DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.12.005
第24卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 12
1388 2002年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)12-1388-03

血管性痴呆大鼠的记忆行为改变与突触结构参数的关系

张艳玲[1],李露斯[1],可金星[2],范文辉[1] (第三军医大学:[1]附属西南医院神经内科;[2]高原军事医学系中心实验室,重庆 400038)

提 要:目的 研究大鼠在慢性脑灌注不足状态下的记忆行为改变以及大脑皮层和海马的突触结构参数改变,探讨记忆行为改变和突触结构参数的关系。方法 采用老年大鼠持久双侧颈总动脉结扎造成慢性脑缺血动物模型,分为正常对照组、缺血2月组、缺血4月组。电脑控制穿梭箱系统观察大鼠记忆行为改变。电镜下观察突触超微结构改变,应用体视学方法和图像分析,对突触结构参数(突触数密度、突触活性带长度、圆盘面积、表面密度)进行分析。并分析两者关系。结果 电脑控制穿梭箱系统观察大鼠主动回避反应(AAR)及被动回避反应(PAR)在缺血2月及4月组均下降。皮层及海马在缺血2月组、缺血4月组突触数密度(Nv)均明显下降。海马在缺血2月组、缺血4月组突触活性带长度(L)、突触连接带圆盘面积(S)及突触表面密度(Sv)均下降;皮层在缺血2月组、缺血4月组未见明显改变。结论 在慢性脑灌注不足状态下的突触数密度下降、突触活性带长度减小与记忆行为改变有关。

关键词:血管性痴呆;认知障碍;突触;结构参数;体视学;图像分析
中图法分类号:R338.13;R749.160.2 文献标识码:A

Relationship of memory behaviors and changes of synapse structure in vascular dementia rats

ZHANG Yan-ling, LI Lu-si, KE Jin-xing, FAN Wen-hui (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of the changes of memory behavior and the of changes of the parameter of synapse structure in the brain cortex and hippocampus of chronic cerebral hypoperfusion rats. Methods Chronic cerebral hypoperfusion rat model was established by ligating bilateral common carotid arteries of the old rats (over 12 months). The rats were divided into 3 groups, normal, 2 months ischemia, and 4 months ischemia groups. The memory behavior changes were observed with a computerized shuttle-training case. The ultrastucture of synapse were observed with electron microscopy for the number density, length of activity cord, area of synapses disk, surface density of the synapse, and the results were analyzed with stereology and image analyses. The relationship between the behavior and the ultrastructure were studied. Results Active avoidance response (AAR) and passive avoidance response (PAR) were decreased in the 2 months ischemia group and the 4 months ischemia group. The number density (Nv) of the synapses in the brain cortex and hippocampus were reduced in the 2 months ischemia group and the 4 months ischemia group. The length of activity cord (L), the area of synapses disk (S), the area density (Sv) in the hippocampus decreased in the 2 and 4 months ischemia group, and those in the brain cortex did not change in the 2 groups. Conclusion The decrease of the number density (Nv) and the length of activity cord (L) of synapses in the chronic cerebral hypoperfusion is related to the memory behavior changes.

Key words: vascular dementia; cognitive handicap; synapses; structure parameters; stereology; image analysis

在老年人口中,慢性脑灌注不足常常导致多发性脑梗塞和皮层下动脉硬化性脑病。由此造成的血管性痴呆占老年痴呆人口的很大比例(20%)。本实验通过老年大鼠持久双侧颈总动脉结扎的慢性脑缺血模型,观察大鼠记忆行为改变,同时观察大脑皮层、海马突触结构参数的改变,探讨两者的关系。

1 材料和方法

1.1 动物模型

选用老龄Wistar大鼠(月龄≥12月,雌雄不限)共9只,体重300~400 g,随机分为正常对照组(n=3),缺血2月组(n=3),缺血4月组(n=3)。大鼠术前12 h禁食,4 h禁水,用20%乌拉坦按800~1 000 mg/kg腹腔麻醉,保证手术操作期间大鼠有自主呼吸,仰卧固定,颈前部去毛消毒后沿正中线切开,分离出双侧颈总动脉,双重丝线结扎。术中大鼠肛温保持在36.5℃~37.5℃,手术后动物被送至通风和有空调的动物房饲养,对照组仅切开颈前皮肤,不结扎颈总动脉。

1.2 认知功能测试

采用电脑控制穿梭箱系统,将大鼠放入穿梭箱内暗适应5 min,然后持续灯光刺激5 s,给箱底通电流10~20 mA、频率10~15 Hz的电刺激5 s。每次实验进行20次光、电刺激,每次刺激后予60 s适应时间。将大鼠经刺激能躲避至对侧暗箱定为成功1次,灯光刺激大鼠即能完成穿梭动作为主动回避反应(Active avoidance response, AAR),经电刺激才能完成穿梭动作为被动回避反应(Passive avoidance response, PAR),连续进行5次训练并记录成绩。

1.3 电镜观察

取颈总动脉结扎后2月、4月大鼠和对照组大鼠,乌拉坦深麻醉,生理盐水250 ml经心脏灌注去除血细胞,用4℃ 4%多聚

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770273)
作者简介:张艳玲(1974-),女,河北省石家庄市人,硕士研究生,医师,主要从事脑血管病方面的研究。电话:(023)68752905
收稿日期:2002-07-20;修回日期:2002-09-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

甲醛 250 ml 灌注固定后分离出大脑, 于脑皮层、海马取 1 mm^3 大小组织放入戊二醛中固定, 1%锇酸后固定, 常规脱水浸透, 环氧树脂 618 包埋, 超薄切片(片厚 500 埃), JEM-2 000 EX 电镜 80 kV 下观察。选取神经毡部位, 在 6 000 倍放大倍率下随机选取视野, 每例标本拍摄 6 张突触结构照片。

1.4　突触结构参数的测量

每例标本在神经毡内随机选取视野, 拍摄 6 张突触结构照片, 将照片扫描至计算机以 BMP 格式保存。确认突触的标准: (1)可见突触的前后膜; (2)可见致密带; (3)突触前膨大内可见 3 个以上突触小泡; (4)可见突触间隙。使用图像分析仪, 对突触进行计数和大小测量[1~5]。应用体视学方法, 计算如下的突触结构参数: 突触数密度(Nv) $Nv = Na/(L+T)$; 突触连接带圆盘面积(S) $S = \pi R^2$ $R = (\pi/4) \cdot L$; 突触表面密度(Sv) $Sv = Nv \cdot S$。(公式中 L 代表突触连接带圆盘的截线平均长度, T 代表超薄切片的厚度, $\pi = 3.14$)。

1.5　统计学方法

使用 Excel 软件, 对结果采用 χ^2 检验, t 检验。

2　结果

2.1　行为学检查结果

双侧颈总动脉完全阻断后首先出现短暂惊厥, 体温降低, 呼吸减慢, 翻正反射消失; 术后早期观察动物运动减少, 后肢呈“八字”, 走路共济失调或爬行和转圈; 术后 7 d 试验组已基本恢复, 无明显的运动障碍。

穿梭箱试验结果可以看出, 与对照组比较, 慢性脑灌注不足 2 月及 4 月后大鼠学习能力(PAR)均下降, 4 月较 2 月明显, 经统计学处理差异非常显著; 大鼠学习能力(AAR)也下降, 缺血 2 月组与缺血 4 月组比较差异不显著, 说明缺血 2 月时, 大鼠学习能力已明显下降, 见表 1。

表 1　大鼠学习能力检测($n=3$)

Tab 1　Testing on the learning ability of rats in every group($n=3$)

	PAR		AAR	
	Correct	Error	Correct	Error
Control	273	927	595	605
2 months after ischemia	122 *	678	278 *	522
4 months after ischemia	61 *	639	246 *	454

*: $P<0.0001$ *vs* Control

2.2　突触结构参数改变

2.2.1　皮层突触数量及大小改变　　皮层在脑缺血后, 突触的数量和大小发生改变, 见表 2。

表 2　皮层突触数量及大小改变($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 2　Changes of number and size of the synapse in the brain cortex in every group($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

	Normal group	2 months ischemia group	4 months ischemia group
Number density (Nv) (μm^{-3})	0.153±0.037	0.091±0.022 *	0.084±0.025 *
Length of activity cord(L) (μm)	0.919±0.387	1.024±0.308	0.886±0.391
Area of synapses disk(S) (μm^2)	1.918±1.513	2.208±1.431	1.804±1.495
Area density(Sv) (μm^{-1})	0.298±0.056	0.200±0.031 *	0.152±0.037 *#

*: $P<0.05$, *vs* Normal group; #: $P<0.05$, *vs* 2 months ischemia group

皮层突触数密度(Nv)在慢性脑灌注不足 2 月组和 4 月组均下降, 与正常对照组比较有显著差异($P<0.05$), 慢性脑灌注不足 4 月组和 2 月组比较突触数密度无差异。皮层突触活性带长度(L)及突触连接带圆盘面积(S), 在慢性脑灌注不足 2 月组、4 月组未见明显改变。皮层突触表面密度(Sv)在慢性脑灌注不足 2 月组和 4 月组均下降, 与正常对照组相比有显著差异($P<0.05$), 4 月组较 2 月组突触数密度进一步下降($P<0.05$)。

2.2.2　海马突触数量及大小改变　　海马在脑缺血后, 突触的数量和大小发生改变, 见表 3。

表 3　海马突触数量及大小改变($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 3　Changes of number and size of the synapse in the hippocampus($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

	Normal group	2 months ischemia group	4 months ischemia group
Number density (Nv) (μm^{-3})	0.140±0.039	0.080±0.025 **	0.065±0.023 **
Length of activity cord(L) (μm)	1.135±0.393	0.861±0.205 **	0.849±0.311 **
Area of synapses disk(S) (μm^2)	2.781±2.218	1.512±0.696 **	1.574±1.168 *
Area density(Sv) (μm^{-1})	0.389±0.087	0.121±0.017 **	0.102±0.027 **#

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* Normal group; #: $P<0.05$, *vs* 2 months ischemia group

海马突触数密度(Nv)在慢性脑灌注不足 2 月组和 4 月组均下降, 与正常对照组比较有显著差异($P<0.01$), 慢性脑灌注不足 4 月组和 2 月组比较突触数密度无差异。海马突触活性带长度(L)及突触连接带圆盘面积(S), 在慢性脑灌注不足 2 月组和 4 月组均下降, 与正常对照组比较有显著差异($P<0.01$ 或 0.05), 慢性脑灌注不足 4 月组和 2 月组比较突触数密度无差异。海马突触表面密度(Sv)在慢性脑灌注不足 2 月组和 4 月组均下降, 与正常对照组相比有显著差异($P<0.01$), 4 月组较 2 月组突触数密度进一步下降($P<0.05$)。

3　讨论

使用双侧颈总动脉结扎建立慢性脑灌注不足和血管性痴呆模型的方法, 效果是肯定的[6]。

大鼠在慢性脑缺血后出现认知行为改变, 从穿梭箱试验结果可以看出, 与对照组比较, 慢性脑灌注不足 2 月及 4 月后大鼠学习能力(PAR)均下降, 4 月较 2 月明显, 经统计学处理差异非常显著; 大鼠学习能力(AAR)也下降, 缺血 2 月组与缺血 4 月组比较差异不显著, 说明缺血 2 月时, 大鼠学习能力已明显下降。

对突触的结构参数的研究[7,8]中发现: 在慢性脑灌注不足时, 脑皮层及海马突触数密度(Nv)明显下降, 这种数量减少在缺血 2 月内已经形成, 而 2 月后无进一步减少; 海马突触活性带长度(L)及突触连接带圆盘面积(S)随缺血时间的延长逐渐减小, 皮层突触活性带长度(L)及突触连接带圆盘面积(S), 在慢性脑灌注不足后未见明显改变; 突触的表面密度(Sv)是突触数量和大小的综合性指标, 反映的是突触连接带表面积在组织中的密度, 本实验中发现皮层及海马 Sv 随缺血时间的延长逐渐减小; 以上结果提示血管性痴呆大鼠脑组织中存在突触数量减少及突触连接活性带缩小, 导致传递神经递质的突触连接带的表面积减少。

本研究发现, 认知行为的改变和突触的数量、大小的改变一致, 大鼠学习能力的下降和突触数量的下降

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

有关，和突触活性带的缩小有关。

在各种痴呆患者中，神经递质的改变非常相似，多数神经递质都呈减少趋势。包括胆碱能神经递质[9]、单胺类神经递质[10]。本实验中发现的慢性脑灌注不足条件下的突触数量及体积的向下调节，与神经递质含量的下调是一致的，与认知功能的缺损是一致的。但是突触数量和体积下降的机制有待进一步研究。

参考文献：

[1] 田春海，周从乐，苗鸿才. 新生大鼠缺氧缺血后远期海马 CA1 区神经元和突触的变化和药物干预的效果[J]. 中国围产医学杂志，1999，2(1)：33－35.

[2] 宿宝贵，许鹿希. 大鼠海马结构在空间辨别性学习记忆时的突触形态可塑性的定量研究[J]. 解剖学研究，2000，22(1)：40－42.

[3] 王怀星，姚志彬，顾耀铭，等. 老年性记忆减退大鼠内侧隔核突触结构的改变[J]. 神经解剖学杂志，2000，16(1)：40－44.

[4] 章子贵，杜红燕，姜建明，等. 衰老过程中小鼠学习记忆和脑内突触结构参数变化的相关性[J]. 神经解剖学杂志，1998，14(2)：147－151.

[5] Brunso B J K, Linville M C, Sonntag W E. Age-related synaptic changes in sensorimotor cortex of the Brown Norway X fischer 344 rat[J]. Brain Res, 2000, 872(1－2)：125－133.

[6] Hideaki W, Hidekazu T, Ichiro A. Protective effect of cyclosporin A on white matter changes in the rat brain after chronic cerebral hypoperfusion[J]. Stroke, 1995, 26(6)：1415－1422.

[7] Horvath T L, Garcia S L M, Naftolin F. Lack of gonadotropin－positive feedback in the male rat is associated with lack of estrogen-induced synaptic plasticity in the arcuate nucleus[J]. Neuroendocrinology, 1997, 65(2)：136－140.

[8] Pierce J P, Milner T A. Parallel increases in the synaptic and surface areas of mossy fiber terminals following seizure induction[J]. Synapse, 2001, 39(3)：249－256.

[9] 王玉春. 早老性痴呆症的治疗药盐酸多奈哌齐的开发应用[J]. 国外医药：抗生素分册，2000，21(5)：232－235.

[10] 马晓明，朱笛霓，韦强等. BKHJ 中药对 6-OHDA 损毁 NA 上行背束大鼠脑内单胺类递质的影响[J]. 陕西中医，2000，21(8)：381－382.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)12-1390-02

老年妇女乳腺癌病人术后肢体功能康复的指导

Guidance for the rehibilitation of limbs in aged women after operation for breast cancer

原莉莉，陈显春 （第三军医大学附属西南医院普通外科，重庆 400038）

更年期及老年期是妇女乳腺癌的高发年龄，妇女在更年期后平均有 25 年以上的生命过程[1]。本研究就 1995－2000 我科收治 272 例乳腺癌病人中 60 岁以上患者 52 例(19 %)进行分析，探讨其术后肢体功能康复问题。

1 临床资料

1.1 一般资料

1995－2000 年 1 月，共收治乳腺癌患者 272 例，其中 60 岁以上 52 例，平均年龄 65 岁。60～69 岁占 71%，70～79 岁占 23%，80 岁以上 3 例。病程 1.5 月至 8 年，平均 11 个月。肿块直径大于 2 cm 者 28 例，2～5 cm 者 19 例，小于 5 cm 者 5 例。病变左侧 27 例，右侧 23 例，双侧 2 例。

1.2 临床分期及病理类型

Ⅰ期 14 例(27 %)，Ⅱ期 22 例(42 %)，Ⅲ期 12 例(23 %)，Ⅳ期 4 例(8 %)。病理类型为浸润性导管癌 20 例，腺癌 21 例，单纯癌 5 例，髓样癌 4 例，小叶癌 2 例。

1.3 生育及哺乳情况

本组患者半数以上生育 2～3 胎。未哺乳者 5 例。

1.4 治疗情况

① 住院至手术后 5～14 d，平均 10 d。② 均全麻插管。术中 ECG 监测 50 例，发现术中房早 7 例，室早 6 例，心率不齐 4 例。③ 术式：改良根治术 28 例，扩大根治术 13 例，根治术 6 例，单纯乳房切除 2 例，姑息性手术 3 例。

2 患侧肢功能锻炼的方法

由于乳腺和相关皮肤脂肪等组织被切除，尤其胸大小肌切除者，患侧肢功能近期明显下降。指导患者早期进行患侧肢功能锻炼，尽快恢复患肢功能，是治疗计划中的重要组成部分。

2.1 爬墙运动[2]

患者面对墙站稳，平肩前伸双臂手掌抵墙，以指尖逐渐向上“爬行”。开始患侧肩爬行数厘米后有酸痛感时，作一标记。每天锻炼 3～4 次，要求每天上爬增高 1～3 cm，坚持 1～2 月，患肢上举功能可满意恢复。

2.2 托肘上举

用健侧手掌托起患侧肘关节，双手同时用力使患肢上举至出现酸痛，每天锻炼 2～3 次，每次 5～10 min，每天需有新的上升高度。

2.3 直臂旋转[2]

取 1 m 软绳一根，一头系于床架，患肢握另一头并伸直肘关节，健肢叉腰。顺时针方向摇旋软绳直到患侧肢肩关节酸痛。每天练习数次。

2.4 轮回摸耳

患者低头用患侧手经头顶扪对侧耳廓渐渐抬头，反复训练逐渐达到能完全抬头为目标，对改善肩部肌肉强直有明显作用。

（下转 1393 页）

作者简介：原莉莉(1968－)，女，吉林省抉育县人，主管护师，主要从事乳腺癌护理方面的研究，发表论文 6 篇。电话：(023)68752827

收稿日期：2001-01-17；修回日期：2001-06-03

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net