文章编号:1000-5404(2006)08-0819-02

论著

# 丰富环境干预后HIBD大鼠脑超微结构改变

于若谷,赵聪敏,王丽雁,张雨平,温恩懿 (第三军医大学新桥医院儿科,重庆 400037)

**提 要:目的** 研究丰富环境刺激对缺氧缺血性脑损伤(HIBD)大鼠脑超微结构的影响。**方法** 大鼠分为缺氧缺血组及丰富环境干预组,干预组予早期抚触和丰富环境刺激共28 d,利用透射电镜观察两组大鼠海马神经元超微结构、神经丝及突触情况。**结果** 缺氧缺血组海马神经细胞固缩改变,线粒体肿胀,神经丝数量减少,排列稀疏,突触数量减少,突触间隙增宽,突触囊泡减少,突触后致密物变薄。干预组海马神经元和突触无明显异常。**结论** 早期抚触及丰富环境刺激可以促进缺血缺氧的脑组织超微结构恢复,脑组织神经网络重建及脑的可塑性增加是其可能的机制之一。

**关键词**:丰富环境;HIBD;电子;显微镜
**中图法分类号**:R329.27;R339.5;R743.31 **文献标识码**:A

# Effects of enriched environment intervention on cerebral ultramicrostructure in rats after hypoxic-ischemic brain damage

YU Ruo-gu, ZHAO Cong-min, WANG Li-yan, ZHANG Yu-ping, WEN En-yi (Department of Pediatrics, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract**: Objective To investigate the effect of enriched environment intervention on cerebral ultrastructure of hypoxic-ischemic brain damage (HIBD) rats. Methods Neonatal SD rats of 7 d were established into HIBD model according to the methods of Rice, and divided into enriched environment (EE) group in which touch and enriched environment stimulus were carried out, and standard environment (SE) group. Hippocampal ultramicrostructure, nerve plexus and synapse were observed by transmission electron microscope (TEM). Results The neuronal shrinkage, swellen mitochondria, reduced nerve plexus and synapse, changed synapse structure were observed in SE group, while neuron and synapse in EE group were of no apparent abnormality. Conclusion Touch and enriched environment stimulus can promote the ultramicrostructure's recovery of HIBD rats, in which the re-establishment of neural network and the enhancement of plasticity was one of the mechanism.

**Key words**: enriched environment; hypoxic-ischemic brain damage; ultrastructure

缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage,HIBD)迄今为止尚无理想的治疗方法。本实验通过早期抚触和丰富环境干预后电镜观察海马神经元超微结构、神经丝及突触表现,探讨早期抚触和丰富环境刺激对于缺血缺氧的脑组织恢复、神经网络重建及脑的可塑性的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

选择7日龄(P7)清洁级SD大鼠40只,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,雌雄不限,体质量12~15 g,随机分为缺氧缺血组及丰富环境干预组,每组各20只。

### 1.2 HIBD模型

参照Rice法制作HIBD模型:选择7日龄SD大鼠,乙醚吸入麻醉后,置仰卧位,四肢头部固定,75%乙醇消毒,作颈部正中切口,分离并结扎左侧颈总动脉,缝合皮肤后置于自制1 L容积缺氧仓内,以氧氮混合气(氧浓度为8%)1~2 L/min持续灌注2 h,制成HIBD模型。缺氧仓置于恒温水浴箱中,维持环境温度在37~37.5 ℃。缺氧后将新生鼠放回母鼠身边常规喂养。缺氧缺血后出现自发左旋或夹尾左旋者纳入实验。丰富环境参照Fernanandez等的方法设计。

分组:丰富环境干预组(以下简称干预组):缺氧后24 h予毛刷从头到尾刷毛,每次15 min,每日2次,至幼鼠睁眼后放置于丰富环境中,每次2 h,每日1次。干预时间共28 d。缺氧缺血组:HIBD模型制备过程如上所述。饲养于28 cm×18 cm×15 cm的标准笼内,不予早期抚触及丰富环境刺激。各组均提供12 h光~12 h暗昼夜光变化,自由进食进水,定期换笼。

作者简介:于若谷(1974-),女,重庆市人,硕士研究生,主治医师,讲师,主要从事脑损伤早期干预方面的研究。电话:(023)68774602,E-mail:yrgmail@163.com
通讯作者:赵聪敏,电话:(023)68755602
收稿日期:2005-10-31;修回日期:2006-03-02

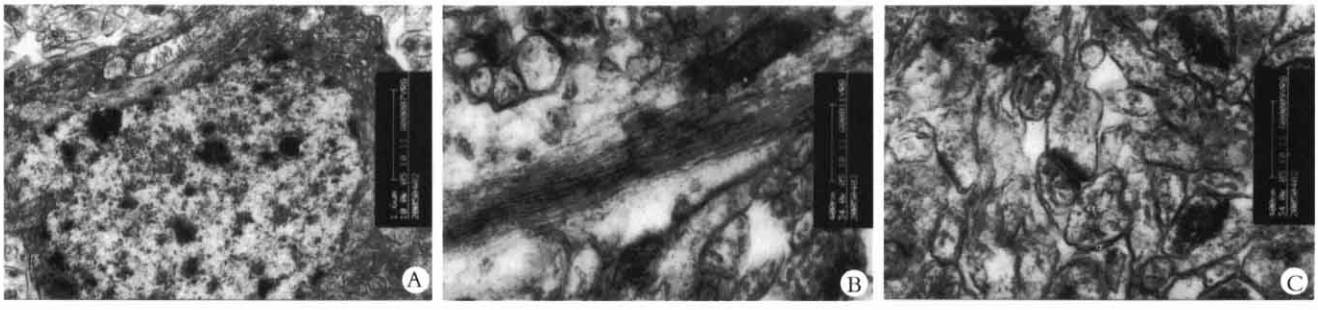
### 1.3 标本采集与制备

两组大鼠每组取2只在第35天时予1%戊巴比妥钠40～50 mg/kg腹腔注射深麻醉，迅速断头取前脑，分离出左侧海马，快速切成1 mm×1 mm×2 mm薄片入2.5%戊二醛中固定，4 ℃保存，然后经PBS液冲洗后，1% $OsO_4$后固定，再经PBS液冲洗后，梯度丙酮脱水。放入环氧树脂618浸透包埋，超薄切片，醋酸铀和柠檬酸铅双染后，在透射电镜（丹麦产KEYPOINT）下观察。

## 2 结果

缺氧缺血组：海马神经细胞固缩改变、核膜皱折、染色质致密、双核仁，细胞质致密，线粒体肿胀，线粒体嵴消失、内质网扩张。脑组织点状溶解灶，周围髓鞘变性，胶质细胞增生，微血管周围胶质足肿胀、破裂、微血管腔受压变形。神经丝数量减少，排列稀疏。神经元突触数量减少，突触间隙增宽，突触囊泡减少，突触后致密物变薄。

干预组：海马神经元核膜完整光滑，核内染色质均匀，细胞质粗面内质网、核糖体及高尔基体、线粒体等细胞器完整、丰富（图1A）。神经丝排列有序（图1B）。突触前膜、突触后膜和突触间隙清晰，突触前终末有较多清亮的圆形囊泡，突触后膜有电子密度高的致密物质（图1C）。




A：细胞器超微结构（TEM×16 000）；B：神经丝排列（TEM×60 000）；C：突触结构（TEM×60 000）

**图1 干预组海马CA1区锥体神经元及神经丝超微结构观察**

## 3 讨论

中枢神经系统是神经元之间以错综复杂的突起及突触相联系形成的神经网络，大量研究表明中枢神经系统结构和功能的可塑性是神经康复的基础。半个世纪前，Hebb等就提出脑皮层神经元间的联系可因个体经历不同而发生改变，并从那时起就有许多研究证明了成年动物大脑皮层在化学及解剖学方面的可塑性变化[1]。

神经元是神经系统的结构和功能单位，也是脑学习记忆的结构基础。大量研究证实，神经丝蛋白与突触素是反映神经元和突触功能状况的内在标志物。近年来对多种神经功能障碍性疾病的研究均发现两者表达异常。单个突触的可塑性表现为结构的改变[2,3]。由于神经元的细胞骨架在维持神经细胞正常形态和轴浆运输方面具有至关重要的作用，因此神经丝蛋白表达的减少可导致无法维持神经系统正常的功能活动，从而造成学习记忆能力下降[4,5]。

本研究通过透射电镜观察发现缺氧缺血组海马神经细胞固缩改变、核膜皱折，线粒体肿胀，线粒体嵴消失、内质网扩张，胶质细胞增生，神经丝数量减少，排列稀疏，神经元突触数量减少，突触间隙增宽，突触囊泡减少，突触后致密物变薄等改变。这种超微结构上的变化，影响了神经元的能量代谢等正常生理活动。最终导致神经元变性、坏死；随着神经元坏死、数目减少，突触数量也随之减少，与受累神经元有突触联系的神经纤维也必受影响[6]。缺血缺氧性脑损伤可使新生大鼠脑神经元和突触的密度减少，从而使大鼠的海马突触可塑性受到影响，最终导致学习记忆能力遭到破坏。而干预组海马神经元和突触无明显异常，说明早期抚触及丰富环境刺激可以促进缺血缺氧的脑组织超微结构恢复，脑组织神经网络重建及脑的可塑性增加是其可能的机制之一。

## 参考文献：

[1] JOHANSSON B B. Brain plasticity and stroke rehabilitation. The Willis lecture[J]. Stroke, 2000, 31(1): 223－230.

[2] GAMA-SOSA M A, FRIEDRICH V L, Jr., DEGASPERI R, *et al*. Human midsized neurofilament subunit induces motor neuron disease in transgenic mice [J]. Exp Neurol, 2003, 184(1): 408－419.

[3] AL-CHALABI A, MILLER C C. Neurofilaments and neurological disease[J]. Bioessays, 2003, 25(4): 346－355.

[4] STANLEY E F. Presynaptic calcium channels and the depletion of synaptic cleft calcium ions[J]. J Neurophysiol, 2000, 83(1): 477－482.

[5] YAMAUCHI T. Molecular constituents and phosphorylation-dependent regulation of the post-synaptic density[J]. Mass Spectrom Rev, 2002, 21(4): 266－286.

[6] 田春海，周丛乐，苗鸿才. 新生大鼠缺氧缺血后远期海马$CA_1$区神经元和突触的变化及干预的效果[J]. 中华围产医学杂志，1999, 2(1): 33－35.

（编辑 王 红）