维普资讯 http://www.cqvip.com



论 著 文章编号:0253-3626(2007)07-0699-03

# 卵巢切除术对老龄大鼠学习记忆功能的影响

唐明山,黄开斌,甘碧坤,卢 伟,翁 旭,钟 华

(重庆市第一人民医院神经内科,重庆 400011)

【摘 要】目的:探讨卵巢切除术对老龄大鼠学习记忆功能的影响。方法:17 月龄停止繁殖 2 个周期的 SD 大鼠,体重 350~400g 分为正常对照组、假手术组和卵巢切除组。术后第 1 天、3 天、7 天、15 天、30 天,采用 Morris 水迷宫实验检测大鼠学习记忆功能。结果:术后第 30 天,3 组大鼠结果无显著差异($P>0.05$);与假手术组大鼠相比,卵巢切除组大鼠在各时相点的所有结果均无显著差异 ($P>0.05$)。与正常对照组大鼠相比, 卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠的潜伏期在术后第 1 天、3 天、7 天较长($P<0.01$, $P<0.05$),在平台象限游泳路径百分比在术后 1 天、3 天、7 天较少($P<0.05$)。穿越原平台象限的次数在术后 1 天、3 天、7 天、15 天较少($P<0.01$,$P<0.05$)。结论:腹部手术可损害老龄大鼠学习记忆功能,这种损害可在术后 30 天内恢复,单纯卵巢切除并不加重手术引起的大鼠学习记忆功能损害。

【关键词】卵巢切除术;大鼠;学习记忆

【中国图书分类法分类号】R338.64 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-04-16

# Effect of ovariectomy on learning and memory in aged rats

*TANG Mingshan, et al*

(*Department of Neurology, the First People's Hospital of Chongqing*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of ovariectomy on cognition of aged rats. *Methods*: Sprague-Dawley rats retired from breeding for two reproductive cycles, 17-month-old, and 350~400g weight, were divided into three groups. After being operated for 1d, 3d, 7d, 15d and 30d, the rats were tested by Morris water maze to observe the function of learning and memory. *Results*: There were no differential result between the rats of the three groups in 30d($P>0.05$), and there was no differential result too between the rats of variectomized group and sham operated group in each stage of the full test ($P>0.05$). Compared with the control group, the rats of ovarietomized group and sham operated group showed more escape latency for 1d, 3d, 7d($P<0.01$, $P<0.05$), less percentage of swimming length in platform quadrant for 1d, 3d, 7d($P<0.05$), and less frequency of passing through origin platform quadrant for 1d, 3d, 7d, 15d ($P<0.01$, $P<0.05$). *Conclusion*: Abdominal operation may damage the function of learning and memory, but they will be recovery after 30 days, Simple ovariectomy don't aggravate more.

【Key words】Ovariectomy; Rat; Learning and Memory

雌激素替代治疗是绝经后妇女认知功能研究的热点,研究结论存在争议[1,2]。近期研究证实,绝经早期雌激素替代治疗可降低老年痴呆发病的风险,雌激素替代治疗只对绝经后某一特定年龄阶段的认知功能损害有益[3,4],可能是不同年龄阶段的个体对雌激素的反应不一所致。停止繁殖的老年雌性大鼠,其卵巢分泌雌激素水平低,较接近绝经后妇女的机能状态, 是绝经后妇女实验研究的常用模型。但是,由于手术会导致认知功能损害,手术类型和手术对象的年龄是这种损害的危险因素[5,6],因此,尽可能排除手术对认知功能的影响,研究结果才更准确。本研究通过 Morris 水迷宫实验,检测卵巢切除术对老龄大鼠学习记忆功能的影响,以验证卵巢切除术制作绝经后动物模型的科学性和可行性,为进一步研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及分组

清洁级 Sprague-Dawley 雌性大鼠 150 只,17 月龄左右,经阴道刮片证实停止繁殖后 2 个周期, 体质量 350~400g,由大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。分为 3 组:正常对照组 (Normal control, NC)、假手术组 (Sham operated group, SHAM)和卵巢切除组(Ovarietomized group, OVX)。每组各 50 只。

作者介绍: 唐明山(1969- ),男,博士,主治医师,主要研究方向:老年痴呆。

维普资讯 http://www.cqvip.com



共分术后第 1 天、第 3 天、第 7 天、第 15 天、第 30 天 5 个时相点。

1.2 动物模型制作

卵巢切除组大鼠模型采用双侧卵巢切除的方法[7,8],假手术组按相同方法打开腹腔,找到卵巢后不切除卵巢,关腹;正常对照组大鼠只麻醉,不进行其他处理。

1.3 认知功能检测

采用中科院研制生产的 Morris 水迷宫 (Morris water maze, MWM)3.0[9],在各时相点检测大鼠学习记忆功能。测试分定位航行实验 (Place navigation test) 和空间搜索实验 (Spatial probe test)两部分,周期为 3 天。每天分上、下午两段,每段训练 4 次,每次 2min,训练时选择入水点,观察并记录潜伏期 (Escape latency) 和在平台象限游泳路径百分比 (Percentage of swimming length)。定位航行实验结束后,先将平台移去,再将大鼠放入水中 2min,观察在水迷宫实验中的游泳轨迹,记录大鼠穿越原平台象限的次数。

## 2 结 果

2.1 定位航行实验

2.1.1 水迷宫实验平均潜伏期 Morris 水迷宫大鼠定位航行实验潜伏期比较,术后的第 15、30 天,3 组大鼠潜伏期无显著性差异($P>0.05$)。与正常对照组大鼠比较,在术后第 1、3、7 天,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠的潜伏期均比正常对照组大鼠长($P<0.01$, $P<0.05$),见表 1。显示腹部手术使大鼠学习成绩受损,但这种损害在 15 天内开始恢复。在实验的所有时相点,卵巢切除组大鼠与假手术组大鼠的潜伏期基本相同($P>0.05$),显示腹部手术后,单纯卵巢切除并不加重大鼠学习成绩的损害,卵巢切除后的雌激素水平变化也不足以影响学习成绩。

2.1.2 水迷宫实验在平台象限游泳路径百分比 术后的第 30 天,3 组大鼠在平台象限游泳路径百分比无显著差异($P>0.05$)。与正常对照组比较,在术后第 1、3、7、15 天,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠在平台象限游泳路径百分比均比正常对照组大鼠 ($P<0.05$),见表 2。显示大鼠学习能力的损害在 30 天内恢复。与假手术组大鼠比较,在实验的所有时相点,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠在平台象限游泳路径百分比无差异($P>0.05$),显示单纯卵巢切除也不加重学习能力的损害,卵巢切除后的雌激素水平变化也不足以影响学习能力。

表 1 水迷宫训练中潜伏期比较(S, $\bar{x}\pm s$)

| Date | $n$ | 第 1 天 | 第 3 天 | 第 7 天 | 第 15 天 | 第 30 天 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 正常对照组 | 10 | 14.36±4.83 | 15.21±5.14 | 13.29±4.35 | 13.67±4.12 | 13.25±3.98 |
| 假手术组 | 10 | 22.23±7.62a | 20.67±6.15b | 19.21±5.83b | 14.82±4.37 | 13.12±4.38 |
| 卵巢切除组 | 10 | 21.38±8.34a | 22.36±9.17b | 19.35±6.41a | 14.17±5.74 | 14.29±4.71 |

a: $P<0.01$, 与正常对照组比较; b: $P<0.05$ 与正常对照组比较

表 2 水迷宫实验中大鼠在平台象限游泳路径百分比($\bar{x}\pm s$)

| Date | $n$ | 第 1 天 | 第 3 天 | 第 7 天 | 第 15 天 | 第 30 天 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 正常对照组 | 10 | 35.12±10.86 | 40.78±10.94 | 41.13±11.73 | 42.56±9.77 | 43.63±10.42 |
| 假手术组 | 10 | 20.15±6.74a | 22.61±6.43a | 32.78±11.24a | 36.33±9.21a | 41.32±8.69 |
| 卵巢切除组 | 10 | 19.96±7.61a | 22.71±6.36a | 33.67±9.38a | 35.37±11.34a | 42.78±8.66 |

b: $P<0.05$ 与正常对照组比较

2.2 空间搜索实验

空间搜索实验中大鼠穿越原平台象限次数比较,在术后第 15、30 天,3 组大鼠在原平台游泳次数无差异($P>0.05$)。与正常对照组比较,在术后 1、3、7 天,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠平台象限穿越的次数均比正常对照组少($P<0.01$ 或 $P<0.05$),见表 3。显示大鼠的记忆保存能力在 15 天内恢复。与假手术组大鼠比较,在实验的所有时相点,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠穿越原平台象限的次数也无差异($P>0.05$),显示单纯卵巢切除术并不加重大鼠记忆保存能力的损害,卵巢切除后的雌激素水平变化也不足以影响记忆保存能力。

## 3 讨 论

术后认知功能障碍的影响因素较多,麻醉是众所周知的原因[10]。Muller 等[5]认为,手术类型是术后

维普资讯 http://www.cqvip.com



表 3 大鼠穿越原平台象限的次数($\bar{x}\pm s$)

| Date | $n$ | 第 1 天 | 第 3 天 | 第 7 天 | 第 15 天 | 第 30 天 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 正常对照组 | 10 | 9.74±2.32 | 9.22±1.89 | 9.14±2.45 | 10.36±2.16 | 10.31±1.98 |
| 假手术组 | 10 | 3.87±1.11b | 3.56±1.09b | 5.63±1.72a | 9.78±1.96 | 10.02±2.13 |
| 卵巢切除组 | 10 | 4.34±1.12b | 4.21±1.34b | 5.38±1.48a | 9.33±1.89 | 9.86±2.29 |

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$,与正常对照组比较

认知功能障碍的危险因数,Bekker 等[11]认为年龄也是术后认知功能障碍的危险因数。作为绝经后妇女研究的卵巢切除大鼠模型,卵巢切除术所造成的认知功能损害也因为年龄差异而不同,不同年龄的大鼠这种损害的恢复期也不同。因此,必须排除麻醉和手术本身的影响,了解卵巢切除术后大鼠认知功能的损害及恢复时间,才能为雌激素替代治疗的实验研究提供科学的实验方案,使实验结果才更具说服力。

本实验中对 3 组大鼠施以相同的麻醉,排除了麻醉不同对结果的影响。我们选取停止繁殖两周以上的老年雌性大鼠,其生理指标基本符合绝经状态,由于停止发育的 17 月龄雌性大鼠的卵巢分泌的雌激素少,双侧卵巢切除所致的雌激素变化对学习记忆功能的影响极小。实验中所有时相点卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠的结果无差异,以及术后 30 天时 3 组大鼠的实验结果均无差异,说明本实验中,卵巢切除引起的雌激素变化极小,不足以影响认知功能,实验结果较为准确地反映了手术对老龄大鼠学习记忆功能的损害。

Morris 水迷宫实验是检测大鼠学习记忆功能影响的常用工具[12,13],包括定位航行实验和空间搜索实验,定位航行实验中的潜伏期反映大鼠学习成绩,在平台象限游泳路径百分比反映大鼠的学习能力,空间搜索实验中大鼠穿越原平台象限的次数反映大鼠的记忆保存能力。本实验中,在手术后第 1、3、7 天,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠在定位航行实验中的潜伏期期比正常对照组大鼠长,说明手术损害了老龄大鼠的学习功能。在手术后第 1、3、7、15 天,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠在平台象限游泳路径百分比比正常对照组大鼠短,说明手术也损害老龄大鼠学习能力,且这种损害比对学习记忆功能整体的损害更严重。空间搜索实验中,在手术后第 1、3、7 天,卵巢切除组大鼠和假手术组大鼠穿越原平台象限的次数比正常对照组大鼠少,说明手术还损害了大鼠的记忆保存功能,这种损害和对学习功能的损害一致。术后第 30 天,3 组大鼠的潜伏期、平台象限游泳路径百分比及穿越原平台象限的次数均无显著差异,说明在手术引起的认知功能损害在 30 天内基本恢复。另外,在实验的整个阶段,对比假手术组大鼠,卵巢切除组大鼠在定位航行实验中的潜伏期期、平台象限游泳路径百分比,以及空间搜索实验中穿越原平台象限的次数均无显著差异,说明单纯卵巢切除术并不加重老龄大鼠学习记忆功能的损害。本研究中卵巢切除组大鼠与假手术组大鼠学习记忆功能无差异,并不能说明卵巢切除后雌激素的变化对认知功能没有影响,可能是由于雌激素水平并非与认知功能呈线性关系,低水平下的雌激素差异还不足影响认知功能,较低水平的雌激素对认知功能的影响基本可以忽略。

因此,卵巢切除术老龄大鼠作为绝经后妇女实验研究的动物模型是可行的,有关药物的干预治疗和认知功能检查宜在术后 30 天开始进行。本实验中手术所致大鼠学习记忆功能损害的恢复时间这一结论,是否可以推断其他年龄段大鼠或者其他老龄动物,还需大量的相关研究来证实。

## 参 考 文 献

[1] L.F. Low, K.J. Anstey. Hormone replacement therapy and cognitive performance in postmenopausal women-a review by cognitive domain[J]. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2006; 30: 66-84.

[2] V.W.Henderson. Estrogen-containing hormone therapy and Alzheimer's disease risk: understanding discrepant inferences from observational and experimental research [J]. Neuroscience, 2006; 138: 1031-1039.

[3] P. M. Maki. Hormone therapy and cognitive function: is there a critical period for benefit[J]. Neuroscience, 2006; 138: 1027-1030.

[4] V.W.Henderson, K.S.Benke, R.C. Green, et al. Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer's disease risk: interaction with age [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2005; 76: 103-105.

[5] Muller SV, Kraus N, Schmidt M, et al. Cognitive dysfunction after abdominal surgery in elderly patients[J]. Geromol Geriatr, 2004;

(下转第 784 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com



## 5 存在的问题及展望

目前任何一种手术方式，都不能适用于所有的 PDVI；同样，不是所有的 PDVI 都能够通过目前某种术式或某几种术式得到明显的缓解。下肢静脉性溃疡的复发目前仍然是困扰医学的难题，单纯处理深静脉反流有时难以阻止溃疡的复发，现在认为，交通静脉功能不全可能是引起溃疡复发的主要原因之一[20]，要修复深静脉瓣膜以重建深静脉功能，必须同时治疗浅静脉和交通支静脉功能不全，才能减少溃疡的复发[21]。

PDVI 是最常见的周围血管疾病，发病的绝对人数较多，目前对其病因探讨有限，对于有临床症状且 Kistner 分级Ⅲ~Ⅳ者，仍主要为手术治疗，寻找更好的瓣膜替代物，更为简便、有效、持久的手术方式，以及从其病因上对其预防和纠正，可能将是今后的发展方向。

## 参 考 文 献


[1] Kistner RL.Primary venous valve incompetence of the leg[J].Am J Surg,1980;140(8):218.

[2] Evans CJ,Fowkes FG,Ruckley CV,et al.Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population:Edinburgh vein study[J].J Epidemiol Community Health,1999;53(3):149-153.

[3] Kistner RL. Surgical repair of the incompetence of femoral vein valve[J].Arch Surg,1975;110(6):1336.

[4] 张柏根，张纪蔚，邝耀麟，等. 静脉壁环缝缩窄术治疗股静脉瓣膜关闭不全[J].中华外科杂志，1986;24(10):600.

[5] 张柏根.下肢深静脉瓣膜功能不全的诊治进展[J].中国现代手术外科杂志，2003;7(2):86-88.

[6] Neglen P,Raju S. A rational approach to detect significant reflux using duplex Doppler scan and air plethysmography[J].J Vasc Surg,1993;17:590-595.

[7] Porter JM,Moneta GL. Reporting standards in venous disease: an update International Consensus Committee on Chronic Venous Disease[J]. J Vasc Surg,1995;21:635-645.

[8] Kistner RL. Surgical technique of external venous valve repair [J].Proc Straub Pacific Health Found,1990;55:15.

[9] Gloviczki P,Merrell SW,Bower TC.Femoral vein valve repair under direct vision without venotomy:a modified technique use of angioscopy[J].J Vasc Surg,1991;14:645.

[10] Belcaro G,Nicolaides AN, Ricci A, et al. External femoral vein valvuloplasty with limited anterior plication (LAP)[J]. Angiology,1999;50(7):531.

[11] Raju S,Berry MA, Neglen P. Transcommissural valvuloplasty: technique and results[J]. J Vasc Surg,2000;32:969-976.

[12] Eriksson I,Almgren B. Influence of the profunda femoris vein on venous hemodynamics of the limb[J].J Vasc Surg,1986;4:390-395.

[13] Brittenden J.Popliteal vein reflux reduces the healing of chronic venous ulcer[J]. Br J Surg,1998;85:60-62.

[14] 陆 民，孙建民，张培华.自体静脉移植段组织学和血流动力学研究[J].中华实验外科杂志，1989;6:158-159.

[15] 孙建民，张培华，秦月琴.下肢深静脉瓣膜的解剖和组织学观察及其临床意义[J].中华实验外科杂志，1986;6(1):1.

[16] Zhang PH,Jiang ME,Lu M,et al. The"substitute valve"operation in China[J].J Vasc Surg,1995;29:135.

[17] Raju S,Fredericks RK,Neglen PN,et al. Durability of venous valve reconstruction techniques for "primary"and postthrombotic reflux[J].J Vasc Surg,1996;23(2):357.

[18] Raju S,Hardy JD. Technical options in venous valve reconstruction[J]. Am J Surg,1997;173:301-307.

[19] Raju S,Fredericks RK,Neglen PN,et al. Proximal reflux adversely affect distant venous function[J].J Vasc Surg,1996;30:89.

[20] Tawes RL,Barron ML,Coello AA,et al.Optimal therapy for advanced chronic venous insufficiency[J].J Vasc Surg,2003;37:545-551.

[21] Kistner RL.Methods for reconstruction of deep venous reflux: long term result[J]. J Vasc Surg,1997;31(3):270.


(上接第 701 页)


37:475-485.

[6] Cohendy R, Brougere A, Cuvillon P. Anaesthesia in the older patient[J].Curr OpFn Clin Nut, Metal, Care,2005;8:17-21.

[7] J.M. Daniel, C.D. Lee. Estrogen replacement in ovariectomized rats affects strategy selection in the Morris water maze[J].Neurobiology of Learning and Memory,2004;82:142-149.

[8] Mark Day,Mark Good.Ovariectomy-induced disruption of long-term synaptic depression in the hippocampal CA1 region in vivo is attenuated with chronic estrogen replacement [J].Neurobiology of Learning and Memory,2005;83:13-21.

[9] 徐 静，万燕杰，曾因明.脾切除术对大鼠空间学习记忆能力的影响[J].中华麻醉杂志，2006;26(2):144-147.

[10] Cohendy R,Brougere A,Cuvillon P. Anaesthesia in the older patient[J]. Curr Opfn Clin Nut,Metal,Care,2005;8:17-21.

[11] Bekker AY, Weeks El. Cognitive function after anaesthesia in the elderly [J].Best Pract Res Clin Anaesthesiol,2003;17:259-272.

[12] JC Cassel,T Schweizer,A Lazaris,et al. Cognitive deficits in aged rats correlate with levels of l-arginine, not with nNOS expression or 3,4-DAP-evoked transmitter release in the frontoparietal cortex[J].European Neuropsychopharmacology,2005;15:163-175.

[13] YOkaichi,Y Ishikurab, K Akimoto,et al. Arachidonic acid improves aged rats'spatial cognition[J].Physiology & Behavior,2005;84:617-620.