DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.05.010

轴突再支配过程中大鼠脊髓III板层内突触变化的电镜定量观察

李兵仓 伍亚民 刘 攸 刘英炳* （野战外科研究所）

提 要 本文利用保留脊髓背根（L 4）的大鼠模型，电镜下观察测量了L 3 脊髓节段Ⅲ板层内突触的形态学改变。结果表明，术后 4 天时，突触的数目（Nv）明显下降。术后35天时，树突周围的简单终末（ST）明显增多，复合终末（CT）也较前易见。CT常与同一树突形成多个突触联接，从而使损伤区的突触数目（Nv）恢复至正常水平。我们认为，保留背根的轴突不但以简单终末的形式取代了变性终末，也与其靶细胞形成了突触联接。

关键词 轴突再支配；电镜定量

自Liu和Chambers (1958) [1]首次报道以来，不少研究[2-4]已经证实，部份损伤哺乳动物的脊神经背根或其他中枢神经，邻近未受损的神经纤维可特异性的发出侧枝，重新支配损伤纤维的靶细胞。但既往的研究多为光镜观察和行为学研究，难以说明突触在轴突再支配过程中的精细变化。Murray (1986) [5]以及Steward (1988) [6]等虽做过电镜观察，由于偏重突触前终末的研究，也未能对突触的变化做详细阐述。本文利用保留脊髓L 4 背根的大鼠模型，电镜下观察测量了L 3 脊髓节段Ⅲ板层内突触的变化。旨在确定轴突代偿性增生后，损伤区的突触结构能否恢复到伤前水平。

1 材 料 与 方 法

1.1 动物模型与制样

实验选用雄性Wistar大鼠10只，体重170 g左右。随机确定左侧为手术侧，右侧作为自身对照。戊巴比妥钠40mg/kg腹腔麻醉，手术显微镜下沿脊神经节内侧逐个切除L 2、3、5、6 背根约3 mm，保留L 4 背根。于术后第 4 天和第35天时，分别如上麻醉大鼠各 5 只，在16.0kPa(120mmHg)压力下，经左心室—主动脉灌注 3 %戊二醛约60ml。灌注固定后 2 h，取出L 3 脊髓阶段，将其横切为厚约 1 mm 的薄片，再沿中线左右切开，确认背角，修去多余组织，再用Epon 618包埋。每个包埋块均做半薄切片、HE染色，按Molander (1984) [7]的标准确认Ⅲ板层无误后，再做600Å厚的超薄切片。铅铀双重染色。JEM-2000EX电镜观察。

1.2 形态测量

1.2.1 照片拍摄与放大：每网眼左上角拍摄 1 张8000倍的随机电镜照片，光学放大 2.6 倍后为 20800倍。每侧脊髓Ⅲ板层拍摄36张，共获720张电镜照片供形态测量用。根据Murray等[6]切断背根不会造成脊髓两侧背角面积的差异的报道，省略脊髓两侧Ⅲ板层面积的测量。

1.2.2 测试系统：采用17cm × 12cm的方格测试板，小方格的边长为0.5cm。计有小方格816个(759个测试点)，测试线总长为98.08μm。该测试板代表的实际测试面积为47.15μm^2。

1.2.3 测量参数和公式[8]

1.2.3.1 单位体积中突触接触区的总表面积 $Sv = 2 \times \frac{Ni}{L_T} \mu m^2/mm^3$

1.2.3.2 单位面积中突触膜的总长度 $L_A = Sv \times \frac{\pi}{4} \mu m/mm^2$

*指导者

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

1.2.3.3 突触膜的平均长度 $\bar{L} = \frac{L_A}{N_A}$ μm

1.2.3.4 单位体积中突触的数目 $Nv = \frac{8}{\pi_2} \times \frac{N_A}{L}$ 个/mm³

上式中，Ni为突触膜与测试线的交点数，L_T为测试线总长，N_A为单位切片面积内突触的数目。

所有测量数据均做t检验分析。

2 结 果

2.1 定性观察

大鼠脊髓Ⅱ板层内的轴突终末可简单归纳为简单终末（ST，图1）与复合终末（CT，图2）两种。常见ST围绕大、中型树突排列。术后35天时，术侧树突周围的ST明显增多（图3），CT也较术后 4 天时易见。CT常与同一树突形成两个以上的突触，但突触的前后膜均明显变短，其内突触小泡和线粒体的变化不明显（图4）。另外，部份CT的面积较小，并缺乏特征性的局部凹陷，与树突构成的突触也较短，似由ST演变而来（图5）。

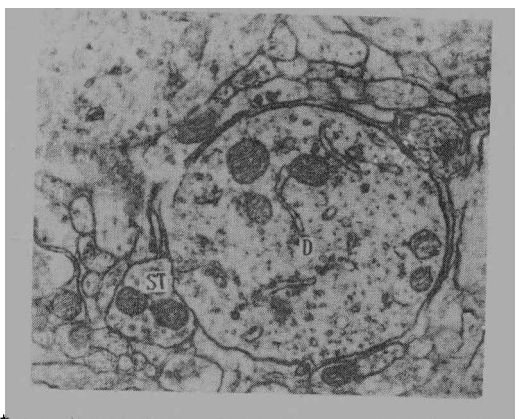


图1、术后35天时，对照侧的树突（D）和周围的简单终末（ST）。×19 000

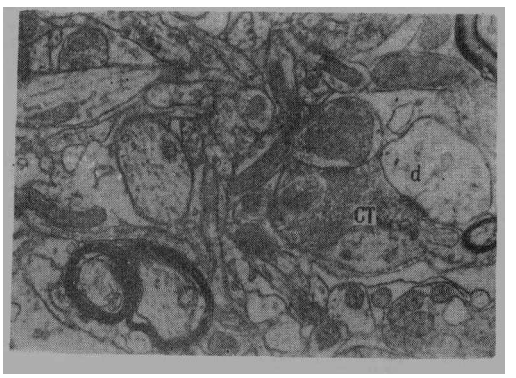


图2、术后35天时，对照侧的复合终末（CT）。请注意突触后成分（d）向复合终末内凹陷。×15 440

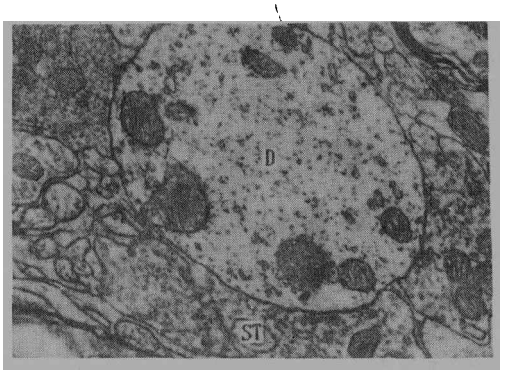


图3、术后35天时，术侧树突（D）周围的简单终末（ST）明显增多。×18 500



图4、术后35天时，术侧的复合终末（CT）。它与同一树突(d)形成了两个较短的突触(↑)。×15 440 左上图为对照侧之轴（A）—树（d）不对称性突触。请注意其前后膜的长度与术侧的不同。×15 440

术后4天时，可见两种类型的变性终末：一种电子密度明显增加，为电子致密变性；另一种的电子密度明显降低，为电子透明变性。除CT发生变性外，部份ST也常现了同样病理变化。

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

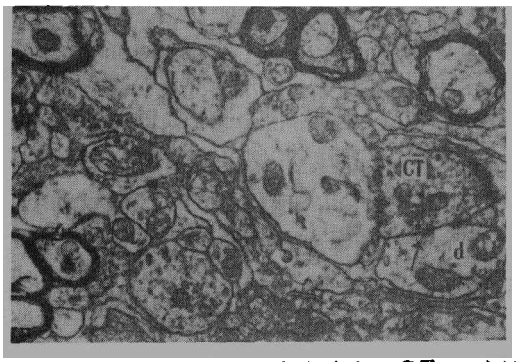


图5、术后35天时，术侧之复合终末（CT），其横断面积较小，无局部凹陷，与树突（d）形成的突触亦较小（↑）。×15 500

2.2 定量分析

由表1可以看出，术后4天时，除$\bar{L}$没有改变（$P>0.05$）外，术侧两种终末突触的其余参数与对照侧的相比均明显降低（$P<0.05$）。术后35天时（表2），突触总的数密度（Nv）基本恢复到对照侧水平（$P>0.05$）。其中，ST突触的Nv略高于对照侧的相应参数，而CT突触的Nv又比对照侧的略低，两者的Sv及L_A也呈现了类似的变化。但它们的$\bar{L}$都比对照侧的略低。所有这些差异均无统计学意义（$P>0.05$）。术后4天与35天突触测量参数的比较见表3。除$\bar{L}$比术后4天的略低（$P>0.05$）外，其余参数均显著高于（$P<0.05$）术后4天的水平。

表1 术后4天脊髓Ⅲ板层突触的形态测量参数

	Sv(μm²/mm³)		L_A(μm/mm²)		$\bar{L}$(μm)		Nv(个/mm³)	
	手术侧	对照侧	手术侧	对照侧	手术侧	对照侧	手术侧	对照侧
CT	77.15 ±4.10	100.30 ±4.68	60.82 ±3.21	79.07 ±3.96	1.17 ±0.04	1.17 ±0.03	36.96 ±1.93	48.05 ±2.57
ST	119.57 ±12.67	143.36 ±15.09	94.00 ±9.76	112.78 ±11.54	1.17 ±0.03	1.17 ±0.02	56.93 ±6.05	68.18 ±7.14
CT+ST	196.72	243.66	154.82	191.85	—	—	93.89	116.23
P	P<0.05		P<0.05		P>0.05		P<0.05	

CT—复合终末； ST—简单终末，下同

表2 术后35天大鼠脊髓Ⅲ板突触的形态测量参数

	Sv(μm²/mm³)		L_A(μm/mm²)		$\bar{L}$(μm)		Nv(个/mm³)	
	手术侧	对照侧	手术侧	对照侧	手术侧	对照侧	手术侧	对照侧
CT	96.89 ±4.91	100.61 ±5.13	76.10 ±3.85	79.02 ±4.03	1.14 ±0.02	1.17 ±0.04	46.12 ±2.32	48.91 ±2.45
ST	148.50 ±14.43	143.46 ±15.24	116.63 ±11.34	112.68 ±11.97	1.14 ±0.04	1.17 ±0.02	70.72 ±6.87	68.32 ±7.26
CT+ST	245.39	244.07	192.73	191.70	—	—	116.84	117.23
P	P>0.05		P>0.05		P>0.05		P>0.05	

表3 术后4天与35天大鼠脊髓术侧Ⅲ板层突触测量参数的比较

	Sv(μm²/mm³)		LA(μm/mm²)		$\bar{L}$(μm)		Nv(个/mm³)	
	术后4天	术后35天	术后4天	术后35天	术后4天	术后35天	术后4天	术后35天
CT	77.15 ±4.10	96.89 ±4.91	60.82 ±3.21	76.10 ±3.85	1.17 ±0.04	1.14 ±0.02	36.96 ±1.93	46.12 ±2.32
ST	119.57 ±12.67	148.50 ±14.43	94.00 ±9.76	116.63 ±11.34	1.17 ±0.03	1.14 ±0.04	56.93 ±6.05	70.72 ±6.87
CT+ST	196.72	244.07	154.82	192.73	—	—	93.89	116.84
P	P<0.05		P<0.05		P>0.05		P<0.05	

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

3 讨　论

在哺乳类动物的中枢神经系统内，神经纤维具有很强的可塑能力。但是，由于相邻神经纤维的彼此制约，以及它们所处的稳态环境而使其难以表达。神经纤维一旦损毁，则制约解除，平衡消失，另一种神经纤维便开始代偿性增生。据认为，神经纤维的这种增生极为迅速，可能与损伤纤维的变性同步起动[8]。Brenowitz(1983)在术后10天～14天的猫脊髓内，就记录到增生的神经纤维有了明显的代偿功能。我们并未研究轴突再支配的时间过程，但我们的大鼠在术后35天的存活期内，损伤区的突触数目就恢复到了正常水平。这不仅说明代偿轴突具有较快的生长速度，也说明它们可与损伤纤维的靶细胞重新构成突触联接。

大鼠背根内的初级传入纤维进入脊髓后，主要以CT的形式与背角神经元构成突触联接[10]。我们切断脊神经背根后，在溃变期内除见到CT变性外，也观察到部份ST变性。说明CT并非背根轴突的唯一终末形式。作者对两种轴突终末上的突触数目做了分析测量。术后4天时，它们均较对照侧的明显降低，而在术后35天时，又都恢复到正常水平。值得思考的是，ST的突触数目比对照侧的略高，CT的突触数目又呈相反变化。虽然这些差别没有统计学意义（$P>0.05$），结合ST增多以及部份CT较小的定性观察，我们认为这种差别可能具有一定的实际意义：一是反应了ST同样起源于背根轴突。当保留背根的轴突进行代偿时，除主要形成CT外，也形成了ST；二是部份ST可能是CT的初级表现形式，随着存活时间的延长，最终演变成CT。

本文除用数密度(Nv)描述了突触的数目变化外，也用Sv、L_A及L衡量了其大小改变。结果表明，术后4天时，除L外，术侧的Sv、LA均明显低于对照侧的水平。结合很多轴突终末变性，我们认为此时的变化主要是突触随轴突终末的退变而消失所致。术后35天时，虽然突触的Sv及L_A均恢复到正常水平，L也与对照侧的无显著差别（$P>0.05$）。但L毕竟比对照侧的低0.03μm。将这种差别与突触膜较短的定性观察一起考虑，我们倾向于这种差别或许代表一定的实际意义。可以推理，当代偿轴突终末重新支配损伤轴突的靶细胞时，两者之间在术后35天的时间内，不一定形成理想的突触联接。突触的完善可能需要一个更长的发育、适应过程。至于定性观察和定量分析间的出入，除和测量误差及统计过程中多次四舍五入有关外，较短的新生突触被原有较长突触所平均，可能也是出入原因。

参考文献

1. Liu CN and Chambers WW. Intraspinal sprouting of dorsal roots axons. Arch Neuro Psychitr 1958; 79:46～61
2. Murray M and Goldberger. EM Restitution of function and collateral sprouting in the cat spinal cord:the partially hemisected animals. J Comp Neuro 1974; 158:19～36
3. Goldberger EM and Murray. M Restitution of function and collateral sprouting in the cat spinal cord:the deafferented animals. J Comp Neuro 1974; 158:37～54
4. Katsumaru H, et al. Sprouting of GABAergic synapse in red nucleus after lesions of interpositus in the cat. J Neuroscience 1986; 6:2864～2874
5. Murray M and Goldberger ME. Replacement of synaptical terminals in Lamina II and Clarke's nucleus after unilateral lumbosacral dorsal rhizotomy in adult cats. J Neuroscience 1986; 6:3205～3217
6. Steward O. The process of reinnervation in the dentate gyrus of adult rats:an ultrastructural study of changes in presynaptic terminals as a result of sprouting. J Comp Neuro

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

1988; 267:203～210
7. Molander C, et al. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rats. I: the lower thoracic and lumbosacral cord. J Comp Neuro 1984; 230:133～141
8. Bondok AA and Sansone FM. Quantitative ultrastructural stereology of synapse in nucleus dorsolis after a peripheral nerve injury at birth. Exp Neuro 1984; 86:331～341
9. Brenovits G. Time course for receptive field plasticity following spinal cord hemisection. Brain Res 1983; 279:250～253
10. Ribeiro-Da-Silva and Coimbra A. Two types of synaptic glomeruli and their distribution in Lamina I-III of the rat spinal cord. J Comp Nruro 1982; 209:176～186

(收稿: 1989.08.15; 修回: 1990.07.18)

Changes of SynaPse in Lamina III of Rat Spinal Cord during Axonal Reinnervation: A Quantitative Ultrastructural Study

Li Bingcang, et al. (Research Institute of Surgery Third Military Medical College)

Using quantitative EM technique, the changes of synapse in Lamina III of rat spinal cord were studied on the animal model of spared dorsal root (L 4). The results indicated that number of synapse (Nv) was declined significantly at day 4 after operation. At day 35 after operation, number of simple terminal around the dendrite increased, also, compound terminal was oberserved more easily. Compound terminal often made more than one synaptic connection with the same dendrite, whose membrane was shorter. The level of synapse in damaged area recovered to the normalby means of this. The authors suggest that axons coming from spared root not only replaced degenerated one by forming simple terminal but also reinnervate their target cell.

Key words: axonal reinnervation; quantitative EM

(上接396页)

例，皆为中期癌。据牛氏报告[1]，以肺气肿为多见，其次为胆道疾病，脑血管疾病，是否因地区关系与本文不同。各种疾病的患病率只是粗略的数据。因有的脏器未能全部检查，如胃未能全部作胃镜，故可能有遗漏，因而确切的患病率可能还高些。

2 体 会

随着离、退休干部的逐渐增加，老年保健任务也相应加重。通过查体发现的某些疾病，进一步如何处理非常重要，不能只管查，不管防治。我们对所查出的疾病均采取了以下措施：（1）急需住院者相应分流到各有关科室治疗（包括手术）；（2）某些慢性疾病回原单位或本地区门诊治疗，并向其讲解如何防治；（3）某些疾病需随访者，定期来科复查。

通过健康体检，粗略看出川东地区老年干部的各种患病情况，并针对每个人所患疾病给予相应处理，无疑对老年干部健康长寿有益。

参 考 文 献

1. 牛曾恕。2736例老年住院患者疾病统计分析。中华老年医学杂志 1986; 3:175

(收稿 1989.08.14; 修回: 1989.11.21)

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