

Apelin-13 对局灶性脑缺血-再灌注损伤大鼠行为和认知功能的影响^{*}

白 波[△] 程葆华 王春梅 潘衍有 陈 京
(济宁医学院神经生物学研究所, 济宁 272067)

摘 要 **目的** 观察侧脑室注射 Apelin-13 对脑缺血-再灌注大鼠模型 (ischemia/reperfusion, I/R) 行为学和认知功能的影响。**方法** 利用改进的 Longa 法制作大鼠大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型。将 SD 大鼠随机分为假手术组、MCAO 模型组、Apelin-13 干预组, 每组 6 只, 疲劳转棒检测大鼠行为学变化, Morris 水迷宫检测大鼠认知功能变化, 免疫印迹检测脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 和 Ras 基因家族成员 A (ras homolog gene family member A, RhoA) 改变情况, ELISA 检测乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 水平。**结果** 与假手术组相比较, MCAO 模型大鼠转棒时间明显下降, 认知功能受损, 逃避潜伏期增加, 穿台次数减少, BDNF 表达下降, 而 RhoA 表达和 AChE 活性升高, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 与 MCAO 模型大鼠相比较, Apelin-13 干预组运动功能改善, 转棒时间明显延长, 认知功能提升, 逃避潜伏期降低, 穿台次数增加, 并抑制了 BDNF 表达的降低和 RhoA 表达的升高, 减轻了 AChE 活性升高, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。**结论** 侧脑室注射 Apelin-13 可改善局灶性脑缺血-再灌注损伤大鼠行为和学习记忆功能, 其机制可能是通过上调海马 BDNF 表达、抑制 RhoA 表达和 AChE 活性来实现。

关键词 缺血性脑卒中; Apelin-13; 脑缺血-再灌注损伤; 行为学; 认知功能

中图分类号: R743.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2017)10-307-06

The effects of Apelin-13 on the behavioral and cognitive function in the rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion

BAI Bo, CHENG Baohua, WANG Chunmei, PAN Yanyou, CHEN Jing
(Institute of Neurobiology, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of intracerebroventricular injection of Apelin-13 on the behavioral and cognitive function in the rat model of focal cerebral ischemia/reperfusion (I/R) induced by the middle cerebral artery occlusion (MCAO). **Methods** SD rats were divided into sham operation group, MCAO group and Apelin-13 intervention group. The behavioral function was measured by rota-rod. The cognitive function was measured by Morris water maze test. The expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and ras homolog gene family member A (RhoA) in the hippocampus was detected by Western blotting. The activity of acetylcholinesterase (AChE) in the hippocampus was measured by ELISA. **Results** Compared with sham operation group, the time on the rota-rod was decreased significantly in MCAO group. And the cognitive function was impaired which was described by the increased escape latency and decreased the number to cross the original platform in the Morris water maze test. Subsequently, in the hippocampus the expression of BDNF was down-regulated, but the expression of RhoA was up-regulated significantly. The activity of acetylcholinesterase (AChE) in the hippocampus was increased markedly. Compared with MCAO group, Apelin-13 improved the behavioral function against the dysfunction of behavior induced by I/R damage through increasing the time on rota-rod. The impairment of cognitive function induced by I/R damage was reversed be-

* [基金项目] 山东省科技发展计划 (2012GGA08100); 山东省自然科学基金 (ZR2015CL021)

△ [通信作者] 白波, E-mail: bbai@mail.jnmc.edu.cn

cause of the intracerebroventricular injection of Apelin-13. The escape latency was shortened and the number to cross the original platform was increased compared with MCAO group. In addition, the up-regulation of BDNF and down-regulation of RhoA were inhibited due to Apelin-13 injection. The activity of AChE in the hippocampus was also decreased induced by Apelin-13 injection compared with MCAO group. **Conclusion** The intracerebroventricular injection of Apelin-13 improved the behavioral and cognitive function through regulating BDNF and Rho A expression in the hippocampus.

Keywords: Ischemic stroke; Apelin-13; Cerebral ischemia-reperfusion; Behavioral function; Cognitive function

脑卒中是现代社会严重危害人类健康的脑血管疾病,具有致死率高、致残率高的特点。脑卒中包括缺血性脑卒中和出血性脑卒中,其中缺血性脑卒中约占所有脑卒中的 80%,大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)为缺血性脑卒中的主要原因^[1]。缺血性脑卒中引起一系列行为学和认知功能障碍,而海马神经元在行为和认知功能中具有关键作用。脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和 Ras 基因家族成员 A(ras homolog gene family member A, RhoA)是海马中的重要蛋白因子,与行为和认知功能密切相关^[2-3]。另外,神经递质乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)在海马组织中也参与了认知功能的调节,由胆碱乙酰化酶合成,乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)降解。脑缺血时, AChE 释放增加,致使 ACh 降低,从而引起行为和认知功能障碍^[4]。

我们以前研究发现,侧脑室注射 Apelin-13 对 Longa 法制作的 MCAO 缺血性脑卒中大鼠模型具有神经保护作用,改善了神经功能评分,降低了脑梗死体积,降低了皮质和海马神经元凋亡,减轻了神经炎症^[5-7]。本研究在此基础上,研究侧脑室注射 Apelin-13 对大鼠局灶性脑缺血-再灌注模型行为学和认知功能的影响,并检测海马 BDNF 和 RhoA 表达影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SPF 级健康雄性 SD 大鼠(280 ~ 320g),由山东鲁抗医药股份有限公司提供(合格证号:SCXK 鲁 20130001)。所有的动物实验都遵照国家实验动物饲养和使用指南,动物饲养在温度控制的环境(22 ± 1)℃下,相对湿度为(55 ± 5)%, 12h 明暗循环,自由饮食和饮水。实验动物在济宁医学院神经生物研究所进行预养,适应性饲养 1 周后开始实

验,将大鼠分为 3 组:对照组、MCAO 模型组和 Apelin-13 干预组,每组 6 只。

1.2 方法

1.2.1 局灶性脑缺血 MCAO 模型的制备和药物处理 模型组和 Apelin-13 干预组参照改进的 Longa 法制作的 MCAO 脑缺血-再灌注模型。大鼠造模前禁食 12h,禁水 2h,用 10% 水合氯醛(0.3ml/100g)经腹腔注射麻醉后,颈部正中切开皮肤,钝性分离暴露右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA),结扎右侧 ECA 及 CCA 近心端,微动脉夹夹闭右侧 ICA, CCA 分叉处预留结扎线。然后,在右侧 CCA 剪一小口,将线栓自右侧 CCA 切口处缓慢插入[深度约为(18 ± 0.5)mm]。缺血 1h 后,缓慢地轻拉线栓,使其头端回撤至 CCA 内即可。操作完成后,手术缝合伤口,结束手术,建成缺血模型(图 1)。然后, Apelin-13 干预组于右侧侧脑室埋置注射用套管,用于微量注射 Apelin-13, 3μg/d,共 30d。假手术组仅分离颈总动脉,不给予任何干预。

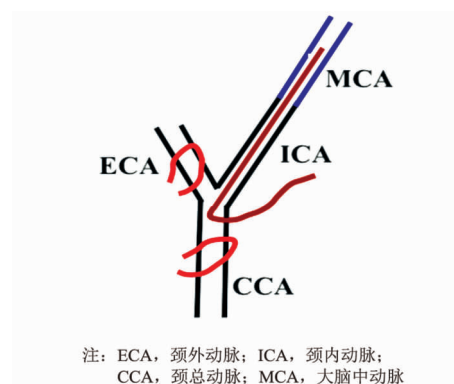


图 1 MCAO 模型制作

1.2.2 疲劳转棒仪检测 疲劳转棒仪是用于检测大鼠运动协调能力的方法。SD 大鼠在 MCAO 手术前连续训练 1 周,记录大鼠在转棒上的停留时间,每次最长的记录时间为 3min。每只大鼠的测

试中,圆棒的转动速度为 10rpm,匀速。每天每只大鼠测试 3 次,每两次测试之间的间隔为 15min。然后于侧脑室注射 Apelin-13 第 27 天再进行训练 3d,第 30 天进行检测大鼠在转棒上的停留时间,每只大鼠检测 3 次,取平均值。见图 2。

1.2.3 Morris 水迷宫检测 大鼠的学习记忆功能采用水迷宫进行定位航行试验和空间探索试验,水深 45cm,水面高出平台 2cm。首先进行定位航行试验,将各组大鼠于 24d 开始进行水迷宫训练,将大鼠分别从水池 4 个象限将固定位置放入水中,共 4 次,2 次训练间隔时间为 30min,记录大鼠从放入水中到找到目标平台所需要的时间,称为逃避潜伏期。如果大鼠在 90s 内寻找到目标平台并在平台上停留 30s 将其捞起,记录时间。如果大鼠在 90s 内不能寻找到到平台,则引导大鼠游上平台,让大鼠在平台上停留 30s 后将其捞起,此时的逃避潜伏期记录为 90s。按上述方法连续训练 5d 后,以第 6 天记录的每只大鼠 4 次躲避潜伏期的平均值作为该只大鼠定位航行试验的实验结果。定位航行试验结束以后,间隔 24h,第 7 天撤掉平台,记录大鼠在 120s 穿越平台次数作为空间探索试验的实验结果。见图 2。

1.2.4 免疫印迹分析 各组大鼠 30d 后腹腔注射 10% 水合氯醛,断头取脑,冰上分离右侧海马组织,加入 1ml RIPA 裂解液和 10 μ l PMSF 进行裂解,超声粉碎组织,4 $^{\circ}$ C,12000g 离心 30min,取上清液加入 4 $\times$ 蛋白上样缓冲液,100 $^{\circ}$ C 变性 10min。然后,将样品进行 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE),每孔加入 30 μ g 总蛋白。电泳结束后,将蛋白转移到 PVDF 膜上,转膜时间为 90min。转膜后,5% 脱脂奶粉封闭 1h 后,分别加入 BDNF (1:1000)、Rho A (1:1000) 和 β -actin 一抗抗体,4 $^{\circ}$ C 过夜。第 2 天取出后室温放置 1h,TBST 洗膜 3 次,每次 10min,加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:2000) 室温孵育 1h,TBST 洗膜 3 次,每次 10min,加入 ECL 暗室曝光,利用 Image J 软件扫描条带灰度值,以 β -actin 为内参,计算 BDNF 和 Rho A 的表达变化。见图 2。

1.2.5 ELISA 检测 AChE 活性 大鼠侧脑室注射 Apelin-13 30d 经麻醉处理后,分离海马组织称重后,加入冷生理盐水,按照重量体积比制备成 10% 的组织匀浆,4 $^{\circ}$ C 条件下 3000r/min 离心 10min,取上清液 BCA 法测定蛋白浓度,根据试剂盒说明书

(南京建成 AChE 活性检测试剂盒)测定 AChE 活性,结果以 U/mg 表示。见图 2。

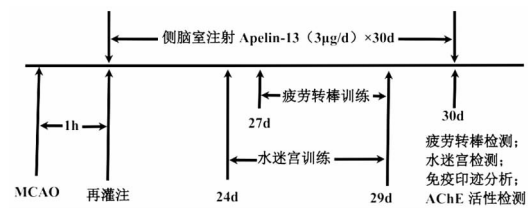


图 2 技术路线

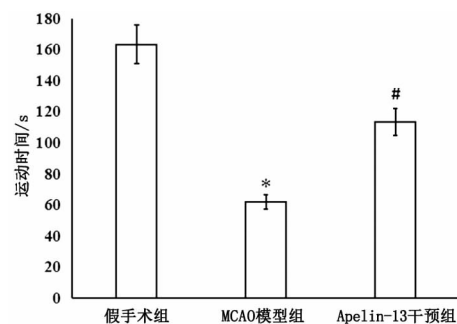
1.3 统计学方法

数据用 SPSS20 统计软件进行分析。计量单位以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK-q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Apelin-13 对 MCAO 模型大鼠行为学功能的影响

手术 1 月后,与假手术组大鼠停留时间 [(163.44 ± 12.30) s] 相比较,MCAO 模型组大鼠停留时间 [(62.04 ± 4.52) s] 明显缩短,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),表明 MCAO 模型大鼠运动协调功能明显下降;与 MCAO 模型组大鼠相比较,Apelin-13 干预组大鼠停留时间 [(113.46 ± 8.47) s] 明显延长,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),表明侧脑室注射 Apelin-13 改善了 MCAO 模型大鼠的运动协调功能。见图 3。



注:3 组间比较, $F = 132.4, P < 0.05$;

与假手术组相比较, $* P < 0.05, n = 6$;

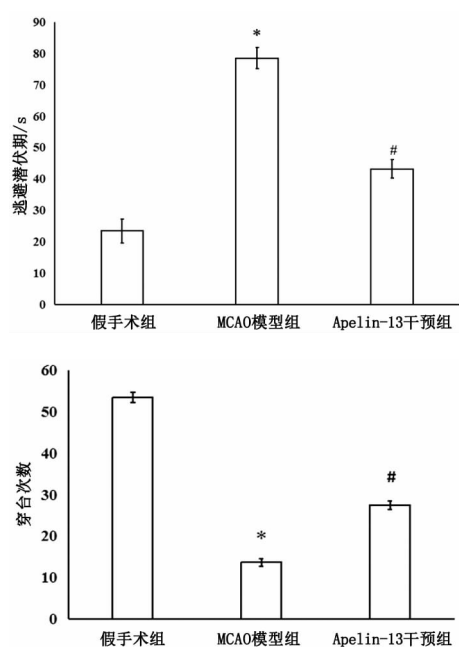
与 MCAO 模型大鼠相比较, $\# P < 0.05, n = 6$

图 3 Apelin-13 对 MCAO 大鼠模型运动功能的影响

2.2 Apelin-13 对 MCAO 模型大鼠学习记忆功能的影响

手术 30d 后,与假手术组大鼠逃避潜伏期

[(23.48 ± 3.80) s] 和穿台次数 [(13.47 ± 1.28) 次] 相比较, MCAO 模型组大鼠逃避潜伏期 [(75.58 ± 3.36) s] 明显延长, 穿台次数 [(3.72 ± 0.94) 次] 明显减少, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明 MCAO 模型组大鼠学习记忆功能明显下降; 与 MCAO 模型组大鼠相比较, Apelin-13 干预组大鼠逃避潜伏期 [(43.18 ± 2.95) s] 明显缩短, 穿台次数 [(7.50 ± 1.04) 次] 明显增加, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明侧脑室注射 Apelin-13 改善了 MCAO 模型大鼠的学习记忆功能。见图 4。



注: 3 组间比较, $F = 59.19$, $P < 0.05$ (逃避潜伏期);

3 组间比较, $F = 49.74$, $P < 0.05$ (穿台次数);

与假手术组相比较, $*P < 0.05$, $n = 6$;

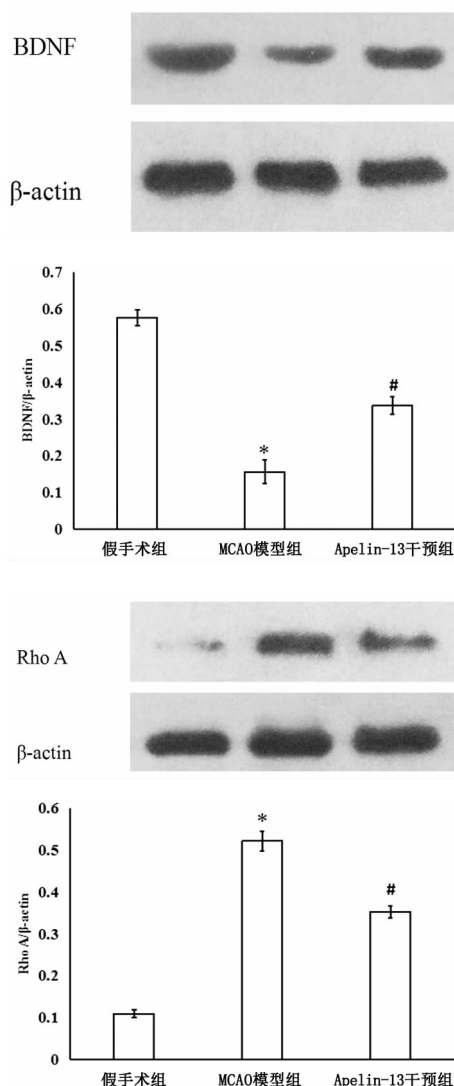
与 MCAO 模型大鼠相比较, $\#P < 0.05$, $n = 6$

图 4 Apelin-13 对 MCAO 大鼠模型学习记忆功能的影响

2.3 Apelin-13 对 MCAO 模型大鼠海马组织 BDNF 和 Rho A 表达的影响

手术 30d 后, MCAO 模型组大鼠海马组织 BDNF 表达明显低于假手术组大鼠, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 Apelin-13 干预组大鼠海马组织 BDNF 表达高于 MCAO 模型组大鼠, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 Rho A 与之相反, MCAO 模型组大鼠海马组织 Rho A 表达高于假手术组大鼠, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 Apelin-13 干预组大鼠海马组织 Rho A 表达低于 MCAO 模型

组大鼠, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 5。



注: 3 组间比较, $F = 93.23$, $P < 0.05$ (BDNF);

3 组间比较, $F = 69.54$, $P < 0.05$ (RhoA);

与假手术组相比较, $*P < 0.05$, $n = 6$;

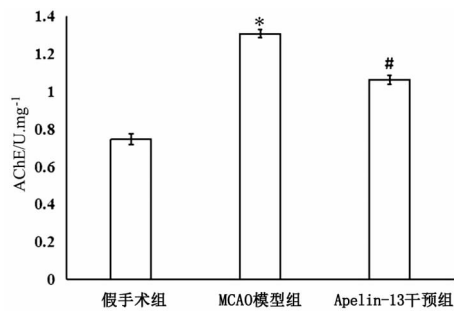
与 MCAO 模型大鼠相比较, $\#P < 0.05$, $n = 6$

图 5 Apelin-13 对 MCAO 大鼠模型 BDNF 和 RhoA 表达的影响

2.4 Apelin-13 对 MCAO 模型大鼠海马 AChE 活性的影响

手术 30d 后, MCAO 模型组大鼠海马组织 AChE 活性 [(0.746 ± 0.028) U/mg] 明显高于假手术组大鼠 [(1.307 ± 0.021) U/mg], 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 Apelin-13 干预组大鼠海马组织 AChE 活性 [(1.062 ± 0.024) U/mg] 明显低于 MCAO 模型组大鼠, 差异具有统计学意义 (P

(<0.05)。见图 6。



注:3 组间比较, $F=119.57, P<0.05$ (AChE);

与假手术组相比较, $*P<0.05, n=6$;

与 MCAO 模型大鼠相比较, $\#P<0.05, n=6$

图 6 Apelin-13 对 MCAO 大鼠模型 AChE 活性的影响

3 讨论

缺血性脑中风患者常伴有行为和认知功能障碍,严重降低了生活质量,而海马结构在其中具有重要作用。因此,提高缺血性脑中风的行为和认知功能对改善患者的生活质量意义重大。MCAO 导致的缺血性脑卒中引起了行为学和认知功能障碍,降低了患者的生活质量。MCAO 大鼠脑缺血-再灌注模型也证实,大鼠运动和认知功能均受损。Apelin-13 具有神经保护作用,抑制了急性损伤引起的神经元凋亡。本实验利用改进的 Longa 方法制作的 MCAO 缺血-再灌注模型引起了行为学和认知功能障碍,侧脑室注射 Apelin-13 改善了大鼠的运动功能,提高了认知能力。

海马是大脑边缘系统的重要结构,在认知功能中起关键作用。MCAO 引起了海马神经元的损伤,导致学习和记忆功能下降。神经营养因子 BDNF 在脑组织中含丰富,主要分布于海马和皮质。BDNF 与其受体酪氨酸激酶受体 B (tyrosine kinase B, Trk B) 结合后,激活下游丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶、磷脂酶和磷脂酰肌醇 3 激酶等信号通路,从而提高海马突触可塑性,促进神经元存活和损伤神经元修复,增强学习记忆等认知功能^[8]。BDNF 合成缺陷和功能异常是认知功能下降的主要原因之一,基因敲除 BDNF 降低了大鼠的学习记忆能力^[9],而外源性 BDNF 抑制了缺血引起的神经元损伤,提高了认知功能^[10]。本实验表明侧脑室注射 Apelin-13 升高了 MCAO 大鼠缺血-再

灌注模型海马组织 BDNF 表达,降低了逃避潜伏期,穿台次数增加,表明学习记忆功能增强。因此,BDNF 可能参与了缺血性脑卒中 Apelin-13 对认知功能的改善。

RhoA 蛋白是 Rho 蛋白家族的成员,具有 GTP 酶活性,可与 GTP 结合,能够激活下游靶蛋白 Rho 激酶 (Rho-kinase, ROCK)。ROCK 是丝氨酸/苏氨酸激酶成员之一,通过磷酸化肌球蛋白轻链,使突触前和突触后的细胞骨架蛋白即肌动蛋白解聚,抑制了中枢神经系统损伤后轴突出芽和生长,缩短了树突长度,在突触重塑中起关键作用^[11-12],而海马突触结构重塑与学习记忆密切相关^[13]。研究表明,大鼠脑缺血-再灌注后,缺血海马组织 RhoA 表达升高,而抑制 RhoA 表达可明显改善缺血大鼠认知功能,增强了学习记忆功能^[3,14]。因此,RhoA 在脑缺血后认知功能的恢复中起重要作用。侧脑室注射 Apelin-13 抑制了 MCAO 大鼠缺血-再灌注模型海马组织导致的 RhoA 升高,从而促进海马神经元突触重塑,这可能与 Apelin-13 对缺血性脑卒中大鼠模型认知功能改善有关。

海马组织内 ACh 是促进学习记忆的神经递质,由胆碱能神经元合成储存在囊泡中,对大脑认知功能具有重要作用。ACh 由囊泡释放后立刻被 AChE 水解成胆碱失活,影响突触传递和学习记忆活动,在大鼠脑缺血海马组织中,ACh 水平下降,导致认知功能障碍^[15]。AChE 是乙酰胆碱分解的关键酶,主要分布在海马、额叶和顶叶,抑制 AChE 活性能够升高 ACh 水平可以改善认知功能^[16]。临床上,AChE 抑制剂在临床上提高认知功能效果最好的药物,降低突触间隙 AChE 活性,增加 ACh 在突触间隙的浓度,从而发挥治疗作用^[17]。本实验结果表明,MCAO 模型大鼠海马组织中 AChE 活性升高,侧脑室注射 Apelin-13 降低 MCAO 模型大鼠 AChE 活性,从而增加 ACh 的浓度,改善了大鼠在 Morris 水迷宫中的认知功能。因此,AChE 活性参与了 Apelin-13 对缺血性脑卒中认知功能的调节。

本实验研究结果显示:Apelin-13 上调了脑缺血-再灌注损伤海马组织 BDNF 的表达,而抑制了 RhoA 和 AChE 活性的上调,从而改善了行为学和认知功能,为缺血性脑卒中的治疗提供了新的思路。

参考文献:

- [1] Zhang B, Li F, Zhao W, et al. Protective effects of allicin against ischemic stroke in a rat model of middle cerebral artery occlusion[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 3734-3738. DOI:10.3892/mmr.2015.3883.
- [2] Taliyan R, Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3 β [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2016, 36(4): 402-410. DOI:10.3109/10799893.2015.1108338.
- [3] 张燕虹, 李长清, 牛陵川. 精氨酸酶 I 参与环腺苷酸促进脑缺血再灌注大鼠的轴突再生[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 30(4): 369-376.
- [4] Kaur J, Sharma S, Sandhu M, et al. Neurokinin-1 receptor inhibition reverses ischaemic brain injury and dementia in bilateral common carotid artery occluded rats: possible mechanisms[J]. *Inflammopharmacology*, 2016, 24(4): 133-143. DOI:10.1007/s10787-016-0271-6.
- [5] Yan XG, Cheng BH, Wang X, et al. Lateral intracerebroventricular injection of Apelin-13 inhibits apoptosis after cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(5): 766-771. DOI: 10.4103/1673-5374.157243.
- [6] Xin Q, Cheng B, Pan Y, et al. Neuroprotective effects of apelin-13 on experimental ischemic stroke through suppression of inflammation[J]. *Peptides*, 2015, 63: 55-62. DOI:10.1016/j.peptides.2014.09.016.
- [7] 闫晓鸽, 丁良才, 王春梅, 等. Apelin-13 对脑缺血再灌注大鼠行为学及脑内 YAP 蛋白表达的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2015, 24(10): 882-884. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2015.10.005.
- [8] Lu B, Nagappan G, Lu Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 220: 223-250. DOI: 10.1007/978-3-642-45106-5_9.
- [9] Lu B, Nagappan G, Lu Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 220: 223-250. DOI: 10.1007/978-3-642-45106-5_9.
- [10] Harris NM, Ritzel R, Mancini NS, et al. Nano-particle delivery of brain derived neurotrophic factor after focal cerebral ischemia reduces tissue injury and enhances behavioral recovery [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2016, 150-151: 48-56. DOI:10.1016/j.pbb.2016.09.003.
- [11] Labandeira-Garcia JL, Rodríguez-Perez AI, Villar-Cheda B, et al. Rho Kinase and dopaminergic degeneration: a promising therapeutic target for Parkinson's disease[J]. *Neuroscientist*, 2015, 21(6): 616-629. DOI: 10.1177/1073858414554954.
- [12] Ding Y, Lu L, Xuan C, et al. Di-n-butyl phthalate exposure negatively influences structural and functional neuroplasticity via Rho-GTPase signaling pathways [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 105: 34-43. DOI:10.1016/j.fct.2017.03.057.
- [13] Constans A, Pin-Barre C, Temprado JJ, et al. Influence of aerobic training and combinations of interventions on cognition and neuroplasticity after stroke[J]. *Front Aging Neurosci*, 2016, 8: 164. DOI:10.3389/fnagi.2016.00164.
- [14] Posada-Duque RA, Barreto GE, Cardona-Gomez GP. Protection after stroke: cellular effectors of neurovascular unit integrity[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 231. DOI: 10.3389/fncel.2014.00231.
- [15] Zhang H, Lai Q, Li Y, et al. Learning and memory improvement and neuroprotection of Gardenia jasminoides (Fructus gardenia) extract on ischemic brain injury rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 196: 225-235. DOI: 10.1016/j.jep.2016.11.042.
- [16] Liu JM, Wu PF, Rao J, et al. ST09, a novel thioester derivative of tacrine, alleviates cognitive deficits and enhances glucose metabolism in vascular dementia rats [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22(3): 220-229. DOI: 10.1111/cns.12495.
- [17] Li Y, Hai S, Zhou Y, et al. Cholinesterase inhibitors for rarer dementias associated with neurological conditions [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015(3): CD009444. DOI:10.1002/14651858.CD009444.pub3.

(收稿日期 2017-08-30)

(本文编辑:石俊强)