

不同浓度酒精对小鼠空间学习记忆能力及海马GFAP/NEUN的影响

夏天 袁凤娟 靳兴越 陈惠东 江润益 段盛顺 张家兴 张然

【摘要】目的 探究长期饮酒对小鼠行为学能力以及空间学习记忆能力的影响。**方法** 雄性KM小鼠45只,随机分成对照组(Con),低剂量组(Low)和高剂量组(High)。分别每天对对照组0.10 ml/10 g自来水,低剂量组0.05 ml/10 g的56度红星二锅头,高剂量组0.10 ml/10 g的56度红星二锅头进行灌胃。连续灌胃13 d后进行衣架实验测行为学能力,最后取海马做免疫荧光染色观察海马神经元和星形胶质细胞。**结果** 衣架实验得分,自主活动数值总体显示Low组高于其他两组,而且与Con组差异显著;免疫荧光结果显示无论是CA3区,还是DG区,海马的星形胶质细胞含量与神经元细胞含量比值上Con, Low, High三组依次升高,而且Con, High之间对比, $P < 0.05$, 差异有统计学意义。**结论** 长期大量饮酒会损伤学习记忆能力,但适量饮酒可以促进机体兴奋性和活动度。

【关键词】 红星二锅头; 饮酒; GFAP/NEUN; 海马

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A

【文章编号】 1674-9308 (2017) 10-0194-02

doi: 10.3969/j.issn.1674-9308.2017.10.0108

Effects of Different Concentrations of Alcohol On Spatial Learning and Memory Ability and Hippocampal GFAP/NEUN in Mice

XIA Tian YUAN Fengjuan JIN Xingyue CHEN Huidong JIANG Runyi DUAN Shengshun ZHANG Jiaying ZHANG Ran Basic Medicine Department of Xiamen University Medical School, Xiamen Fujian 361000, China

[Abstract] Objective To investigate the effects of long-term alcohol drinking on the ability of learning and memory in mice. **Methods** 45 male KM mice were randomly divided into control group (Con), low dose group (Low) and high dose group (High). The control group were daily 0.10 ml/10 g tap water, low dose group 0.05 ml/10 g, 56 degree star erguotou, high dose group 0.10 ml/10 g, 56 degree star Erguotou by intragastric administration. After 13 days of continuous feeding, the experiment was conducted to test the behavior of the horse's tail, and the hippocampus was observed by immunofluorescence staining. **Results** The hanger score, numerical display Low overall locomotor activity was higher than the other two groups, and group Con; immunofluorescence results showed that both the CA3 region or DG region, astrocytes and neurons of hippocampus content ratio on Con, Low, High three group were significantly increased, and Con, High had significant difference. **Conclusion** A large number of long-term drinking will damage the ability of learning and memory, but moderate alcohol consumption can promote the body excitability and activity.

[Keywords] red star erguotou; alcohol; GFAP/NEUN; hippocampus

酩酊(醉)与血液中的酒精浓度成正比关系^[1]。蒋慧等人所做的实验中,空间搜索实验中酒精组大鼠原平台所在象限的搜索时间高于对照组^[2-3]。李子朋在急性酒精暴露脑功能改变的静息态fMRI研究中,表示酒精刺激会使脑部分区域功能增强^[4]。

1 资料与方法

1.1 资料

作者单位:厦门大学医学院基础医学部,福建 厦门 361000

通信作者:张然

KM小鼠45只,雄性,体质量20~35 g。

1.2 实验器材与药品

器材:天平,1 ml注射器配灌胃针头×3,小烧杯,塑料箱与玩具(新奇实验用),衣架与横杆(衣架实验用),自主实验记录仪,计时器,冰冻切片仪,包埋盒,Olympus IX51倒置荧光显微镜,玻片,镊子等。药品:56度红星二锅头,自来水,O.C.T.包埋液,免疫荧光抗体(NEUN, GFAP), 10×PBS, 4%多聚甲醛等。

1.3 方法

1.3.1 建立模型 取45只健康KM小鼠(雄性,体质量相近)。随机分为三组,每组15只。第一组为对照组,每天以0.010 ml/g的水灌胃;第二组为低剂量组,每天以0.005 ml/g的56度红星二锅头灌胃;第三组为高剂量组,每天以0.010 ml/g的56度红星二锅头灌胃。连续灌胃13 d, 1次/d(同一时刻),每2 d测1次并记录所有的小鼠的体重变化。

1.3.2 测试 (1)衣架实验:记录项目为分数、掉下时间、爬到水平部末端的时间。(2)新奇实验^[5]:分辨指数计算公式为:DI=N/(N+F)×100%,式中N为在探索新物体所用的时间,F为探索旧物体所用的时间。(3)取海马做冰冻切片;免疫荧光染色观察分析。

1.4 图像分析

每只小鼠取1张免疫荧光染色玻片,每张玻片上列4张切片并取其中2张切片进行拍片,在Olympus IX51倒置荧光显微镜下观察海马CA1, CA3, DG区免疫反应结果并摄像,用Imagej图像分析软件测定免疫反应阳性产物的平均灰度值。

1.5 统计学方法

本次研究用Graphpad Prism5统计软件分析,样本均数比较用Graphpad分析和检验, $P < 0.05$, 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 衣架实验结果

对照组衣架实验结果与低剂量组相比, $P=0.010 1$, 差异有统计学意义;对照组与高剂量组($P=0.089 8$),低剂量组与高剂量组对比($P=0.244 6$),差异无统计学意义。

2.2 新奇实验结果

低剂量组与高剂量组在探索时间与探索次数上均少于对照组,且高剂量组最低。Con和High组 $P=0.024 0$, 差异有统计学意义;Con和Low组 $P=0.017 9$, Con和High组 $P=0.017 1$, 差异有统计

学意义。

2.3 免疫荧光染色实验结果

CA3 区和 DG 区的 GFAP/NEUN, 低剂量组略低于高剂量组且两组都高于对照组。且 DG 与 CA3 区域的 Con, High 组的 P 值分别为 0.012 3 和 0.013 3, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

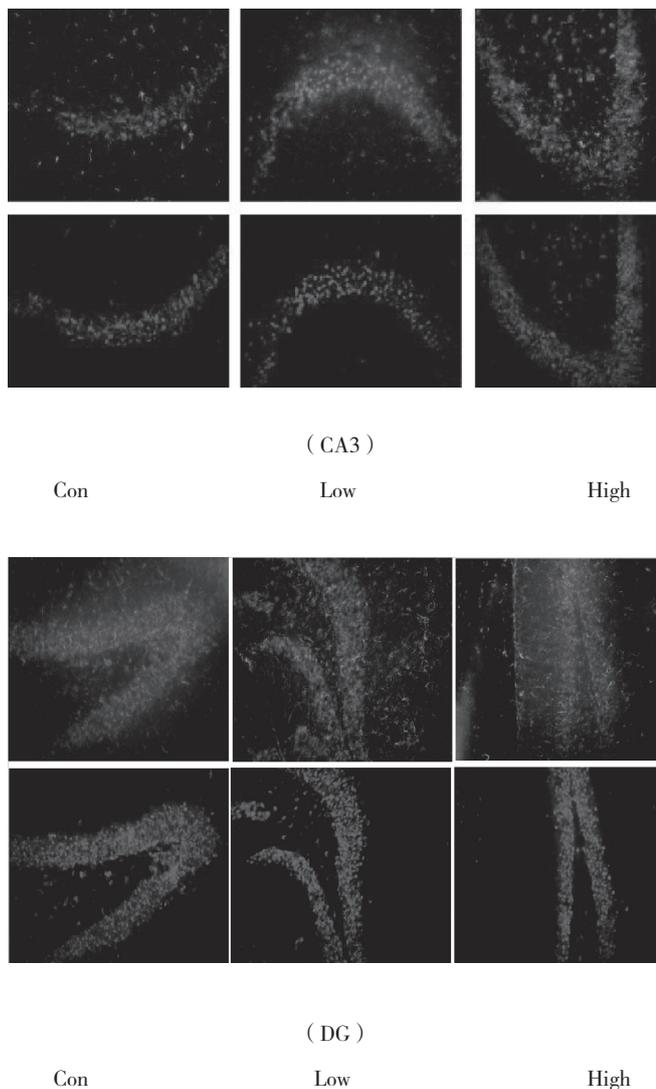


图 1 CA3 区荧光染色结果

3 讨论

海马主要与学习记忆有关, CA1, CA3 和 DG 是海马三个重要的区域, 所以通过这三个区域的不同, 观察酒精是否影响小鼠的空间学习记忆能力。而 GFAP/NEUN 与神经元损伤呈正相关^[6-8]。神经元数目的多少可影响小鼠的空间学习记忆能力。而新奇实验是通过宏观方面观察小鼠的空间学习记忆。两者可相互论证, 互为论据。

低剂量组, 高剂量组均有上升趋势说明饮酒能使小鼠兴奋, 使其自主活动性增强, 但高剂量组的兴奋程度会比低剂量组弱, 可能是因为过高剂量的酒精剂量会反过来抑制大脑兴奋性, 这需要进行进一步的实验。衣架实验说明适量饮酒对小鼠的平衡能力有提高, 但当饮酒超过一定量时则可影响小鼠的平衡能力。新奇实验说明饮酒可影响小鼠的学习记忆功能, 或者与大脑神经突触减少, 且影响程度与小鼠饮酒的酒精剂量成正相关。另外免疫荧光结果分析, 低剂量组略低于高剂量组且两组都明显高于对照组。且 DG 与 CA3 区域的 Con, High 组的 P 值分析分别为 0.0123 和 0.0133, 均小于 0.05, 有明显差异。故推测饮酒可以使小鼠大脑神经元减少, 从而影响空间学习记忆能力的降低。

综上所述, 长期大量饮酒会损伤平衡能力和学习记忆能力, 适量饮酒可以促进机体活动能力和兴奋性。

参考文献

- [1] 李莹, 汪炜, 孟祥志. 人体血液酒精浓度检测的影响因素 [J]. 基层医学论坛, 2014, 18 (22): 2993-2995.
- [2] 蒋慧, 王晖, 刘爱东, 等. 酒精摄入对大鼠心脏_肝脏及学习记忆影响的研究 [J]. 营养学报, 2012, 34 (5): 466-469.
- [3] 杨美玉, 丁飞, 蒋小岗, 等. 氯胺酮与酒精对小鼠学习记忆行为的影响 [J]. 法医学杂志, 2012, 28 (2): 115-119.
- [4] 李子朋, 程文文, 王海宝, 等. 急性酒精暴露脑功能改变的静息态 fMRI [J]. 中国医学影像技术, 2016, 32 (12): 1848-1851.
- [5] 王泽军. 运动与应激对成年小鼠海马可塑性以及焦虑样行为的影响 [D]. 上海: 华东师范大学, 2012.
- [6] 刘辉. 慢性酒精中毒对海马内 H₂S/CBS 系统和髓鞘的影响 [D]. 新乡: 新乡医学院, 2014.
- [7] 赵昆朋. 抑制海马 miR-132 通过上调 Mecp2 损伤学习记忆的机制研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2014.
- [8] 张培, 刘志辉, 王彬. 一次性酒精对缺血-再灌注大鼠神经功能及海马区 GLUT-1 表达的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2012, 29 (12): 1105-1107.

医学论著的写作要求

读者 作者 编者

论著是医学论文体裁中常见的一种表现形式, 具有特定的概念。它是作者将自己的科研、临床、教学的成果、经验、体会, 以严密的逻辑论证、规范形成的文字作品, 是医学论文中最具典型性和代表性的文体。医学论著应具有四大特点:

一、在写作的形式上有比较规范的要求, 包括文题、作者姓名、作者单位、属地、邮编, 符合问题内容要求的中文摘要、英文摘要、关键词 (3 ~ 8 个)、前言 (引言)、资料 (材料) 与方法、结果、

讨论 (体会) 和参考文献等各项内容 (论著字数应在 2500 ~ 3000 字)。

二、医学论著是作者从自己已占有的基本素材 (第一性资料) 出发, 经过科学、严谨地整理、加工、分析、论证, 得出论点并形成规范性的文字作品。

三、医学论著所表达的结论比较明确、可信, 论文质量与学术价值较高。

四、医学论著应为一次性文献 (含循证医学的系统评价)。