DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.04.025

锌对大鼠发育脑海马超微结构的影响

孔祥英 卞修武* 任榕娜 白家驹 (第三军医大学附属西南医院儿科)重庆,630038

提 要 通过电镜观察从哺乳期开始缺锌(ZD)、高锌(ZE)大鼠脑海马 CA_3 区的超微结构,发现 ZD组锥体细胞突触小泡减少,ZE组锥体细胞、胶质细胞、突触等均有不同程度变性,突触小泡破裂。结果提示海马超微结构的变化是 ZD和 ZE影响学习记忆的物质基础或机理之一。

关键词 缺锌;高锌;海马;超微结构
中图法分类号 R723.21-3

锌对脑的发育和功能方面具有重要作用,缺锌可导致严重的记忆力丧失和学习能力下降[1]。然而缺锌,尤其高锌所致海马超微结构变化的报道较少。我们观察了从哺乳期开始缺锌、高锌幼鼠脑海马的超微结构变化,以期探讨影响学习记忆的机理。

1 材料与方法

1.1 动物模型建立

自建动物模型,采用 Wistar健康临产大鼠 9只,随机分为3组,每组 3只,单笼饲养于塑料笼具中。从产仔当日起分别饲以缺锌饲料[2](含锌 2 mg/kg)、高锌和对照饲料(于缺锌饲料中加入硫酸锌使锌含量分别为 1000 mg/kg、100 mg/kg)。3组均自由饮用去离子水(含锌 < 0.01 mg/kg)。食具为玻璃器皿,使用前用酸浸泡后用去离子水冲洗 3次,每日用重蒸水冲洗。动物房洁净无尘,室温控制在 20℃左右,湿度 50%左右。光照与黑暗人工控制各 12 h,严格控制环境中锌污染。仔鼠由母鼠授乳至 28 d断乳分笼,每笼 2只饲于不锈钢笼具中,继续分别饲以缺锌、高锌和对照饲料,饮用去离子水。每天在同一时间记录食量,每 10 d测体重 1次,50 d龄时进行实验。参加实验幼鼠每组各 14只。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 微量元素锌测定 采用美国 IL-AA951型原子吸收分光光度计测定饲料锌、血清锌和海马锌含量。

1.2.2 称重 实验当日晨起取每组 10只幼鼠称记体重,处死后立即取大脑及一侧海马分别称重记录。

1.2.3 海马 CA_3 区超微结构观察 随机取每组幼鼠各 4只,固定于平板上,用 2%多聚甲醛和 2.5%戊二醛经左心室升主动脉灌注内固定脑组织 20 min后分离脑,取右海马 CA_3 区组织切成 1 mm×1 mm×0.5 mm额状位切块,用 2.5%戊二醛固定后浸于 10%蔗糖磷酸缓冲液中,置 4℃冰箱过夜,再用 1%锇酸固定 2 h,丙酮常规脱水,环氧树脂 618包埋制成 1 μm半薄切片,美蓝染色,光镜下选锥体细胞层,用 LKB-V超薄切片机切片,片厚 50 nm,以醋酸铀和柠檬酸铅双染色后在 H-300型透射电镜下观察。

2 结果

2.1 各组幼鼠生长发育情况

由表 1可见幼鼠的体重变化及饲料效价。从 15 d龄起缺锌(Zinc deficiency, ZD)、高锌(Zinc excessive, ZE)组仔鼠食欲日渐减退,毛发色泽渐差,断乳后上述症状日益明显,食欲更差,活动少,毛发失去光泽、微黄、稀疏及脱落;精神萎靡,且有腹泻。ZD组少数幼鼠眼睛有粘稠分泌物;ZE组约 50%出现脂溢性皮炎,易激惹,少数行为异常,个别有咬食同类现象。对照组(Control, C)饲料随意,则食欲好,活泼好动,毛发乳白浓密有光泽。

表 1 锌对体重和饲料效价的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effect of Zn on body weight and feed efficiency ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Birth weight (g)	Weanling weight (g)	Terming weight (g)	Feed efficiency△
C	10	6.19±0.25	119.37±7.25	246.25±5.18	0.1736±0.0018
ZD	10	6.26±0.25	85.33±10.34*	162.00±23.07*	0.1347±0.0034*
ZE	10	6.17±0.25	68.33±4.00*	106.00±10.49*	0.1193±0.0067*

△: Feed efficiency= increased weight (g)/intake (g); *: $P<0.01$ *vs* control

* 基础部病理解剖学教研室 重庆,630038

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

2.2 幼鼠脑重及血清、海马组织锌浓度(见表 2)

表 2 大脑和海马重量及血清、海马组织锌含量($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Weight of brain and hippocampus, Zn content of serum and hippocampus ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Brain weight (mg)	Hippocampus weight (left side, mg)	Serum Zn (μmol/L)	Hippocampal Zn (μg/g)
C	10	1813.70± 112.14	61.53± 12.94 (6)	42.88± 11.58	53.34± 15.50
ZD	10	1620.29± 72.45*	39.54± 10.37 (6)*	24.00± 5.78*	32.77± 4.80*
ZE	10	1557.97± 96.73*	42.4± 11.94 (7)**	170.72± 38.09*	588.55± 12.00*

*: $P<0.01$ *vs* control; **: $P<0.05$ *vs* control

2.3 各组脑海马 CA_3 区超微结构观察

AL组海马 CA_3 区神经元细胞体较大,细胞核成圆形,核膜光滑无皱折,有核孔,核内常染色质丰富,偶见核仁,胞质中富含各种细胞器如 Golgi氏器、线粒体、粗面内质网、核糖体、溶酶体、脂褐素、微管等,少突、星状胶质细胞及有髓和无髓神经纤维均正常;突触内小泡较多(图 1)。ZE组锥体细胞、胶质细胞及突触均见不同程度的变性,粗面内质网扩张、核糖体脱落、线粒体显示嵴断裂或空化;胶质细胞染色质边集,核周间隙增大;有髓纤维呈不同程度的变性,轴突内容物溶解,突触小泡破裂(图 2),无髓纤维内细胞器变性及空化(图 3),毛细血管周围胶质膜水肿。ZD组见锥体细胞突触小泡减少,细胞器减少或溶解消失(图 4, 5)。

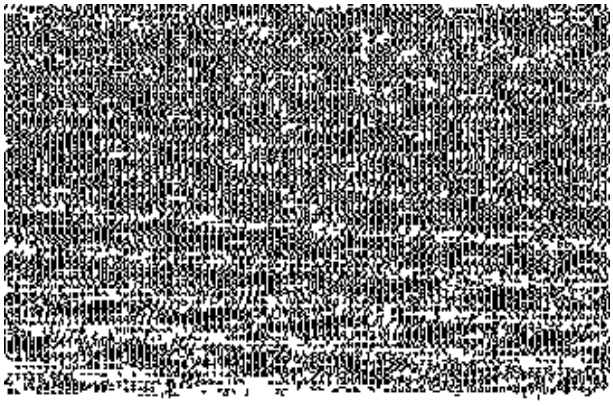


图 1 正常组神经突触内突触小泡(★)数量和形态正常 (TEM× 15000)

Fig 1 No changes in number and morphology of synaptic vesicles in the synapses of AL group (TEM× 15000)

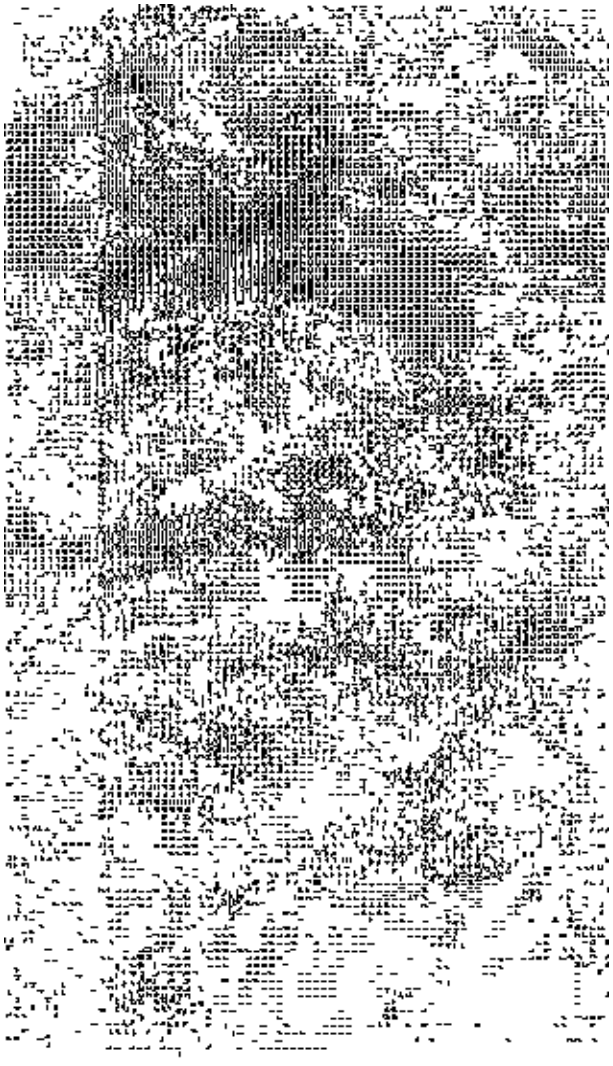


图 3 高锌组可见神经轴突(▲)肿胀,其内细胞器严重变性或消失 (TEM× 15000)

Fig 3 Severe damage or disappear of cellular organelles in swollen axon (▲) of ZE group (TEM× 15000)

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



图 5 缺锌组神经突触内小泡溶解、消失(☆)
(TEM× 15000)

Fig 5 Lysis or disappearance of the synaptic vesicles (☆) in the neruon of ZD group (TEM× 15000)

3 讨论

锌是人体和哺乳动物生长发育不可缺少的必需微量元素,它参与包括 DNA RNA聚合酶在内的多种酶合成,与 200多种酶的活性有关。机体缺锌时上述酶的合成和活性受到抑制致使生长发育障碍。本文建立的高锌幼鼠模型与 ZD组一样生长发育障碍,与体内锌过量堆积影响酶的活性有关,致使 ZE幼鼠体重增长值、饲料效价与 ZD组一样非常明显地低于对照组。

缺锌可使胚胎发育期的鼠脑致畸。本实验观察了从哺乳期开始缺锌造成亚慢性缺锌幼鼠模型的海马 CA_3 区超微结构,发现突触小泡减少。这可能与突触发育的关键期是孕 6月至生后数月有关,而我们的动物模型建立正好是从相当于人类的孕中期开始至幼儿期结束,此时缺锌影响了突触小泡和细胞器的发育。Less[3]在大鼠海马组织内注入 5~ 10μmol锌化物 8 h后,海马组织即出现神经细胞变性及 Nissl小体溶解和消失,得出急性锌中毒可损害大鼠海马组织的结论,而且在注入锌化物 3周后可出现神经胶质细胞损伤。本实验制作的亚慢性锌中毒模型幼鼠海马 CA_3 区无论是锥体细胞还是胶质细胞均有不同程度变性,突触小泡破裂,可能与过量锌对神经细胞的直接损害有关[4],同时也可能与机体在高锌状态下直接抑制了铁和铜的吸收致低铁、低铜有关[5]。机体缺铜时也可致神经元、胶质细胞等变性[6]。

海马是学习记忆的重要核团,是哺乳动物长期记忆储存的场所。在中枢神经系统信息的储存是通过无数突触联系来完成的。信息首先被大脑皮层接受,储存于海马。长期记忆是海马部位神经突触的突出生理功能。而在缺锌时突触泡减少,高锌时除神经元、胶质细胞等变性外,突触小泡破裂,这些变化无疑会影响海马的学习记忆功能,也是锌影响学习记忆的物质基础或机理之一。锌在海马中的生物学功能已受到众多学者的关注[7~10],本实验结果也提醒人们从孕期、哺乳期开始合理补锌对优生优育的重要性。

参考文献

1 Halas ES, Hunt CD, Eberhardt MJ. Learning and memory disabilities in young adult rats from mildly zinc deficient dams. Physiol Behav, 1986; 37(3): 451

2 Flanagan PR. Amole to produce zinc deficiency in rats and its use to demonstrate that dietary phytate increase the excretion of endogenous zinc. J Natr, 1984; 114: 493

3 Less GJ, Lehmann A, Sandberg M *et al*. The neurotoxicity of zinc in the rat hippocampus. Neurosci Lett, 1990; 120(2): 155

4 Chio DW, Yokoyama M, Roh J. Zinc neurotoxicity in cortical cell culture. Neuroscience, 1988; 21(1): 67

5 吴嘉惠.饲料锌对锌、铜、铁代谢的影响.微量元素与健康研究, 1995; 2(2): 101

6 吕长虹,罗素芬,黎海芪等.缺铜性脑损伤的实验病理研究.中华病理学杂志, 1994; 23(4): 227

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

7 Cuidolin D, Polato P, Venturin G *et al*. Correlation between zinc level in hippocampal mossy fibers and spatial memory in aged rats. Ann N Y Acad Sci, 1992; 673: 187
8 Xie XM, Smart TG. A physiological role for endogenous zinc in rat hippocampal synaptic neurotransission. Nature, 1991; 349(6390): 521
9 Lambert NA, Levitin MD, Harrison NL. Induction of giant depolarizing potentials by zinc in area CA of the rat hippocampus does not result from block of GABAB reseptors. Neurosci Lett, 1992; 135(2): 215
10 Turgeon SM, Albin RL. Zinc modulates GABAB binding in rat brain. Brain Res, 1992; 596(1~2): 330

(收稿: 1995-07-13;修回: 1996-05-01)
(编辑 张大春)

Effects of zinc on the ultrastructure of hippocampus in developing rats

Kong Xiangying, Bian Xiuwu, Ren Rongna, Bai Jiasi (Department of Pediatrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The ultrastructure of the CA_3 region of the hippocampus was observed with electron microscopy in zinc-deficient (ZD) and zinc-excessive (ZE) rats from their breast-feeding stage and onward. The findings were as follows: (1) The number of synaptic vesicles of the pyramidal cells was decreased in ZD rats. (2) Various degrees of degeneration of the neurons, glial cells and synapses and rupture of synaptic vesicles were seen in ZE animals. These findings suggest that the changes of hippocampal ultrastructures might be one of the fundamental mechanisms of the changes of the learning and memory capacity in ZD and ZE rats.

Key words zinc-deficiency; zinc-excess; hippocampus; ultrastructure; rat

使用《军队医院医疗信息管理系统》的问题与解决办法

Problems and solutions in using the Army Hospital Medical Information and Management System

黄 英 (第三军医大学附属西南医院病案室) 重庆, 630038

《军队医院医疗信息管理系统》是总后卫生部于 1992年推出的全军统一的医疗信息管理软件,并要求全军各医院从 1993年开始启用。该系统直接为医院分级管理的评审和优质服务的评比检查服务。我院于 1993年 7月 1日正式使用此系统,经过近 3年的应用,系统运行良好,但对在院伤病员管理中遇到一些问题,现将解决这些问题的办法介绍如下。

(1)统计科室与非统计科室,也即在编科室与非编科室。在编科室是上级机关规定的我院必须开设的科室,而非编科室是我院根据本院情况自行开的科室。在统计上如何合理处理二者的关系使上报表准确无误是一个值得讨论的问题。我院是在同一台微机上分别对统计科室与非统计科室进行系统安装,也即进行二次系统安装。在根目录下键入 YLGL回车,即可进入统计科室系统;在根目录下键入 FTJK回车,即可进入非统计科室系统。打出的报表统计科与非统计科在一份报表上,分二次打印。统计科与非统计科之间的转科病人不按转科处理,而是出院后又重新办入院手续,避免了因非统计科病人住院时间长等情况而影响统计科及全院的医疗指标。

(2)生成了不正确的次日日报表,如做完 1号日报,又生成了不正确的 2号日报。

① 2号有关日报的什么数据都未输。每天备份了当天数据,将流动报表和在院病人数据库中的数据恢复到机器内,日报日期就退回到了正确日期;每天若设备份数据,修改流动日报库、周报库的日期,修改月报库当月的日期项和占床日项,将日期项改成最近正确日报日期,占床日项在原有基础上,减去该类住院人数乘以修改天数(不正确日期 - 正确日期)。

② 已输入 2号的部份数据生成了不正确日报。每天备份了当天数据,处理同上;每天若未备份数据,就打开库来改。

(3)生成日报前发现转科有错。该转科病人只有这一次转科如 B科→ C科,可正确地撤消转科;该转科病人若往日已有一次转科如 A科→ B科→ C科,运行 116撤消出科伤病员,就会出现问题,只有在在院病人出院库中查该病人情况,保留 A科和 B科记录,删除或修改 C科记录,然后存盘退出即可。

(4)运行 113生成日报,屏幕显示"入科人员入院科室、身份、费别有错,请修改!"出现这种情况,就是输入了一个或多个空白记录的入院,有时是输完了入院卡片后,未选"2.结束"而又进入"1.下一张卡片",按 ESC键退出造成的空白记录。处理: 运行 115修改入科伤病员,将光标移至空白记录处,按 F8删除该条记录。

(5)当天入出(包括入死)的病人处理在最后一个出院,次日生成日报后,屏幕会出现"现在备份病案",因机器内此条记录无出院日期,次日的出院病人不能挨着进库,机器把这二个

(下转 346页)

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