

25-30, 图版1页

兽类学报1992, 12(1): 25—30

Acta Theriologica Sinica

不同年龄喜马拉雅旱獭大脑皮质结构与血液气体测定的比较研究*

陈钦铭 叶于聪[△] 夏寅明**

(青海省高原医学科学研究所, 西宁, 810012)

Q 959.834

摘 要

本文报道饲养于海拔3300米地区室内(室温5—20℃)非冬眠的幼年、成年与老年喜马拉雅旱獭大脑的某些生理参数、血液气体分析、大脑皮质神经元数量与锥体细胞树突棘棘器的数量变化以及大脑皮质超微结构特点。结果表明:成年组与幼年组相比,脑重占体重百分比有所下降,血红蛋白浓度、红细胞压积和氧利用率有所升高,锥体细胞数量增加9.7% ($P > 0.05$),锥体细胞树突棘的棘器数目增加22.4% ($P < 0.05$);老年组与成年组相比,脑重占体重百分比进一步下降,血红蛋白浓度、红细胞压积进一步升高,氧利用率明显下降 ($P < 0.01$),锥体细胞数减少29.8% ($P < 0.01$),锥体细胞树突棘的棘器数目减少33.8% ($P < 0.01$),锥体细胞浆中的粗面内质网、游离核糖体及突触前膜中的突触小泡数量也明显减少,脂褐素含量升高。

关键词 喜马拉雅旱獭; 大脑皮质; 锥体细胞; 树突棘; 突触; 棘器

旱獭

我们曾报道过青藏高原特有的土生动物—喜马拉雅旱獭(*Marmota himalayana*)颈动脉体的超微结构(陈钦铭等, 1989)、血液流变性观测(叶于聪等, 1989)、心肌结构与功能的比较研究(叶于聪等, 1990),而有关不同年龄组喜马拉雅旱獭的血气分析特点,大脑皮质超微结构特征,锥体细胞数量,树突棘的棘器数量在不同生长发育阶段和衰老过程中的动态变化尚未见报道。本文对于探讨喜马拉雅旱獭神经系统发育、成熟与衰老特点有重要意义。

材料与方 法

2826

1. 实验动物

喜马拉雅旱獭捕自青海省海晏县(海拔3200—3400米),雌雄兼用,共24只,饲养于当地室内,室温5—20℃,未冬眠,各组动物均在5月份取材,各组标本情况是一致的。依据晶体重量测定,参考头骨、体重、尾部及皮肤毛色判断年龄大小(黄孝龙等, 1985; 刘寿鹏, 1987; 叶于聪等, 1989),划分为3组:

幼年组(成年前期): 小于2周岁,体重1.56—1.95千克,共7只。

* 喜马拉雅旱獭由青海省卫生防疫站刘寿鹏主任提供,谨此致谢

** 西宁市第一人民医院

本文于1990年6月15日收到, 1991年9月15日修回。

成年组(成年期): 3—6周岁, 体重为2.3—3.8千克, 共10只。

老年组(成年后期): 大于6周岁, 体重4.1—4.8千克, 共7只。

2. 某些生理参数测定与血液气体分析

喜马拉雅旱獭以乌拉坦(1.2克/千克体重)腹腔注射麻醉。分离动物的左颈总动脉和右颈外静脉, 分别插入微导管。由静脉取血, 按常规方法测定红细胞数、血红蛋白浓度、红细胞压积。分别由颈动脉、静脉抽血, 经肝素抗凝, 橡皮封闭后立即用美国 IL-1303型血气分析仪进行血气分析。最后, 进行不断血的血管灌流固定, 开颅取出完整的脑组织称重, 计算脑占体重百分比。

3. 取材与锥体细胞计数

取左测与右测的大脑顶叶皮质(相当Krieg 2,3区)冠状切面组织各1片, 厚度约1.5—2毫米, 左测大脑皮质供作电镜标本, 右侧大脑皮质固定于10%等渗中性福尔马林中24小时, 然后石蜡包埋, 切片厚7微米, 常规苏木素、伊红染色, 对3个年龄组24只动物的大脑皮质用目镜测微尺量出200平方微米的区域, 在100倍的视野内沿每只动物的皮质V层任意测定5个区域, 在每一200平方微米的区域内, 计数全部被切到胞核的锥体细胞(其中以大锥体细胞为主), 计算出每200平方微米的锥体细胞平均数, 并进行统计学处理。

4. 透射电镜技术

左测大脑皮质立即浸入预冷的pH7.4, 2.5%戊二醛固定液中, 再以1%锇酸固定, 梯度乙醇脱水, 环氧树脂812包埋, LKB超薄切片机切片, 醋酸铀—枸橼酸铅染色, 应用JEM-2000EX透射电镜在12000倍下对3个年龄组的24只动物的大脑皮质标本进行观察, 每个标本观察100个突触面, 并计数树突棘的棘器数量, 计算出棘器占突触的百分比, 并进行统计学处理。

结 果

1. 不同年龄组喜马拉雅旱獭某些生理参数的比较

(1) 不同年龄组喜马拉雅旱獭脑重及某些血液学参数的比较(表1) 表1中脑重占体重百分比有随年龄增大而下降趋势, 不论是成年组与幼年组相比或老年组与成年组相

表 1 不同年龄组喜马拉雅旱獭某些生理参数的比较 ($\bar{x} \pm SD$)
Table 1 Comparison of some physiological parameters in *M. himalayana* of different age groups ($\bar{X} \pm SD$)

组 别 Groups	动物数 Animals	体重(公斤) BW(kg)	脑重(克) BrW(g)	脑重占体重(%) BrW/BW(%)	红细胞数 ($\times 10^{12}/L$) RBC($\times 10^{12}/L$)	血红蛋白浓度 (克/升) Hb(g/L)	红细胞压积 Hct
幼 年 Juvenile	7	1.82 \pm 0.15	11.60 \pm 1.07	0.64 \pm 0.03	5.10 \pm 0.44	118 \pm 6.1	0.43 \pm 0.02
成 年 Adult	10	3.06 \pm 0.57	12.30 \pm 1.17	0.41** \pm 0.06	5.42 \pm 0.68	136** \pm 13.2	0.47** \pm 0.03
老 年 Old	7	4.39 \pm 0.28	13.19 \pm 0.86	0.31*** \pm 0.03	5.90* \pm 0.46	148*** \pm 4.6	0.51*** \pm 0.01

BW: Body weight, BrW: Brain weight, RBC: Red blood cell count, Hb: Haemoglobin, Hct: Haematocrit.

Compared the adult to the juvenile, *P<0.05 **P<0.01; Compared the old to the adult,

Δ P<0.05 $\Delta\Delta$ P<0.01

比,均有非常显著差别。血红蛋白浓度、红细胞压积则随年龄增长有升高倾向,各年龄组相比均有显著差别。

(2) 不同年龄组喜马拉雅旱獭血液酸碱度、二氧化碳分压、碳酸根及总二氧化碳的比较(表2) 表2中不同年龄组喜马拉雅旱獭的血液酸碱度、碳酸根、总二氧化碳浓度无显著差别,只有二氧化碳分压呈现随年龄增长而明显升高,其中幼年组、成年组的二氧化碳分压值在正常范围内(5.05KPa),而老年组则较正常值稍有增高,提示与幼年、成年组相比,老年组呼吸有轻度抑制现象,因而通气有轻度改变。

表2 不同年龄组喜马拉雅旱獭血液酸碱度、二氧化碳分压、碳酸根、总二氧化碳的比较($\bar{x} \pm SD$)
Table 2 Comprison of pH, P_{CO_2} , HCO_3^- , T- CO_2 of blood in *M. himalayana* of different age groups ($\bar{x} \pm SD$)

组别 Groups	动物数 Animals	血液酸碱度 pH of blood		二氧化碳分压 (千帕斯卡) P_{CO_2} (KPa)		碳酸根 (毫克分子/升) HCO_3^- (mM/L)		总二氧化碳 (毫克分子/升) T- CO_2 (mM/L)	
		动脉 A	静脉 V	动脉 A	静脉 V	动脉 A	静脉 V	动脉 A	静脉 V
幼年 Juvenile	7	7.397 ± 0.046	7.377 ± 0.010	4.08 ± 0.52	4.61 0.73	23.6 ± 2.36	24.02 ± 3.35	24.56 ± 2.34	25.11 ± 3.50
成年 Adult	10	7.404 ± 0.060	7.387 ± 0.046	4.62* ± 0.048	5.02 0.70	26.0 ± 3.38	29.30 ± 2.61	21.61 ± 3.43	30.70 ± 2.71
老年 Old	7	7.427 ± 0.046	7.392 ± 0.011	5.25* ± 0.65	6.30 0.61	25.4 ± 3.42	27.3 ± 2.41	20.41 ± 3.12	22.51 ± 3.31

A: Artery; V: Vein; * $P < 0.05$

(3) 不同年龄组喜马拉雅旱獭血氧分压、氧饱和度和氧利用率的比较(表3) 由表3可看出成年组中的血氧分压、氧饱和度、氧利用率较幼年组有升高趋势,但无显著性差异,而老年组的上述3项指标均低于成年组,氧饱和度显示有显著差别,氧利用率则有非常明显差异。

表3 不同年龄组喜马拉雅旱獭血氧分压、氧饱和度和氧利用率比较($\bar{x} \pm SD$)
Table 3 Comprisons of P_{O_2} , SO_2 of blood and O_2 -utilization in *M. himalayana* of different age groups ($\bar{x} \pm SD$)

组别 Groups	动物数 Animals	血氧分压(千帕斯卡) P_{O_2} (KPa)			氧饱和度 SO_2 (%)		氧利用率 O_2 -utilization rate
		动脉 A	静脉 V	A-V	动脉 A	静脉 V	
幼年 Juvenile	7	9.37 ± 0.42	4.29 ± 0.36	5.08 ± 0.41	95.32 ± 1.47	68.68 ± 5.50	36.64 ± 6.06
成年 Adult	10	9.41 ± 1.01	4.27 ± 0.36	5.14 ± 0.84	96.34 ± 1.52	65.02 ± 4.83	41.32 ± 4.21
老年 Old	7	9.21 ± 0.82	4.31 ± 0.34	4.90 ± 0.63	92.31* ± 1.72	66.67* ± 5.62	26.64** ± 4.63

Compared the adult to the juvenile ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$

Compared the adult to the old $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta P < 0.05$

O_2 -utilization rate = $SO_2(A) - SO_2(V)$

A: Artery; V: Vein

2. 不同年龄组喜马拉雅旱獭大脑皮质神经元数量的比较

幼年组的大脑皮质顶叶Ⅴ层内的锥体细胞数平均为 $20.74 \pm 1.56/200$ 平方微米;成年组平均为 $22.92 \pm 1.22/200$ 平方微米;老年组平均为 $16.08 \pm 2.93/200$ 平方微米。成年组与幼年组相比,锥体细胞数增加 9.7% ($P > 0.05$);老年组与成年组相比,锥体细胞数减少 29.8% ($P < 0.01$),差别非常显著。

3. 不同年龄组喜马拉雅旱獭大脑皮质超微结构的比较观察

(1) 幼年组喜马拉雅旱獭大脑皮质超微结构的特点 在第Ⅲ层与第Ⅴ层中均含有一定数量的神经元和少量神经胶质细胞,它们均为具有突起的细胞。神经元的结构可分为细胞体、树突、轴突3部分。细胞体包括细胞膜、细胞质和细胞核等结构。在靠近突触前膜的胞质内,除含有线粒体、微丝、微管外,还可见大量突触小泡。神经元一般只有1个大而圆的胞核,位于胞体中央,核膜为双层膜结构,核内主要含有染色质,异染色质量较少,还可见大而圆的核仁,数目1至数个不等。此外,胞质中还含有大量神经原纤维(由细丝微管集成束所组成)和少量脂褐素(图版1-1)。神经元含有数目不等的树突。树突内部含有尼氏体、神经原纤维及滑面内质网组成的不规则小泡等结构。树突棘与树突不同,在棘内未见微管、线粒体,但有形态各异的囊泡、絮状物、颗粒等,棘系树突的一个突起。在Ⅴ层锥体细胞700个突触面上,观察到树突棘的棘器数为75个,棘器占突触的百分比为 10.71 ± 3.04 ,组成棘器的囊泡类型主要为扁平囊型,还有管状型或混合囊型,棘器是大脑皮质树突棘中的一种特殊形态结构,因此棘器多位于棘内,但也有少数棘器不在棘中而在树突内(图版1-2)。神经元通常发出一根轴突,较树突为细,轴突内部仅见细长的线粒体、神经原纤维(轴浆),不含尼氏体。在大脑皮质中还可见到少量神经胶质细胞,主要为星形胶质细胞和少突胶质细胞,它们常包围神经元的胞体与神经纤维,胞质较少。

(2) 成年组喜马拉雅旱獭大脑皮质超微结构的特点 大脑皮质第Ⅲ层与第Ⅴ层中的神经元数目成年组较幼年组稍多。神经元胞核周围胞质内的粗面内质网与游离核糖体数量亦较幼年组多。树突较发达并可见多种类型突触。在Ⅴ层锥体细胞1000个突触面上,观察到树突棘的棘器数目为138个,棘器占突触的百分比为 13.80 ± 2.35 ,与幼年组相比,棘器数目增加 22.39% ($P < 0.05$) (图版1-3,4)

(3) 老年组喜马拉雅旱獭大脑皮质超微结构的特点 老年组的大脑皮质第Ⅴ层神经元数量较成年组减少,部分神经元胞体变形,胞膜与核膜界限不清,核周质内有些尼氏体消失,留下大小不等空泡;胞核内染色质电子密度降低,少数线粒体变性、嗜断裂,基质密度减低;突触前膜中的线粒体与突触小泡数量明显减少;树突内的粗面内质网、游离核糖体、线粒体数量减少;树突直径有缩小倾向。在Ⅴ层锥体细胞的700个突触面上,观察到树突棘的棘器数为64个,棘器占突触的百分比为 9.14 ± 1.57 ,与成年组相比,棘器数目减少为 33.8% ($P < 0.01$),差别非常显著,胞质内的脂褐素较成年组多(图版1-5,6)。

讨 论

我们对3个年龄组喜马拉雅旱獭的脑重占体重百分比、血液学某些参数、血液气体进行观测,结果表明随着成年组动物中枢神经系统结构与功能的完善,对氧的需求量增加,氧的利用率增高,血红蛋白浓度和红细胞压积相应增加,以便结合、携带和提供更多的氧,供大脑皮质和其它组织的需要;进入老年期,组织结构则表现出大脑萎缩,血气分析呈现氧利用率明显下降,提示老年组动物神经系统功能较成年组有所下降。

关于不同年龄组喜马拉雅旱獭大脑皮质神经元数量的变化 通过对大脑皮质V层锥体细胞的定量计数,观察到成年组较幼年组的锥体细胞数虽有轻度增加,但无显著性差别;从成年进入老年,则锥体细胞可减少29.8%,有明显的统计学意义。衰老个体神经系统功能降低与神经元数量减少密切相关(Sant'Ambrogio, 1961; Feldman, 1974; 侯家骥等, 1983),且不同物种的脑及同一物种脑的不同部位,神经细胞减少的数目与消逝的时间也不相同(Terry, 1980)。

关于不同年龄组喜马拉雅旱獭锥体细胞树突棘的数量变化 棘器是哺乳动物大脑皮质所特有的结构,在个体发生上成熟也较晚,认为与高级神经的特异性活动有关,与记忆储存和经验积累有关(Whittaker, 1962; Gray, 1974; 蔡德亨, 1987),因此,我们对3个年龄组喜马拉雅旱獭锥体细胞2400个突触面上观察到的277个棘器进行分析,结果表明成年组棘器占突触百分比(棘器密度)较幼年组增加22.4% ($P < 0.05$),有显著性意义,而老年组的棘器密度较成年组减少33.8% ($P < 0.01$),两组有非常显著差别。已知神经元的正常功能和结构的保持有赖于充分的传入刺激,而树突棘对神经元的信息输入又起决定性作用(Feldman, 1977),从幼年到成年,随着来自外界环境对中枢神经系统刺激的种类、频度、强度的增加,信息输入相应增多,树突棘的棘器数量有所增加,提示从幼年进入成年,不仅大脑皮质神经元数量已充分发育,而且机能分工也日趋完善,神经元之间的联络逐渐加强。而由成年进入老年,不仅神经元数量有所减少,而且出现不同程度的树突萎缩,导致树突表面积减小和棘器的普遍消失,使棘器密度明显降低,即老年时皮质加工最精细的部位受损(Scheibel, 1977; 侯家骥等, 1988),这反映了机体衰老过程中神经元功能的减退。

参 考 文 献

- 叶于聪、崔芝忠、陈钦铭、曹廷柏、柴凤玲 1989 喜马拉雅旱獭血液流变性的观测。中国应用生理学杂志 5(3): 342-344。
- 叶于聪、陈钦铭、龙雯、黄宝宏、阮忠海 1990 喜马拉雅旱獭和大白鼠的心肌结构及功能的比较研究。兽类学报 10(3): 171-177。
- 刘寿鹏 1987 喜马拉雅旱獭的研究对策及展望。乙型肝炎动物模型研究 (1): 15-18。
- 陈钦铭、叶于聪、温佳林 1989 高原低氧对喜马拉雅旱獭、高原鼠兔、缺氧敏感大鼠颈动脉体超微结构的影响。兽类学报 9(3): 221-225。
- 侯家骥、刘志勋 1983 大鼠中枢神经系统衰老的形态学研究 Ⅱ。大脑皮质锥体细胞树突棘的数量变化。动物学报 34(2): 144-148。
- 黄孝龙、王治军、于小涛、刘丽娟、吴驾淦 1985 用晶体重量测定喜马拉雅旱獭的年龄。兽类学报 5(1): 10, 16。
- 蔡德亨、李恩中、张鸣弦 1987 大脑皮质棘器的超微结构。解剖学报 18(4): 366-369。
- Feldman, M. L. and C. Dows 1974 Aging in rat visual cortex. Light microscopic observations on layer V pyramidal apical dendrites (Abs). Anat Rec 178: 355。
- Feldman, M. L. 1977 Dendritic changes in aging rat brain: Pyramidal dendritic length and ultrastructure. In: The Aging Brain and Senile Dementia (Nandy, K. and I. Sherwin ed), 23-37. Plenum Pr, New York。
- Gray, E. G. 1974 The Synap Vol 2. London, Academic Press, p. 385-415。
- Sant'Ambrogio G. 1961 Alteration in central latency, motoneurone number and blood volume of spinal cord of the aging rat. Am, J, Physiol. 200: 927-936。
- Scheibel, M. E. and A. B. Scheibel 1977 Differential changes with aging in old and new cortices. In: The Aging Brain and Senile Dementia (Nandy, K and I. Scheiwin ed), 39-58. Pr, New York。
- Terry, R. D. 1980 Structural changes in senile dementia of the Alzheimer type. In Aging (Amducci, L. et al ed), 13: 23-32. Raven Press, New York。

Abstract

COMPARATIVE STUDIES ON THE CEREBRAL CORTEX STRUCTURE AND THE BLOOD GASEOUS DETERMINATION OF *MARMOTA HIMALAYANA*

CHEN Qinming YE Yucong XIA Yinming
(Qinghai Plateau Institute of Medical Science, Xining, 810012)

This paper reports 24 unhibernation *Marmota himalayana* which were reared in temperature 5-20°C room of altitude 3300m. The authors divide it into three age groups (juvenile, adult, old). Some physiological parameters, the blood gaseous analysis, the variation of neurons and spine apparatus as well as the ultrastructure of the cerebral cortex were determined respectively. The results are as follows.

1. The comparison between the adult and juvenile presented the decrease of BrW/BW, but haemoglobin, haematocrit, O₂-utilized rate were increase in the adult (see table 1, 3).

2. The comparison between the old and adult presented also the decrease of BrW/BW and O₂-utilized rate, but Hb, Hct were still increase in the old (see table 1, 3).

A significant neuronal loss in cerebral cortex were observed and the mean values of the pyramidal cells and the spine apparatus were $16.08 \pm 2.93/200\mu\text{m}^2$ and 9.14 ± 1.54 in the old. Compared the old to the adult, the decrease of the pyramidal cells and the spine apparatus in the old were 29.8% ($P < 0.01$) and 33.8% ($P < 0.01$). The decrease of rough surface endoplasmic reticulum, free-ribosome, synapse vesicles, and the increase of the lipofuscin in pyramidal cells in the old were observed too.

Key words: *Marmota himalayana*; Cerebral cortex; Pyramidal cell; Dendritic spine; Synapse; Spine apparatus

Plate I

1. Many organella in parinucleoplasm of pyramidal cells of V layer of the cerebral cortex in juvenile. $\times 6,000$
2. Spine apparatus(†) of flat sac of dendritic spine of the pyramidal cells in juvenile. $\times 15,000$
3. Abundant rough-surface endoplasmic reticulum and free ribosomal of parinucleoplasm of the pyramidal cells in adult. $\times 6,000$
4. Many spine apparatus(†) of flat sac of dendritic spine of the pyramidal cells in adult. $\times 15,000$
5. The decrease of rough-surface endoplasmic reticulum, free ribosomal and synapse vesicles, the increase of lipofuscin of the pyramidal cells in old. $\times 8,000$
6. Decrease of spine apparatus of dendritic spine and a little mitochondria degeneration in pyramidal cells in old. $\times 15000$