

·基础研究·

# 探索学习对局灶性脑梗死大鼠梗死灶周围皮质 BDNF 表达的影响\*

高俊淑<sup>1</sup> 李 阔<sup>2</sup> 李 娜<sup>1</sup> 贾子善<sup>2,3</sup>

**摘要 目的:**观察探索学习对局灶性脑梗死大鼠脑源性神经营养因子(BDNF)表达的影响。**方法:**SD大鼠75只,采用电凝法造成右侧大脑中动脉阻断(MCAO)模型后,随机分为独居组(n=20)、社交组(n=30)、探索学习组(n=20)、假手术对照组(n=5)。于不同时点分批处死大鼠,用免疫组化染色观察梗死灶周围皮质 BDNF 阳性细胞数。**结果:**梗死灶周围皮质 BDNF 阳性神经元明显增加。探索学习组 BDNF 阳性神经元数量在各个时间点均明显高于独居组和社交组( $P<0.01$ ),独居组在7天、14天、28天时 BDNF 阳性神经元数量低于社交组( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ )。**结论:**探索学习及社会交往均能促进梗死灶周围皮质 BDNF 表达。

**关键词** 探索学习; 社会交往; 脑梗死; 大鼠; 脑源性神经营养因子

中图分类号: R743.3, R49 文献标识码: A 文章编号: 1001-1242(2007)-07-0584-02

**The effect of learning on BDNF expression in rats after unilateral local cerebral infarction/GAO Junshu, LI Kuo, LI Na, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(7):584—585**

**Abstract Objective:** To study the effect of learning on BDNF expression in rats after unilateral local cerebral infarction. **Method:** After making the model of MCAO by electric coagulation successfully, 75 male rats were randomly divided into individual living group (n=20), social communication group (n=30), learning group (n=20) and sham operated group (n=5). The rats were randomly sacrificed at different time points. The expression of BDNF in peri-ischemic cortex was examined by immunohistochemistry staining. **Result:** The number of BDNF labeled cells in peri-ischemia cortex in learning group was higher than that in individual living group and social communication group ( $P<0.01$ ), it was also higher in social communication group than that in individual living group at the 7th, 14th, 28th after MCAO ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ). **Conclusion:** Learning and social communication could enhance BDNF expression in rats after unilateral local cerebral infarction.

**Author's address** Rehabilitation Center, Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang, 050051

**Key words** learning; social communication; cerebral infarction; rat; brain-derived neurotrophic factor

探索学习是指动物主动去接受新的信息而改变自身行为、适应新环境的过程,不断用新记忆取代旧记忆的过程。学习会增加突触的数量,改变突触的结构<sup>[1]</sup>,改变啮齿类动物脑内特定区域树突棘的密度<sup>[2]</sup>。近年来的研究表明,脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)参与长时程增强的形成<sup>[3]</sup>。本文拟观察探索学习对局灶性脑梗死大鼠梗死灶周围皮质 BDNF 表达的影响,探讨探索学习影响脑梗死后功能恢复的机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠 75 只,3—4 月龄,体重 230—260g,购自华中科技大学同济医学院实验动物学部。将动物随机分为 MCAO 模型组 70 只,假手术对照组 5 只。

### 1.2 制备 MCAO 模型及分组

模型制备方法同文献[14]。术后 24h 随机分为独居组 20 只,社交组 30 只,探索学习组 20 只。假手术对照组,不电凝 MCA,其余步骤与手术组相同。

### 1.3 造模后饲养环境

假手术对照组:饲养于标准笼,每笼 5 只。独居组:饲养于标准笼,一鼠一笼。社交交往组:饲养于标准笼,每笼 5 只。探索学习组:15 只大鼠饲养于由一个圆笼和一个方笼组成的迷宫笼<sup>[14]</sup>。直径 500mm 圆笼同 640mm×480mm×120mm 方笼中间通过两通道相连(圆笼:中间由丝网分隔,一侧为进食区,一侧为饮水区;方笼:由丝网分隔形成通道宽 80mm×80mm 的迷宫,迷宫由易到难,每周变换 1 次)。

\* 基金项目:河北省卫生厅资助课题(03025)

1 河北省人民医院神经二科,石家庄,050051

2 河北省人民医院康复中心

3 通讯作者:贾子善(河北省人民医院康复中心,050051)

作者简介:高俊淑,女,主治医师,在读硕士研究生

收稿日期:2007-03-30

### 1.4 标本的制备

同文献[15]。

### 1.5 免疫组化染色

组织切片常规脱腊,水化。PBS冲洗3次,每次3min(3×3min,下同);0.3%过氧化氢室温孵育10min,消除内源性过氧化物酶;PBS冲洗2×3min;热修复30min;PBS冲洗3×3min;滴加溶液A(蛋白阻断液),室温孵育10min,减少非特异性背景染色;PBS冲洗3×3min;滴加兔抗大鼠BDNF抗体(1:150,武汉博士德),置20%甘油湿盒4℃恒温过夜;PBS冲洗3×3min;滴加溶液B(生物素标记的二抗),室温孵育10min;PBS冲洗3×3min;滴加溶液C(过氧化物酶标记的链霉菌抗生素蛋白),室温孵育10min;PBS冲洗3×3min;DAB显色;自来水充分冲洗;苏木素复染;梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。PBS代替一抗做阴性对照。

### 1.6 图像处理

每只大鼠选取3张切片,每张切片选取3个高倍视野,用CMIAS8真彩色病理图像分析系统(中国航天航空大学图像分析中心)进行分析,统计梗死灶周围皮质BDNF阳性细胞数。

### 1.7 统计学分析

各组数据以均数±标准差表示,数据处理采用SPSS12.0统计分析软件统计分析,组间比较采用单因素方差分析。

## 2 结果

BDNF阳性神经元胞浆呈棕色。假手术对照组BDNF阳性神经元少(20.93±4.23),着色较淡。在社会交往组可见MCAO术后1天梗死灶周围皮质BDNF阳性神经元增多(75.13±7.57),术后第3天达高峰(82.47±6.40),然后表达逐渐减少。探索学习组BDNF阳性神经元数量在各个时间点均明显多于独居组和社交组( $P<0.01$ ),独居组在7天、14天、28天时BDNF阳性神经元数量少于社交组( $P<0.05$ )(见表1)。见图1(见前置彩色插页8)。

表1 各组梗死灶周围BDNF阳性神经元数比较

时间点	$(\bar{x}\pm s, \times 400)$		
	独居组	社会交往组	探索学习组
7d	40.50±4.81	54.33±3.78 <sup>①②</sup>	68.52±4.05 <sup>①③</sup>
14d	38.17±1.94	46.83±3.15 <sup>①</sup>	62.67±2.08 <sup>①③</sup>
21d	21.56±1.64	25.73±3.84	34.21±3.32 <sup>①③</sup>
28d	16.17±1.61	20.33±3.47 <sup>②</sup>	27.15±3.14 <sup>①③</sup>

同独居组比较:① $P<0.01$ ,② $P<0.05$ ;同社交组比较:③ $P<0.01$

## 3 讨论

BDNF是神经营养因子家族中的一员,主要分

布在中枢神经系统。局部脑缺血后,使用外源性BDNF可使海马CA1区神经元免受缺血性损伤<sup>①</sup>;缺血半暗带发生BDNFmRNA的再激活可减轻该区神经元损伤,缩小梗死体积<sup>②</sup>。BDNF保护缺血性脑损伤的机制有:①抑制兴奋性氨基酸的毒性,稳定神经元内Ca<sup>2+</sup>浓度,维持细胞内的稳态,从而保护神经元免受缺血缺氧损伤,促进神经元的存活<sup>⑦-⑧</sup>;②调节自由基代谢,减轻自由基的损伤。在体外培养的神经元中,BDNF通过增加神经元内谷胱甘肽过氧化物酶及超氧化物歧化酶的表达,并增加其活性,使自由基积聚减少而对抗自由基的氧化作用<sup>⑨</sup>;③抑制半胱氨酸天冬酶-3(Caspase-3)活性,减少细胞凋亡<sup>⑩</sup>;④显著下调半暗带的凋亡前体蛋白Bax的表达,并上调该区域抗凋亡蛋白Bcl-2的表达,抑制半暗带脑细胞的凋亡,促进半暗带脑细胞的存活<sup>⑪</sup>。所以BDNF对缺血性脑损伤具有保护作用,能减少梗死体积,促进缺血性脑卒中后功能的恢复。有研究显示BDNF能增加轴突的分支,增加皮质锥体细胞树突的长度和复杂性,通过调整联络神经的密度来改变神经环路<sup>⑫</sup>。提示BDNF除卒中早期的神经保护作用之外,在卒中晚期结构重塑及功能重组中亦起作用。

有研究结果显示,学习记忆形成过程伴随着特定脑区内BDNF水平的增加和TrkB受体的激活。Hall等<sup>⑬</sup>运用原位细胞杂交融合技术的研究表明,海马依赖的情景学习过程迅速并选择性诱导大鼠海马CA1区BDNF的基因表达。Mizuno等<sup>⑭</sup>运用八臂放射性迷宫对大鼠进行参考和工作记忆的训练,发现大鼠空间学习记忆的获得伴随着实验15—30min后海马BDNFmRNA表达水平的增加。他们的进一步研究发现,与对照组相比,实验动物海马BDNF的主要受体TrkB的磷酸化水平选择性地与空间记忆的获得平行增加。学习引起脑内BDNF表达增加的可能机制推测为学习记忆的过程增加了信息的传入,诱导胶质细胞分泌BDNF。

本研究发现,探索学习组大鼠脑梗死灶周围BDNF阳性神经元数量在多个时间点明显多于社交组,而独居组少于社交组。提示探索学习和社会交往可能通过诱导局灶性脑梗死大鼠梗死灶皮质BDNF的表达,保护神经元免受缺血缺氧损伤,促进脑功能重组,从而有利于行为学恢复。探索学习和社会交往诱导局灶性脑梗死大鼠大脑皮质BDNF的表达,可能是探索学习和社会交往促进脑卒中后功能恢复的机制之一。

(下转588页)