文章编号:1000-5404(2005)01-0053-03

论著

必需脂肪酸对大鼠脑组织中 EAA 含量的影响

张 侃[1],曾 琳[2],龙在云[2],刘 媛[2],李应玉[2],杨恒文[2],伍亚民[2],陶翠兰[2] ([1]重庆医科大学附属儿童医院儿保教研室,重庆 400014;[2]第三军医大学大坪医院野战外科研究所第三研究室,重庆 400042)

提 要:目的 探讨在大鼠脑发育期补充必需脂肪酸兴奋性氨基酸(EFA)对脑组织中 EAA 含量的影响。**方法** 断乳大鼠(1 个月)30 只,雌雄不拘,分为正常组、EFA 缺乏组和补充鱼油组,分别以不同饲料喂养 3 个月,取出新鲜的大脑皮层和海马组织,测定天门冬氨酸、谷氨酸的含量;尼氏染色和嗜银染色观察大脑皮质和海马细胞形态结构的变化。**结果** 与正常组相比,EFA 缺乏组的 EAA 含量均显著升高($P<0.05$),补充鱼油组无明显差异;与补充组相比,EFA 缺乏组大脑皮质大锥体细胞数目明显减少、排列不规则、稀疏、轴突纤维短,海马细胞层数较少、体积也较小。**结论** 发育期 EFA 缺乏会导致脑组织中 EAA 含量明显升高,神经形态异常。

关键词: 必需脂肪酸;兴奋性氨基酸;脑组织

中图法分类号: R322.81; R339.3; R977.6 **文献标识码:** A

Effects of essential fatty acids on excitatory amino acid in rat brain

ZHANG Kan[1], ZENG Lin[2], LONG Zai-yun[2], LIU Yuan[2], LI Ying-yu[2], YANG Heng-wen[2], WU Ya-min[2], TAO Cui-lan[2]
([1]Children's Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014; [2]Department 3, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of essential fatty acids (EFA) on the excitatory amino acid in tissues of rat brains. **Methods** Ninety neonatal rats, one-month old, were randomly divided into normal, EFA deficiency and fish oil supplementation groups and were fed with different forages for three months, respectively. The contents of aspartic acid and glutamic acid in the cortex and hippocampus were determined. The changes of morphology and structure of the cortex and hippocampus were observed by Nissl and silver staining. **Results** Compared with those in the normal group, the EAA contents in EFA deficiency group were significantly increased ($P<0.05$), but in fish oil supplementation group, no significant changes were observed. The number of large pyramidal cells in the cortex was much less than that in the fish oil supplementation group. At the same time, the length of axons was shorter in deficiency group. In the hippocampus, the layer and the size of cells were less than those in the fish oil supplementation groups. **Conclusion** Deficiency of EFA at the developmental period can increase the EAA contents in brain and cause abnormality of neural morphology.

Key words: essential fatty acid; excitatory amino acid; brain

兴奋性氨基酸(excitatory amino acid, EAA)主要包括谷氨酸(Glu)及天门冬氨酸(Asp),是中枢神经系统内重要的兴奋性神经递质[1]。EAA 既参加神经系统的发育、学习记忆等重要生理过程,也参加兴奋性神经毒、神经元变性疾病等生理过程[2]。研究表明,在脑发育期间缺乏必需脂肪酸(essential fatty acid, EFA)会导致大鼠分辨学习能力降低[3],因此,探讨在大鼠脑发育期补充必需脂肪酸对脑组织中兴奋性氨基酸含量的影响,有助于分析 EFA 缺乏引起脑功能障碍的机制。

作者简介:张 侃(1958-),女,重庆市人,硕士,副教授,主要从事儿童保健与营养学方面的研究。电话:(023)68757433

收稿日期:2004-07-11;修回日期:2004-12-01

1 材料与方法

1.1 饲料配制

普通饲料:大鼠商品颗粒饲料;EFA 缺乏颗粒饲料:无脂肪配料,增加蛋白质、糖,能量与普通饲料相似;EFA 缺乏补充脂肪酸饲料:EFA 缺乏饲料基础上,减少糖和蛋白质含量,加用鱼油(占总体积 5%),能量与普通饲料相似。

①普通饲料配方为:玉米 34%,鱼粉 16%,麸皮 13%,面粉 16%,豆饼 14.5%,鸡蛋 2%,骨粉 3%,奶粉 1%,盐 0.5%,饲料中含粗蛋白 23.455%,粗脂肪 5.071%,消化能 3 335 kCal/kg;②EFA 缺乏饲料的配方为:玉米 18%,鱼粉 4%,麸皮 12%,面粉 33%,豆粕 26%,骨粉 1%,脱脂奶粉 5.5%,盐 0.5%,饲料中含粗蛋白 22.967%,粗脂肪 2.798%,消化能 3 115 kCal/kg;③EFA 缺乏补充脂肪酸饲料的配方为:在②配方的基础上加入鱼油,鱼油按总重

量的5%加入,能量与普通饲料相似。(注明:鱼粉购于山东荣城鱼粉厂、豆粕购于天津豆粕厂、其它原料均购于本地)。

1.2 动物分组和喂养

Wistar断乳新生鼠(由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),共30只,雌雄不拘,随机分为3组喂养,每组10只,Ⅰ组:饲以普通饲料配方;Ⅱ组:饲以EFA缺乏饲料配方;Ⅲ组:饲以EFA缺乏补充脂肪酸饲料配方。每天定时定量喂养,时间为3个月。大鼠的喂养与管理严格按照中国动物饲养与管理办法和重庆市动物保护协会规则的要求进行。

1.3 EAA的提取

将喂养3个月的大鼠断头,迅速取出大脑运动和感觉皮层、全部海马组织,各称取50 mg,置于冰镇玻璃管中,加入10%磺基水杨酸(1 ml),冰浴下用玻璃匀浆并离心(4 ℃,1 500 r/min,20 min),取上清液,-40 ℃冰箱冻存。用6300系统高效氨基酸分析仪(Beckman公司)测定Asp和Glu含量。

1.4 病理观察

尼氏染色和嗜银染色,光镜下观察其海马、皮层的结构变化($n=5$)。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用双因素方差分析,组间比较采用 t 检验。

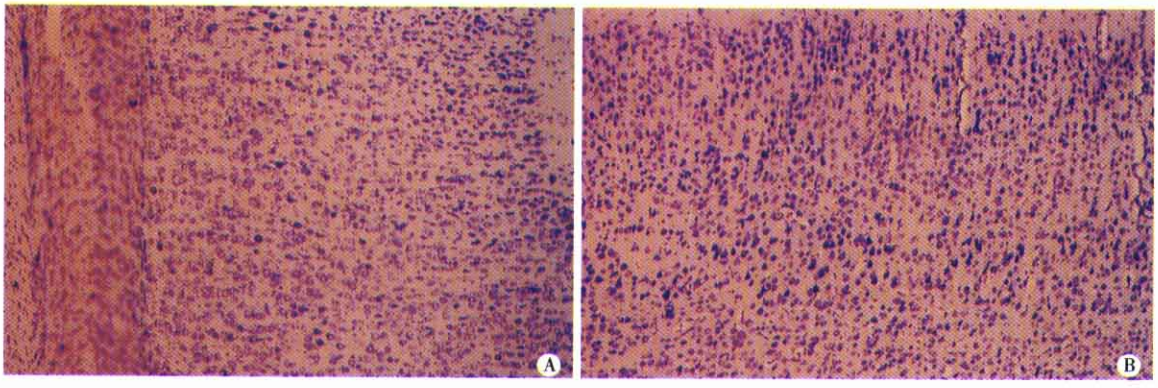
2 结果

2.1 EAA含量变化

海马组织中,与正常组比较,鱼油补充组的EAA含量均无明显差异,EFA缺乏组的Glu含量非常显著升高($P<0.01$),Asp含量无明显差异;与缺乏组比较,补充鱼油组的EAA含量均显著降低($P<0.05$);皮层组织中,与正常组比较,鱼油补充组的EAA含量均无明显差异,EFA缺乏组的Asp含量显著升高($P<0.05$),Glu含量非常显著升高($P<0.01$);与缺乏组比较,补充鱼油组的Asp和Glu含量显著降低($P<0.05$),见表1。

2.2 病理组织学观察

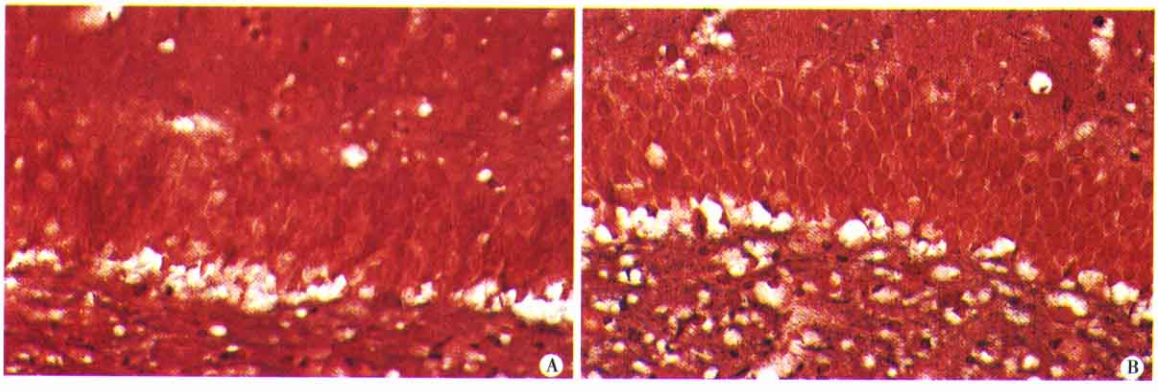
通过病理染色观察不同组大鼠大脑皮层和海马的整体细胞构筑。结果本实验观察到:正常组大脑皮层和海马的整体细胞构筑基本发育正常;EFA缺乏组大脑皮层锥体细胞数目明显减少、图1A中可见细胞着蓝色,排列不规则、稀疏、轴突纤维短、细胞体积也较小,图2A中可见,海马细胞着红色,结构层次模糊,排列紊乱;补充鱼油组大脑皮层和海马的整体细胞结构清晰、发育良好。见图1、2。



A: EFA deficiency group The number of pyramidal cells in the cortex was decreased and the array of cells mentioned above was atactic;
B: Fish oil supplementation group The layer and the size of pyramidal cells were evidently increased

图1 各组大脑皮质Nissl染色 (×100)

Fig 1 Nissl staining of the cortex in each group (×100)



A: EFA deficiency group The modality of cells in hippocampus was illegibility and the array of cells mentioned above was atactic. At the same time, the layer of cells was decreased; B: Fish oil supplementation group The modality of cells in hippocampus was clarity and the array of cells mentioned above was in order. At the same time, the layer of cells was increased

图2 各组海马细胞嗜银染色 (×400)

Fig 2 Silver staining of hippocampal cells in each group (×400)

表 1　各组海马和皮层中 EAA 含量变化（m_B/μmol·g^{-1}，$n=5$）

Tab 1　Changes of EAA content in hippocampus and cortex of groups（m_B/μmol·g^{-1}，$n=5$）

Group	Hippocampus		Cortex	
	Asp	Glu	Asp	Glu
Normal	10.234±4.031	20.370±0.849	8.673±0.786	18.302±1.920
Deficient	12.436±2.590	27.253±3.345**	10.078±0.230*	26.285±4.209**
Supplementation	10.208±0.414#	21.656±0.915#	9.212±0.800#	19.795±1.768#

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$，*vs* normal；#：$P<0.05$，*vs* deficient group

3　讨论

EFA 分为 n-3 和 n-6（又称 ω-3 和 ω-6）两大系列，其中 n-3 系列中主要包括：α-亚麻酸、EPA、DHA。本实验之所以采用补充鱼油说明问题，是因为鱼油的主要成分为 DHA 和 EPA。研究表明，EFA 缺乏会不同程度地影响如海马等脑区的神经生长因子水平[4,5]，如果发育期补充 DHA 可增加海马突触数目[6]，突触体质膜中 DHA 含量增高，可引起生物膜物理化学特性如流动性、通透性、膜酶及膜转运功能的改变。

本实验显示，EFA 缺乏组的 EAA 含量均显著高于正常组，而补充鱼油组的 EAA 含量均显著低于 EFA 缺乏组，与正常组比较无明显差异。形态学观察到，正常组大脑皮层和海马的细胞构筑发育正常；EFA 缺乏组大脑皮层锥体细胞数目明显减少、排列不规则、稀疏、轴突纤维短、细胞体积也较小、海马细胞层数较少、体积也较小；补充鱼油组大脑皮层和海马的整体细胞结构清晰、发育良好。说明 EFA 缺乏将延迟甚至损害脑皮质、海马等结构的发育，这种改变与相关实验中的行为功能变化是一致的[7]。EFA 缺乏后发现 EAA 含量明显高于正常组，补充 EFA 后 EAA 含量明显低于缺乏组，与正常组无差异，原因目前尚不清楚，但至少说明如果缺乏 EFA 就会造成 EAA 升高，从而导致皮层和海马神经元变性、发育迟缓，幼稚神经元增多，神经髓鞘形成障碍。提示在脑发育期间适当补充 EFA 是十分必要的。

参考文献：

[1] 方　健，候铁胜，方以群，等. 高压氧对脊髓损伤大鼠脊髓组织中兴奋性氨基酸的影响[J]. 解放军医学杂志，2002，27(11)：1014－1015.

[2] 席刚明，汪华侨，唐廷勇，等. 大鼠海马结构中兴奋性氨基酸神经元的发育[J]. 解剖学杂志，1999，22(4)：343－348.

[3] Lamptey M D，Walker B L. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat[J]. J Nutr，1976，106(1)：86－93.

[4] Ikemoto A，Nitta A，Furukawa S，*et al*. Dietary n-3 fatty acid deficiency decrease nerve growth factor content in rat hippocampus[J]. Neurosci Lett，2000，285(2)：99－102.

[5] Youdim K A，Martin A，Joseph J A. Essential fatty acids and the brain：possible health implications[J]. Int J Dev Neurosci，2000，18(4-5)：383－399.

[6] 李红娟，刘德华. 发育期补充 DHA 对大鼠学习记忆的影响[J]. 中国公共卫生，2001，17(2)：124－125.

[7] 张　侃，何凤慈，曾　琳，等. 必需脂肪酸对新生大鼠脑发育与学习记忆功能的影响[J]. 中国临床康复，2004，8(4)：624－625.

（编辑　张大春）

（上接 52 页）

表 1　两组患者化疗前后 SAS、SDS 评分与中国常模比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	测评时间	SAS	SDS
常规组	50	化疗前	53.89±10.65**	58.61±9.52**
		化疗后	50.95±10.48**	55.33±9.65*
干预组	50	化疗前	44.23±9.87##	51.29±8.93#
		化疗后	39.61±8.05##△△	45.48±9.68##△△
中国常模	—	—	37.23±12.58	41.88±10.57

与中国常模比较，*：$P<0.05$，**：$P<0.01$；与常规组比较，#：$P<0.05$，##：$P<0.01$；与化疗前比较，△：$P<0.05$

2.2　两组化疗前后 SAS、SDS 评分比较

结果显示：化疗前，干预组 SAS、SDS 显著低于常规组（$P<0.05$）；化疗后，干预组 SAS、SDS 评分非常显著低于常规组（$P<0.01$）。干预组化疗后 SAS、SDS 评分下降显著（$P<0.05$），常规组下降不显著（$P>0.05$），见表 1。

3　讨论

化疗作为恶性肿瘤治疗的重要方法之一，在达到治疗效果同时，其诸多毒副作用对患者躯体、精神及社会人际关系等均产生不同程度的影响，从而全面影响患者生活质量。在化疗期间予患者心理上的干预和支持，可明显减轻患者对化疗的恐惧，改善心理状态，缓解情绪反应[2]。

干预组化疗后 SAS、SDS 均显著低于常规组，说明护理干预有效降低了患者焦虑抑郁程度，减轻了患者思想压力和精神负担，使之在良好的情绪体验下配合治疗。因此，针对患者情绪变化特点及时给予心理宣教和指导是干预的主要内容[3]，要求护士具备扎实的心理学知识和技术，这是目前医学模式转变的需要，也是护理工作范畴扩展的需要。

本结果还显示，干预组患者 SDS 在化疗后虽有明显降低，但仍显著地高于中国常模。国内一些研究也证实癌症患者抑郁反应强烈[4]。分析与癌症患者生命安全感、躯体完整性和家庭稳定性的丧失有关。因此，在化疗患者的护理中，要重视癌症可治的宣教，使患者树立治病信心，增强生存信念，提高生活质量。对有严重抑郁情绪的患者，可建议医生同时给予抗抑郁药治疗。

关键词：癌症；化疗；心理；护理

中图法分类号：R473.73　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 汪向东，心理卫生评定量表手册[J]. 中国心理卫生杂志，1999，（增刊）：39－42，424－427.

[2] 陈　云. 心理护理对提高化疗期癌症患者生活质量的探讨[J]. 黑龙江护理杂志，2000，6(9)：65.

[3] 吴　苇，王世杰. 支持性心理治疗改善放化疗肺癌患者的焦虑抑郁情绪[J]. 中国临床康复，2003，7(17)：2462－2463.

[4] 闫生霞. 癌症患者心理反应调查分析及相关性研究[J]. 中华护理杂志，1999，34(3)：180－182.

（编辑　陈聪连）