

# 运动训练对血管性痴呆大鼠认知障碍及长时程增强的影响

张 辉<sup>1</sup> 张昊昕<sup>2</sup> 张朝东<sup>1</sup>

**摘要** 目的:探讨运动训练对大鼠空间学习、记忆能力和长时程增强(LTP)的影响。方法:选用 Wistar 雄性大鼠随机分成对照组 5 只,血管性痴呆组 10 只,血管性痴呆+运动训练组 10 只。用电生理学方法检测在体海马 CA1 区 LTP。用 Morris 水迷宫评价大鼠学习记忆能力。结果:血管性痴呆组大鼠水迷宫逃避潜伏期明显延长,血管性痴呆+运动训练组大鼠较血管性痴呆组大鼠水迷宫隐匿平台逃避潜伏期缩短,但仍长于对照组( $P<0.05$ )。血管性痴呆组大鼠 LTP 诱导明显受到抑制,血管性痴呆+运动训练组大鼠较血管性痴呆组大鼠 LTP 诱导明显改善,但仍比对照组差( $P<0.05$ )。结论:血管性痴呆大鼠学习记忆能力降低,LTP 诱导障碍,运动训练可提高大鼠空间学习、记忆能力,增强 LTP 的形成。

**关键词** 血管性痴呆;运动训练;水迷宫;长时程增强

中图分类号:R493,R741 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-01-0021-03

**Effects of exercise training on cognition disorder and LTP in vascular dementia rats/ZHANG Hui, ZHANG Haoxin,ZHANG Chaodong//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2007,22(1):21—23**

**Abstract Objective:**To investigate the effects of exercise training on the ability of spatial learning, memory and long-term potentiation(LTP) in hippocampus CA1 region in rats. **Method:**Twenty-five Wistar male rats were divided into control group ( $n=5$ ), vascular dementia group ( $n=10$ ) and vascular dementia with exercise training group ( $n=10$ ). Electrophysiological technique was used to observe the effects on LTP of hippocampal CA1 region. Morris water-maze test was performed to study the ability of spatial learning and memory in each group of rats. **Result:**The escape latencies in vascular dementia group were longer than those control group, and after exercise training it became shorter, but were still longer than the control group( $P<0.05$ ).The change rates of population spike(PS) latency in exercise training group were statistically higher than those in vascular dementia group( $P<0.05$ ). **Conclusion:**Exercise training can significantly elevate the induction of LTP and the ability spatial of learning and memory.

**Author's address** The China Medical University,Shenyang,110001

**Key words** vascular dementia;exercise training; water maze; long-term potentiation

在学习记忆的神经机制中,有关突触的可塑性问题近来备受关注。已有较多文献报道了与学习行为有关的长时程增强(long-term potentiation,LTP)样突触效能变化。血管性痴呆(vascular dementia,VD)常常引起学习记忆障碍,而由运动训练引起此类大鼠学习记忆改善的基础——海马 CA1 区 LTP 的变化还未见报道。为此,本研究通过研究运动训练对血管性痴呆大鼠学习记忆能力和海马 CA1 区 LTP 的影响,初步探讨血管性痴呆后运动训练对中枢神经系统,尤其是对海马神经元的功能及突触可塑性的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

选雄性 Wistar 大鼠 25 只,体重 280—350g,随机分成对照组 5 只,血管性痴呆组 10 只,血管性痴呆+运动训练组 10 只。

### 1.2 模型制作

采用双血管阻断法制作动物模型。大鼠于术前 8—12h 禁食,不禁水。10%水合氯醛(0.3ml/100g BW)腹腔注射麻醉。将大鼠仰卧固定,行腹侧颈正中切口,钝性分离双侧颈总动脉,用 4 号线行双重结扎。伤口用庆大霉素处理防止感染,缝合皮肤。对照组处理步骤同上,但不进行颈总动脉结扎。

### 1.3 运动训练

①滚筒式网状训练器为长 100cm,直径 60cm 的圆形网状仪器,中间被分为 4 个格,可同时训练 4 只鼠,底座有固定架,一端有一手摇柄,可手摇按 5r/min 进行转动训练,将大鼠放入该器内可训练大鼠

1 中国医科大学附属第一医院神经内科,辽宁沈阳市和平区北二马路 92 号,110001

2 锦州市第十二中学

作者简介:张辉,女,副主任医师,硕士

收稿日期:2006-03-28

的抓握、旋转、行走等运动。②平衡木训练采用了170cm长, 2cm宽的方木棒, 平放在距地面7cm处, 作为一个平衡木让鼠在其上行走, 主要评估及训练平衡功能。③转棒训练取长150cm, 直径4.5cm的木棒一根, 其中点固定在3r/min的转动器上, 分别向左右交替转动, 将大鼠放入该棒的一端可评估及训练动态的平衡功能。④网屏训练: 网屏为50cm×40cm网带, 网眼为1cm×1cm, 网板的左右和上方都用2.5cm高的木板框边, 网屏距地面高度为80cm, 先将网屏水平放置, 将大鼠放在其上, 然后缓缓地将其一端抬高, 在2s内将此屏风变成垂直位, 保持5s, 观察大白鼠是否会从网屏上掉下来或用前爪抓住网屏, 从而客观地评价前爪抓握能力及肌力情况。

#### 1.4 水迷宫检测

术后4周, 各组大鼠分别进行水迷宫检测。Morris水迷宫为一圆形水池, 直径200cm, 高50cm, 水深30cm, 水温控制在22—24℃。池壁标明4个入水点, 由此将水池分为4个象限, 任选其中一个象限, 正中放置一个直径11cm、高29cm的平台。每天将实验大鼠按东、南、西、北四个入水点依次放入水池中, 同时记录其在120s内寻找平台的时间(逃避潜伏期), 如果120s仍未找到平台, 则人为引导大鼠到达平台, 并停留60s, 本次成绩记作120s。Morris水迷宫测试一天一次, 共训练5天, 实验第6天将平台撤走, 进行大鼠120s内穿越原平台位置的次数测试, 既空间探索实验。

#### 1.5 LTP测定

将动物用20%乌拉坦腹腔注射麻醉(1.5g/kg)。将麻醉大鼠的头部固定于脑立体定位仪上, 暴露头顶颅骨。将记录电极定位于大鼠海马CA1的颗粒细胞层(前囟后3.8mm、中缝旁2.0mm、皮质下

2.8mm), 刺激电极定位于同侧的CA3区(前囟后3.8mm、中缝旁4.0mm、皮质下3.8mm)。用牙科钻在大鼠颅骨CA3区坐标钻一直径1mm左右的孔, 将双极刺激电极(除距尖端0.1mm外全部绝缘, 极间距0.2—0.4mm)插入CA3区, 用牙科水泥固定, 以施加单个脉冲刺激或高频刺激。在大鼠按CA1区坐标钻一直径1mm左右的孔, 取尖端直径1—2mm, 阻抗5—20MΩ, 内充3mmol/L KCl的玻璃微电极作为记录电极插入孔内。连接好刺激电极和记录电极。打开各仪器电源, 首先以每分钟一次的频率对CA3区施加单脉冲电刺激(强度7.5V, 波宽0.1ms), 并在CA1区记录其群体峰电位(population spike PS), 共持续30min, 测量每次反应的幅值。然后对CA3区施加短串高频条件刺激(频率100Hz, 间距10ms, 持续5s), 之后再给予单脉冲电刺激来检测条件刺激所诱发的PS的幅值及持续时间的变化。以强直刺激前5min内的PS均值为100%, 强直刺激前后各时间点记录的PS均值与之比较, 以百分数(%)表示。比较各组PS变化率(刺激后PS幅度/刺激前幅度×100%)。若高频刺激诱发的PS幅度明显增大(≥150%)并维持30min以上, 即认为产生了LTP现象。

#### 1.6 统计学分析

所有数据均以均数±标准差表示, 统计分析使用SPSS11.5版统计分析软件, 采用方差分析方法检验。显著性水平为 $P<0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 水迷宫检测结果

血管性痴呆组大鼠每天隐匿平台逃避潜伏期均明显长于对照组( $P<0.05$ ), 运动训练组大鼠隐匿平台逃避潜伏期较痴呆组明显缩短( $P<0.05$ ), 见表1。

表1 各组大鼠隐匿平台逃避潜伏期

( $\bar{x}\pm s, s$ )

组别	鼠数	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
痴呆组	10	104.79±17.56 <sup>①</sup>	95.08±26.52 <sup>①</sup>	89.25±26.80 <sup>①</sup>	93.12±26.29 <sup>①</sup>	86.70±24.30 <sup>①</sup>
痴呆+康复组	10	78.62±35.04 <sup>②</sup>	46.33±34.37 <sup>②</sup>	38.50±22.89 <sup>②</sup>	35.37±22.91 <sup>②</sup>	49.00±23.19 <sup>②</sup>
对照组	5	33.62±24.32	18.04±17.98	13.58±12.23	10.83±10.43	13.29±12.01

①与对照组比较 $P<0.05$ ; ②与痴呆组比较 $P<0.05$

大鼠每分钟穿越原平台位置的次数, 痴呆组为 $1.25\pm 1.67$ 次/分、痴呆+康复组为 $4.45\pm 1.88$ 次/分、对照组为 $5.87\pm 2.55$ 次/分。痴呆组与对照组比较差异有显著性意义( $P<0.05$ ), 痴呆+康复组与血管性痴呆组比较差异有显著性意义( $P<0.05$ )。

### 2.2 LTP测定结果

高频刺激前, 各组间PS值无显著性意义( $P>0.05$ )。高频刺激后, 对照组的PS幅值明显升高, 痴呆组LTP引出障碍, 运动训练组LTP引出明显改

善, 见图1。

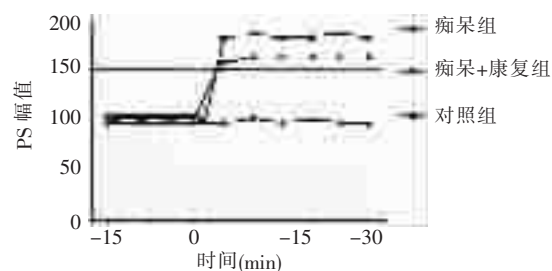


图1 运动训练对大鼠LTP的影响

### 3 讨论

1973年 Bliss 和 Lomo 在家兔的海马上发现当以一个或几个频率为 10—20Hz, 串长为 10—15s 或频率为 100Hz, 串长为 3—4s 的电刺激作为条件刺激时, 继后的单个测试刺激会引起群峰电位和群体兴奋性突触后电位的振幅增大, 群体峰电位的潜伏期缩短。并持续长达几小时, 甚至长达几天至几周。他将这种单个刺激诱发的突触传递的长时程易化称为 LTP。LTP 的发现, 不仅提供了高等动物脑内活动依赖性突触可塑性的有力证据, 而且为在突触水平上研究学习记忆的神经机制提供了一个理想模型。根据 LTP 能否被谷氨酸的受体亚型 NMDA (N-methyl-D-aspartate) 的阻断剂阻断来分类, 将 LTP 分为两类: NMDA 受体依赖的 LTP 和非 NMDA 受体依赖的 LTP, 对 NMDA 受体依赖的 LTP 研究较详细, 其产生和维持的机制如下: 静息时, 由于 NMDA 受体被  $Mg^{2+}$  堵塞, 非 NMDA 受体起支配作用。高频刺激使突触前膜的  $Ca^{2+}$  大量内流, 触发了谷氨酸递质的释放, 使突触后膜去极化, 突触后膜的去极化达到一定程度, 使位于 NMDA 受体通道内阻止  $Ca^{2+}$  内流的  $Mg^{2+}$  移开, 递质与 NMDA 受体结合后, 通道打开,  $Ca^{2+}$  内流, 胞内  $Ca^{2+}$  浓度升高,  $Ca^{2+}$  又激活两类信号: 蛋白激酶 C 和钙/钙调素激酶, 进一步激活逆行信使, 通过扩散反馈到突触前膜, 作用于鸟苷酸环化酶, 产生更多的递质谷氨酸, 从而建立 LTP<sup>[1]</sup>。目前的研究表明, LTP 这样的长时程增强生理效应, 其关键环节可能在于即刻早期基因的表达, 某些即刻早基因的表达产物是特异的 DNA 结合蛋白, 它们将作为胞内第三信使调节靶基因的转录, 生成不同的功能蛋白, 发挥持久的生理效应<sup>[2]</sup>。由于 LTP 现象首先发现于哺乳动物的海马部位, 可长时间保持, 并具有联合性和特异性, 因此, 被认为与学习记忆有密切的关系。许多研究表明, 影响 LTP 的因素对某些学习记忆过程也会产生影响<sup>[3]</sup>, 反过来, 一些影响学习记忆过程的因素也会影响 LTP, LTP 的诱导会促进学习记忆, 学习过程中也会产生 LTP, 所以, 学习和记忆与 LTP 之间, 存在着较强关联<sup>[4]</sup>。血管性痴呆大鼠存在学习记忆障碍, 本实验中, 血管性痴呆大鼠水迷宫逃避潜伏期明显延长, 同时可见 LTP 引出障碍, 与对照组比较具有显著性意义。

研究表明, 适度的运动训练有益于脑健康<sup>[5-6]</sup>。进一步研究发现, 长期运动可增强海马神经突触可塑性(如 LTP)和提高学习记忆能力<sup>[7]</sup>。本实验中, 血管性痴呆大鼠运动训练后, 水迷宫逃避潜伏期明显缩

短, 说明其学习记忆功能有改善, 同时也可见到 LTP 诱导增强。其机制可能是运动训练使 NMDA 受体密度增多, 加强了 NMDA 受体依赖的 LTP 的产生<sup>[8]</sup>, 因而运动改变了突触的传递效率, 促使大鼠学习记忆增强。实验发现运动训练可增加运动皮质的厚度并可使运动皮质范围增大<sup>[9]</sup>, 同时可以使突触再生数量增多<sup>[10]</sup>, Swain 应用功能磁共振成像研究发现大鼠跑轮运动 30 天后, 大鼠运动区皮质血流量增加<sup>[11]</sup>。Black 和 Mu<sup>[12-13]</sup> 的实验均证实 LTP 时高表达的脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 是成年鼠空间学习记忆的必需, BDNF 通过增加 NMDA 通道的开放频率, 同时特异性增强突触后致密物上的 NMDA 受体亚单位 NR1 和 NR2B 的磷酸化, 进而产生 LTP。同时也有实验证实长期运动能够提高动物海马脑区的神经营养因子 BDNF<sup>[14]</sup>, 这也可能是运动能改善学习记忆的另一个机制。由此可见, 运动训练可促进海马 CA1 区 LTP 形成, 提高学习工作效率, 从而促进了学习记忆功能的恢复。

### 参考文献

- [1] Durand GM, Kovalchuk Y, Konnerth A. Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus[J]. Nature, 1996, 381:71—75.
- [2] Fleischmann A, Hvalby O, Jensen V, et al. Impaired long-term memory and NR2A-type NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in mice lacking c-Fos in the CNS [J]. J Neurosci, 2003, 23(27):9116—9122.
- [3] Abraham WC, Williams JM. Properties and mechanisms of LTP maintenance[J]. Neuroscientist, 2003, 9(6):463—474.
- [4] Bennett MR. The concept of long term potentiation of transmission at synapses [J]. Progress in Neurobiology, 2000, 60:109—137.
- [5] Dietrich MO, Mantese CE, Porciuncula LO, et al. Exercise affects glutamate receptors in postsynaptic densities from cortical mice brain[J]. Brain Res, 2005, 1065(1-2):20—25.
- [6] Scully D. Physical exercise and psychological well being: a critical review[J]. Br J Sports Med, 1998, 32:111—120.
- [7] Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice [J]. PNAS, 1999, 96:13427—13431.
- [8] Seerher J, Vluller WE, Hoyer S. Learning abilities depend on NMDA receptor density in hippocampus in adult rat[J]. J Neural Transm, 1997, 104:281—289.
- [9] Anderson BJ, Eckburg PB, Relucio KI. Alterations in the thickness of motor cortical subregions after motor-skill learning and exercise[J]. Learn Mem, 2002, 9(1):1—9.
- [10] Jeffrey AK, Theresa MH, Penny MV, et al. Cortical Synaptogenesis and Motor Map Reorganization Occur during Late, but not early phase of motor skill learning [J]. J Neurosci, 2004, 24(3):628—633.
- [11] Swain RA, Harris AB, Wiener EC, et al. Prolonged exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat[J]. Neurosci, 2003, 117(4):1037—1046.
- [12] Balck IB. Trophic regulation of synaptic plasticity[J]. J Neurobiol, 1999, 41(1):10—18.
- [13] Mu JS, Li WP, Yao ZB, et al. Deprivation of endogenous brain-derived neurotrophic factors results in impairment of spatial learning and memory in adult rats [J]. Brain Res, 1999, 835(2):259—265.
- [14] Farmer J, Zhao X, Van PH, et al. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo[J]. Neurosci, 2004, 124(1):71—79.