DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.02.027

经验交流

胎脑提取液对隔—海马通路损伤大鼠学习和记忆的影响

Effects of fetal brain extract on learning and memory in rats with septo-hippocampal pathway injuries

隋建峰 熊 鹰 张长城 (第三军医大学基础部生理学教研室) 630038
熊 雄 (第三军医大学西南医院药剂科) 630038

近年来,脑移植治疗某些难治性神经系统疾病取得了可喜的进展。但是,移植物存活率低、移植技术难度大,影响了脑移植的临床开展和应用。直接从移植组织中提取其活性成分并用于脑功能疾患的治疗是一条值得探索的途径。为此,本实验以隔—海马通路损伤大鼠为模型[1],研究了人胎脑提取液(FBE)对脑损伤大鼠学习和记忆功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

Wistar大鼠46只,♀♂不拘,我校动物所提供。实验分两批进行:第一批动物用于观察FBE对学习的影响,23只大鼠随机分为皮层损伤+生理盐水(NS)组(对照组),隔—海马通路损伤+NS(损伤组),隔—海马通路损伤+FBE组(治疗组);第二批用于观察FBE对记忆的影响,分组情况同上。

1.2 隔—海马通路损伤

动物用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(30 mg/kg),固定于脑立体定位仪上,于左侧颅顶部开一骨窗,按大鼠脑定位图谱,用特制手术刀(2 cm长,0.8 mm宽),在前囟后1.8 mm,旁开1 mm处插入,深达5 mm,向左侧横切5 mm,完成左侧海马伞及部分穹隆横切术[1]。损伤范围包括左侧部分皮层,扣带回,海马联合,背穹隆及左侧海马伞。术后缝合头皮,肌注青霉素防感染。对照组只行部分皮层切断(假手术),手术深度为3 mm,其余同前。

1.3 行为训练方法

①学习能力训练与测试:在手术或假手术后一周开始,用微机控制的穿梭箱通过条件刺激与非条件刺激的结合训练大鼠,使其获得条件性回避反应(CAR)[2]。每天训练20次(一组),连续训练10 d。记录每天的CAR正确次数,并计算正确率(%),以此反应其学习能力;②记忆能力测试:受试动物首先应通过上述同样训练获得记忆(以CAR习得率连续3 d达80%作为达标标准),然后行手术或假手术,术后3 d开始测试记忆力。测试方法同训练过程基本一致,但只给条件刺激而不给非条件刺激,观察其回避反应,记录隔天CAR的保持情况(即消退情况),以CAR的保持率反应其记忆能力。

1.4 实验药品及给药方法

FBE按改良的Alkon[3]方法提取,蛋白含量为2 mg/ml,第一批动物的治疗组在伤后立即给药,采用腹腔给药途径,4 mg/次(2次/日),连续给药10 d。其余两组给予等量NS;第二批动物的治疗组于手术前3 d开始给药,剂量,给药途径同前,连续10 d。另两组给予等量NS。

1.5 实验设计

①FBE对隔—海马通路损伤大鼠学习能力的影响:一批动物均在手术或假手术后恢复一周,然后从术后第8天开始训练CAR习得。②FBE对隔—海马通路损伤大鼠记忆能力的影响:第二批动物首先进行行为训练,在CAR习得率"达标"后行隔—海马通路切断或假手术,于术后第三天开始进行CAR保持率的测试。比较开始测试后第1、3、5、7天各组CAR保持率的差异。

2 结果

2.1 隔—海马通路损伤后大鼠CAR习得率的改变及FBE对其影响

由附表可见:在训练开始后第三天,损伤组CAR习得率较对照组为低($P<0.05$),在第7~10天,两组的差异更为显著;在开始训练后第5~7天,FBE治疗组的CAR习得率较损伤组为高($P<0.05$),在第10天,两组差异更为显著($P<0.01$)。

附表 FBE对隔—海马通路损伤大鼠CAR习得的影响($\bar{x}\pm s$)

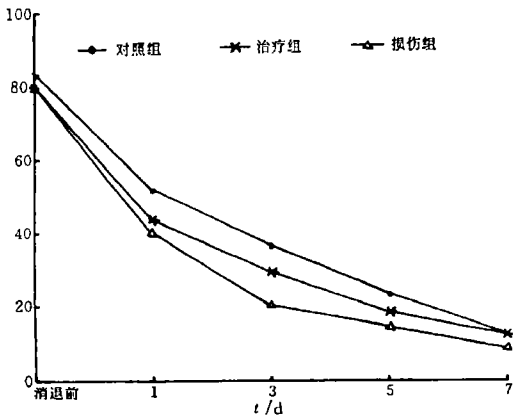
组别	n	CAR正确率(%)				
		第1天	第3天	第5天	第7天	第10天
对照组	7	10.6±5.7	36.9±8.2	59.4±7.9	70.1±10.3	81.5±11.6
损伤组	8	8.3±2.1	26.8±5.2※	32.4±6.3※※	43.8±11.2※※	52.1±10.9※※
治疗组	8	7.0±3.3	29.4±6.2	41.3±7.6	56.0± 9.7#	74.2±12.5##

※:$P<0.05$,※※:$P<0.01$,与对照组相比;#:$P<0.05$,##:$P<0.01$,与损伤组相比

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

2.2　隔－海马通路损伤后大鼠 CAR 保持率的改变及 FBE 对其影响

由附图可见，在开始测试后的第 1 天，损伤组 CAR 的保持率较对照组明显降低，并持续至测试的第 7 天；在开始测试后第 3 天，FBE 治疗组的 CAR 保持率较损伤组明显增高，并持续至测试的第 7 天。



附图　FBE 对隔－海马通路损伤大鼠 CAR 保持的影响

（$\bar{x}\pm s$）

3　讨论

海马伞和穹窿是中枢胆碱能神经传入海马的共同通路，而中枢胆碱能神经在学习记忆过程起重要作用[2~8]，因此，隔－海马通路损伤后大鼠的学习和记忆能力将明显下降，文献报道此类大鼠海马内胆碱能神经递质含量显著降低[1]，这符合我们的实验结果。

脑移植是近年来神经科学研究中活跃的研究领域，但将该技术应用于学习和记忆的报道甚少。移植技术及存活率问题是影响其开展和应用的重要原因。Gage[5]发现：胚胎脑组织移植于大鼠的海马内能改善其学习记忆障碍，本实验直接将 FBE 用于脑损伤后大鼠学习记忆障碍的治疗研究，发现 FBE 能够促进隔－海马通路损伤大鼠 CAR 的习得，延缓 CAR 的消退，对中枢损伤后的学习记忆障碍具有一定的改善作用，这为该领域的治疗研究提供了新的线索。

FBE 是从健康的胚胎脑组织（正常引产）中提取的生物活性物质，近年来的研究发现：FBE 具有广谱的肿瘤抑制效应，其效应成分主要分布在 10 kDa 以下的低分子组分[3]。它改善中枢损伤后学习记忆功能的研究迄今未见报道，其机理更有待于阐明。一般认为，中枢神经系统的可塑性及其损伤后的再生修复依赖于适宜的微环境，其中神经营养因子（NTF）的存在尤为重要，它能够促进神经细胞的生存，生长和分化并维持其正常功能[6,7]。研究表明[8]，胚胎脑组织中含有多种 NTF，包括神经生长因子（NGF），神经细胞存活因子（NSF），表皮生长因子（EGF）等。FBE 是否通过其含有的大量 NTF 实现其神经营养功能的，有待于进一步的实验证实。

关键词　胎脑提取液；学习；记忆

中图法分类号　R338.6

参考文献

1　汪家政，柳　川，华仲慰等. 大鼠隔－海马通路损伤对海马内递质含量及酶活力的影响. 生理学报，1990；42(3)：289

2　熊　鹰，张长城，张光辉. 冲击伤对大鼠条件性回避反应习得和保持的影响. 中国病理生理杂志，1993；9(4)：541

3　魏启胜，吴祖泽. 人胚胎脑组织中低分子肿瘤抑制物的实验研究. 中国应用生理学杂志，1991；8(3)：223

4　Alkon DL, Amaral DG, Beer MF et al. Learning and memory. Brain Res Review, 1991; 16: 193

5　Gage FH. Intrahippocampal septal grafts ameliorate learning impairments in aged rats. Science, 1984; 225: 533

6　Hefti F, Dravid A. Chronic intraventricular injections of nerve growth factor elevate hippocampal Choline acetyltransferase activity in adult rats with partial septo－hippocampal lesions. Brain Research, 1984; 293: 305

7　Snider WD, Johnson, EM. Neurotrophic molecules. Annal Neurol, 1989; 26: 489

8　王拥军. 神经营养分子. 国外医学：神经病学神经外科学分册，1991；18(3)：133

（收稿：1994-06-29；修回：1994-11-30）

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