DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.06.014
第23卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 6
2001年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2001

文章编号:1000-5404(2001)06-0655-03

论著

低压低氧对大鼠海马神经元NMDA受体发育影响的研究

黄 辉,阮怀珍,吴喜贵,范晓棠,张金海 (第三军医大学基础医学部神经生物学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 观察低压低氧环境对海马发育过程中学习记忆、NMDA受体1和生长抑素mRNA表达的影响。方法 采用模拟高原低氧模型,运用原位杂交及行为学技术。结果 低压低氧环境使NMDA受体1和生长抑素mRNA的表达发生改变,大鼠的主动回避反应和空间学习记忆能力下降。结论 低压低氧环境可以通过改变NMDA受体和生长抑素的表达而对学习记忆产生一定的影响。

关键词:高原低氧;学习记忆;NMDA受体;生长抑素
中图法分类号:R338.26;R594.3 文献标识码:A

Effect of hypobaric hypoxia on NMDA receptor of hippocampus neurons in developing rats

HUANG Hui, RUAN Huai-zhen, WU Xi-gui, FAN Xiao-tang, ZHANG Jin-hai (Department of Neurobiology, Third Military Medical Univesity, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the effect of hypobaric hypoxia on learning and memory abilities, NMDA receptor 1 and somatostatin mRNA expressions during the development at stage of hippocampus. Methods *In situ* hybridization hitochemical method and behaviour training were used in the rat model of hypobaric hypoxia. Results The active avoidance reaction and spatial memory ability were impaired in rats under hypobaric hypoxia. NMDA mRNA and somatostatin mRNA were overexpressed in the first 3 d and then down-regulated in the next few days under hypobaric hypoxia. Conclusion NMDA receptor and somatostatin is involved in the learning and memory changes in rats under hypobaric hypoxia.

Key words: hypobaric hypoxia; learning and memory; NMDA receptor; somatostatin

我们前期的研究发现,在高原低氧环境下,下丘脑多种神经肽的合成和释放受到影响[1]。现在认为在急性缺氧状况下,脑内兴奋性氨基酸浓度升高,可能会导致兴奋性神经毒性的发生,以致大量神经元的死亡[2]。而海马作为学习记忆功能的一个重要功能区域,高原低氧环境可能会对的海马的生长发育产生一定的影响。本实验采用高原低氧模型,运用原位杂交及行为学技术,观察高原低氧对海马发育过程中学习记忆、NMDA受体和生长抑素mRNA的表达的影响,以探索高原低氧环境对学习记忆影响的分子机制。

1 材料与方法

1.1 动物及模型

将28只健康P7 Wistar大鼠及母鼠置于模拟高原低压氧舱内,海拔相当高度5 000 m,每天持续低氧12 h。分别缺氧3 d(n=6),7 d(n=6),14 d(n=6),28 d(n=22),42 d(n=6)。对照组为正常饲养的同龄大鼠。

1.2 原位杂交实验

①生长抑素原位杂交试剂盒由第三军医大学组胚教研室提供,冰冻切片经Triton X-100、蛋白酶K处理,多聚甲醛后固定,乙酸酐及SSC处理,预杂交2 h,45 ℃杂交16~20 h,加碱性磷酸酶结合的抗地高辛抗体37 ℃孵育1 h,NBT/BCIP显色。②NMDAR1原位杂交试剂盒由博士得公司提供。切片经0.5%的H_2O_2、胃蛋白酶处理,多聚甲醛后固定,预杂交2 h,37~40 ℃杂交16~20 h,分别经兔抗地高辛、生物素化羊抗兔、SABC 37 ℃孵育1 h,DAB显色。

1.3 行为学实验

对低氧28 d组进行行为学训练。①主动回避反应,采用爬杆主动回避反应箱,每天训练20次,以正确反应率连续3 d都在80%以上为习得标准。习得后只给予灯光信号5 s,不给予电击,观察习得以后不同时间AAR正确率的变化。②空间学习记忆实验:以水迷宫实验检测大鼠的空间学习记忆能力。实验历时5 d,每天上午、下午各训练4次。取实验第4、5天逃避潜伏期,计算其均数。第5天下午进行空间探索实验,撤除平台,记录在120 s穿过平台的次数。

1.4 数据处理及统计学检验

原位杂交实验中分别计数每张切片海马生长抑素mRNA阳性细胞数及40× 10视野下NMDA受体mRNA阳性细胞数,每个动物计数5张切片,每张切片分别计数4个视野。实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,用t检验进行组间检验。

2 结果

2.1 高原低氧对大鼠海马NMDAR1 mRNA表达的影响

正常对照组大鼠海马NMDAR1 mRNA在生后早期处于较低水平,此后逐渐上升,出生后的2~3周是NMDAR1 mRNA表

基金项目:全军"九五"医药卫生科研基金资助项目(98M089)
作者简介:黄 辉(1975-),男,湖南省双牌县人,硕士研究生,助教,主要从事高原低氧环境对中枢神经系统的影响方面的研究。电话:(023)68752232
收稿日期:2001-02-01;修回日期:2001-04-30

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

达量最高的时候，此后逐渐下降。新生大鼠在低氧第 3 天，海马 CA1、CA3 区的 NMDAR1 mRNA 的表达升高，第 7 天两个区域 NMDAR1 mRNA 的表达开始下降，14 d 时已经降至低于正常水平，28 d 后达到最低水平，在 42 d 基本趋于稳定，见图 1。

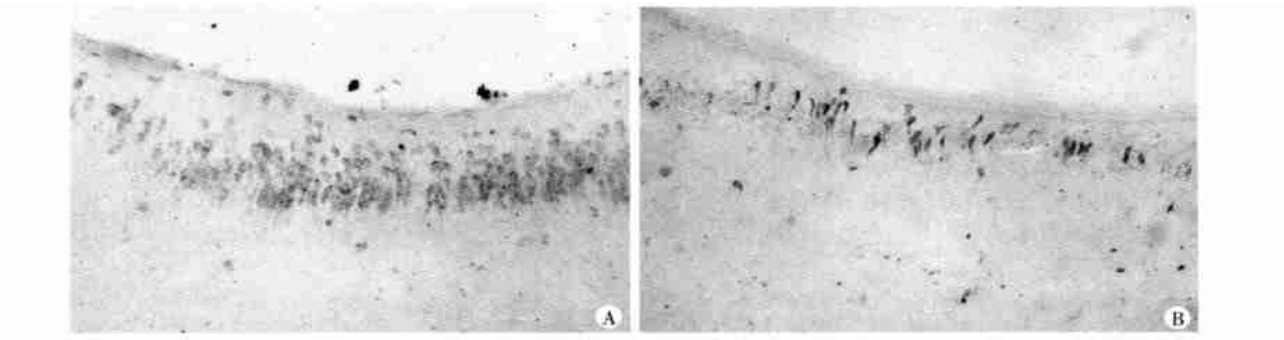


图 1 大鼠海马 CA3 区 NMDA 受体 1 mRNA 表达 (× 100) A：缺氧 3 d；B：缺氧 28 d

Fig 1 Expression of NMDA receptor 1 mRNA in hippocampus CA3 after hypobaric hypoxia (× 100) A：3 d；B：28 d

2.2 高原低氧对大鼠海马生长抑素 mRNA 表达的影响

在低氧后第 3 天，大鼠海马 CA1、CA3 区及齿状回的生长抑素 mRNA 的表达升高，在 1 周后两者的表达开始下降，2 周时已经降至低于正常水平，见表 1。

表 1 高原低氧对大鼠海马生长抑素 mRNA 阳性神经元数的影响

Tab 1 Somatostatin mRNA expression in hippocampus at different time after hypobaric hypoxia

Region	Control	3 d	7 d	14 d	28 d	42 d
CA1	25.0±5.0	33.5±3.5*	36.3±4.2*	28.7±2.9	21.8±5.4*	20.5±4.8*
CA3	19.5±3.8	23.5±3.5*	25.2±3.0*	21.8±3.3	15.8±2.2	18.2±3.3
DG	17.1±3.0	43.7±7.9**	51.3±5.4**	33.8±5.0*	16.7±2.4	14.5±4.2

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* control

2.3 低氧对大鼠 AAR 习得率和消退率的影响

在 AAR 习得训练中，两组大鼠随训练天数的增多，AAR 习得率逐渐增高，但正常大鼠的习得率增高更为显著，见表 2；低氧后大鼠学习爬杆所需时间由(7.67±2.29)d 增加到(13.67±4.06)d，而消退实验中，正常大鼠消退明显慢于低氧大鼠，见表 3，表明低压低氧对大鼠的 AAR 有明显的抑制作用。

表 2 低压低氧对发育大鼠主动回避反应习得率的影响(%)

Tab 2 Ontogenetic different of AAR acquisition of hypobaric hypoxia and control rats(%)

Group	1 d	3 d	5 d	7 d	11 d	17 d
Hypobaric	2.9±3.7	11.0±20.1**	15.5±24.0**	21.9±34.2**	47.22±40.1**	87.8±12.0
Control	6.1±10.0	21.7±22.5	41.7±24.1	61.7±30.8	88.3±9.7	92.1±6.2

**：$P<0.01$ *vs* control

表 3 低压低氧对发育大鼠主动回避反应消退率的影响(%)

Tab 3 Ontogenetic difference of AAR extinction of hypobaric hypoxia and control rats(%)

Group	Pre-extinction	d1	d3	d5	d7
Hypobaric	87.8±12.0	70.2±22.1**	50.2±28.7**	30.1±26.6**	11.5±18.3**
Control	92.1±6.2	87.2±15.4	80.3±18.0	65.0±23.3	30.6±38.2

**：$P<0.01$ *vs* control

2.4 高原低氧对大鼠空间学习记忆能力的影响

以水迷宫实验检测大鼠空间学习记忆能力，在低氧后大鼠水迷宫实验的平均潜伏期由(9.3±4.6)s 上升到(15.6±11.0)s($P<0.05$)。撤去平台后跨越平台的次数由(7.3±1.8)次下降到(4.0±1.4)次($P<0.05$)。

3 讨论

低氧对中枢神经系统的影响是一个极为复杂的过程，它能影响多种神经递质的合成和分泌，进而影响动物的学习记忆等高级功能。对登山者的调查研究发现登山以后运动员的记忆力、反应速度以及注意力都受到一定的损害，并且这种损害可以持续 2 个月以上[3]，但目前高原低氧对学习记忆功能的影响的机制尚不清楚。

在大脑发育过程中 NMDA 受体的激活介导了神经元的生长、突触可塑性以及 LTP 形成等一系列的重要生理功能，但是受体的过度激活对却会对机体产生病理学改变。一般认为，在急性缺氧状态下大鼠脑内的谷氨酸等兴奋性氨基酸的浓度急剧升高，引起 NMDA 受体的大量表达，通过 NMDA 受体介导的兴奋性氨基酸神经毒作用，引起神经元死亡。

而在长期的高原环境下，由于氧的缺乏，能量供应不足，进而影响到蛋白质的合成。Meyer 等[4] 在大鼠出生后第 1～10 天，每天低氧 10 h，造成一个中度慢性间断性低氧模型，然后恢复 3 个月，核糖体绝对数量没有改变，但粗面内质网的膜延长，而且上面附着核糖体的密度减少，游离的多核糖体数目增加，因此在缺氧后，蛋白合成能力的下降是一个长期的过程。Widmann 等[5] 认为缺氧损伤后海马细胞种粗面内质网结合的核糖体的解聚和蛋白质合成的抑制使其对 NMDA 基因的转录和(或)翻译功能下降，从而影响受体的合成和功能。

研究发现，海马和新皮层的 SOM 与学习记忆关系密切，他能促进学习记忆活动。长期高原低氧环境下 NMDA 受体的下调可能会引起生长抑素 mRNA 表达的改变，我们在实验中观察到生长抑素和 NMDA 受体的表达趋势基本一致。文献[6] 也在实验中发现谷氨酸激活 NMDA 受体可引起培养的大脑皮层神经元生长

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

抑素的释放，这种作用可被 NMDA 受体拮抗剂 AP-V 翻转。

我们用爬杆实验观察大鼠的主动回避反应能力，用 Morris 水迷宫实验观察大鼠的空间学习记忆能力。经过长期的高原低氧后，大鼠的学习记忆能力下降，NMDA 受体和生长抑素的合成分泌紊乱可能是其中的一个原因，对此问题的进一步研究将为防治高原低氧引起的脑损伤提供参考和依据。

参考文献：

[1] 阮怀珍，范晓棠，张金海，等. 高原低氧对大鼠下丘脑生长抑素和 γ-氨基丁酸含量的影响[J]. 中国病理生理杂志，2000，16(1)：17－19.
[2] Saransaari P, Oja S S. Release of endogenous glutamate, aspartate, GABA, and taurine from hippocampal slices from adult and developing mice under cell-damaging conditions[J]. Neurochem Res, 1998, 23(4): 563－570.
[3] Cavaletti G, Tredici G. Long-lasting neuropsychological changes after a single high altitude climb[J]. Acta Neurol Scand, 1993, 87(2): 103－105.
[4] Meyer U, Doelle B. Long-lasting shifts in ribosomal systems of hippocampal granular neurons due to early postnatal hypoxia[J]. J Himforsch, 1988, 29(3): 237－242.
[5] Widmann R, Miyazawa T, Hossmann K A. Protective effect of hypothermia on hippocampal injury after 30 minutes of forebrain ischemia in rats is mediated by postischemic recovery of protein synthesis[J]. J Neurochem, 1993, 61(1): 200－209.
[6] Tapia-Arancibia L, Astier H. Pharmacological properties of the NMDA receptor involved in somatostatin release from cortical neurons[J]. Eur J Pharmacol, 1990, 186(2－3): 319－322.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2001)06-0657-01

个案与短篇

乌拉地尔和尼卡地平针剂治疗高血压急症的护理观察

Observation on the nursing care of treating emergent hypertensive patients with urapidil and nicardipine ampule

于瑞英，谭建聪，邓 英 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所护理部，重庆 400042）

高血压急症是一种临床常见危重症，如不及时处理可导致病人心、脑、肾等靶器官的严重损害，甚至危及患者生命。本研究观察乌拉地尔和尼卡地平的降压效果及副作用，对指导临床治疗高血压急症用药及护理高血压急症患者有着重要的意义。

1 对象和方法

对象：高血压急症诊断参照文献[1]。选取高血压急症患者共 30 例，按性别、年龄及血压程度配对，分为乌拉地尔组和尼卡地平组各 15 例，见表 1。

方法：用汞柱式血压计测量血压。两组病人用药均采用治疗剂量：①尼卡地平组尼卡地平用法：20 mg 加入 5% 葡萄糖注射液 500 ml 静滴，首先滴速 400 μg/min，血压开始下降后，继以 200 μg/min 维持量。②乌拉地尔组 乌拉地尔用法：50 mg 加入 5% 葡萄糖注射液 250 ml 静滴，首先滴速 40 μg/min，血压开始下降后，继以 20 μg/min 维持量。

疗效判定：以收缩压下降 25% 为有效[2]。

统计学分析：用配对资料 t 检验。

表 1 乌拉地尔组和尼卡地平组病人的临床特点

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	平均动脉压(mmHg)	体重指数(kg/m²)	靶器官损害		
								心	脑	肾
乌拉地尔组	15	8/7	57±5	214±19	114±14	137±7	22.7±2.4	6	3	0
尼卡地平组	15	8/7	58±7	216±17	108±11	138±8	23.1±2.0	5	4	1

1 mmHg=0.133 kPa

2 结果

疗效：两组病人治疗后血压均有明显降低，但乌拉地尔组较尼卡地平组起效快，1 min 血压即开始下降，尼卡地平组约在 3 min 时血压开始下降，约 10 min 时两者血压下降幅度开始接近，见表 2。

表 2 两组病人降压效果观察

组别	首量后收缩压/舒张压下降幅度(mmHg)			维持量后收缩压/舒张压下降幅度(mmHg)		
	1 min	3 min	5 min	10 min	30 min	60 min
乌拉地尔组	10±3/5±2	13±8/6±4	31±21/10±8	41±17/15±10	58±18/23±12	64±25/31±19
尼卡地平组	5±5/2±1 **	11±6/4±3 *	23±15/6±4 *	35±16/10±8	50±17/20±10	55±13/29±18

*：$P<0.05$ **：$P<0.01$ 与乌拉地尔组比较；1 mmHg=0.133 kPa

副作用：常见的副作用为低血压(< 90/60 mmHg)、心动过速(> 100 次/min)、面红、头痛、头晕、恶心等，低血压以乌拉地尔组略多见，多在 10～30 min 内出现，但其它副作用如头晕、恶心、面红等均以尼卡地平组多见。

作者简介：于瑞英(1961－)，女，河北省景县人，主管护师，主要从事消毒、护理管理、内科护理方面的研究，发表论文 6 篇。电话：(023)68757412

收稿日期：2000-11-30；修回日期：2001-03-15

（下转 660 页）

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