

运动康复对脑梗死大鼠学习记忆能力和 LTP 的影响

余茜 李晓红 吴士明 隋建锋

【摘要】 目的 探讨运动康复对脑梗死大鼠学习记忆能力和习得性 LTP 的影响。**方法** 采用脑梗死动物模型,应用慢性埋植电极技术以电生理结合行为的方法,记录康复训练组和模型组大鼠 Y-迷宫分辨学习前、60 次训练及学会后在海马 CA₃ 区的突触效应及其行为习得。**结果** 给予行为训练的康复组大鼠海马 CA₃ 区突触效应的习得性 LTP 的形成速度明显快于不给予任何训练的模型组 ($P < 0.05$),相应的 Y-迷宫分辨学习的习得也明显强于模型组 ($P < 0.05$)。**结论** 康复训练可加快海马 CA₃ 区习得性 LTP 的形成,提高学习效率。

【关键词】 脑梗死; 行为训练; LTP

The effects of behavioral training on ability of learning and hippocampal learning-dependent LTP in rats with cerebral infarction YU Qian*, LI Xiaohong, WU Shiming, SUI Jianfeng. * Department of Rehabilitation, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

【Abstract】 Objective To investigate the changes of learning-dependent long-term potentiation (LTP) in hippocampus CA₃ region in rats with cerebral infarction after behavioral training. **Methods** By using the electrophysiological techniques in combination with behavioral study, the hippocampal synaptic efficacious states were assessed in 8 rats with experimental cerebral infarction, before and after 60 times of Y-maze learning. The behavioral changes during the course of rehabilitation training were simultaneously evaluated to assess the efficacy of the training. The data obtained from the rehabilitation group were compared with that of another 8 rats without training. **Results** The results of this experimental study demonstrated that, the synaptic efficacy in the hippocampal CA₃ area of rats in the rehabilitation group was significantly superior to that in the control group ($P < 0.05$), indicating that the learning-dependent potentiation was improved (shown as significant increase of LTP) in the rats after 60 times of behavioral training. **Conclusion** Behavioral training may exert favourable effects on learning-dependent LTP in hippocampal CA₃ area.

【Key words】 Cerebral infarction; Behavioral training; Long-term potentiation(LTP)

在学习记忆的神经机制中,有关突触的可塑性问题近来倍受关注。已有较多文献报道了与学习行为有关的 LTP (long-term potentiation) 样突触效应变化。Thompson 等^[1]研究了海马齿状回突触效应与行为训练的关系,发现动物出现与行为反应相对应的突触效应增强。脑梗死常引起学习记忆障碍,行为训练可明显改善神经功能。目前有关行为训练促进脑梗死大鼠神经功能的恢复主要集中在运动功能评定及学习记忆改善的行为研究^[2-4],而由行为训练引起脑梗死大鼠学习记忆改善的基础-海马 CA₃ 区习得性 LTP 的变化还未见报道。为此,本研究通过运动康复对脑梗死大鼠学习记忆能力和海马 CA₃ 区习得性 LTP 的影响,初步探讨脑梗死后运动康复对中枢神经系统,尤其是对海马神经元的功能及突触可塑性的作用。

材料与方法

一、实验动物

Wistar 雄性大鼠,重 (250 ± 50) g,鼠龄 8 周,分为康复组 ($n = 8$) 和模型组 ($n = 8$)。模型组不给予任何训练,从其在 Y-迷宫分辨学习前测试的 LTP 作为基线对照组。

二、电极埋植及模型制作

以 25% 乌拉坦和 1% 氯醛糖混合液 (每千克 3 ml) 腹腔注射麻醉大鼠,固定于脑立体定位仪上,在无菌条件下进行慢性电极埋植,切开头皮,暴露左脑颅顶,用颅骨钻于海马、内嗅区穿通纤维 PP 位置各钻一小孔,记录电极为绝缘金属电极,直径 0.2 mm,尖端阻抗 < 5 k Ω ,用微电极推进器置于海马 CA₃ 锥体细胞层,按布瑞希图谱并定正,定位 Ap 3.0 ~ 3.4 mm, L 3.3 ~ 3.5, H 3.8 ~ 4.2 mm。刺激电极用两根绝缘的镍铬合金丝 ($\Phi 0.14$ mm) 绞合而成,尖端露 0.2 ~ 0.3 mm,使两者

作者单位:646000 泸州,四川省泸州医学院附属医院康复科(余茜),神经内科(李晓红);重庆第三军医大学新桥医院(吴士明);重庆第三军医大学生理教研室(隋建锋)

尖端上下相距 0.5~0.6 mm。埋植于内嗅区穿通纤维 (PP), 定位于 Ap 6.8~7.0 mm, L 4.4~4.5 mm, H 5.5~6.2 mm。参考电极用小螺钉固定在颅骨上。作电极埋植术时, 按定位参数上下移动记录电极和刺激电极, 选能记录到最大群体峰电位 (population spike, PS) 的部位, 然后用牙托粉固定。

参照小泉线栓法制成右侧大脑中动脉闭塞局灶性脑缺血模型^[5]。手术中用恒温水袋调节使直肠温度维持在 37°C。动物苏醒后表现为提尾时左侧前肢内收屈曲; 同侧 Horner 氏征; 爬行时向左划圈; 站立时左侧倾倒。凡具有上述四项体征者列入研究对象。术后休息 4 d, 于第 5 d 开始康复训练。

三、康复训练^[2]

1. 滚桶式网状训练: 将大鼠放于长 100 cm, 直径 60 cm 的圆形网状仪中, 手摇转动, 让其被动跑笼, 训练大鼠抓握、旋转及行走能力。

2. 平衡训练: 将大鼠放于距地面 5 cm 的 150 cm 长、2 cm 宽的方形木棒上以食物诱导让其行走, 训练平衡能力。

3. 网屏训练: 将大鼠放于网眼 1 cm × 1 cm、网宽 50 cm × 40 cm 的网屏上, 网屏距地面高度 80 cm, 下铺 12 cm 厚的海绵。在网屏由水平到逐步垂直并保持 5 s 的情况下, 观察大鼠是否从网屏上掉下来或用前爪握住网屏, 或大鼠从网屏上掉到海绵的时间, 时间越长则反应肌力越好。由此训练抓握能力及肌力。以上训练每天 1 h, 每周 6 d, 共训练 4 周。

四、学习记忆的行为学研究方法

康复组与模型组于术后 35 d 进行 Y-迷宫分辨学习行为学测试和在体 LTP 记录。

1. Y-迷宫^[6]: Y-迷宫为一三等臂式迷宫 (张家港生物医学仪器厂), 每臂顶端设一个信号灯, 以此提示“危险区”。信号灯亮后 6 s, 此臂即为危险区, 通以 36 V 交流电, 刺激大鼠在通电后从所在的亮臂跑到暗臂。训练中始终有一臂为安全区, 安全区以无规则的次序变换。实验在安静、光线较暗的环境中进行。实验时, 将大鼠放入迷宫中, 先使其适应 5 min, 然后开始实验。如果大鼠在通电后从所在亮臂跑到另一亮臂记为错误, 跑到暗臂为正确。一天内连续分段训练大鼠, 每 10 次为一段, 两段间大鼠休息 2 min。记录大鼠在 60 次训练中的正确次数和学会 (连续 10 次测试中有 9 次正确即学会) 所需的训练次数, 训练次数越少表明大鼠学习能力越强。以此作为判断大鼠学习分辨能力的指标。

2. 在体 LTP 记录: 学习记忆行为测试前及运动康复训练、学习记忆行为测试完毕 4 h 后, 让动物在一自制小笼中处于安静状态, 检测刺激为从单个方波刺激

PP 纤维, 波宽 0.1 ms, 刺激强度固定 (即模型组在 Y-迷宫分辨学习测试前, 以刺激器和隔离器输出频率 0.7 Hz、波宽 0.1 ms 的方波进行单刺激, 强度相当于引起突触反应和峰电位最大振幅的 50% 的强度作为测试强度), 于 CA₃ 区锥体细胞层记录 LTP。诱发电位经 WF-I 微电极放大器、DSJ-F 生理放大器振幅及 A/D 卡放大器三级放大后, 用计算机采集处理和分析。群体峰电位 (PS) 值测定同前, 即 PS 的前后最低点的连线至该波峰的垂直距离。突触传递增强的计算方法是行为测试 4 h 后单脉冲诱发的 PS 振幅与模型组行为测试前单脉冲诱发的 PS 振幅平均值之差再除以该平均值, 即以 PS 增幅的相对百分率作为衡量 LTP 效应的指标。不同组间 LTP 的比较采用学习前、后振幅增大的百分率, 以 *t* 检验比较差异是否有显著性。

实验结束后, 对动物记录电极、刺激电极作定位检查, 定位不准确者给予剔除。

结 果

一、2 组大鼠 Y-迷宫分辨学习 60 次及学会后海马 CA₃ 区 PS 增幅比较 (表 1)

表 1 大鼠 Y-迷宫分辨学习后海马 CA₃ 区 PS 增幅比较 (%)

分 组	60 次学习后 PS 增幅	学会后 PS 增幅
康复组	78.57 ± 16.32 *	238.58 ± 18.96
模型组	43.12 ± 11.21	235.16 ± 16.46

注: * 康复组与模型组比较 *P* < 0.05

从表 1 中看出, 在 60 次学习训练后, 康复组 PS 峰值明显增加 (*P* < 0.05), 与模型组 PS 增幅比较有显著意义 (*P* < 0.01), 表明康复组大鼠 LTP 效应强于模型组。而当康复组和模型组 Y-迷宫分辨学习达标后, PS 增幅比较差异无显著性 (*P* > 0.05), 表明某种行为获得后产生一样的 LTP。

二、2 组大鼠 Y-迷宫分辨学习后海马 CA₃ 区 PS 峰潜伏期的比较 (表 2)

表 2 大鼠 Y-迷宫分辨学习前后海马 CA₃ 区 PS 峰潜伏期 (ms)

分 组	Y-迷宫学习前	Y-迷宫学习后
康复组	3.08 ± 0.41	2.62 ± 0.18 *
模型组	3.42 ± 0.58	3.09 ± 0.48

注: * 康复组与模型组比较 *P* < 0.05

Y-迷宫分辨学习后, 康复组大鼠平均峰潜伏期较模型组平均峰潜伏期明显缩短 (*P* < 0.05)。

三、2 组大鼠 Y-迷宫分辨学习检测结果

康复组大鼠在 60 次 Y-迷宫分辨学习测试中, 有

46.07 ± 8.17 次正确,而模型组仅 25.04 ± 3.78 次正确。前者达到学会标准所需训练次数为 68.02 ± 11.67 次,而后者需要 107.07 ± 16.32 次,二者差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。

四、2 组大鼠 Y-迷宫分辨学习前 PS 幅值比较

康复组经平衡、抓握、旋转及行走训练后,其 PS 值较模型组学习前(即基线对照)增加 66.7%。表明康复训练已使大鼠产生了一种习得性 LTP,在经 Y-迷宫学习后导致更大的 LTP 产生,反应了突触效应增强。这与行为检测一致,表明了康复训练可以加强学习的获得。

讨 论

人们发现在行为学习时,突触传递有可塑性变化。行为训练后,检测到齿状回出现突触效应的增强,与行为条件反射的获得是相互平行的^[7]。易立等^[8]观察到大鼠条件饮水反应建立时,海马 CA₃ 区突触效应传递功能增强,并称之为习得性 LTP。这些结果表明,行为学习中突触效应有 LTP 样变化出现,提示它可能编码学习和记忆^[9]。

实验心理学研究表明,学习的效率会受到学习任务安排形式的影响。紧跟在原学习之后的后来经验对先前学习的材料有干扰作用;同样先前学习材料对回忆某些随后学习的材料亦有干扰,这种现象称为“倒摄干扰与前摄干扰”^[10]。有人对大鼠进行两种学习任务训练,发现在完成 A 训练后紧接着进行 B 训练,对海马 CA₃ 区习得性 LTP 形成有阻抑作用,而在完成 A 训练后间隔 4 h 方进行 B 训练,却能加快习得性 LTP 的发展,PS 峰值很快增至最高水平^[11]。

根据习得性 LTP 在 4 h 达到峰值的特点,本实验中所有 LTP 测定值均为运动训练或 Y-迷宫学习后 4 h 测定所得。结果发现二组大鼠 Y-迷宫学习 60 次后 PS 峰值均增加,表明两组大鼠均产生了习得性 LTP,康复组大鼠 PS 增幅的百分率较大,且峰潜伏期明显缩短,与模型组相比差异有显著性。但是当二组 Y-迷宫正确分辨率达 90% 以上时,二者 PS 增幅却一样多。分析其原因可能是平衡、抓握、旋转等康复训练实质是对偏瘫鼠的运动再学习,这种训练已使康复组大鼠产生一种习得性 LTP,在此基础上再经 Y-迷宫学习则产生更大的 LTP,即出现 LTP 的叠加效应;又由于 PS 增大有“饱和”现象,即一旦达到最高水平就不再继续增大,因此通过相互叠加,PS 峰值很快发展到饱和水平。相应的行为学检查表明,康复组在 60 次 Y-迷宫分辨学习的正确率上明显多于模型组,而且前者达到学会标准的次数明显少于模型组。表明当某种行为获得后均产生一样的 LTP,只不过模型组需要更多的训练次

数^[12]。因此,康复训练改变了突触的传递效率,加快了学习获得。提示行为训练可能改变突触效应的可塑性^[8,13]。然而 Moser^[14] 却指出,海马 PS 的变化并不是由于学习所造成,而是继发于与探究相关的运动所引起的体温变化,即运动引起脑部升温而导致 PS 增大。这个结果是在行为改变期或运动后极短时间内获得,而且 PS 增大仅持续 15 ~ 30 min。本实验在康复训练和/或 Y-迷宫分辨学习 4 h 后测定,排除了运动所致的升温作用。这与易立等^[8] 的实验结果一致。另外 Cain^[15] 采用人为的方法获得齿状回场电位的改变(如把动物放入冷水中或通过辐射加热等),这并不影响空间学习,说明了场电位变化与学习没有相关性。其次,一些假性训练动物同样受到行为训练,仅有的不同只是信号的不配对,即在长约 1 周的时间内均未观察到任何明显的场电位变化^[16]。因而我们认为康复训练和/或 Y-迷宫分辨学习训练(4 h 后)的场电位变化与一般的行为或温度变化并无关系。

行为训练诱导的突触效应增强可能存在一定的启动机制,两种行为间隔进行,都可正常地引起 PS 增大可是后一训练引起的增大,却是在前一训练已使 PS 增大了的基础上进行的,即两种训练作业所引起的 PS 增大。不仅不互相干扰,而且还可以互为基础,相互叠加^[10],使 PS 峰值很快发展到饱和;同时行为学习改变了树突和突触形态结构^[17],增加了运动皮层和海马突触数密度和面密度,活化海马和运动皮层的传入通路^[18];以及 NMDA 受体密度的增多,加强了 NMDA 受体依赖的 LTP 的产生^[19]。因而运动训练改变了突触的传递效率,这也是运动训练促使脑梗死大鼠学习记忆恢复的原因之一。

由此可见,康复训练可以加快海马 CA₃ 区习得性 LTP 的形成,提高学习工作效率,从而促进了学习记忆的恢复。

参 考 文 献

- 1 Thompson RF. Neuronal substrates of simple associative learning: Classical conditioning. Trends in Neurosci, 1983, 6: 270-275.
- 2 李玲,徐莉,袁华,等. 康复训练促进脑梗死大鼠记忆功能的恢复. 第四军医大学学报, 2000, 21: 1555-1557.
- 3 高谦,王福根,姚志彬,等. 运动训练对卒中鼠平衡功能影响. 现代康复, 2000, 4: 1152-1153.
- 4 Schmitter-Edgecombe M, Fahy JF, Whelan JP, et al. Memory remediation after severe closed head injury: notebook training versus supportive therapy. J Consult and Clin Psychol, 1995, 63: 484-489.
- 5 屈秋民,曹振玲,杨剑波. 线栓法大鼠大脑中动脉闭塞局灶性缺血模型 Longa 法和小泉法比较. 中华神经科杂志, 2000, 33: 289.
- 6 赵崇佩,程光,陈启盛. 一种智能化的 Y 迷宫. 中国应用生理杂志, 1997, 13: 363-365.
- 7 Schafe GE, Nader K, Blair HT, et al. Memory consolidation of Pavlov-

- ian fear conditioning: a cellular and molecular perspective. Trends Neurosci, 2001, 24: 540-546.
- 8 易立, 许世丹, 区英琦. 大鼠海马 CA3 区的习得性长时程突触增强. 心理学报, 1989, 41: 223-230.
- 9 许世丹, 肖鹏, 区英琦. 习得性 LTP——学习记忆可能的神经基础. 河南医学研究, 1995, 4(增刊): 1.
- 10 韩太真, 吴馥梅, 主编. 学习记忆的神经生物学. 北京: 北京医科大学与中国协和医科大学联合出版社, 1998. 287-320.
- 11 文夏玲, 许世丹, 区英琦. 不同学习方式习得性长时程突触增强形成的特点. 心理学报, 1992, 24: 436-438.
- 12 隋建峰, 吴宗耀, 熊英. 脉冲微波孕期辐照致仔鼠 HUD 及海马 LTP 的变化. 中国医学物理学杂志, 2000, 17: 103-105.
- 13 肖鹏, 区英琦, 许世丹. 海马齿状回突触效应的习得性长时程增强. 心理学报, 1988, 20: 439-449.
- 14 Moser E, Moser MB, Andersen P. Synaptic potentiation in the rat dentate gyrus during exploratory learning. Neuroreport, 1993, 5: 317-320.
- 15 Cain DP, Hargreaves EL, Boon F. Brain temperature-and behavior-related change in the dentate gyrus field potential during sleep, cold water immersion, radiant heating, and urethane anesthesia. Brain Res, 1994, 658: 135-144.
- 16 Xiao P, Xu SHT, Ou YQ. The change of synaptic efficacy after learning in hippocampus and its sub-area coordination. CAPS News Commun, 1999, 18(Suppl 8): 98-102.
- 17 Ivanco TL, Racine RJ, Kolb B. Morphology of layer III pyramidal neurons is altered following induction of LTP in sensorimotor cortex of the freely moving rat. Synapse, 2000, 37: 16-22.
- 18 Rao BS, Raju TR, Meti BL. Increased numerical density of synapses in CA3 region of hippocampus and molecular layer of motor cortex after self-stimulation rewarding experience. Neuroscience, 1999, 91: 799-803.
- 19 Seecher J, Muller WE, Hoyer S. Learning abilities depend on NMDA-receptor density in hippocampus in adult rat. J Neural Transm, 1997, 104: 281-289.

(收稿日期: 2001-11-13)

(本文编辑: 熊芝兰)

《中华物理医学与康复杂志》 诚邀广告业务

竭诚欢迎各医药及医疗器械厂商在本刊刊登产品广告。想提高您的产品的知名度? 想树立良好的企业形象? 想拓展您的业务范围? 那就请您选择《中华物理医学与康复杂志》作为您的代言人; 让我们来助您一臂之力!

竭诚欢迎本刊广大读者、作者代为联系广告业务。凡为本刊成功联系广告业务者, 均将获得丰厚回报; 免费赠阅本刊一年; 还有更多更多……

联系人: 熊芝兰, 郭铁成

联系地址: 武汉市解放大道 1095 号同济医院

《中华物理医学与康复杂志》编辑部

邮政编码: 430030

联系电话: 027-83662874

图文传真: 027-83662264

E-MAIL: cjpmmr@tjh.tjmu.edu.cn 或 cjpmmr@sina.com 或 cjpmmr@hotmail.com

《中华物理医学与康复杂志》编辑部