

·基础研究·

“形神共养”对大鼠认知功能、突触素、微管相关蛋白-2及锥体细胞的影响*

郝赤子¹ 王娟^{1,2} 廖维靖^{1,3}

摘要

目的:探讨“形神共养”的丰富生存环境对正常大鼠认知功能、突触素(SYN)、微管相关蛋白-2(MAP-2)的表达及大脑mPFC区锥体细胞的影响。

方法:健康雄性SD大鼠48只,随机分为“形养”组(EE1)、“神养”组(EE2)、“形神共养”组(EE3)和标准养组(SE),每组12只,分别进行形养、神养、形神共养的丰富生存环境训练及标准养。训练结束后进行水迷宫实验,水迷宫结束后用免疫组织化学方法检测海马区SYN、MAP-2的表达;用Golgi-Cox染色观察大脑内侧前额叶区锥体细胞树突的变化。

结果:水迷宫测试的第5天,EE3组大鼠的潜伏期明显短于SE组($P < 0.05$);4组大鼠在目标象限停留的时间无明显差异($P > 0.05$)。SE组的SYN表达最低,而EE1组和EE3组之间的表达无明显差异且均高于EE2组。SE组的MAP-2表达最低,而EE3组的表达高于EE1组和EE2组。mPFC区锥体细胞树突交点总数4组组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。棘密度EE3组最大,其次是EE1组,SE组与EE2组之间无区别且较EE1和EE3组低。

结论:“形神共养”的丰富生存环境可提高正常大鼠的认知功能,并促进SYN及MAP-2免疫表达及锥体细胞树突生长。

关键词 形神共养;丰富生存环境;突触素;微管相关蛋白-2;高尔基染色

中图分类号:R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2017)-04-0384-07

The influence of “preservation from both physique and spirit” on cognitive function, SYN, MAP-2 and pyramidal cells in rats/HAO Chizi, WANG Juan, LIAO Weijing//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(4): 384—390

Abstract

Objective: To study the effect of the three kinds of EE on the cognitive function and the expression of SYN and MAP-2, and the dendritic growth of pyramidal cells of the cerebral cortex in rats.

Method: Forty-eight male SD rats were divided into preserving the physique EE group (EE1), preserving the spirit EE group (EE2), preservation for both physique and spirit EE group(EE3) and standard group (SE), 12 rats in each group. Rats were put into the three kinds of EE or standard cages after pre-training. The environmental enrollment lasted for 14 days and followed by a 6-days Morris water maze test. After the Morris water maze test, all the rats were sacrificed for histological study, including using the immunohistochemistry method to detect the expression of SYN and MAP-2, and using the Golgi-Cox staining to study the dendritic growth of pyramidal cells in cerebral cortex.

Result: In the Morris water maze, the EE3 group exhibited shorter escape latency than the MCAO+SE group ($P < 0.05$) on day 5, while no significant differences were seen for the time spent in the target quadrant among the 4 groups ($P > 0.05$). The results of immunohistochemical staining of SYN showed that the expres-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.04.002

*基金项目:国家自然科学基金项目(81173315)

1 武汉大学中南医院康复医学科,武汉,430071,湖北省武汉市武昌区东湖路169号; 2 湖北省中西医结合医院康复医学科; 3 通讯作者
作者简介:郝赤子,女,博士,主治医师; 收稿日期:2015-12-27

sion of SYN was the lowest in the SE group, and there was no significant difference between EE1 and EE3 groups but significantly higher than the EE2 group. The expression of MAP-2 was the lowest in the SE group, and there was no significant difference of expression between EE1 and EE2 groups but significantly lower than the EE3 group. The results of Golgi-Cox staining showed that there was no difference of the dendritic branch among groups in mPFC ($P>0.05$) while the spine density of the EE1 group was significantly greater than that of the SE and EE2 groups ($P<0.05$), but significantly lower than that of the EE3 group ($P<0.05$).

Conclusion: Two weeks of “preservation from both physique and spirit” EE can improve the cognitive function, and promote the expression of MAP-2 and SYN and the dendritic growth of pyramidal cells in normal rats.

Author's address Dept. of Rehabilitation Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Hubei, 430071

Key word preservation from both physique and spirit; enriched environment; synaptophysin; microtubule associated protein-2; Golgi-Cox staining

随着社会经济的发展和人们生活水平的提高,健康养生越来越受到重视。“形神共养”的观点起源于《黄帝内经》,是中医运动养生的重要法则,它强调动以养形,静以养神,动静结合,通过运动和调摄身心以增强体质,预防疾病,以达到健康长寿的目的。“形神共养”的运动养生论重视“治未病”,即在发病之前就通过运动等方式预防疾病,提高机体对环境的适应性,延缓衰老,促进健康。在生活节奏快、生活压力大的现代社会,这种养生理论尤其具有现实意义^[1-2]。丰富生存环境(enriched environment, EE)旨在通过环境中的各种刺激,如运动、感知等促进动物脑的功能重组,从而提高运动功能和学习认知能力。迄今未见“形神共养”理论指导下的大鼠脑功能重组的研究报道。

本实验以正常成年大鼠为研究对象,将中医运动养生理论“形神共养”与EE相结合,在此基础上制作“形养”、“神养”、“形神共养”的EE模型,以探讨最佳的EE方法,并可量化和丰富中医运动养生理论。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性SD大鼠48只,体重220—240g, SPF级,购自武汉大学实验动物中心,合格证号4200593040。大鼠饲养于武汉大学实验动物中心ABSL-3实验室,保持室温(22 ± 1)℃,湿度72%,12h昼夜交替,自由饮水、进食。实验由武汉大学动物伦理委员会批准。

1.2 “形神共养”的丰富生存环境

“形养”EE:装置参照Nithianantharajah J等^[3]的

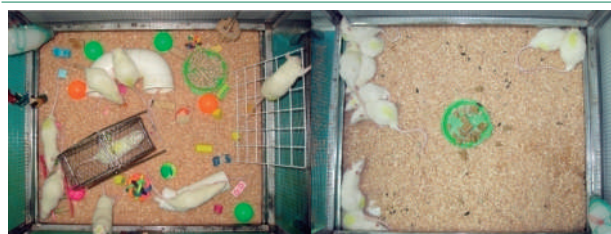
描述和孙慧敏^[4]的设置并进行相应的调整,如图1所示。EE笼具大小为90cm×75cm×50cm,笼内配备各种设施,包括一个跑轮,不同形状和颜色的大鼠玩具,不同形状和组合的PVP管道,木质楼梯,各式平台,以及一个可以多种方式悬挂的秋千。每天笼内物品进行不同的搭配组合,变换位置或者方向。笼内除普通大鼠饲料和饮水外,偶尔给予葵花子、花生、胡萝卜、红薯和苹果。为了加强大鼠之间的社交,8—12只大鼠被放入同一笼内。形养组居于EE中2周,每天入住4h(8:30—12:30),其余时间居于标准笼。如图1。

“神养”EE:笼具大小同“形养”EE,除垫料、普通大鼠饲料和饮水外无其他设施,本组大鼠每天入住4h(12:30—16:30),然后返回标准笼。如图1。

“形神共养”EE:本组大鼠每天形养4h(8:30—12:30),后神养4h(12:30—16:30),其余时间居于标准笼。

标准养:一直居于标准笼中。标准笼(长宽高44cm×32cm×20cm),每笼3—4只,大鼠可自由获取饮水和食物,笼中只铺垫有锯屑垫料,而没有任何其他的物品。

图1 “形神共养”的丰富生存环境笼具



注:左侧形养,右侧神养

1.3 动物分组及丰富生存环境

实验开始前所有动物适应性饲养5—7d,均群居于标准塑料大鼠饲养笼,3—4只/笼,并每天接受5min的预处理。每天监测体重。

适应性饲养及预处理结束后,大鼠被随机分为4组:“形养”EE组(EE1;n=12),“神养”EE组(EE2;n=12),“形神共养”EE组(EE3;n=12),标准养组(标准养SE;n=12)。形养组居于EE中2周,每天入住4h(8:30—12:30),其余时间居于标准笼。神养组居于大小同EE的笼具中,除垫料外无其他设施,每天入住4h(12:30—16:30),然后返回标准笼。而形神共养组大鼠每天形养4h(8:30—12:30),神养4h(12:30—16:30),其余时间居于标准笼。而标准养组一直居于标准笼中,每笼3—4只大鼠。

1.4 Morris水迷宫实验

丰富生存环境训练结束后第2天即开始进行水迷宫实验。测试连续6d,前5天为隐藏平台实验(定位航行实验),第6天为移除平台实验(空间探索实验)。水迷宫为一圆形水池,直径120cm,高60cm,水深32cm,水温保持(22±1)℃。池壁标明4个入水点,将水池等分为4个象限,在第一象限正中处放一个直径为9cm、高30cm的圆形平台,平台顶低于水面2cm。训练历时5d,每天训练4次,每次随机选择一个象限作为入水点,观察并记录大鼠爬上平台的轨迹图及所需时间(潜伏期)。4次训练大鼠分别从4个不同的入水点入水,如果大鼠在60s内未找到平台,需将其引导至平台并停留20s,潜伏期记为60s。水池周围参照物保持不变。第6天为空间探索实验,移除原有平台,然后选择原有平台对侧象限为入水点将大鼠放入池中,记录其在30s内的游泳轨迹,考察大鼠对原平台的记忆能力。

1.5 免疫组织化学检测

各组大鼠在水迷宫实验结束后第2天,每组随机选取6只大鼠进行免疫组化检测。10%水合氯醛致死量麻醉后仰卧固定,快速剪开胸壁暴露心脏,将穿刺针经心尖刺入升主动脉行主动脉插管,止血钳固定针头,剪开右心耳,先用生理盐水150ml快速灌注冲洗血液,直至由右心耳流出的液体清亮无色,并且肝脏颜色变白;再用卵圆钳夹闭大鼠的腹主动脉,灌注4%多聚甲醛250—300ml,先快后慢,直至大鼠

肢体变硬。取出脑组织,根据Paxinos^[5]的大鼠脑立体定位图谱第三版,切取包含有完整海马的冠状组织块浸泡于4%多聚甲醛固定液中24h。将经过4%多聚甲醛固定好的脑块进行常规梯度酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋,再行5μm厚连续冠状切片。从每个标本中随机选取5张切片,采用免疫组织化学SP法染色。染好的切片在200倍显微镜(BX51, Olympus, Japan)下随机选取6张图片,采用IPP软件(Image Pro Plus 6.0)分析突触素(synaptophysin, SYN)及微管相关蛋白-2(microtubule associated protein-2, MAP-2)的积分光密度值(integral optical density, IOD)。所有实验组的组织同时在相同的条件下进行处理,以确保结果的可重复性。

1.6 高尔基染色

高尔基染色试剂选用美国Histo-Golgi-Cox OptimStain试剂盒,严格按照试剂盒说明书进行各项操作。各组大鼠在水迷宫实验结束后第2天,每组随机选取6只进行高尔基染色,10%水合氯醛致死量麻醉。不用缓冲剂或者固定剂灌注,直接断头,咬骨钳咬开颅骨,小心剪开脑膜,尽快完整取出脑组织,避免损伤。用锐刀片以前囟为起点向前作冠状切片,片厚5—6mm。按照试剂盒要求将脑组织染色并切片。根据Paxinos的大鼠脑立体定位图谱第三版,选择内侧前额叶皮质区(medial prefrontal cortex, mPFC)锥体细胞(约从前囟+2.2mm到前囟+3.7mm皮质)为观察对象。采用日本Olympus BX51光学显微镜进行图像采集,所有图像均采用ImageJ软件进行分析。每只大鼠选取10个形态完整的细胞,每组大鼠共选取60个细胞进行观察。用于图像分析的锥体细胞需满足以下标准:①锥体细胞位于mPFC区内;②锥体细胞已被充分染色且不被染色沉淀物、血管、胶质细胞或其他成分所掩盖;③锥体细胞基本形态完整,少有中断或离断现象^[6-7]。采用ImageJ 6.0软件中Sholl analyze插件进行树突长度及分枝的分析^[8]。在200×显微镜下以神经元的胞体作为圆心,做间距为10μm的同心圆,计数树突与同心圆的交点数之和,用交点的总数反映树突的整体分枝情况及伸展长度^[9]。在1000×油镜下观察树突棘密度,由于各级树突上树突棘的分布不均一,因此选择从胞体发出的树突第1次分支开始观察,

计算 30—60 μm 长度范围内树突棘的个数,以每 10 μm 树突棘个数作为其密度^[10]。

1.7 统计学分析

所有的数据以均数 $\pm$ 标准差表示,均采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。Morris 水迷宫实验的逃避潜伏期采用重复测量数据的方差分析,SYN、MAP-2 及高尔基染色数据以及 Morris 水迷宫实验的探索期数据采用单因素的方差分析。

2 结果

2.1 实验大鼠的一般情况及体重监测

入选的 48 只大鼠均健康状况良好,均完成行为学测试。当将大鼠从标准环境转入 EE 中时,大鼠明显更为活跃。大鼠玩耍的较多的是跑轮及木质楼梯及木质大鼠玩具,EE 结束后,木质楼梯及大鼠玩具有较为明显的啃啮痕迹。大鼠有争夺玩耍物品及食物,偶见个别追咬同伴,但均能自行安静,无大鼠因此受伤。各组大鼠 EE 前体重无显著性差异($P>0.05$),EE 后各组体重均逐渐增大,14 天 EE 结束时 4 组大鼠体重无明显差异。

2.2 Morris 水迷宫实验

在前 5 天的定位航行实验中,4 组大鼠均随着训练期的延长,潜伏期明显缩短($F=63.787, P=0.000$),组间比较发现,4 组之间的潜伏期差异无显著性意义($F=0.389, P=0.761$)。在训练的前 4 天,4 组之间

的潜伏期两两组间比较均无显著性差异($P>0.05$)。第 5 天,EE3 组大鼠的潜伏期明显短于 SE 组($P=0.001$),其余组别之间两两比较差异均无显著性意义($P>0.05$,见表 1)。在第 6 天的空间探索实验中,4 组大鼠在目标象限停留的时间均明显大于其他象限,但是组间比较(EE1: 44.50 ± 16.94 ; EE2: 41.50 ± 5.02 ; EE3: 47.61 ± 13.10 ; SE: 42.72 ± 15.69)无明显差异($F=0.463, P=0.709$)。

2.3 免疫组织化学检测

4 组大鼠中突触素(synapse, SYN)免疫反应产物在海马区可见弥散性表达。SYN 免疫反应产物呈棕黄色颗粒状,主要围绕在细胞周围,排列成环状、半弧形或者不规则团块,胞浆中表达较少。SE 组的 SYN 表达最低,而经过丰富环境的 3 组表达均高于 SE 组。并且 EE1 组和 EE3 组之间的表达无明显差异,且均高于 EE2 组($F=23.408, P=0.000$)。见图 2,表 2。

微管相关蛋白-2(microtubule-associated protein-2, MAP-2)免疫反应产物呈棕黄色,呈丝状,有的密集成簇。海马区 SE 组的 MAP-2 的表达最低,而经过丰富环境的 3 组表达均高于 SE 组。并且 EE3 组的表达高于 EE1 组和 EE2 组,且 EE1 组和 EE2 组之间无明显差异($F=158.411, P=0.000$)。见图 3,表 2。

2.4 高尔基染色 mPFC 区锥体细胞树突交点总数及树突棘密度

图 2 4 组大鼠海马区 SYN 表达

(SP, $\times 200$)

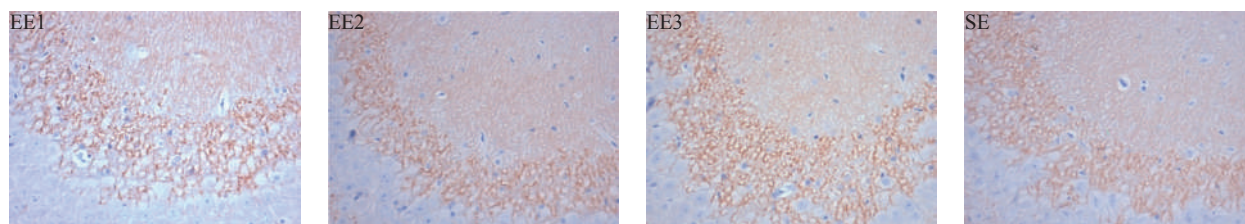
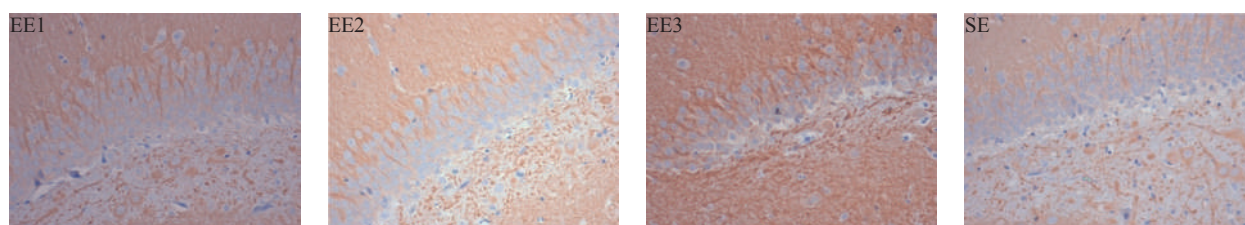


图 3 4 组大鼠海马区 MAP-2 表达

(SP, $\times 200$)



2.4.1 锥体细胞树突交点总数:图像分析结果提示mPFC区锥体细胞树突交点总数经过EE的3组较SE组均有增多,但4组组间比较差异无显著性意义($F=1.487, P=0.248$)。见图4,表3。

2.4.2 锥体细胞树突棘密度:在mPFC区锥体细胞树突棘密度SE组与EE2组之间无区别,但均较EE1和

EE3组低,EE3组最大,其次是EE1组,两组之间比较差异有显著性意义($F=10.387, P=0.000$)。见图5,表3。

3 讨论

社会文明和经济的发展,使人们的生活方式发生了巨大的变化,生活节奏加快、生活压力增大。与此同

图4 4组大鼠mPFC区锥体细胞

(Golgi染色,×200)

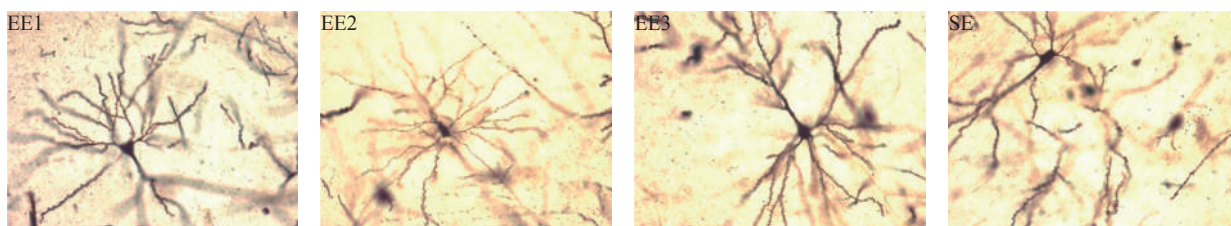


图5 4组大鼠mPFC区锥体细胞树突

(Golgi染色,×1000)

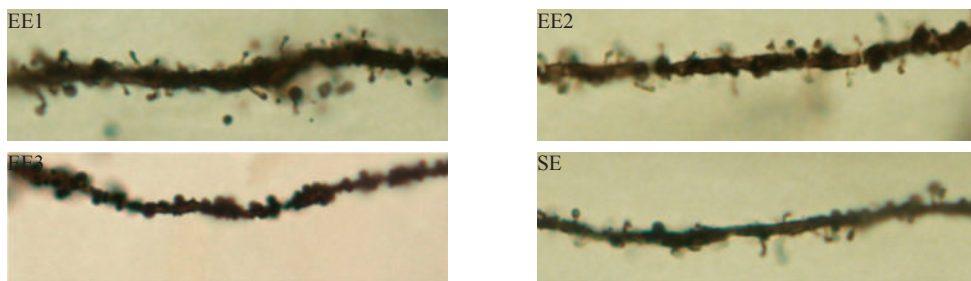


表1 大鼠各组Morris水迷宫试验中定位航行试验平均潜伏期结果 ($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	潜伏期(s)				
	D1	D2	D3	D4	D5
EE1	33.00±11.00	22.67±5.57	19.96±12.82	17.28±4.42	10.44±5.35
EE2	37.60±8.34	20.32±9.07	14.99±6.34	14.59±11.70	10.37±2.51
EE3	35.52±7.39	26.87±15.55	18.66±10.26	13.81±7.61	7.21±4.69 ^①
SE	31.13±5.12	18.56±9.53	16.87±8.21	14.54±6.46	13.26±2.96

与相同时间点SE比较:① $P<0.05$

表2 大鼠海马区SYN及MAP-2表达的积分光密度值($\bar{x}\pm s$)

组别	SYN	MAP-2
EE1	19998.93±2025.90 ^①	48861.17±2089.01 ^{①③}
EE2	16671.50±1466.52 ^①	47501.73±3976.34 ^①
EE3	20919.47±1670.06 ^{①②}	81833.37±5834.44 ^{①②}
SE	12295.67±2564.54	36960.00±1740.11

与相同区域SE比较:① $P<0.05$;与相同区域EE2比较:② $P<0.05$;与相同区域EE3比较:③ $P<0.05$

表3 大鼠mPFC区锥体细胞树突交点总数及棘密度 ($\bar{x}\pm s$)

组别	树突交点总数	棘密度
EE1	124.17±6.97	8.07±1.04 ^①
EE2	122.67±5.79	6.73±0.63 ^②
EE3	128.83±8.47	9.17±0.83 ^{①②}
SE	120.33±7.34	6.87±0.92 ^③

与相同区域SE比较:① $P<0.05$;与相同区域EE1比较:② $P<0.05$

时,人类预期寿命不断增加,人口老龄化日趋严重。高质量的生活要求使得健康养生——“治未病”越来越受到重视。“治未病”是中医养生的基本原则,即在发病之前就通过各种方式增强体质,预防疾病,提高机体对环境的适应性,延缓衰老,促进健康^[11]。而在“治未病”的研究中,运动养生尤其受到重视。本研究将中医运动养生理论“形神共养”与EE相结合,在此基础上制作“形养”、“神养”、“形神共养”的EE,观察其对正常大鼠认知功能的影响;并通过免疫组织化学方法及高尔基染色方法,分别检测脑组织SYN、MAP-2表达的变化及大脑皮质锥体细胞树突形态及分支,旨在从形态和功能层面阐明“形神共养”运动模式对正常脑可塑性的作用机制,为运动养生的理论提供证据。

“形神共养”的观点起源于《黄帝内经》,是中医养生的重要法则。所谓“形”,指人的整个形体结构,包括人体的皮肉、筋骨、脉络、脏腑及充盈其间的精血等,它是人体生命活动的物质基础;所谓“神”,则指情志、意识、思维活动以及生命活动的全部外在表

现,它是人体生命活动的内在主宰。动以养形,静以养神,动静结合,形神共养^[1-2]。“动以养形”是指运动可以提高人体抗病能力;静以养神是指心神宜静。形神共养,动静结合是指形体宜动,心神宜静,这样才能“形与神俱,而尽终其天年”,通过调摄身心,增强人体对环境的适应性,从而获得健康的体魄和心理,以达到健康长寿的目的^[11]。

丰富生存环境最早由 Hebb 于 1947 年提出, Hebb 发现, EE 可以提高大鼠的学习和记忆功能^[12]。EE 是将更多数量的大鼠(8—12 只)饲养于特制的大笼中,笼内放置丰富多样的物体,如不同颜色和形状的玩具,楼梯、跑笼、链条、秋千、管道等,并按照一定的频率更换,以形成对感觉、认知和运动不断的刺激。EE 不仅提供了多感官刺激和运动的机会,而且赋予了实验动物相互间社会交往的可能。研究证实, EE 可以促进脑部结构和功能的改变,如增加皮质的厚度,促进突触生长^[13-14],促进神经元及神经胶质细胞的再生^[15-16],提高正常大鼠的空间记忆能力。一般认为,空间记忆能力会随着年龄的增加而逐渐减退,而这种减退在接受了 EE 的鼠中得到了抑制^[17]。而对于年轻的大鼠或者小鼠, EE 同样可以提高其空间记忆能力^[18-19]。经典的 EE 包括社交、运动以及多种感官的刺激,能诱发大鼠的运动和学习,接近于“形养”运动。而在本研究中,我们将“神养”EE 较经典的 EE 做了精细的调整,即将 8—12 只大鼠居于同经典的 EE 大小相同的饲养笼,但是不提供其他的可供运动和多种刺激的物体,大鼠仅能与同伴进行社交。而“形神共养”是将“形养”与“神养”相结合,大鼠先接受“形养”再接受“神养”的 EE 训练。

结果显示,在水迷宫实验中, EE3 组的潜伏期最短,提示“形神共养”的 EE 可提高健康成年大鼠的学习能力,相对于“形养”和“神养”EE 对正常大鼠的学习能力有更好的促进作用;而在第 6 天的空间探索试验中, 4 组大鼠在目标象限停留时间无明显差异,提示三种 EE 对大鼠的记忆功能均无明显的影响,与 Mustroph^[20]的报道一致,但与 Amy^[21]的报道不符,可能是水迷宫实验出现了“地板效应”。因此在后期的研究中应采用更敏感有效的记忆功能检测方法,例如 Amy 采用的物体转移实验(OD task)。

突触素是一种位于突触囊泡膜上的钙结合蛋

白,在突触可塑性和神经传递中发挥重要作用^[22-24],突触素的增加可反映神经传递的增加,从而增加突触的可塑性。在健康人群,随着年龄的增长 SYN 在海马和多个皮质不同区域分布减小。而在阿尔茨海默氏症患者中, SYN 的免疫反应性在额叶皮质和海马明显减少,并且伴随着认知能力的受损。目前普遍认为 SYN 水平和空间记忆能力有着明显的关系, SYN 水平的增高意味着较好的空间记忆能力^[17]。在正常脑组织中, MAP-2 主要表达于神经元的树突和胞体,是细胞骨架中微管的重要组成部分,对神经元的生长、稳定和突触可塑性调节具有重要作用,其表达降低或缺失可能限制神经元的某些功能,而其反应性增多则可能代表着树突分支和树突棘密度的增加^[25-26]。Khuchua Z^[27]将小鼠与 PKA 结合区域的 MAP-2 基因敲除以造成 MAP-2 磷酸化功能的下降,研究结果显示小鼠海马区神经元的损伤,并伴随有记忆功能的下降,因此该研究推测 MAP-2 与认知功能有着密切的联系。在本研究中, SYN 在 SE 组表达较低,而经过了 EE 的 3 组表达均较 SE 组增高,提示 EE 可促进健康大鼠的 SYN 表达增加,从而促进脑的可塑性。并且“形养”和“形神共养”EE 组 SYN 表达较“神养”EE 组增加,提示包含了各种运动和刺激的 EE 能更好地促进健康大鼠的脑的可塑性。并且 EE 对 MAP-2 的表达也有类似的影响。

神经元的树突是神经元接收、加工和整合突触传递的基本部位,而树突棘是树突与其他神经元直接形成突触联系的主要部位^[28]。树突分支越多,树突棘密度越大,突触联系越广泛,神经功能也就越活跃。树突分支和树突棘的数目可以反映出细胞间的信息传递程度^[9-10],而 Golgi-Cox 染色法是用于显示单个神经元形态学特征的主要技术^[29]。研究证实 EE 可以促进树突的分支及树突棘的数目^[30],促进树突的可塑性^[31],而独居可产生相反的效果^[32]。在本研究中,我们发现, EE 对健康大鼠的树突生长也有一定的促进作用,在 mPFC 区经过“形养”、“形神共养”EE 的大鼠树突棘密度较标准养组大鼠明显增加,但是树突分支在 4 组之间无明显差异。而“神养”EE 对健康大鼠树突棘密度和分支都没有促进作用,这与 Bell HC^[33]的研究一致。该研究发现, mPFC 区神经元树突分支与参加社交玩耍的动物数量

没有直接的关系,而与动物参与的活动类型相关。而我们“神养”EE与标准养组相比,就是增加了更多的动物数量,因而增加了更多的社交和玩耍的机会。

总之,本研究发现,与单纯的“形养”EE及“神养”EE相比较,将“形养”与“神养”相结合的“形神共养”EE可更好地促进正常成年大鼠的认知功能,这也与《黄帝内经》中“动静结合,形神共养”的运动养生理理论相符合,从动物实验研究的角度对中医养生理理论进行了量化论证。同时,大鼠认知功能的提高伴随着大脑相应区域SYN及MAP-2免疫表达的变化及树突生长,提示这种树突和突触的变化,可能是大鼠学习记忆功能提高的物质基础。

参考文献

- [1] 孟闫燕,李友林,王伟,等.《黄帝内经》关于形神理论的诠释[J].辽宁中医药大学学报,2008,(10):13—15.
- [2] 何颖.《黄帝内经》养生思想探析[J].医学与哲学(人文社会医学版),2010,(31):56—57.
- [3] Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(9):697—709.
- [4] Sun H, Zhang J, Zhang L, et al. Environmental enrichment influences BDNF and NR1 levels in the hippocampus and restores cognitive impairment in chronic cerebral hypoperfused rats[J]. Curr Neurovasc Res, 2010, 7(4):268—280.
- [5] George Paxinos 主编.大鼠脑立体定位图谱[M].诸葛启钊,译.第3版.北京:人民卫生出版社, 1997. 5—8.
- [6] Jia H, Zhang XM, Zhang BA, et al. Dendritic morphology of neurons in medial prefrontal cortex and hippocampus in 2VO rats[J]. Neurol Sci, 2012, 33(5):1063—1070.
- [7] Briones TL, Suh E, Jozsa L, et al. Behaviorally-induced ultrastructural plasticity in the hippocampal region after cerebral ischemia[J]. Brain Research, 2004, 997(2):137—146.
- [8] SHOLL DA. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat[J]. J Anat, 1953, 87(4):387—406.
- [9] Sánchez F, Gómez-Villalobos Mde J, Juárez I, et al. Dendritic morphology of neurons in medial prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in adult SH rats[J]. Synapse, 2011, 65(3):198—206.
- [10] Alcantara-Gonzalez F, Juárez I, Solis O, et al. Enhanced dendritic spine number of neurons of the prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in old rats after chronic donepezil administration[J]. Synapse, 2010, 64(10):786—793.
- [11] 徐月英,王喜涛.《黄帝内经》中的运动养生思想及方法[J].沈阳体育学院学报,2006,(25):23—25.
- [12] Hebb DO. The effects of early experience on problem-solving at maturity [J]. Am Psychol, 1947, 2: 306—307.
- [13] Xu X, Ye L, Ruan Q. Environmental enrichment induces synaptic structural modification after transient focal cerebral ischemia in rats[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2009, 234(3):296—305.
- [14] Johansson BB, Belichenko PV. Neuronal plasticity and dendritic spines: effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22(1):89—96.
- [15] Ullian EM, Sapperstein SK, Christopherson KS, et al. Control of synapse number by glia[J]. Science, 2001, 291(5504):657—661.
- [16] Halassa MM, Fellin T, Haydon PG. The tripartite synapse: roles for gliotransmission in health and disease[J]. Trends Mol Med, 2007, 13(2):54—63.
- [17] Frick KM, Fernandez SM, Fernandez. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice[J]. Neurobiol Aging, 2003, 24(4):615—626.
- [18] Juraska JM, Henderson C, Müller J. Differential rearing experience, gender, and radial maze performance[J]. Dev Psychobiol, 1984, 17(3):209—215.
- [19] Seymoure P, Dou H, Juraska JM. Sex differences in radial maze performance: influence of rearing environment [J]. Psychobiology, 1996, 24: 33—37.
- [20] Mustroph ML, Chen S, Desai SC, et al. Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice[J]. Neuroscience, 2012,(219):62—71.
- [21] Birch AM, McGarry NB, Kelly AM. Short-term environmental enrichment, in the absence of exercise, improves memory, and increases NGF concentration, early neuronal survival, and synaptogenesis in the dentate gyrus in a time-dependent manner[J]. Hippocampus, 2013, 23(6):437—450.
- [22] Evergren E, Benfenati F, Shupliakov O. The synapsin cycle: a view from the synaptic endocytic zone[J]. J Neurosci Res, 2007, 85(12):2648—2656.
- [23] Cesca F, Baldelli P, Valtorta F, et al. The synapsins: key actors of synapse function and plasticity[J]. Prog Neurobiol, 2010, 91(4):313—348.
- [24] Shupliakov O, Haucke V, Pechstein A. How synapsin I may cluster synaptic vesicles[J]. Semin Cell Dev Biol, 2011, 22(4):393—399.
- [25] Hirokawa N, Funakoshi T, Sato-Harada R, et al. Selective stabilization of tau in axons and microtubule-associated protein 2C in cell bodies and dendrites contributes to polarized localization of cytoskeletal proteins in mature neurons [J]. J Cell Biol, 1996, 132(4):667—679.
- [26] Johnson GV, Jope RS. The role of microtubule-associated protein 2 (MAP-2) in neuronal growth, plasticity, and degeneration[J]. J Neurosci Res, 1992, 33(4):505—512.
- [27] Khuchua Z, Wozniak DF, Bardgett ME, et al. Deletion of the N-terminus of murine map2 by gene targeting disrupts hippocampal cal neuron architecture and alters contextual memory[J]. Neuroscience, 2003, 119(1):101—111.
- [28] Bonhoeffer T, Yuste R. Spine motility. Phenomenology, mechanisms, and function[J]. Neuron, 2002, 35(6):1019—1027.
- [29] Peters A. Golgi, Cajal, and the fine structure of the nervous system[J]. Brain Res Rev, 2007, 55(2):256—263.
- [30] Volkmar FR, Greenough WT. Rearing complexity affects branching of dendrites in the visual cortex of the rat[J]. Science, 1972, 176(4042):1445—1447.
- [31] Comery TA, Stamoudis CX, Irwin SA, et al. Increased density of multiple-head dendritic spines on medium-sized spiny neurons of the striatum in rats reared in a complex environment[J]. Neurobiol Learn Mem, 1996, 66(2):93—96.
- [32] Bryan GK, Riesen AH. Deprived somatosensory-motor experience in stump-tailed monkey neocortex: dendritic spine density and dendritic branching of layer IIIB pyramidal cells [J]. J Comp Neurol, 1989, 286(2):208—217.
- [33] Bell HC, Pellis SM, Kolb B. Juvenile peer play experience and the development of the orbitofrontal and medial prefrontal cortices[J]. Behav Brain Res, 2010, 207(1):7—13.