

单侧穹隆伞损伤对老年大鼠空间记忆及海马胆碱能纤维的影响^①

周丽华^② 姚志彬 陈以慈 邝国璧

(中山医科大学解剖学教研室脑研究室;广州,510089)

提 要 对老年大鼠行单侧穹隆伞横断术,术后2周,用 Morris 水迷宫试验及乙酰胆碱酯酶(AchE)染色观察大鼠的学习记忆及海马 AchE 阳性纤维密度的变化。结果表明:海马 CA1、CA3 及齿状回的 AchE 纤维明显减少,而且减少程度与学习记忆的下降成正相关关系。说明该模型既具有老年性痴呆的主要临床表现——学习记忆下降,另一部分模拟了该病的主要神经病理改变——基底前脑的胆碱能纤维溃变。

主题词 海马/损伤; 记忆障碍/病因学; 痴呆,老年性/病理学; 胆碱能纤维/病理学; 疾病模型,动物; 大鼠

中图分类号 R 322.81

老年性痴呆(Senile Dementia of Alzheimer Type, SDAT)是困扰老年人的主要神经精神疾病,目前对该病的研究非常活跃,基础方面的关键问题是动物模型的复制。大量研究显示基底前脑胆碱能系统的溃变与该病的主要表现(学习记忆水平下降)密切相关,所以通常采取破坏穹隆伞(fimbria-fornix, FF)制作 SDAT 模型^[1],另有部分学者用老年鼠作模型^[2];但该种模型并不一定有明确的胆碱能系统溃变,不利于评估各种治疗方法的效果。本实验室曾选择老年大鼠为对象,采取单侧 FF 不完全性损伤的方法制作 SDAT 模型,并已证实该种模型鼠基底前脑胆碱能神经元明显溃变^[3]。但为了使受损的纤维尽可能一致,本实验采取完全横断单侧 FF 的方法破坏其胆碱能系统,以期 SDAT 的研究提供更理想的动物模型。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性 SD(Sprague-Dawley)大鼠20只,28~32个月,450~550g,分为对照组及损伤组

各10只。

1.2 手术过程^[3]

两组动物经1%戊巴比妥钠腹腔麻醉后,置于脑立体定位仪上,在无菌条件下打开左侧颅骨暴露皮质,损伤组用自制双刃刀依次切断左侧胼胝体上纹、扣带回、背侧穹隆、穹隆及海马伞。术后两组大鼠同时缝合皮肤、碘酒消毒切口。

1.3 Morris 水迷宫(MWM)试验^[4]

包括(1)定位航行试验:实验历时5d,每天上、下午各4次,操作者将大鼠面向池壁从不同象限放入水中,记录大鼠在2min内寻找平台所需潜伏期;(2)空间探索试验:在第5d撤除平台后,记录和测量大鼠在2min内在各象限的游泳距离、跨越各象限平台相应位置的次数和搜索平台的路线图。

1.4 组织学处理

在水迷宫试验后进行,两组动物经常规固定后,将动物头固定在定位仪上,分别在前囟后2mm、9mm处各横切一刀,以保证各动物脑平面的一致性,组织块依次放入10%、20%的蔗糖溶液中,4℃下至少24h,并换液2

① 本课题由国家教委博士点基金资助; ② 第一作者,1962年出生,女,博士,讲师

~3次。然后行冰冻切片,片厚 $40\mu\text{m}$,用Hedreen法进行AchE纤维染色,从距离海马隔极 1.5mm 平面取1片,计算切片上背侧海马CA1、CA3及齿状回的AchE阳性纤维,用间隔 1cm 的标准方格纸在放大800倍照片上,计算纤维与测试方格的交点数。然后计算出交点数/ $8\text{cm}\times 8\text{cm}$ 方格纸范围(相当 $100\mu\text{m}\times 100\mu\text{m}$ 实际面积),以此作为纤维密度比较分析。

1.5 数据处理

采用ANOVA统计软件包,对两组大鼠的行为及形态学指标进行方差分析,直线回归与相关检验。

2 结果

2.1 Morris水迷宫行为试验

2.1.1 定位航行试验 图1显示对照组大鼠在3d内就学会寻找平台,在这之前潜伏期迅速下降,从第3d起潜伏期趋平稳,约需25s就能找到平台;而损伤组潜伏期虽有下降趋势,但不稳定且较对照组明显延长,最后仍需60s才能找到平台,对两组潜伏期动态变化进行方差分析,差异具有显著意义, $P<0.001$ 。

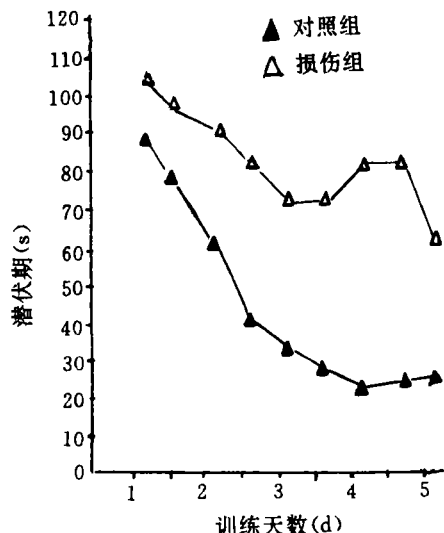


图1 两组老年大鼠寻找平台潜伏期

2.1.2 空间探索试验 从两组大鼠中各选一有代表性的搜索平台路线(图2),可见对照组比损伤组大鼠在左下象限搜索次数较多。

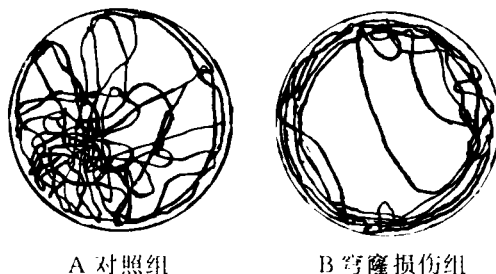


图2 两组老年大鼠寻找平台路线图

图3显示大鼠在各象限游泳距离占总距离百分比。对照组在原平台象限游泳距离百分比为39.60%,明显高于损伤组(24.50%), $P<0.001$ 。我们还计算了大鼠跨原平台次数占4个象限平台总次数的百分比,损伤组为27.29%,明显低于对照组(50.79%), $P<0.001$ 。

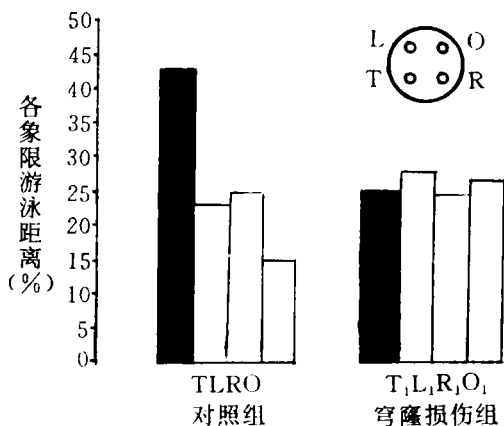


图3 两组老年大鼠2min内在各象限游泳距离占总距离百分比
T, L, R, O 分别代表平台, 平台的左、右及对象限

2.2 AchE阳性纤维染色结果

对照组海马内有丰富的AchE阳性纤维,纤维粗细均匀,串珠样。大多数末端有膨大。CA1区辐射层有密集的纵行纤维(图4A);CA3区纤维分区不太明显,辐射层纤

维平行走向(图4B);而齿状回内外分子层的纤维多纵行(图4C)。损伤组大鼠同侧海马结构内 AchE 纤维大量丢失。CA1、CA3 区纤维稀疏,尤以辐射层为显著(图5A、5B),齿状回内分子层的纤维亦有减少(图5C)。定量分析结果见表1。

表1 两组老年大鼠海马 AchE 纤维密度比较¹⁾ (交点数/10 000 μm²) ($\bar{x} \pm s$)

海马结构	对照组	单侧穹隆伞损伤组
CA1	29.23±0.88	7.78±1.70
CA3	27.61±5.10	10.61±1.25
齿状回	25.61±1.97	12.56±1.71

1) 与对照组相比3组差异均有显著意义

2.3 AchE 纤维密度与学习记忆关系

以大鼠两侧海马 CA1 及 CA3 区纤维总量为 x 变量,分别以大鼠平均潜伏期为 y_1 ,跨原平台次数百分比为 y_2 变量进行相关分析。结果表明:海马的 AchE 纤维密度与潜伏期成负相关关系($r=-0.93$);而与跨原平台次数百分比成正相关关系($r=0.88$)。

3 讨 论

制备理想的动物模型对 SDAT 病因和治疗的研究非常重要。研究者们多从以下几种途径进行探讨:①破坏青年或成年鼠的前脑胆碱能系统,模拟 SDAT 的胆碱能神经元丢失和海马 AchE 酶活性的降低等改变;②选择有学习记忆行为损害的老年动物;③将 SDAT 患者的病变脑区移植入动物中枢神经系统^[5];④16 三体小鼠,这种遗传缺陷鼠的脑不仅能模拟 SDAT 的神经病理变化,还具有较高的特异性^[6]。本实验结合了前两者的优点,避免其不足,制作的 SDAT 模型不仅

有学习记忆行为损害,还具备了明确的胆碱能溃变的病理特征,以老年大鼠为对象更好地模拟了 SDAT,更有利于评估各种治疗效果。本实验破坏了老年大鼠的胆碱能通路,致使其中枢神经系统的完整性破坏、海马胆碱能纤维减少,大鼠学习记忆水平下降。相关分析显示大鼠的学习记忆水平与其海马 AchE 纤维密度成相关关系,结果完全支持老年人学习记忆障碍的胆碱能假说^[7]。

(本文图4,5见第80页)

参 考 文 献

1 Morris RGM. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*,1982,197:681
2 Fischer W, Gage FH, Bjorklund A. Degenerative changes in forebrain cholinergic nuclei correlate with cognitive impairments in aged rats. *Eur J Neurosci*,1989,1:34
3 He YE, Yao ZB. NGF promotes collateral sprouting of cholinergic fibers in the septohippocampal transection. *Brain Res*,1992,586:27
4 Morris R. Developments of Water-Maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*,1984,11:47
5 Van de Bosch de Agnilar P. Transplantation of human cortex with Alzheimer's disease into rat occipital cortex, a model for the study of Alzheimer's disease. *Experientia*,1984,40:402
6 Richards ST. Hippocampal grafts derived from embryonic trisomy 16 mice exhibit amyloid (A4) and neurofibrillary pathology. *Prog Brain Res*,1990,82:215
7 Bartus RT. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 1982, 217 : 408

(1995-01-14收稿 1995-09-25修回)

UNILATERAL TRANSECTION OF FIMBRIA-FORNIX AFFECTS THE SPATIAL MEMORY AND CHOLINERGIC INNERVATION OF THE HIPPOCAMPI OF AGED RATS

Zhou Lihua Yao Zhibin Chen Yici Kuang Guobi

(Division of Brain Research, Department of Anatomy, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

The aged rats were tested in the Morris Water Maze and their hippocampi were stained with AchE two weeks after unilateral transection of the fimbria-fornix. The results showed that in lesioned rats the spatial memory were injured. AchE positive fiber densities in CA1, CA3 and dentate gyrus all decreased. The fiber density was in direct ratio to the level of memory. It concludes that this model not only provides with typical cholinergic degeneration, it shows the memory impairment, too.

Subject headings hippocampus/injuries; memory disorders/etiology; dementia, senile/pathology; cholinergic fibers/pathology; disease model, animal; rats

• 简 讯 •

家庭腹膜透析系列装置通过省级鉴定

1995年11月16日广东省卫生厅科教处受省委委托,组织了对本校孙逸仙纪念医院余立群等研制的“家庭腹膜透析系列装置”鉴定会。该系列装置包括P-1型套针及隧道针和腹膜透析液袋及连接装置,经临床应用证明P-1型套针及隧道针使插管简便易行,创伤小,出血少,利于伤口愈合和减少隧道口感染;新型腹膜透析液袋及连接装置结构合理,容易操作,不易污染,经培训后病人可在家庭自行更换透析液。

该院自1990年5月~1995年5月行家庭腹膜透析治疗92例慢性肾功能衰竭终末期尿毒症病者。最小年龄为11岁,最大为88岁,平均41.5岁。治疗结果,有34.7%病者恢复原来的工作,56.5%可做家务劳动,6.5%仅能生活自理,2.3%仍需家人照料生活,后者主要是高龄病者。鉴定专家组一致认为该系列装置填补了国内空白,属国内先进水平,合乎中国国情,社会效益明显。

(冯世容)