

尼古丁对 A₂₅₋₃₅ 诱导学习记忆障碍小鼠的治疗作用

任汝静¹, 王刚¹, 潘静¹, 朱亮², 张施¹, 孙小康¹, 陈红专², 陈生弟¹

(上海交通大学医学院 1. 附属瑞金医院神经科、神经病学研究所, 2. 基础医学院药理学教研室, 上海 200025)

中国图书分类号: R 332; R 329.2; R 338.64; R 452; R 745.705; R 977.3; R 977.6

文献标识码: A 文章编号: 1001-1978(2009)01-0055-05

摘要:目的 探讨 nAChR 激动剂尼古丁对淀粉样蛋白(A₂₅₋₃₅)诱导的学习记忆障碍小鼠模型的治疗作用以及可能的作用机制。方法 小鼠侧脑室注入凝聚态 A₂₅₋₃₅ 4.5 μl, 次日, 用药组给予尼古丁 0.2 和 2 mg · kg⁻¹ (ip, bid × 7 d), 对照组及模型组 ip 生理盐水。给药结束 4 d 后(造模成功后 11 d), 进行各组行为学及皮层、海马组织乙酰胆碱酯酶(AChE)、胆碱乙酰转移酶(ChAT)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)活性指标的检测。结果 定位航行实验发现, 训练 d 4, 模型组小鼠的上台潜伏期和游泳距离明显高于对照组和 0.2、2 mg · kg⁻¹ 尼古丁治疗组 ($P < 0.01$); 空间搜索实验发现, 实验 d 5 撤除平台, 模型组在平台所在象限(第象限)中游泳的时间百分比明显低于对照组 ($P < 0.01$) 和 0.2 及 2 mg · kg⁻¹ 尼古丁治疗组 ($P < 0.05$); 模型组在平台所在象限(第象限)中游泳的距离百分比明显低于对照组 ($P < 0.01$), 但与 0.2 及 2 mg · kg⁻¹ 尼古丁治疗组无差别 ($P > 0.05$)。酶活性检测发现尼古丁治疗组的 AChE 及 ChAT 的

活性较对照组明显升高 ($P < 0.01$); 尼古丁治疗组 (2 mg · kg⁻¹) MDA 的活性较模型组明显降低 ($P < 0.01$), 尼古丁治疗组 (0.2 mg · kg⁻¹) 的活性较模型组无改变 ($P > 0.05$); 尼古丁治疗组的 GSH 活性较模型组明显升高 ($P < 0.01$)。结论 尼古丁能够改善 A₂₅₋₃₅ 诱导痴呆小鼠的学习记忆功能障碍, 该作用与其增强 ChAT 的活性以及抗氧化应激有关。

关键词: 尼古丁; 淀粉样蛋白 25-35; 学习记忆

研究发现, 尼古丁 (nicotine) 可对离体及在体的阿尔采末病 (Alzheimer's disease, AD) 模型产生治疗作用, 我们此前报道尼古丁作用于 A₂₅₋₃₅ 诱导细胞模型的结果也证实了这一点^[1]。然而已有的在体研究, 采用的痴呆动物模型主要为 3xTg-AD APP (V717D) 等转基因动物模型, 给药主要以长期饮水 (2~4 mon) 的慢性方式为主^[2,3], 而对于侧脑室直接注射 A₂₅₋₃₅ 诱导的学习记忆障碍小鼠模型, 采用腹腔注射给药观察尼古丁是否有治疗作用的研究还少见报道, 国内虽然有报道发现尼古丁对 A₂₅₋₃₅ 诱导痴呆大鼠记忆和空间定向能力的降低有干预作用, 但仅对其行为学的改变进行了研究^[4]。因此, 本研究拟以连续 7 d 尼古丁腹腔注射给药, 观察尼古丁对 A₂₅₋₃₅ 诱导学习记忆障碍小鼠行为学及相关酶活性的影响, 以进一步探讨明确腹腔注射尼古丁是否对 A₂₅₋₃₅ 诱导学习记忆障碍小鼠具有治疗作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 尼古丁购自美国 Calbiochem 公

收稿日期: 2008-05-23, 修回日期: 2008-08-16

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (No 2006cb500706); 国家自然科学基金资助项目 (No 30471918, 30570637); 上海市医学领军人才计划资助项目 (No LJ 06003)

作者简介: 任汝静 (1976-), 女, 博士, 主治医师, 研究方向: 老年性痴呆的发病机制和治疗, Tel: 021-64454473, E-mail: doctorren2001@yahoo.com;

陈生弟 (1955-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 神经变性疾病, 通讯作者, E-mail: chen_sd@medmail.com.cn

served; rats were put to death immediately at the peak of fever, $[Ca^{2+}]_i$ was measured by the technique of Fura-2/AM calcium ions fluorescence indicator; the content of cAMP in hypothalamus was measured by radioimmunoassay. **Results** The sequence of the maximum change of temperature (T_{max}) from high to low: group CPZ + LPS > group LPS > group CPZ > group N; T (300~480 min) and $TR_{1/2}$ of group CPZ + LPS was significantly higher than that of group LPS ($P < 0.01$); At the peak of fever, $[Ca^{2+}]_i$ of

group CPZ + LPS was significantly lower than that of the other three ($P < 0.01$); The content of cAMP in hypothalamus of group CPZ + LPS was the highest ($P < 0.01$). **Conclusion** It was possible that capsaizepine changed intra-cellular $[Ca^{2+}]_i$ by blocking TRPV1 channel in hypothalamus, and then affected LPS-induced fever

Key words: lipopolysaccharide (LPS); fever; transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1); capsaizepine; cyclic adenosine monophosphate (cAMP); $[Ca^{2+}]_i$

司; A₂₅₋₃₅ 购自美国 Sigma 公司 (批号: 13/01/2005); 96孔板购自美国 Corning 公司; 多功能酶标仪购自瑞典 Tecan Sunrise Eliza-Reader; BCA 蛋白测定试剂盒购自美国 Pierce 公司; 乙酰胆碱酯酶 (AChE)、胆碱乙酰转移酶 (ChAT)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH) 活性检测试剂盒购自南京建成生物工程公司; 其余均为国产分析纯试剂。

1.2 动物 选用昆明小鼠, 体重 18~25 g, 由上海西普尔-必凯实验动物公司提供, 生产许可证号: SCXK(沪) 2003-0002, 使用许可证号: SYXK(沪) 2003-0026。

1.3 凝聚态 A₂₅₋₃₅ 的制备 将 1 mg A₂₅₋₃₅ 溶于 0.5 ml 灭菌生理盐水中, 浓度为 2 mmol·L⁻¹, 密封后置于 37 细胞培养箱中进行老化, 96 h 后可进行注射。

1.4 小鼠侧脑室注射 A^[5,6] 及腹腔注射尼古丁 将小鼠用乙醚麻醉, 消毒后将其前囟处皮肤开一小口, 暴露颅骨, 于右侧侧脑室注入浓度为 2 mmol·L⁻¹ 凝聚态 A₂₅₋₃₅ 4.5 μl (9 nmol), 对照组注入等体积生理盐水。次日, 用药组给予尼古丁 0.2 mg·kg⁻¹ 和 2 mg·kg⁻¹ (ip, bid ×7 d), 对照组及模型组 ip 生理盐水。给药结束 4 d 后 (造模后 11 d), 进行各项指标检测。

1.5 Morris 水迷宫实验 Morris 水迷宫由圆形水池、自动摄像和分析系统组成, 图像自动采集和处理系统主要由摄像机、计算机和图像监视器组成, 动物入水后启动监测装置, 记录动物运动轨迹, 实验完毕自动分析报告相关参数。检测指标: 定位航行实验: 利用 Morris 水迷宫对小鼠进行行为学训练和测试。水迷宫装置为一圆形水池 (水池壁为黑色), 直径 120 cm, 水深 30 cm, 加入黑色食用色素使水不透明, 水温保持在 22 左右, 将迷宫均分为 4 个象限, 一黑色圆形平台 (直径 9 cm) 位于第二象限水面下 1~2 cm 左右。实验训练阶段为 4 d, 每只小鼠每天接受 4 次训练, 每次训练 180 s, 两次训练间隔为 30 s, 每次训练的入水点为按随机序列排列的 4 个象限, 每相邻 2 d 的入水顺序不同。如果小鼠在 180 s 内上台, 则允许其在平台停留 30 s, 如果动物在 180 s 内不能发现平台, 则将其牵引至平台并使其停留 30 s (其潜伏期定为 180 s)。用摄像头跟踪并记录小鼠在水池中的游泳轨迹, 并将数据输入计算机中计算小鼠达到平台的潜伏期及游泳距离。空间搜索实验: 用于测量学会寻找平台后, 对平台空间位置记忆的保持能力, 实验 d 5 撤除平台。分两次将大鼠从距离原平台位置 (第二象限) 较远的两个象

限放入水中, 记录并分析大鼠在第二象限内的时间百分比和游泳距离百分比。

1.6 小鼠皮层、海马组织乙酰胆碱酯酶 (AChE)、胆碱乙酰转移酶 (ChAT)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH) 活性检测 将小鼠断头取脑, 在冰浴上剥离皮层与海马组织, 称重后置于液氮重冷冻, 之后加入预冷的 0.9% NS, Bio-rad 蛋白定量。乙酰胆碱酯酶 (true cholinesterase) 水解乙酰胆碱生成胆碱及乙酸, 胆碱可以与巯基显色剂反应生成 TNB (对称三硝基苯, Sym-Trinitrobenzene) 黄色化合物, 根据颜色深浅进行比色定量, 水解产物胆碱的数量可反映胆碱酯酶的活力。在 412 nm 处测吸光度值, AChE 活性以 U·mg⁻¹ Pro 表示。胆碱乙酰转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 的测定是以乙酰辅酶 A 和胆碱为底物, 在 ChAT 的作用下, 反应的生成物和显色剂结合, 在 324 nm 处测定吸光度, ChAT 的活性以 U·mg⁻¹ Pro 表示。过氧化脂质降解产物中的 MDA 可与硫代巴比妥酸 (TBA) 缩合, 形成红色产物, 在 523 nm 处有最大吸收峰。MDA 活性以 nmol·mg⁻¹ Pro 表示。二硫代二硝基甲酸与巯基化合物反应时能产生一种黄色化合物, 在 412 nm 测吸光度值。GSH 活性以 mg·g⁻¹ Pro 表示。具体操作按试剂盒说明进行。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 对实验数据进行分析, 数据结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较行方差分析, 组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 尼古丁对 A₂₅₋₃₅ 诱导小鼠学习记忆障碍模型的空间学习记忆能力的影响

2.1.1 定位航行实验 训练 d 1~3, 模型组动物的平均上台潜伏期以及上台前游泳距离与其他组无明显差别; 而且随着训练次数的增加, 到达平台的潜伏期及游泳距离不断缩短。但到 d 4, 模型组小鼠的上台潜伏期和游泳距离明显高于对照组和 0.2、2 mg·kg⁻¹ (ip, bid) 尼古丁治疗组 ($P < 0.01$), 见 Fig 1A、Fig 2A。

2.1.2 空间搜索实验 实验 d 5 撤除平台, 模型动物在平台所在象限 (第 象限) 中游泳的时间百分比明显低于对照组 ($P < 0.01$) 和 0.2 及 2 mg·kg⁻¹ (ip, bid) 尼古丁治疗组 ($P < 0.05$); 模型动物在平台所在象限 (第 象限) 中游泳的距离百分比明显低于对照组 ($P < 0.01$), 但与 0.2 及 2 mg·kg⁻¹ (ip, bid) 尼古丁治疗组差别无显著性 ($P > 0.05$), 见 Fig 1B、Fig 2B。

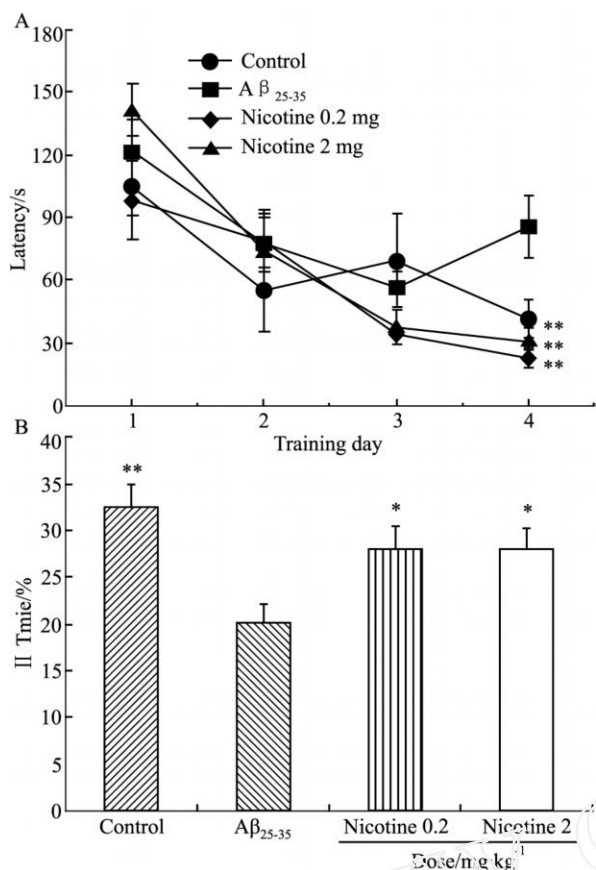


Fig 1 Effects of nicotine on escape latency in Morris water maze in Aβ₂₅₋₃₅-treated mice (n = 8)

A: the relations between latency and training day; B: the percent of time which swimming in quadrat

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs Aβ₂₅₋₃₅ group

2.2 尼古丁对 Aβ₂₅₋₃₅ 诱导小鼠学习记忆障碍模型的皮层、海马 AchE、ChAT、MPA 活性的影响 模型组与对照组相比, AchE 的活性明显升高, 而尼古丁治疗组的活性较对照组也明显升高 (P < 0.01); 模型组与对照组相比, ChAT 的活性明显降低, 而尼古丁治疗组的活性较模型组明显升高 (P < 0.01); 模型组与对照组相比, MDA 的活性明显升高, 而尼古丁治疗组 (2 mg · kg⁻¹) 的活性较模型组明显降低 (P < 0.01), 尼古丁治疗组 (0.2 mg · kg⁻¹) 的活性较模型组无明显改变 (P > 0.05); 模型组与对照组相比, GSH 的活性明显降低 (P < 0.05), 而尼古丁治疗组的活性较模型组明显升高 (P < 0.01), 见 Tab 1。

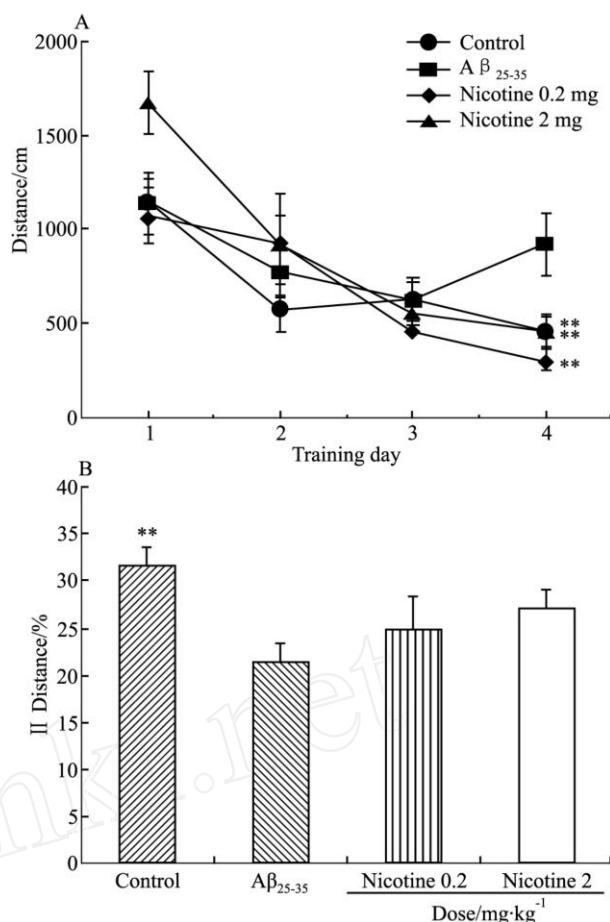


Fig 2 Effects of nicotine on swim distance in Morris water maze in Aβ₂₅₋₃₅-treated mice (n = 8)

A: the relations between swim distance and training day; B: the percent of swim distance in quadrat

** P < 0.01 vs Aβ₂₅₋₃₅ group

3 讨论

目前, AD 动物模型主要包括利用理化手段毁损动物中枢某些特定功能核团而制作的动物模型, 以及近年来新兴的转基因动物模型^[7,8]。然而, 由于 AD 的病因和发病机制非常复杂, 确切的机制还没有完全明确, 因此目前无论是那种类型的 AD 动物模型都几乎只能模拟出 AD 患者的部分病理生理及临床特征。本实验采用的是 A 脑立体注射的小鼠模型, 这一模型是基于 AD A 级联反应学说: 折叠可以使 Aβ₂₅₋₃₅ 由单体变为丝状聚合物, 从而发挥毒性作用, 导致氧化应激、神经递质代谢障碍, 细

Tab 1 Effects of nicotine on the hippocampal and cortical biochemical parameters of Aβ₂₅₋₃₅-treated mice (n = 5 ~ 7)

Group	AChE/U · mg ⁻¹ P10	ChAT/U · mg ⁻¹ P10	MDA/μmol · g ⁻¹ P10	GSH/mg · g ⁻¹ P10
Control	1.45 ± 0.10	1663.39 ± 81.54	9.27 ± 0.68	56.65 ± 3.57
Aβ ₂₅₋₃₅ group	2.14 ± 0.11**	1210.88 ± 47.98**	12.89 ± 0.35**	47.42 ± 2.22*
Nicotine/0.2 mg · kg ⁻¹	2.31 ± 0.07**	1633.52 ± 135.51##	10.75 ± 0.84	55.88 ± 1.54#
Nicotine/2 mg · kg ⁻¹	2.27 ± 0.08**	1569.65 ± 37.50##	9.70 ± 0.89##	57.17 ± 1.77#

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control; # P < 0.05, ## P < 0.01 vs Aβ₂₅₋₃₅ group

胞受损和死亡,引起 SP、NTF形成、血管病变,最终导致痴呆^[9,10]。

在此模型上,我们采用了亚急性(7 d)连续腹腔注射尼古丁的方式对小鼠模型进行治疗。已有的药代动力学研究表明,尼古丁可以自由通过血脑屏障(BBB),并且长期的尼古丁暴露可以改变 BBB的功能和某些形态结构^[11~13]。由于本研究中,尼古丁仅仅是 1 wk的给药时间,因此相比较长期饮水的给药方式可能对 BBB的功能和结构没有明显影响。本实验结果发现,经过 4 d训练,模型组小鼠的上台潜伏期和游泳距离明显高于对照组和 0.2、2 mg·kg⁻¹(ip, bid)尼古丁治疗组($P < 0.01$);而实验 d 5 撤除平台,模型动物在平台所在象限(第 1 象限)中游泳的时间百分比明显低于对照组($P < 0.01$),并与 0.2、2 mg·kg⁻¹尼古丁治疗组有明显差别($P < 0.05$)。这提示 A β 可以诱导小鼠出现行为学改变,表现为空间学习记忆功能障碍,与此前的文献报道相一致^[9,10]。同时,我们的研究结果也表明经过尼古丁腹腔注射治疗后,可以明显改善小鼠的学习记忆功能缺损。并且本实验是整体动物实验,因此,更进一步间接说明尼古丁可以穿过 BBB 进入脑组织达到有效浓度,具有良好的药动学特性。

现有的抗痴呆药物多为胆碱酯酶抑制剂(AChE),对于 AChE的作用以抑制为主,但尚不了解作为 nAChR 激动剂的尼古丁是否对 AChE 也有类似作用。本研究发现,尼古丁治疗组与模型组相比,都较对照组出现了 AChE 活性的明显升高($P < 0.01$),提示尼古丁对 AChE 可能并无抑制作用。同时,本研究发现,模型组与对照组相比,ChAT 的活性明显降低,而尼古丁治疗组的活性较模型组明显升高($P < 0.01$);由于 ChAT 是合成 ACh 的关键酶, AChE 是降解 ACh 的关键酶,因此,我们的研究结果提示尼古丁可能通过提高 ChAT 活性而非降低 AChE 活性促进了脑内 ACh 含量的提高。Fodero 等^[14]在原代培养皮层神经元的实验结果发现作为 7 型 nAChR 激动剂的尼古丁可以提高 AChE 的活性,而 Hernandez 等^[15]研究结果则发现尼古丁可以通过提高大鼠海马 ChAT、囊泡乙酰胆碱转运体(vesicular ACh transporter, VAChT)以及 TrkA 受体的表达对大鼠发挥促智作用。这些研究也间接支持了我们的研究发现。

有资料显示,AD 的发病机制与氧化应激密切相关^[16~18],而 MDA 和 GSH 是与机体氧化还原状态密切相关的物质,直接反映机体的氧化还原状态。MDA 是一种脂质过氧化产物,是评价衰老的重要指

标之一,又可反映组织氧化的程度;GSH 在体内广泛存在,特异性催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应,起到保护细胞膜结构和功能的作用^[19,20]。因此,我们对 MDA、GSH 的改变进行了检测。结果发现,模型组与对照组相比,MDA 的活性明显升高,GSH 的活性明显降低($P < 0.05$);而此前的研究发现,在 A β 可以诱导小鼠的学习记忆障碍模型,可以出现 MDA 的增高和 GSH 的降低,这与我们的实验结果相符合;同时,我们还发现,尼古丁治疗组(2 mg·kg⁻¹)MDA 活性较模型组明显降低($P < 0.01$),尼古丁治疗组(0.2 mg·kg⁻¹)的活性较模型组无改变($P > 0.05$);尼古丁治疗组的 GSH 活性较模型组明显升高($P < 0.01$)。以往的研究发现,尼古丁对于细胞具有双重作用,高浓度(剂量)时可以诱导氧化应激;而相对较低的浓度时则发挥保护作用^[21]。我们的结果表明,尼古丁可明显提高小鼠脑组织中 GSH 的含量,降低 MDA 的水平,在清除自由基、减轻自由基对机体的损害方面具有一定的作用,并且上述剂量可能还不足以引起机体的氧化应激反应,而主要以抗氧化应激为主。

因此,我们的研究表明尼古丁对 A β ₂₅₋₃₅ 诱导学习记忆功能小鼠具有治疗作用,该作用与其增强 ChAT 的活性以及抗氧化应激有关。

参考文献:

- [1] 任汝静,王刚,潘静,等. 尼古丁对 A β _(25~35) 细胞毒性的拮抗作用及与淀粉样前体蛋白代谢的关系[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2007, 7(3): 217-22
- [2] Ren R J, Wang G, Pan J, et al Antagonism effect of nicotine on A β ₂₅₋₃₅ cytotoxicity and its relation with the metabolism of γ -amyloid precursor protein[J]. *Chin J Contemp Neurol Neurosurg*, 2007, 7(3): 217-22
- [3] Oddo S, Caccamo A, Green KN, et al Chronic nicotine administration exacerbates tau pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 3046-51
- [4] Liu Q, Zhang J, Zhu H, et al Dissecting the signaling pathway of nicotine-mediated neuroprotection in a mouse Alzheimer's disease model[J]. *FASEB J*, 2007, 21(1): 61-73
- [5] 赵永波,刘文文,郭春妮. A β 对大鼠记忆和空间定向能力的影响及尼古丁的干预作用[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2006, 26(7): 719-24
- [6] Zhao Y B, Liu W W, Guo C N. Establishment of rat models with Alzheimer's disease induced by γ -amyloid protein and effects of nicotine on the animal models[J]. *J Shanghai Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2006, 26(7): 719-24
- [7] Lamberty Y, Gower A J, Gobert J, et al Behavioural, biochemical and histological effects of AF64A following injection into the third ventricle of the mouse[J]. *Behav Brain Res*, 1992, 51(2): 165-77
- [8] 金英,闫恩志,范莹,等. 阿魏酸钠对抗 A β ₂₅₋₃₅ 致大鼠学习记忆障碍与 L-1 和 p38MAPK 表达的相关性探讨[J]. 中国

- 药理学通报, 2006, 22 (5): 602 - 6.
- [6] Jin Y, Yan E Z, Fan Y, et al Effects of sodium ferulate on A₂₅₋₃₅-induced cognitive deficits and expression of L-1 and p38MAPK in rats[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 22 (5): 602 - 6.
- [7] Newman M, Musgrave F I, Lardelli M. Alzheimer disease: amyloidogenesis, the presenilins and animal models[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772 (3): 285 - 97.
- [8] Van Dam D, De Deyn P P. Drug discovery in dementia: the role of rodent models[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5 (11): 956 - 70.
- [9] Maurice T, Lockhart B P, Privat A. Amnesia induced in mice by centrally administered beta-amyloid peptides involves cholinergic dysfunction[J]. *Brain Res*, 1996, 706 (2): 181 - 93.
- [10] 王晓英, 陈霁, 张均田, 等. 人参皂苷 Rg1对淀粉样肽(25-35)侧脑室注射所致小鼠学习记忆障碍的改善作用及其机制[J]. *药学报*, 2001, 36 (1): 1 - 4.
- [10] Wang X Y, Chen J, Zhang J T, et al Effect of Ginsenoside Rg1 on learning and memory impairment induced by amyloid peptide (25-35) and its mechanism of action[J]. *Acta Pharm Sin*, 2001, 36 (1): 1 - 4.
- [11] Riahi O, Courriere P, Dousset J C, et al Nicotine is more efficient than cotinine at passing the blood-brain barrier in rats[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 1998, 18 (3): 311 - 8.
- [12] Lockman P R, McAfee G, Geldenhuys W J, et al Brain uptake kinetics of nicotine and cotinine after chronic nicotine exposure[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314 (2): 636 - 42.
- [13] Hawkins B T, Abruscato T J, Egleton R D, et al Nicotine increases *in vivo* blood-brain barrier permeability and alters cerebral microvascular tight junction protein distribution[J]. *Brain Res*, 2004, 1027 (1-2): 48 - 58.
- [14] Fodeiro L R, Mok S S, Losic D, et al Alpha7-nicotinic acetylcholine receptors mediate an A beta (1-42)-induced increase in the level of acetylcholinesterase in primary cortical neurons[J]. *J Neurochem*, 2004, 88 (5): 1186 - 93.
- [15] Hernandez 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.
- [16] 南娟, 刘慧慧, 杜艳霞, 等. 出生前后铅暴露对大鼠学习记忆及海马 NO、nNOS的影响[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23 (9): 1152 - 5.
- [16] Nan J, Liu H H, Du Y X, et al Effects of chronic aluminum exposure from prenatal to postnatal on learning and memory, NO, nNOS in hippocampus of young rats[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, 23 (9): 1152 - 5.
- [17] 刘慧慧, 孙洁, 邢伟, 等. 母体慢性铅暴露对子代鼠海马细胞内 Ca²⁺浓度及记忆行为的影响[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23 (7): 912 - 6.
- [17] Liu H H, Sun J, Xing W, et al Effects of maternal chronic aluminum exposure on memorial behaviour and hippocampal intracellular Ca²⁺ concentration on their offspring[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, 23 (7): 912 - 6.
- [18] 喻欣, 郭莲军, 艾永循, 等. 氯化铯对小鼠空间学习记忆的影响[J]. *中国药理学通报*, 2007, 23 (4): 488 - 92.
- [18] Yu X, Guo L J, Ai Y X, et al Effect of cesium chloride on spatial learning and memory and mechanisms of action in mice[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, 23 (4): 488 - 92.
- [19] Lustbader J W, Cirilli M, Lin C, et al ABAD directly links A beta to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease[J]. *Science*, 2004, 304 (5669): 448 - 52.
- [20] Fu A L, Dong Z H, Sun M J. Protective effect of N-acetyl-L-cysteine on amyloid beta-peptide-induced learning and memory deficits in mice[J]. *Brain Res*, 2006, 1109 (1): 201 - 6.
- [21] Guan Z Z, Yu W F, Nordberg A. Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells[J]. *Neurochem Int*, 2003, 43 (3): 243 - 9.

The therapeutic effects of nicotine in A₂₅₋₃₅-induced Alzheimer's disease models

REN Ru-jing¹, WANG Gang¹, PAN Jing¹, ZHU Liang², ZHANG Shi¹,
SUN Xiao-kang¹, CHEN Hong-zhuan², CHEN Sheng-di¹

(1. Dept of Neurology & Institute of Neuroscience, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine; 2 Dept of Pharmacology, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: **Aim** To investigate the effects of nAChR agonist nicotine in a mice model of Alzheimer's disease (AD) rendered by A₂₅₋₃₅. **Methods** Mice were administered nicotine (0.2, 2 mg · kg⁻¹ ip, bid) for 7 d and control mice received daily ip injections of saline after the intracerebroventricular injection of aggregated A₂₅₋₃₅. After the last treatment, passive avoidance and performance in the Morris water maze (MWM) were assessed. The activities of cortical and hippocampal ChAT, AChE, MDA and GSH were detected after the final behavioral test. **Results** Nicotine (0.2, 2 mg · kg⁻¹ ip, bid) significantly ameliorated the learning and memory impairment induced by A₂₅₋₃₅. Nicotine (0.2, 2 mg · kg⁻¹) decreased the latencies and swim distances of mice to reach a hidden platform and

improved the corresponding changes in search strategies occurred in the Morris water maze. Biochemical analysis showed that Nicotine (0.2, 2 mg · kg⁻¹) prevented the decline of cortical and hippocampal ChAT and GSH activities induced by A₂₅₋₃₅, and showed inhibition of the activity of MDA, although A₂₅₋₃₅ showed no effect on the cortical and hippocampal AChE activity compared with the A₂₅₋₃₅-induced mice groups. **Conclusion** Nicotine can reverse A₂₅₋₃₅-induced memory retrieval deficits in mice, and this effect was mediated by enhanced activity of ChAT and the inhibition of oxidative stress.

Key words: nicotine; amyloid peptide (25-35); memory