DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.05.014

大鼠脊髓背根及其终末可塑变化的形态学研究

李兵仓 刘 枚 李 芳 伍亚民 廖维宏* （第三军医大学 野战外科研究所）630042

提 要 本文利用电镜体视学技术研究了大鼠保留背根（L_4）内神经纤维与L_3脊髓节段内神经终末的数目。同时应用银染技术显示了脊髓内神经纤维的分布和密度。光镜显示银染的神经纤维在脊髓两侧的分布和密度无区别。电镜计量表明，保留背根内无髓神经纤维的数目明显增加，其直径也有增粗的趋势。Ⅱ板层内简单终末和复合终末的数目均可在术后恢复至正常水平，同时也增粗变大。本文对这些变化做了初步讨论。

关键词 脊髓；脊神经背根；神经终末；可塑；体视学；鼠

为了进一步说明损伤区的突触前成份来自保留背根，本文再在以前[1]的基础上，用形态学技术研究了保留背根内神经纤维及脊髓内神经终末的有关变化。

1 材 料 与 方 法

实验选用雌性Wistar大鼠25只，体重170g左右。动物模型的制做同前[1]。术后35d，处死其中15只动物，分做HE、Holmes银染与电镜观测3组，每组用5只大鼠。另10只动物麻醉后，切断脊髓两侧L_4背根，再分做Fink-Heimer溃变银染与电镜溃变2组，每组也用5只大鼠。

石蜡切片厚5μm，常规HE染色显示保留背根及脊髓各部结构。Holmes神经纤维染色做8μm石蜡切片，Fink-Heimer溃变神经纤维染色用20μm冰冻切片，其染色方法均按鞠躬等[2]介绍的进行。

背根经定向包埋、电子染色和超薄切片（600Å）后，用JEM-2000EX电镜观察。共获3000×2.6=7800倍的电镜照片180张，然后按Weibel等[3][4]介绍的方法进行体视学测量和计算。所用测试板长17cm，宽12cm，实际测试面积为335.31μm^2，每一小方格的实际测试面积为0.41μm^2。实验中用面数密度(N_A)、线密度（L_V）代表神经纤维的数目，用平均横截面积（$\overline{A_X}$）和平均周长（$\overline{B_X}$）代表神经纤维的粗细，用体密度（V_V）综合评价神经纤维的粗细和数目。计算公式为：

$$(1)\quad N_A=\frac{Nxi}{a\times Pri} \qquad (2)\quad L_V=2\times P_A$$

$$(3)\quad \overline{Ax}=\frac{a\times Pxi}{Nxi} \qquad (4)\quad \overline{Bx}=\frac{\pi\cdot Z}{8}\times\frac{Ixi}{Nxi}$$

$$(5)\quad V_V=\frac{Pi}{P_T}=Ppi$$

式（3）中，a为测试点代表的测试面积，本实验为0.41μm^2。式（4）中，Z为小正方格边长的2倍，此处等于1.28μm。

脊髓内神经终末的体视学测量方法及所用测量板同前[1]。照片的放大倍数为8000×2.6=20800倍。每侧脊髓Ⅱ板层拍摄36张，共获720张电镜照片。测量参数除数密度用$N_V=\frac{K}{\beta}\times\frac{N_A^{3/2}}{V_V^{1/2}}$外，其余参数所用公式均同背根测量。在该式中，β为形状系数。神经终末为椭圆形球体，根据其轴比求得β=1.524。k是分布系数，本实验中神经终末的平均直径的变异系数为35%，据此求得k=1.169。

所有测量数据均做*t*检验分析。

---

* 指导者

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

2 结　果

2.1 光镜分析

Holmes银染主要显示了有髓神经纤维，其在左右两侧脊髓内的分布无差异，密度也无明显区别。光镜下无髓神经纤维难以辨认。Fink-Heimer银染显示的溃变神经纤维呈棕色短棒状，粗细不均，彼此密集交错，无法将其区分为有髓和无髓神经纤维。仔细观察脊髓各节段内溃变神经纤维的分布和密度，左右两侧无区别。

2.2 电镜分析

2.2.1 背根：大鼠背根内的无髓神经纤维电镜下清晰可认，其直径约0.2μm～1.5μm不等(图1～4)。由



图1. 术侧背根之电镜照片。有髓（MY）和无髓（UN）神经纤维清晰可辨。×5070

Fig. 1 Myelinated fibers (MY) and unmyelinated fibers (UN) in dorsal root may be clear distinguished. Operated side. ×5070

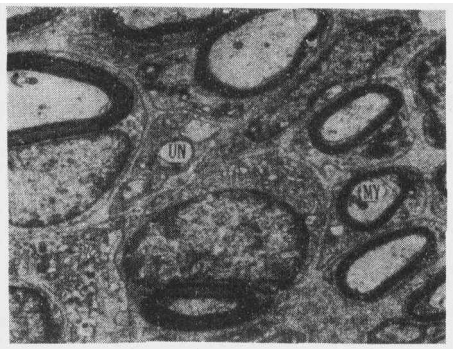


图2. 对照侧背根之电镜照片。请注意其内的无髓神经纤维（UN）比术侧的少。×5070

Fig. 2 Number of unmyelinated fibers (UN) in dorsal root is less than that of operated side. Control side. ×5070

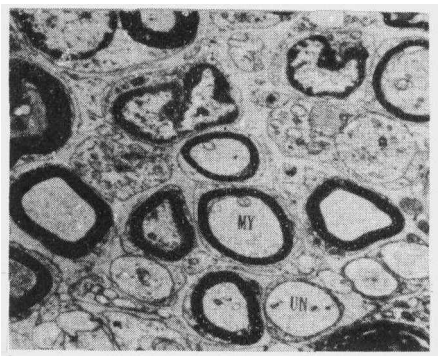


图3. 术侧背根之电镜照片。所示无髓神经纤维（UN）较为粗大。×5070

Fig. 3 Diameter of unmyelinated fibers (UN) is large. Operated side. ×5070



图4. 对照侧背根之电镜照片。请注意其内的无髓神经纤维（UN）较对照侧的少。×5070

Fig. 4 Diameter of unmyelinated fibers (UN) in dorsal root is shorter than that of operated side. ×5070

附表可以看出，术侧无髓神经纤维的各测量参数，除平均周长（Bx）外，均显著高于对照侧的相应值（$P<0.05$）。余者相比无差别意义（$P>0.05$）。

2.2.2 脊髓：大鼠脊髓Ⅱ板层内的神经终末可以简单地分为两类：一类为横断面积较小，只与一个突触后成

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

附表 大鼠背根神经纤维及脊髓内神经终末的体视学分析 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. Stereological analysis of nerve fibers in dorsal roots and nerve terminals in rat spinal cord ($\bar{x}\pm s$)

		Fibers in dorsal roots			Nerve terminals		Degenerated terminats	
		Op	Nop		Op	Nop	Op	Nop
Lv	MY	41.33 ±11.43	38.72 ±11.13					
(m/mm³)	UN	58.05 ±10.75*	32.91 ±15.03					
N_A	MY	4.14 ± 1.13	3.86 ± 1.10	CT	4.22 ± 0.76	4.60 ± 1.03		
							3.97 ± 0.22*	2.35 ± 0.34
(n/100μm²)	UN	5.88 ± 1.05*	3.24 ± 1.47	ST	16.10 ± 2.07	16.76 ± 1.58		
Vv	MY	56.96 ± 6.58	53.60 ± 6.58	CT	12.50 ± 0.98	13.41 ± 1.68		
							4.31 ± 0.24*	2.65 ± 0.29
(%)	UN	1.44 ± 0.28*	1.10 ± 0.10	ST	32.75 ± 3.26	34.22 ± 3.33		
$\overline{Bx}$	MY	21.62 ± 2.64	20.28 ± 2.64	CT	4.73 ± 0.19*	4.10 ± 0.25		
(μm)	UN	2.53 ± 0.31	2.23 ± 0.29	ST	3.76 ± 0.46*	2.79 ± 0.72		
$\overline{Ax}$	MY	38.84 ± 8.56	34.62 ± 8.63	CT	1.90 ± 0.14*	1.32 ± 0.16		
(μm²)	UN	0.50 ± 0.10*	0.37 ± 0.09	ST	1.25 ± 0.16*	0.76 ± 0.16		
Nv				CT	18.96 ± 4.70	20.89 ± 6.48		
							29.17 ± 1.66*	17.03 ± 2.83
(mm³)				ST	87.11 ±10.53	90.37 ± 9.19		

*$P<0.05$ Op—Operated Nop—Control MY—Myelinated Fibers UN—Unmyeliated Fibers

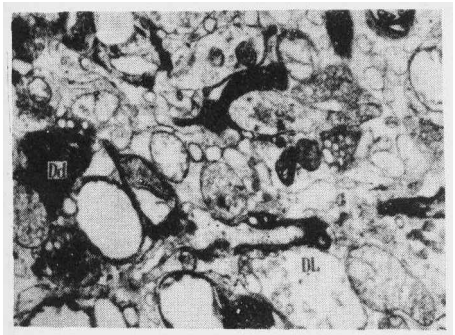


图5. 脊髓内致密(Dd)和透明(Dl)变性的神经终末 ×15 000

Fig.5 Degenerated dense terminals(Dd) and degenerated lucid terminals (Dl)are showed. ×15000

份形成突触的简单终末；另一类神经终末为复合终末，它们的横断面积较大，常和多个突触后成份形成突触。

神经终末的变性可归纳为电子致密性与电子透亮性两种。前者的电子密度明显增高，其内的突触小泡紧密堆积；后者的电子密度明显降低，其内的细胞器多被分解破坏，使得整个神经终末呈透明空泡状（图5）

附表也列举了简单终末(ST)和复合终末(CT)的各种测量参数。除术侧两种终末的平均周长($\overline{Bx}$)和平均横截面积（A）均显著（$P<0.05$）高于对照侧的外，其他各参数与对照侧的相比，均无统计学意义（$P>0.05$）。

切断两侧L_4背根后，手术侧变性终末的数密度

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

(Nv) 显著高于对照侧的同一参数 ($P<0.05$)。

3 讨 论

本文的光镜观察表明，保留背根内神经纤维的数目未见改变，其在脊髓内的分布也无变化。既使采用经典方法——再次切断保留背根，也难以证实可塑现象的存在。而我们的电镜观察则证实，保留背根内无髓神经纤维的数目明显增加。这与Hulsebosch等[5]的结果相一致。然而，Rodin等[6]的观察与我们的光镜结果一样，他们用HRP技术追踪保留背根的中枢投射，光镜下未能证明其在脊髓内的分布和密度有改变。Hulsebosch[7]认为，HRP技术不能显示细小的神经纤维。而无髓神经纤维较为微细，不但为光镜观察带来困难，也难以吸收和转运HRP。

本文的结果也表明，无髓神经纤维的平均横截面积明显增大。这或许提示，无髓神经纤维不但代偿性的增加数目，似乎也有代偿性增粗的趋势。

Murray等[8]报道，切断猫的脊神经背根后，保留背根的神经纤维可以形成新的终末去取代原有变性坏死者，这与我们的结论相一致。但我们的结果还表明，这些新的终末不但取代了变性终末，而且明显增粗变大，似欲与更多的突触后成份重新形成突触。

综上所述，并回顾我们以前的结果[1]，似乎有理由认为，保留背根的初级传入纤维不但进入损伤区形成新终末，而且可与该区的靶细胞重新构成突触联接。虽有不少学者[9-11]认为可塑性代偿的轴突侧支支配，肯定与动物的功能恢复有关，但本文目前的结果尚难予以说明。未来更加深入的对其探讨和设法促进之，看来十分必要。

参 考 文 献

1. 李兵仓 刘 枚 伍亚民，等。轴突再支配过程中大鼠脊髓第Ⅰ板层内突触变化的电镜定量观察。第三军大学学报 1990;5:401～405
2. 鞠 躬 万选才 董新文，编著。神经解剖学方法。北京：人民卫生出版社，1985:55～75
3. Weibel RE, Kistler GS, Scherle WF. Practical stereological methods for morphometric cytology. J Cell Biol 1966;30:23～35
4. Elias H, Hyde DM. An elementary introduction to stereology. Am J Anat 1990;159:412～446
5. Hulsebosch CE, Coggeshall RE. Sprouting of dorsal root axons. Brain Res 1981;224:170～174
6. Rodin BE, Sampogna SL, Kruger L, et al. An examination of intraspinal sprouting in the dorsal root axons with the tracer Hoseradish perozidase. J Comp Neurol 1983; 215:187～198
7. Hulsebosch CE. Intraspinal sprouting of primary afferents after spinal denervation and treatment with antibodies to nerve growth factor. In: A Corio et al. Neural Development and Regeneration. Spring-Verlag Berlin Heidelberg 1988:385～398
8. Murry M, Goldberger ME. Replacement of synaptic terminals in lamina II and Clarke's nucleus after unilateral lumbosacral dorsal rhizotomy in adult cats. J Neuroscience 1986;6:3205～3217
9. Pubols LM, Goldberger ME. Recovery of function in dorsal horn following partial deafferentation. J Neurophysiol 1980; 43:102～117
10. Bullitt E, Stefer WD, Vierck CP, et al. Reorganazation of primary aferent nerve terminals in the spinal dorsal horn of the primate caudal to anterolateral chorotomy. J Comp Neurol 1988; 270:549～558
11. Goldberger ME. Spared-root deafferentation of cat's hind-limb: Hierarchical regulation of pathways mediating recovery of motor behavior. Exp Brain Res 1988; 73:329～342

(收稿：1990.12.04；修回：1991.06.20)

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

Morphometric study of the plasticity of nerve fibers of spared spinal dorsal root and its terminals in rats

Li Bingcang, Liu Mei, Li Fang, et al (Research Institute of Field Surgery, Third Military Medical College, Chongqing, 630042)

Abstract The number of nerve fibers in the spared dorsal root of the L_4 spinal nerve and the number of nerve terminals in the Lamina III of the segment of the spinal cord between L_2 and S_1 were determined with electron microscopic morphometry, and the distribution and density of nerve fibers in the spinal cord were observed with silver staining. It was found that the distribution and density of nerve fibers in the spinal cord showed no difference between the operated and the control sides under optical microscopy; morphometric analysis revealed a significant increase of the number of unmyelinated fibers and a tendency to increase of their diameter; and the number of both simple and complex terminals in the Lamina III of the spinal cord could return to the normal level on the 35th day after operation with a significant increase of their diameter. The importance of these changes was preliminarily discussed.

Key words spinal cord; ganglia, spinal; nerve endings; plasticity; morphometry; rat

---

HLC—I型生物活组织力学试验机的研制及其应用

成海平 何光篪 刘正津 应大君 第三军医大学解剖学教研室 生物力学实验室

目前国内外生物力学试验多为离体的生物组织试验。由于离体生物组织丧失了神经和体液因素的调控作用，不能表现出生命活体在原位状态下的力学性质。因而难以提供准确的生物力学参数。随着临床应用、生物医学工程应用和军事医学研究的发展，设计在体生物力学试验仪器，创建活体的生物力学试验方法，已成为十分迫切的研究课题。本文作者根据力学的基本原理，针对生物医学的特点设计研制了HLC—I型生物活组织力学试验机，于1991年9月26日在重庆通过专家鉴定。

该机在设计上采用计算机接口技术，实现了加载、卸载，负荷检测，位移记录，结果打应等测试全过程的自动化。首次设计了轴向拉伸定向器、弦式加载定向器、轴平行动物合和轴垂直动物台，实现了生物软组织的活体原位力学测试的功能。已用于大白鼠坐骨神经和兔颈总动脉的活体原位的生物力学试验，并可用于临床手术时一些组织（如血管、神经等）张力缝合作为监护仪器。该机还设计了模拟生理和病理环境的装置，具有进行离体生物组织器官的拉伸和压力试验的功能。已用于人脑血管的生物力学试验。而且也可用于若干工业材料的力学试验，特别适用于轻纺材料的力学试验。

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