引起动物脑部血流量迅速降低,而使小鼠死亡率较高^[44],故本综述着重介绍非手术动物模型。在非手术动物模型中,研究者们通过对动物的饮食控制、基因修饰等手段,诱导出类似于人类 VCI 的病理生理变化^[45]。这些模型能够模拟 VCI 的多个方面,包括脑缺血、脑白质损伤、血管性痴呆等,且因其操作简便、可重复性强等特点,在 VCI 研究中具有广泛应用前景。

3.1 微栓塞模型

并非所有的 VCI 病因均为大血管病变,长期、反复的微栓塞也可能是重要病因之一。微栓塞存在于大小不等的皮质和皮质下区域。微栓塞动物模型可由血栓栓塞、胆固醇晶体、微珠或微球诱导,下面将从这几个方面进行详细描述,具体模型特点和优缺点总结及动物模型图分别见表 1、表 2、图 1。

3.1.1 造模方式与机制

(1)胆固醇晶体诱导的微栓塞模型

造模方式:WANG 等^[46]选择 8 ~ 10 周龄的雄性 C57BL/6J 小鼠或者 CX3CRI-GFP 转基因小鼠(体重在 22 ~ 24 g)。通过 70 μ m 和 40 μ m 细胞过滤器过滤游离胆固醇晶体,然后收集并用血细胞计数器计数。随后,将小鼠随机分为中风组和假手术组,并用氯胺酮和甲苯噻嗪(50 mg/kg 和 10 mg/kg)进行麻醉。在解剖显微镜下,仔细分离右颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)和颈外动脉(external carotid artery, ECA)。用 7-0 线结扎 ICA 的颅外分支,并永久结扎 ECA 的远端部分。将微血管夹应用于 CCA 以及 ECA 和 ICA 的近端,并在 ECA 结扎部位与 ECA 夹之间切开。向 CCA 方向将聚乙烯(PE10)管插入 ECA,取出微血管夹以恢复血流。通过 PE10 管注入 100 μ L 生理盐水,共 3500 $\pm$ 500 个胆固醇晶体或单独的 100 μ L 生理盐水(假手术动物)。注射完成后,取出导管,永久结扎近端 ECA 并关闭伤口。

模型机制:可在大鼠中产生多发性梗死诱导的血管性认知障碍痴呆(vascular dementia, VaD)。受

表 1 研究血管认知障碍的主要非手术动物模型

Table 1 Primary nonsurgical animal model for the study of vascular cognitive impairment

模型 Models	物种 Species	建模方式 Modeling method	脑损伤部位 Brain injury site	分子病理损伤 Molecular pathological injury	参考文献 References
微栓塞模型 Microembolization model	雄性 C57BL/6J 小鼠或者 CX3CRI-GFP 转基因小鼠, Wistar 大鼠 Male C57BL/6J mice or CX3CRI-GFP transgenic mice, wister rat	1. 向颈内动脉注射胆固醇晶体; 2. 使用聚乙烯导管向颈内动脉注射微球; 3. 向颈内动脉注射不同尺寸的血栓 1. Inject cholesterol crystals into the ICA; 2. Microspheres were injected into the ICA using a polyethylene catheter; 3. Inject different sizes of blood clots into the ICA	皮质、纹状体、海马体和皮质下组织、丘脑 Cortex, striatum、hippocampal、subcortical tissue, thalamus	小胶质细胞、巨噬细胞和星形胶质细胞活化 Activation of microglia, macrophages and astrocytes	[46-49]
高同型半胱氨酸血症模型 HHcy model	WT 和 APP/PS1 小鼠 WT and APP/PS1 mice	饮食诱导 Dietary induction	额叶皮层和海马体 Frontal and hippocampal	淀粉样蛋白减少 Decreased amyloid protein	[52-53]
2 型糖尿病模型 T2DM model	db/AD 小鼠 db/AD mice	基因敲除后重编辑 Reedit after gene knockout	皮质 Cortex	β -淀粉样蛋白无变化 There was no change in A β	[55]
自发性高血压模型 SHR/SP model	SHR/SP 大鼠 SHR/SP rat	近交系操作 Inbred line operation	皮质 Cortex	白质损伤 White matter injury	[57-59]
常染色体显性遗传性脑动脉病伴皮质下梗死和白质脑病模型 CADASIL model	TgPAC-Notch3R169C 小鼠 TgPAC-Notch3R169C mice	基因操作 Gene manipulation	胼胝体、纹状体、内囊和海马体 Callosum, corpus striatum, endocystand hippocampal	白质损伤 White matter injury	[61]
脑淀粉样血管病模型 CAA model	APPDutch 小鼠和 Tg-SwDI 转基因小鼠 APPDutch mice and Tg-SwDI transgenic mice	基因操作 Gene manipulation	额颞叶皮层 Frontotemporal cortex	星形胶质细胞和活化小胶质细胞活化 Activation of astrocytes and activated microglia	[63]

表 2 非手术动物模型的优缺点比较

Table 2 Comparison of advantages and disadvantages of non-surgical animal models

模型 Models	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
微栓塞模型 Microembolization model	对小鼠的创伤性小,精准调控 VCI 的病程 It is less traumatic to mice and precisely regulates the course of VCI	无法准确控制脑缺血时间 Cerebral ischemia time cannot be accurately controlled
高同型半胱氨酸血症模型 HHcy model	造模方法可重复性高,可人为控制血液中同型半胱氨酸的水平 Modeling method is reproducible and can artificially control the level of homocysteine in the blood	模型耗时长,实验结果不一致 Model takes a long time and the experimental results are inconsistent
2 型糖尿病模型 T2DM model	模型操作步骤简便 Model is easy to operate	构模过程复杂,周期长,实验成本高 Molding process is complicated, period is long and the experiment cost is high
自发性高血压模型 SHR/SP model	可调控性强 Strong controllability	对肾和大脑产生损害 Damage to the kidneys and brain
常染色体显性遗传性脑动脉病伴皮质下梗死和白质脑病模型 CADASIL model	可人为控制基因表达人为研究常染色体显性遗传性脑动脉病伴皮质下梗死和白质脑病的发病机制提供理想的临床前模型 CADASIL can be artificially controlled gene expression and artificially studied and the pathogenesis provides an ideal preclinical model	基因表达量的控制可能出现偏差 Control of gene expression may be biased
脑淀粉样血管病模型 CAA model	忠实的模拟人类微血管 CAA 相关的认知障碍,为疾病的治疗提供新的潜在靶点 Faithful simulation of human microvascular CAA-related cognitive impairment provides new potential targets for the treatment of the disease	实验周期长,成本负担重 Experiment period is long, the cost burden is heavy

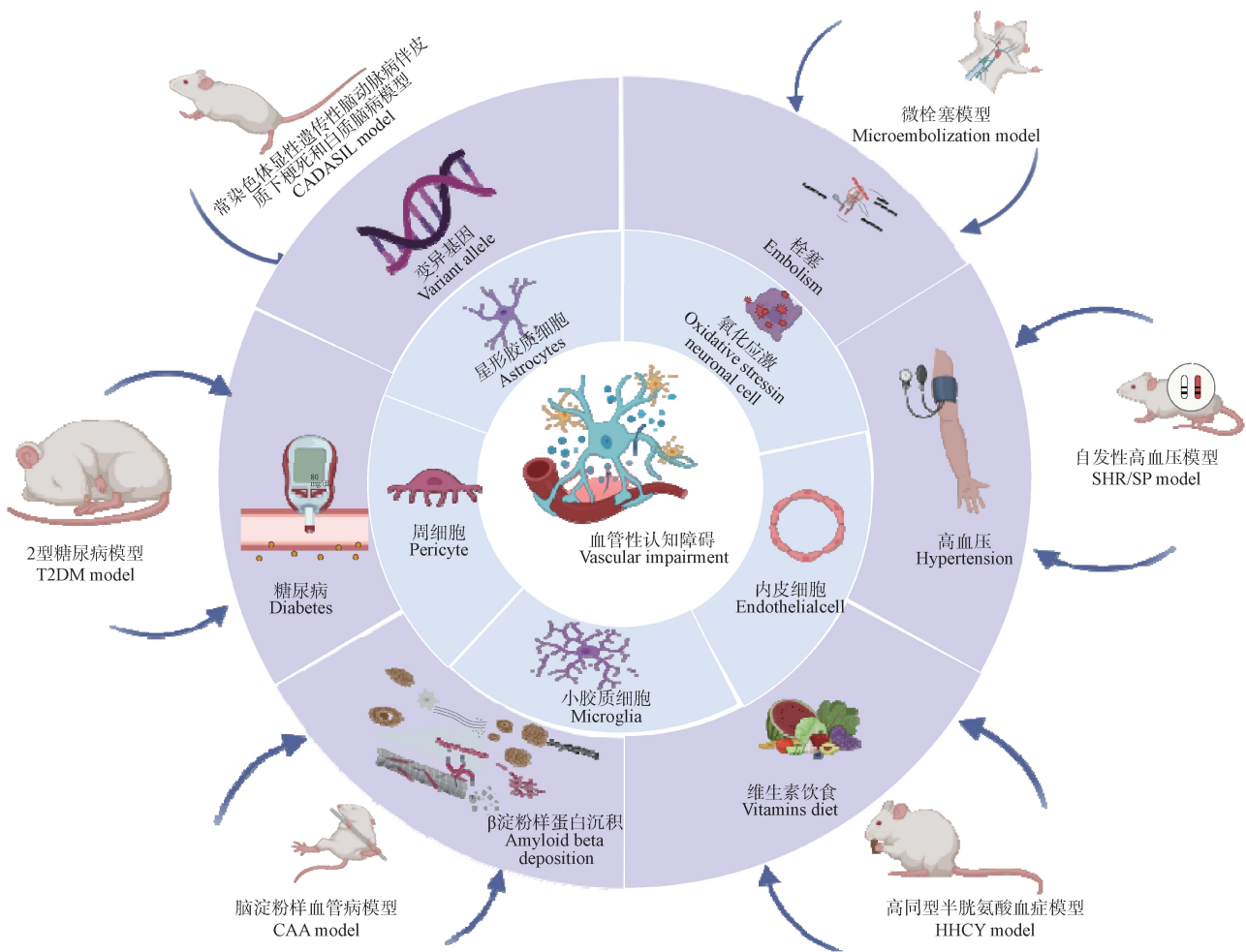


图 1 非手术动物模型图
Figure 1 Diagram of non-surgical animal model

影响的大脑区域是皮质、纹状体、海马和皮质下组织,导致小胶质细胞、巨噬细胞和星形胶质细胞活化。神经元损伤、死亡和胶质增生通常在卒中 28 d 后随时间持续增加^[47]。

(2)微球诱导的微栓塞模型

造模方式:MIYAKE 等^[48]通过使用聚乙烯导管(尺寸 3F,直径 1.0 mm)将悬浮在 20%葡聚糖溶液中的 700 ~ 900 个直径为 48 ~ 50 微球注射到右 ICA 中。

模型机制:可以在大鼠大脑的皮层、纹状体和海马体中诱导多发性梗死。在大脑缺血侧观察到 CBF 的持续降低,神经元损伤以及能量和神经递质代谢受损。这些缺血性损伤导致认知障碍。在血管内栓塞后约一周的水迷宫测试中观察到较长的逃逸潜伏期,表明空间学习障碍和主动、被动回避表现不佳。

(3)血栓诱导的微栓塞模型

造模方式:将不同尺寸的栓子(150 ~ 178 μm 、74 ~ 124 μm 和 48 ~ 74 μm)注射到小鼠 ICA 中以产生血栓栓塞性梗死。用生理盐水稀释 0.3 mL 3% 栓子(凝块)混悬液,然后注入 ICA。从 Wistar 大鼠的股动脉取规定量的血液,然后以 4000 r/min 离心 10 min,形成凝块。弃去血清,将剩余血液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中储存 72 h,形成凝块。在手术前 36 h 采血,以防止死亡^[47]。

模型机制:血栓诱导的梗死主要发生在大脑皮层、海马、丘脑和纹状体区域。有研究报告称,神经功能缺损的情况与栓子直径密切相关^[49],这为研究者提供了重要参考价值,可根据需要选择合适大小的栓子来构建皮质下缺血和血管性痴呆的动物模型。

3.1.2 模型特点

该模型的制作方式比较成熟,对小鼠的创伤性较小,可以确保小鼠的存活率。通过调节栓塞物质

的种类、大小、数量及注射方式等参数,以精准控制栓塞的程度和范围,从而对 VCI 的病程可以精准调控。动物模型的不同及栓塞物质的种类、大小等不同对该模型的疾病影响程度不同。该模型无法准确控制脑缺血时间,因此梗死体积不稳定,这使得病情程度无法预测。

3.2 HHcy 模型

HHcy 是公认的可独立导致心脑血管疾病的危险因素。同型半胱氨酸是一种非蛋白质形成氨基酸,参与蛋氨酸和半胱氨酸的产生^[50]。亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylene tetraphilic folate reductase, MTHFR) 或胱硫氨酸 β 合酶 (cystathione beta synthase, CBS) 基因的突变或维生素 B₆, B₉ 和 B₁₂ 水平低可导致血浆同型半胱氨酸水平升高,称为 HHcy。有研究发现,血清同型半胱氨酸水平与痴呆患者的认知功能呈负相关,并且血管性认知障碍和痴呆 (vascular cognitive impairment and dementia, VCID) 患者的水平升高比 AD 患者更常见。虽然研究表明同型半胱氨酸水平与海马萎缩、白质病变和腔隙性梗死之间存在关联,但同型半胱氨酸诱导的损伤机制仍然未知^[51]。

3.2.1 造模方式与机制

造模方式:SUDDUTH 等^[52]在实验中发现,通过给 6 ~ 12 月龄的 WT 和 APP/PS1 小鼠喂富含维生素 B₆, B₁₂ 和 B₉ 的饮食,并补充蛋氨酸 3 ~ 6 个月来诱导 HHcy。这种饮食通过 1-碳代谢途径产生 HHcy,而分解成半胱氨酸的程度极少。当喂食这种饮食时,6 ~ 12 个月大 WT 和 APP/PS1 小鼠中都表现出血浆同型半胱氨酸水平的显著升高。

模型机制:在 HHcy 小鼠模型中,星形胶质细胞在 72 h 内钾通道和水通道蛋白 4 的数量会逐渐减少,并在这个时间点达到最低。小胶质细胞在 48 h 会先出现促炎标志物的上升,但随后到 72 h 时,抗炎标志物的数量会增加。内皮细胞在 72 h 时紧密连接蛋白 5 抗体 (claudin-5, claudin-5) 的含量会上升,但在 48 h 时闭塞蛋白的数量会减少,且在该模型中发现,大脑神经元的两个钾通道糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 beta, GSK3 β) 和蛋白磷酸酶 2 (protein phosphatase 2, catalytic subunit, alpha isozyme, PPP2CA) 增加,以及抗炎标志物增加^[53]。

3.2.2 模型特点

由于 HHcy 是心血管疾病、脑血管病和认知障

碍的独立危险因素,因此该模型构建更贴近人体病理生理过程,有助于研究 VCI 的发病机制。对于模型构建方面,可以通过调控该模型动物的饮食,来人为的控制血液中同型半胱氨酸的水平,从而研究不同程度的 HHcy 对认知功能的影响。此外,该模型的造模方法相对稳定,只要严格控制实验条件,就可以得到较为一致的实验结果,具有良好的可重复性。但由于需要长期调整模型动物的饮食,以达到稳定的 HHcy 状态,因此造模过程耗时较长。并且动物的体重、饮食量的不同对 HHcy 的敏感性和反应程度可能存在差异,这可能会导致实验结果的不一致性。

3.3 T2DM 小鼠模型

T2DM 主要表现为胰岛素抵抗和 β 细胞功能受损,这两种因素相互作用导致高血糖。此外,T2DM 还常伴有血脂异常和高血压病等并发症,这些因素对全身多个器官系统都具有不良影响。大量证据表明糖尿病容易引发并加速认知功能障碍^[54],而 T2DM 目前被认为是轻度认知功能障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 和 AD 的独立危险因素。但其具体的致病原因尚不清楚,有研究显示,T2DM 与一系列可能导致认知功能受损的病理过程紧密相关,包括内皮功能下降、白质病变、CBF 减少、脑萎缩、脑梗死以及神经传导速度减慢等。研究还发现,高糖高脂饮食/糖尿病会导致海马体齿状回神经元密度减少,该区域对于成年后的神经再生至关重要。因此,该区域神经的减少可能是引发认知功能障碍的关键因素之一。

3.3.1 造模方式与机制

(1)造模方式:NIEDOWICZ 等^[55]创建了一个结合 T2DM 和 AD 特征的小鼠模型,这种模型是将糖尿病小鼠模型与 APPDNL/DNL9PS1P264L/P264L 基因敲除的痴呆模型进行杂交。这种 db/AD 小鼠既保留了亲本系的特性,例如严重的肥胖、糖尿病和 A β 的沉积,并出现了其他的病理学改变,如更严重的脑血管病变,包括动脉瘤和小中风。

(2)模型机制:尽管整体早老素 (presenilin, PS) 表达水平升高,但糖尿病小鼠的皮质 A β 沉积并没有显著增加,A β 也没有在脉管系统中沉积或被清除到血浆中。与同龄的 db/db 或 APP/PS1 小鼠相比,db/AD 小鼠在表现出更严重的认知障碍。这些结果提示,小鼠的糖尿病和(或)肥胖可能导致血管系统的不稳定,进而引发认知障碍,而这种障碍可

能与 A β 无关。

3.3.2 模型特点

该方法操作步骤简便,造模后小鼠未出现运动障碍。通过模拟糖尿病发病机制,导致小鼠出现血管样病变,但与临床 VCI 多因素发病不尽相同。该模型的构建过程复杂、周期较长、实验成本较高。

3.4 SHR/SP 模型

高血压是 VCI 的主要原因之一,可使 VCI 患者出现腔隙性脑卒中和白质高信号 (whitematter hyperintensities, WMH)。有研究表明,高血压会引起脑血流量减少、管腔狭窄,血管内皮细胞受损,进而导致小血管疾病 (small vessel disease, SVD),导致白质、皮质和海马体进行性损伤^[56]。

3.4.1 造模方式与机制

(1)造模方式:YAMORI^[57]及其团队在日本对 WKY 大鼠进行遗传改造后得到了自发性脑卒中大鼠模型 (SHR/SP) 品系。此种模型大鼠在 12 周龄后发展为重度高血压,即收缩压通常约 200 mmHg,在脑缺氧的情况下,发现 5 月龄大鼠的脑部血流量在额区减少,平均约 36 周龄即出现脑梗塞或 ICH。

(2)模型机制:大脑白质损伤情况在 SHR/SP 大鼠模型中与 VCI 患者在 MRI 上几乎一致^[58]。SHR/SP 大鼠的深部白质损伤和皮质下缺血性血管病 (SIVD) 型 VCI 患者相似。在不控制饮食的情况下,SHR/SP 大鼠将在 4 ~ 5 月龄开始显示白质变化,并在 9 月龄时发生梗死和出血。当这些大鼠年龄增长到 52 ~ 64 周时,它们会出现脑梗死并有出血倾向,导致死亡。通过高盐、低蛋白饮食,这些大鼠的寿命可能会进一步缩短至 4 个月。

3.4.2 模型特点

YAMORI 等^[59]发现,SHR/SP 模型的血管易脆性较 WKY 大,根据研究目的的不同,可以对 SHR/SP 模型进行各种修饰,可调控性强,而且该模型通过饮食控制可以缩短实验时间。此外,为研究白质损伤情况,可以通过延迟异常饮食喂养,使高血压完全发展,从而研究白质改变,且降低中风的发生率。由于高血压会对肾引起损害,因此该模型中,改变后的饮食会造成肾和大脑的严重损害,这使得模型与人类的差异性越大,对高血压引起 VCI 的发病机理、机制的研究带来困难。

3.5 CADASIL 模型

CADASIL 是由一种位于 19 号染色体上的 Notch3 基因突变引起的遗传性小血管病,而 Notch3

蛋白是哺乳动物体内存在的 4 种 Notch 蛋白之一,在组织中调控细胞的各种活动^[60]。CADASIL 的特征是颗粒状亲渗物质 (granular osmophilic substance, GOM) 在中小动脉中积聚以及血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 的丢失。CADASIL 患者从成年早期开始出现皮质下腔隙性进行性的 WML,最终导致认知能力下降和皮层下梗死复发。因此,CADASIL 是卒中和血管性痴呆的最常见遗传原因。

3.5.1 造模方式与机制

(1)造模方式:WALLAYS 等^[61]报道了一种新的敲入 R169C 小鼠模型,通过引入内源性 Notch3 突变,产生了约 20 个月大的 CADASIL 临床表型。研究发现,CADASIL 临床前小鼠模型 TgPAC-Notch3R169C 小鼠随着年龄的增长出现进行性和节段性白质病变。通过将引起 CADASIL 的 Notch3 突变引入大型 p1 衍生的人工染色体 (artificial chromosome, AC),可以创建新的 CADASIL 小鼠模型。

(2)模型机制:突变体 Notch3 过表达 4 倍的转基因小鼠模型可以再现 CADASIL 的主要病理特征,如 Notch3 细胞外结构域聚集和 GOM 沉积在脑血管中(5 月龄),脑血流量减少(约 11 ~ 12 月龄),在 18 ~ 20 个月大的动物中,会在大脑的某些关键区域(如胼胝体、纹状体、内囊和海马体)显示出广泛的白质病变。

3.5.2 模型特点

CADASIL 转基因小鼠模型能够模拟人类 CADASIL 的有效病理征,包括白质病变、脑血流量、血管平滑肌细胞的变形、坏死以及 GOM 在中小动脉中积聚情况。此外,该模型可以通过人为的控制基因表达、培养环境等因素来研究 CADASIL 的发病机制,为研究 CADASIL 的发病机制提供理想的临床前模型。虽然 CADASIL 小鼠模型能够模拟人类 CADASIL 疾病的许多病理生理过程,但是在模型基因表达中,基因表达量的控制有时可能出现偏差,此外,由于小鼠和人类在生理、解剖和代谢等方面存在差异,因此不能够完全模拟人类疾病的所有方面。

3.6 CAA 模型

CAA 是一种常见的 SVD,是指 β -淀粉样原纤维沉积在脑动脉壁上^[62]。一般认为它是 ICH 的主要病因。近年来,CAA 也被认为是 VCI 和痴呆的重要

危险因素。除了出血性脑损伤外,CAA 还与广泛的缺血性组织损伤有关,包括白质高密度和微梗死。 $A\beta$ 在 CAA 中的沉积过程尚不完全清楚。早期的理论认为,CAA 中的 $A\beta$ 直接来源于血管壁的平滑肌细胞。最近的研究结果表明,CAA 中的 $A\beta$ 主要由神经元产生,然后由于 $A\beta$ 清除受损而沉积在血管壁上。

3.6.1 造模方式与机制

(1)造模方式:APPDutch 小鼠和 Tg-SwDI 转基因小鼠模型能够模拟这种特定疾病。研究报道^[63],APPDutch 小鼠是通过过表达 E693Q 突变的人类衰老淀粉样前体蛋白(aging of the amyloid precursor protein,APP)产生的,大约在 22 ~ 25 个月龄时,在小脑膜和皮质血管中开始形成血管淀粉样蛋白沉积,而雌性小鼠的病发病可能更早。与主要靶向脑实质的 APPwt 小鼠不同,APPDutch 小鼠的大脑中没有发现致密斑块,弥漫性脑实质斑块也很少发现。因此,E693Q 氨基酸取代使得 $A\beta$ 重新定向到脑血管壁上。而 Tg-SwDI 小鼠模型是另一种主要用于研究 CAA 的转基因小鼠模型。这些小鼠表达含有瑞典 K670N/M671L 和荷兰/爱荷华 E693Q/D694N 促血管突变的人类 APP。

(2)模型机制: $A\beta$ 的大脑微血管沉积主要在小鼠的丘脑和耻骨下被观察到。早在 3 月龄时,Tg-SwDI 小鼠的丘脑和丘脑下微血管中的淀粉样蛋白水平就高于前脑的其他部位。CAA 将在 3 月龄时进行首次观察,50% 的微血管在 12 月龄时受到影响,在 24 月龄时增加到 85% ~ 90%。与丘脑和耻骨下相比,Tg-SwDI 小鼠的额颞叶皮层血管只受到最小程度的影响。它们在 3 个月大时表现出空间学习和记忆能力受损,这与耻骨下微血管淀粉样蛋白的发育以及活性星形胶质细胞和活化小胶质细胞数量的显著增加是一致的。

3.6.2 模型特点

Tg-SwDI 小鼠主要在毛细血管中发生早发性 CAA,而大血管相对幸免。该模型表现出人类微血管 CAA 相关的认知障碍,并表现出强烈的神经炎症反应,并为与该病的发生和进展相关的神经炎症和血管周围应激的发病机制提供了新的实验见解,为该病症提供了新的潜在治疗靶点。APPDutch 小鼠模型的发病年龄相对较晚,会给带来了较长的实验周期和成本负担。而且小鼠性别不同对疾病的影响周期也不同,这对于疾病的研究带来较大负担。

此外,APPDutch 小鼠模型大脑中的致密、弥散性斑块观察甚少,这对 CAA 疾病的发病机制研究也带来一定困难。

简而言之,转基因小鼠模型如 APPDutch 和 Tg-SwDI 能够模拟特定模式,分别用于研究 $A\beta$ 和 CAA。然而,这些模型各有优缺点,需要根据研究目的选择合适的模型。此外,从神经元的淀粉样蛋白变化中剖析出 CAA 的作用,以解释神经退行性病变难度较大。因此,这些小鼠模型对没有淀粉样蛋白沉积的血管事件引发的 VCI 机制,仅提供了有限的见解。

4 总结与展望

目前,VCI 非手术动物模型主要通过药物干预、基因操作、或其他非侵入性手段来模拟 VCI 的病理过程,这些 VCI 的非手术动物模型各有优缺点,需针对实验需求选择合适的模型。非手术动物模型的建造有助于研究者对 VCI 的发病机理和分子机制进行更深入的认识,且这类模型通过调整动物的饮食、合并症等危险因素进行干预,有助于探索 VCI 的预防策略。虽然 VCI 非手术动物模型建造的研究有一定进展,但对 VCI 的确切病理机制、治疗用药等问题仍不十分明确,故仍需更多的相关研究和高质量、同质化的证据研究。

参 考 文 献(References)

- [1] GBD2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(1): 88–106.
- [2] JIA L, QUAN M, FU Y, et al. Dementia in China: epidemiology, clinical management, and research advances [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(1): 81–92.
- [3] SCHAAPMEERDERS P, TULADHAR A M, ARNTZ R M, et al. Remote lower white matter integrity increases the risk of long-term cognitive impairment after ischemic stroke in young adults [J]. *Stroke*, 2016, 47(10): 2517–2525.
- [4] MIJALLOVIĆ M D, PAVLOVIĆ A, BRAININ M, et al. Post-stroke dementia-A comprehensive review [J]. *BMC Med*, 2017, 15(1): 11.
- [5] SKROBOT O A, O'BRIEN J, BLACK S, et al. The vascular impairment of cognition classification consensus study [J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(6): 624–633.
- [6] MANDZIA J L, SMITH E E, HORTON M, et al. Imaging and baseline predictors of cognitive performance in minor ischemic stroke and patients with transient ischemic attack at 90 days [J]. *Stroke*, 2016, 47(3): 726–731.
- [7] CHOI B R, KIM D H, BACK D B, et al. Characterization of

- white matter injury in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Stroke*, 2016, 47(2): 542–547.
- [8] MOULIN S, LABREUCHE J, BOMBOIS S, et al. Dementia risk after spontaneous intracerebral haemorrhage: a prospective cohort study [J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(8): 820–829.
- [9] YOU S, WANG X, LINDLEY R I, et al. Early cognitive impairment after intracerebral hemorrhage in the INTERACT1 study [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2017, 44(5/6): 320–324.
- [10] SU J, TONGZHOU T, GUO Q, et al. Memory deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a functional magnetic resonance imaging study [J]. *World Neurosurg*, 2018, 111: e500–e506.
- [11] SAHYOUNI R, GOSHTASBI K, MAHMOODI A, et al. Chronic subdural hematoma: a perspective on subdural membranes and dementia [J]. *World Neurosurg*, 2017, 108: 954–958.
- [12] O'BRIEN J T, ERKINJUNTTI T, REISBERG B, et al. Vascular cognitive impairment [J]. *Lancet Neurol*, 2003, 2(2): 89–98.
- [13] DICHGANS M, ZIETEMANN V. Prevention of vascular cognitive impairment [J]. *Stroke*, 2012, 43(11): 3137–3146.
- [14] PRICE B R, JOHNSON L A, NORRIS C M. Reactive astrocytes: the nexus of pathological and clinical hallmarks of Alzheimer's disease [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 68: 101335.
- [15] PRICE B R, NORRIS C M, SOMPOL P, et al. An emerging role of astrocytes in vascular contributions to cognitive impairment and dementia [J]. *J Neurochem*, 2018, 144(5): 644–650.
- [16] WEEKMAN E M, WILCOCK D M. Matrix metalloproteinase in blood-brain barrier breakdown in dementia [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 49(4): 893–903.
- [17] ARANTINI S, TRAN C H T, GORDON G R, et al. Impaired neurovascular coupling in aging and Alzheimer's disease: Contribution of astrocyte dysfunction and endothelial impairment to cognitive decline [J]. *Exp Gerontol*, 2017, 94: 52–58.
- [18] SHA S, TAN J, MIAO Y, et al. The role of autophagy in hypoxia-induced neuroinflammation [J]. *DNA Cell Biol*, 2021, 40(6): 733–739.
- [19] SONG J, LI M, KANG N, et al. Baicalein ameliorates cognitive impairment of vascular dementia rats via suppressing neuroinflammation and regulating intestinal microbiota [J]. *Brain Res Bull*, 2024, 208: 110888.
- [20] YANG Y, ZHAO X, ZHU Z, et al. Vascular dementia: A microglia's perspective [J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 81: 101734.
- [21] BLOCK M L, ZECCA L, HONG J S. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(1): 57–69.
- [22] WEI J, SUN C, LIU C, et al. Effects of rat anti-mouse interleukin-6 receptor antibody on the recovery of cognitive function in stroke mice [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(2): 507–515.
- [23] WYTRYKOWSKA A, PROSBA-MACKIEWICZ M, NYKA W M. IL-1 β , TNF- α , and IL-6 levels in gingival fluid and serum of patients with ischemic stroke [J]. *J Oral Sci*, 2016, 58(4): 509–513.
- [24] DUKIC L, SIMUNDIC A M, MARTINIC-POPOVIC I, et al. The role of human kallikrein 6, clusterin and adiponectin as potential blood biomarkers of dementia [J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(3): 213–218.
- [25] RAJEEV V, FANN D Y, DINH Q N, et al. Pathophysiology of blood brain barrier dysfunction during chronic cerebral hypoperfusion in vascular cognitive impairment [J]. *Theranostics*, 2022, 12(4): 1639–1658.
- [26] BENNETT S, GRANT M M, ALDRED S. Oxidative stress in vascular dementia and Alzheimer's disease: a common pathology [J]. *J Alzheimers Dis*, 2009, 17(2): 245–257.
- [27] GACKOWSKI D, ROZALSKI R, SIOMEK A, et al. Oxidative stress and oxidative DNA damage is characteristic for mixed Alzheimer disease/vascular dementia [J]. *J Neurol Sci*, 2008, 266(1/2): 57–62.
- [28] LIU D D, YUAN X, CHU S F, et al. CZ-7, a new derivative of Claulansine F, ameliorates 2VO-induced vascular dementia in rats through a Nrf2-mediated antioxidant responses [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40(4): 425–440.
- [29] YAN Q, LIU S, SUN Y, et al. Targeting oxidative stress as a preventive and therapeutic approach for cardiovascular disease [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 519.
- [30] TÖNNIES E, TRUSHINA E. Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57(4): 1105–1121.
- [31] YANG Y, ZHAO X, ZHU Z, et al. Vascular dementia: A microglia's perspective [J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 81: 101734.
- [32] BOHANNON D G, LONG D, KIM W K. Understanding the heterogeneity of human pericyte subsets in blood-brain barrier homeostasis and neurological diseases [J]. *Cells*, 2021, 10(4): 890.
- [33] MÄE M A, HE L, NORDLING S, et al. Single-cell analysis of blood-brain barrier response to pericyte loss [J]. *Circ Res*, 2021, 128(4): e46–e62.
- [34] ORNELAS S, BERTHIAUME A A, BONNEY S K, et al. Three-dimensional ultrastructure of the brain pericyte-endothelial interface [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(9): 2185–2200.
- [35] BELTRAMO E, PORTA M. Pericyte loss in diabetic retinopathy: mechanisms and consequences [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(26): 3218–3225.
- [36] EDGERTON-FULTON M, ERGUL A. Vascular contributions to cognitive impairment/dementia in diabetes: role of endothelial cells and pericytes [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, 323(4): C1177–C1189.
- [37] WANG F, CAO Y, MA L, et al. Dysfunction of cerebrovascular endothelial cells: prelude to vascular dementia [J]. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 376.
- [38] STEPHAN B C M, HARRISON S L, KEAGE H A D, et al.

- Cardiovascular disease, the nitric oxide pathway and risk of cognitive impairment and dementia [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2017, 19(9): 87.
- [39] REN C, LI N, LI S, et al. Limb ischemic conditioning improved cognitive deficits via ENOS-dependent augmentation of angiogenesis after chronic cerebral hypoperfusion in rats [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(5): 869–879.
- [40] ZHANG L, ZHENG H, LUO J, et al. Inhibition of endothelial nitric oxide synthase reverses the effect of exercise on improving cognitive function in hypertensive rats [J]. *Hypertens Res*, 2018, 41(6): 414–425.
- [41] MANUKHINA E B, PSHENNIKOVA M G, GORYACHEVA A V, et al. Role of nitric oxide in prevention of cognitive disorders in neurodegenerative brain injuries in rats [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2008, 146(4): 391–395.
- [42] BALEZ R, OOI L. Getting to NO Alzheimer's disease: neuroprotection versus neurotoxicity mediated by nitric oxide [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 3806157.
- [43] PULSINELLI W A, BRIERLEY J B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat [J]. *Stroke*, 1979, 10(3): 267–272.
- [44] 侯外方, 张茂森, 张琳, 等. 血管性认知障碍动物模型的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(4): 542–552.
- HOU W F, ZHANG M S, ZHANG L, et al. Research progress using animal models of vascular cognitive impairment [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2021, 29(4): 542–552.
- [45] TUO Q Z, ZOU J J, LEI P. Rodent models of vascular cognitive impairment [J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(5): 1–12.
- [46] WANG M, ILIFF J J, LIAO Y, et al. Cognitive deficits and delayed neuronal loss in a mouse model of multiple microinfarcts [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(50): 17948–17960.
- [47] TIWARI N, UPADHYAY J, ANSARI M N, et al. Experimental rodent models of vascular dementia: a systematic review [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2021, 20(7): 657–672.
- [48] MIYAKE K, TAKAGI N, TAKEO S. Effects of naftidrofuryl oxalate on microsphere embolism-induced decrease in regional blood flow of rat brain [J]. *Br J Pharmacol*, 1994, 112(1): 226–230.
- [49] ZHANG H A, GAO M, CHEN B, et al. Evaluation of hippocampal injury and cognitive function induced by embolization in the rat brain [J]. *Anat Rec*, 2013, 296(8): 1207–1214.
- [50] KAUR B, SHARMA P K, CHATTERJEE B, et al. Defective quality control autophagy in hyperhomocysteinemia promotes ER stress and consequent neuronal apoptosis through proteotoxicity [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 258.
- [51] PRICE B R, WILCOCK D M, WEEKMAN E M. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for vascular contributions to cognitive impairment and dementia [J]. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 350.
- [52] SUDDUTH T L, POWELL D K, SMITH C D, et al. Induction of hyperhomocysteinemia models vascular dementia by induction of cerebral microhemorrhages and neuroinflammation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(5): 708–715.
- [53] MAIUOLO J, GLIOZZI M, MUSOLINO V, et al. The “frail” brain blood barrier in neurodegenerative diseases: role of early disruption of endothelial cell-to-cell connections [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2693.
- [54] ZULOAGA K L, JOHNSON L A, ROESE N E, et al. High fat diet-induced diabetes in mice exacerbates cognitive deficit due to chronic hypoperfusion [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(7): 1257–1270.
- [55] NIEDOWICZ D M, REEVES V L, PLATT T L, 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.
- [56] ZHANG Z, CHOPP M, ZHANG R L, et al. A mouse model of embolic focal cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997, 17(10): 1081–1088.
- [57] YAMORI Y. Overview: studies on spontaneous hypertension-development from animal models toward man [J]. *Clin Exp Hypertens A*, 1991, 13(5): 631–644.
- [58] YANG Y, KIMURA-OHBA S, THOMPSON J, et al. Rodent models of vascular cognitive impairment [J]. *Transl Stroke Res*, 2016, 7(5): 407–414.
- [59] YAMORI Y, HORIE R, HANDA H, et al. Pathogenetic similarity of strokes in stroke-prone spontaneously hypertensive rats and humans [J]. *Stroke*, 1976, 7(1): 46–53.
- [60] YUAN L, CHEN X, JANKOVIC J, et al. CADASIL: A NOTCH3-associated cerebral small vessel disease [J]. *J Adv Res*, 2024, 2: 1–8.
- [61] 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.
- [62] SZIDONYA L, NICKERSON J P. Cerebral amyloid angiopathy [J]. *Radiol Clin North Am*, 2023, 61(3): 551–562.
- [63] HERZIG M C, WINKLER D T, BURGERMEISTER P, et al. Abeta is targeted to the vasculature in a mouse model of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis [J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(9): 954–960.