

家兔脑不完全缺血后海马的组织学变化*

高德臣 赵庆十 董玉霞¹⁾ 冷黎丽²⁾

(佳木斯师专生物系, 佳木斯市 154007)

摘要 家兔颈总动脉单侧结扎、双侧不同时结扎和双侧同时结扎后,均可造成不同程度的脑不完全缺血,海马组织学的主要变化是海马中间部多型细胞层的小血管瘀血,引起边缘部的锥体细胞层毛细血管贫血,锥体细胞供血不良,使其轴突萎缩。海马 CA₃ 区突触小体内的线粒体及颗粒消失,突触小泡减少、内移及致密化,这种变化随结扎程度的不同逐渐加深,尤以双侧同时结扎最为明显。为颈总动脉结扎后影响学习和记忆提供了组织学依据。

有人曾做过“结扎大白鼠颈总动脉对学习记忆的影响”⁽¹⁾。为了追究颈总动脉结扎后脑内与学习记忆有关部位——海马的组织学变化;也为了给脑肿瘤、颈动脉瘤、颈部脉管痿等手术治疗结扎颈总动脉时提供该部位组织学变化的资料,故于 1992 年 2—9 月开展了这项研究。

材料与方法

选择健康成年家兔 15 只,分四组,其中第 1、第 2、第 4 组各 3 只,第 3 组 6 只。第 1 组左侧颈总动脉结扎 10 天后,右侧颈总动脉放血处死;第 2 组结扎左侧颈总动脉 10 天后再结扎右侧颈总动脉,7 天后在右侧颈总动脉结扎点下方放血处死;第 3 组双侧颈总动脉同时结扎,10 天、25 天后分别放血处死 3 只;第 4 组为正常对照组。前三组结扎前用麻保静(盐酸二甲苯胺噻嗪)0.8 毫升肌肉注射麻醉,待其达到中等程度麻醉后实行无菌结扎手术,术后肌肉注射青霉素 10 万单位,以防感染。

各组处死后,取其左侧海马,用 10% 中性福尔马林固定,按石蜡切片法先纵切全海马,达到中间部位后,改换水平方向切剩余的半个海马;切成 7 微米的连续蜡带;在全部蜡片中每隔 10 个蜡片取 3 个样本展片和沾片、干燥、脱蜡、H-E 染色和镀银染色、封藏,取其纵切片和水平切片同一层次对比观察。取其右侧海马的 CA₃

区脑组织,做戊二醛-锇酸双固定,用醋酸双氧铀-柠檬酸铅染色法染色,做超薄片电镜观察并拍照。

结 果

结扎后精神状态、食欲、对刺激的反应及行动的变化 第一组(单侧结扎),无明显变化;第二组(双侧不同时结扎),表现精神尚好,食欲不减,但有轻度变化,如反应及行动稍迟钝;第三组(双侧同时结扎),表现为明显变化,反应迟钝、呆滞、行动迟缓、耳聋、缩颈、弓腰、咀嚼及吞咽缓慢、日趋消瘦(其中有二只在结扎 20 天后精神及食欲稍有好转)。

组织学变化 海马是由海马本体及齿回构成,海马本体由外向内依次为分子层、锥体细胞层、多型细胞层⁽²⁾。锥体细胞层是由不同大小的两列锥体细胞构成,细胞的基部和顶部的树突伸进分子层和多型细胞层,轴突伸至背侧和进入海马的传入神经纤维共同形成一层覆盖于海马表面的室床层。不同形态和大小的锥体细胞把海马本体分为 CA₁、CA₂、CA₃ 和 CA₄ 各区⁽³⁾。在多型细胞层的中部有小动脉和小静脉,由它分出的

* 本文于 1992 年 11 月在第七次全国显微与亚显微形态科学学术讨论会上宣读;工作单位:1) 集贤县中医院;2) 佳木斯医学院电镜室。

毛细血管分布到神经纤维之间及其它两层细胞周围。齿回是由颗粒细胞和苔状纤维构成。

正常对照组的海马锥体细胞呈弧形从 CA₁ 至 CA₄ 区密集排列,胞体及核较大(图 1, 见封 3, 下同)。小动脉、小静脉及毛细血管中有少量血细胞均匀分布,血管周围有丝状突起固着(属于血—脑屏障范畴)。电镜下 CA₃ 区的锥体细胞突起(多为树突)数量较多,突触部位(多为轴—树型)的突触小泡密集地靠近前膜;线粒体内、外膜、嵴及颗粒清晰可见(见图 2、3)。

单侧结扎组,锥体细胞的形态和突起无明显变化,多型细胞层中的小动、静脉及锥体细胞层周围的毛细血管略有扩张,毛细血管周围的丝状

突起增多。电镜下突触小泡数量减少,并且大小不均,线粒体外膜及嵴模糊不清(见图 4)。

双侧不同时结扎组,锥体细胞的核浓淡不均,突起有的变为淡染,有的消失(见图 5);多型细胞层中的小动脉,靠近海马边缘部的管腔狭窄,其中血细胞很少,中间部的管腔变粗,呈怒张状态,其中瘀积较多的血细胞,与怒张部位相邻的管腔呈坍塌状态,无论是怒张或坍塌均呈阻塞状态,血管周围的丝状突起增多(见图 6)。电镜下线粒体的嵴及颗粒模糊乃至消失,并出现空泡;突触小泡数量减少,离开前膜内移,变为较致密(见表 1)。

表 1 颈总动脉不同程度结扎后海马的锥体细胞突起、CA₃ 区线粒体及突触小泡密度的变化

| 变化部位 | 正常对照组 | 单侧结扎组 | 双侧不同时结扎组 | 双侧同时结扎组 | |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----------|
| | | | | 10 天 | 25 天 |
| 1. 突起的变化% | 2.0 | 8.0 | 23.0 | 41.5 | 61.5 |
| 2. 线粒体的变化% | 6.0 | 27.0 | 38.0 | 47.5 | 56.5 |
| 3. 突触小泡密度的变化 | 180.6±156.0 | 158.2±138.6 | 126.6±106.8 | 68.4±42.6 | 48.2±26.6 |

表 1 表明: 1. 以水平切 700 微米处 100 个锥体细胞的突起淡染和消失的百分数; 2. 内部结构模糊、空泡化线粒体与线粒体总数的百分比; 3. 以突触前膜 0.5 微米² 正方形区域内检查 5 个突触统计的突触小泡平均数±标准差。

双侧同时结扎组, 结扎 10 天的, 锥体细胞突起有的萎缩, 有的仅剩其痕迹(见图 7)。多型细胞层的小动脉, 靠近海马边缘部分的明显狭窄, 管壁坍塌; 中间部分的呈明显的怒张状态, 有的部位血管壁破裂, 血细胞沿着破裂处浸入到多型细胞层或锥体细胞层中(见图 8)。电镜下线粒体大小不均, 其模糊程度及空泡化的数量比前三组均明显增多, 突触小泡却明显减少(见图 9)。结扎 25 天的, 锥体细胞的突起大部分萎缩和消失。海马中间部及边缘部的小动脉, 以及邻近锥体细胞层的毛细血管均萎缩, 其中血细胞很少。电镜下线粒体大小不均的程度, 及其模糊的程度和空泡化的数量比双侧同时结扎 10 天的亦明显加深, 突触前、后膜变薄, 突触小泡很稀少

(见图 10)。

讨 论

哺乳动物的海马为原始脑皮层, 是边缘系统的一部分, 和学习记忆的功能有关, 是形成近期记忆的神经回路组成部分, 很多资料表明海马 CA₃ 区是学习和记忆的重要结构^[4], 在某些条件反射建立的初期阶段(瞬膜反射)的“暂时性联系”也和海马相关^[5]。结扎颈总动脉影响学习和记忆的原因, 是由于结扎后海马的小动脉及毛细血管血压不足, 血流不畅通供血不良所引起的。在颈总动脉单侧结扎时供血不良情况不明显, 这是由于两侧椎动脉及未被结扎的颈总动脉血压的作用, 通过大脑动脉环的前、后交通支来平衡脑血压及血流^[6], 所以海马供血没发生明显变化, 仅部分小动脉发生轻度瘀血扩张; 而双侧同时结扎时, 由于两侧颈总动脉血压骤降为零, 大脑中动脉(血压来源于颈内动脉)及大脑动脉环的前交通支突然无血液供应, 海马的血液仅通过

后交通支(血压来源于椎动脉,而椎动脉压远不如颈内动脉压高),使海马的小动脉及毛细血管的血液推动力不足,致使海马的某些部位(中部及顶部)小动脉及毛细血管处于瘀血状态,管腔扩张(从我们的多层次切片中看到海马的血液供应首先由中部推向顶部,然后到边缘部);而另一些部分(边缘部)管腔缩小,其中血细胞减少(这种由压力不足引起的小动脉及毛细血管口径的变化,从生理角度来分析也可能由于生前血压的变化,脑血管自身调节的结果)。由于脑缺血对海马结构的反应特别敏感,所以使与学习记忆有关的锥体细胞^[4,7],代谢发生改变,胞体、核及突起等均发生质的变化(核质浓淡不均,突起萎缩乃至消失)。从海马CA₃区的锥体细胞层的突触部位的超微结构来看,其中的线粒体、突触小泡由于不同程度的结扎均发生与结扎程度相一致的退行性变化,两者对供血不良的反应最为敏感,在颈总动脉单侧结扎时两者就发生明显的变化,而质变最严重的是双侧颈总动脉同时结扎,这与生理上观察到的结扎颈总动脉对学习记忆的影响程度是相一致的。由于海马锥体细胞的萎缩,与锥体细胞建立突触联系的突触小体内线粒体数量减少,嵴及颗粒消失及其空泡化,导致突触小泡数量减少,远离前膜及其致密化,这样释放到突触间隙的乙酰胆碱减少,因此势必影

响学习与记忆。

结扎颈总动脉后海马小血管及毛细血管周围的丝状突起增多的原因,可能是缺血引起的脑血管周围的神经胶质细胞肿胀增生所致(因为丝状突起是由神经胶质细胞产生的),它能导致血管受压迫加深缺血的变化。在这项研究过程中颈内动脉其他供血区域的变化通过神经反射回路对海马的影响没有给予考虑。

参 考 文 献

- 1 罗贯一 1986 结扎大白鼠颈总动脉对学习记忆的影响 动物学杂志 (5): 19-20
- 2 李宝仁主编 1979 家畜组织学与胚胎学 128页 科学出版社
- 3 陈钟芳 牧佐渭 汪家政 1988 胚胎海马修复成年大鼠隔核-齿回-海马本体的神经元连接 动物学报 34 (2): 150-153
- 4 易立 许世彤 区英琦 1989 大鼠海马CA₃区习得性长时程突触增强 生理学报 41 (3): 223
- 5 杨伯仪 项子林 缪明等 1987 兔海马乙酰胆碱敏感神经元在瞬膜反射不同阶段中的作用 生理学报 39 (3): 211-217
- 6 沈阳医学院编绘 1975 人体解剖图谱 377页 上海人民出版社
- 7 黎东明 许世彤 区英琦 1989 噪音对海马CA₃区神经元电活动及突触超微结构的影响 中国应用生理学杂志 5 (1): 71-75

《家兔脑不完全缺血后海马的组织学变化》

一文之附图 (正文见第 21 页)

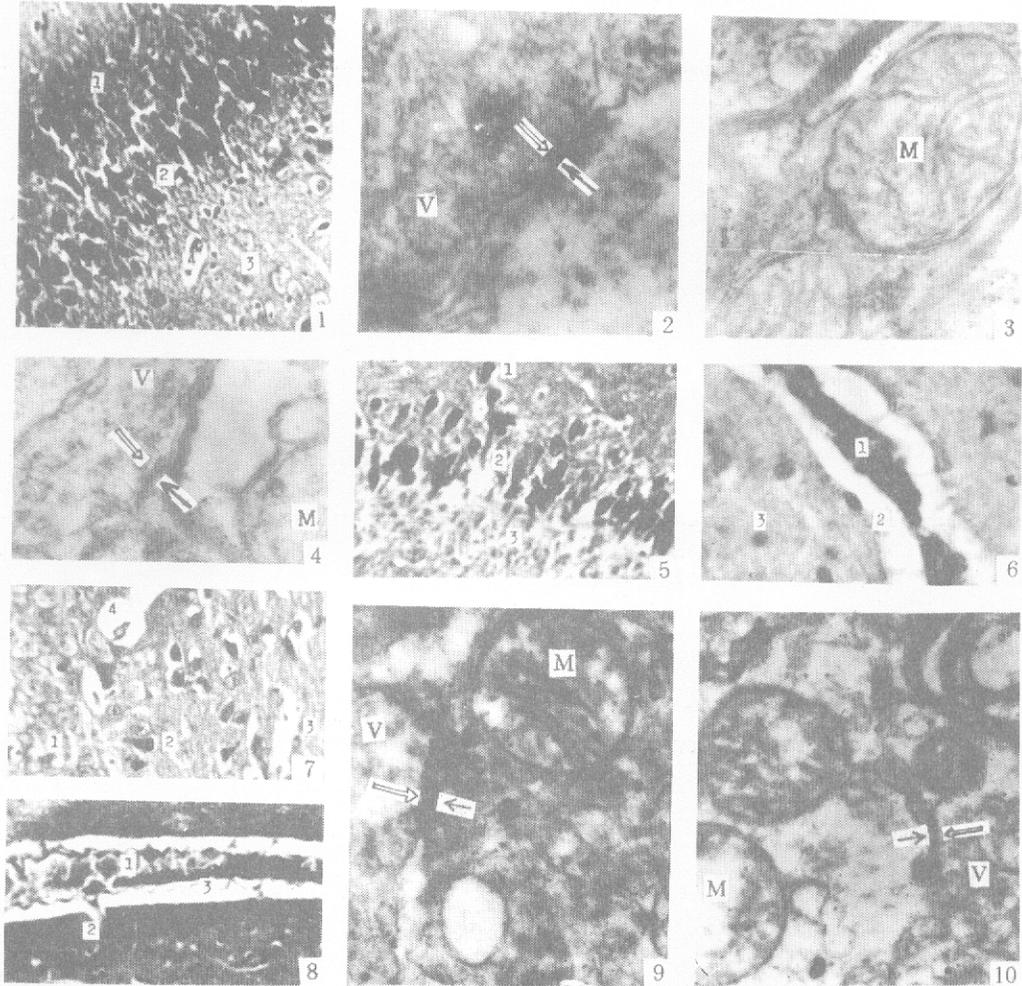


图 1 正常海马的组织结构,1.分子层;2.锥体细胞层;3.多型细胞层;4.毛细血管,×180。图 2 正常海马 CA₃ 区的突触,“V”突触小泡;“ \triangleleft ”突触前膜;“ \triangleleft ”突触后膜,×45000。图 3 正常海马 CA₃ 区的线粒体,“M”线粒体,×45000。图 4 颈总动脉单侧结扎 10 天后海马 CA₃ 区的突触及线粒体,“M”线粒体;“V”、“ \triangleleft ”与“ \triangleleft ”所示同图 2,×45000。图 5 颈总动脉双侧不同时结扎海马的三层结构,1、2、与 3、所示同图 1,×270。图 6 颈总动脉双侧不同时结扎海马中间部的小动脉,1.小动脉;2.丝状突起;3.多型细胞层,×900。图 7 双侧颈总动脉同时结扎 10 天后锥体细胞层的变化,1.分子层;2.锥体细胞突起的痕迹;3.与 4.所示同图 1,×900。图 8 双侧颈总动脉同时结扎 10 天后海马中部的小动脉,1.小动脉;2.浸入到多型红细胞层的血细胞;3.丝状突起,×360。图 9 双侧颈总动脉同时结扎 10 天后海马 CA₃ 区的突触及线粒体,×36000。图 10 双侧颈总动脉同时结扎 25 天后海马 CA₃ 区的突触及线粒体,×36000。图 9、10 中,“M”、“V”、“ \triangleleft ”与“ \triangleleft ”所示同图 2。