文章编号:1000-5404(2012)10-0953-03

论著

环境噪音对新生大鼠身长体质量及学习记忆的影响

郑妍妍, 蒙 萌,赵聪敏 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院儿科)

[摘要] **目的** 研究环境噪音对新生大鼠身长体质量及学习记忆的影响。**方法** 选用7 d SD大鼠16只,分为高噪音组和对照组,每组8只,高噪音组的平均噪音为90 db(A)、对照组50 db(A)。分别在P10、P15、P20时进行身长、体质量的测量,P20时利用Morris水迷宫观察学习记忆功能、ELISA检测生长激素,RT-PCR、Western blot观察突触素表达。**结果** 高噪音组身长、体质量低于同年龄对照组大鼠[身长(cm):P10(9.54±0.1)*vs*(9.98±0.1),P15(10.24±0.1)*vs*(10.79±0.1),P20(10.59±0.1)*vs*(11.68±0.1);体质量(g):P10(14.33±0.02)*vs*(14.51±0.02),P15(15.31±0.02)*vs*(15.68±0.02),P20(16.63±0.02)*vs*(16.76±0.02),$P<0.05$];与对照组比较,高噪音组学习能力下降,生长激素、突触素(synaptophysin,SYP)mRNA、SYP表达水平低于同年龄对照组大鼠[生长激素(pg/ml):(299.7±4.9)*vs*(504.9±13.14),SYP mRNA:(0.182±0.008)*vs*(1.056±0.011),SYP:(0.168±0.007) *vs* (0.432±0.025),$P<0.05$]。**结论** 高噪音环境下新生SD大鼠的身长、体质量增长缓慢,学习记忆能力下降。

[关键词] 环境噪音;新生SD大鼠;身长;体质量;生长激素;学习记忆;突触素
[中图法分类号] R126.9;R338.64;R339.31 [文献标志码] A

Effect of environmental noise on growth and neuropsychological development of newborn rats

Zheng Yanyan, Meng Meng, Zhao Congmin (Department of Pediatrics, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of environmental noise on the growth and neuropsychological development of newborn rats. **Methods** Sixteen P7 SD rats were randomly divided into a high noise group and a control group ($n=8$). The mean noise intensities of the high noise group and the control group were 90db (A) and 50db (A), respectively. The body length and weight of the rats were measured at P10, P15 and P20. The Morris water maze test was applied to observe the learning and memory functions of the rats, ELISA was applied for the detection of growth hormone, and RT-PCR and Western blotting were applied to observe the expression of synaptophysin (SYP) at P20. **Results** The body length and weight of the rats in the high noise group were lower than those in the control group [body length (cm): P10 (9.54±0.1) *vs* (9.98±0.1), P15 (10.24±0.1) *vs* (10.79±0.1) and P20 (10.59±0.1) *vs* (11.68±0.1); body weight (g): P10 (14.33±0.02) *vs* (14.51±0.02), P15 (15.31±0.02) *vs* (15.68±0.02) and P20 (16.63±0.02) *vs* (16.76±0.02), $P<0.05$]. Compared with the control group, the rats of the high noise group showed decreased learning ability, lower level of growth hormone and lower levels of mRNA and protein expressions of SYP [growth hormone (pg/ml): (299.7±4.9) *vs* (504.9±13.14), SYP mRNA: (0.182±0.008) *vs* (1.056±0.011), and SYP: (0.168±0.007) *vs* (0.432±0.025), $P<0.05$]. **Conclusion** Slow body length and weight growth and declined learning and memory abilities were observed in newborn SD rats under high noise environment.

[**Key words**] environmental noise; newborn SD rats; growth; growth hormone; learning and memory; synaptophysin

Corresponding author: Zhao Congmin, Tel: 86-23-68755602, E-mail: zhao-54@163.com

随着工业化的发展,工地噪音、交通噪音等噪音污染不可避免地影响了人们的日常生活,且已成为一种重要的环境公害。噪音不仅危害人们的身心健康、干扰人们的日常生活和休息,同时也对动物的神经系统有着不同程度地影响[1]。大量文献报道了噪音对听觉系统和非听觉系统的损害,然而对于噪音对神经系统尤其是对学习、记忆等机能影响的机制不甚清楚[2]。本研究拟通过模拟噪声环境,研究噪音对大鼠

[通信作者] 赵聪敏,电话:(023)68755602,E-mail:zhao-54@163.com

身长、体质量和学习记忆的影响,旨在为建立有利于儿童生长发育的声音环境提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

Morris 水迷宫(北京硕林苑科技有限公司),生长激素 ELISIA 试剂盒(R&D system),SYP 一抗(Santa Cruz),HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗(Santa Cruz)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和噪音暴露 选择 7 d SD 雄性大鼠 16 只,体质量 13.68 ~ 14.12 g,由第三军医大学新桥医院实验动物中心提供。在进行身长、体质量测量后进行实验,将大鼠分为高噪音组和对照组,每组 8 只。严格按照动物饲养标准饲养[饲养环境的温度(22 ± 2) ℃,湿度 60%,每日给予 12 h 光照,自由觅食]。由电脑模拟环境噪音,高噪音组的平均噪音为 90 db(A)、2kHz,对照组 50 db(A)、2kHz,每日的环境噪音由噪音仪测试得出,噪音仪型号为 AWA6270 + (杭州爱华仪器有限公司)。在 SD 大鼠 10、15、20 d 时测量并记录身长和体质量,在 20 d 时各组大鼠进行 Morris 水迷宫实验、ELISA 生长激素检测,同时使用 RT-PCR,Western blot 进行突触素的转录水平以及表达水平检测。

1.2.2 ELISA 检测不同环境噪音对大鼠生长激素表达刺激的影响 盐酸精氨酸 0.5 g/kg,用注射用水稀释到 10% 的浓度固定小鼠静脉滴注,之后用胰岛素 0.05 ~ 0.10 U/kg,加生理盐水 1 ml 于 8 ~ 10 min 内推注。待 120 min 时采血,按照生长激素 ELISA 大鼠试剂盒检测生长激素。

1.2.3 Morris 水迷宫测试 Morris 水迷宫参照许志强[3]方法进行。水池中加入奶粉至搅匀后实验动物看不到平台为止。对各种不同环境噪音下的 SD 大鼠每日训练 3 次,每次间隔时间不少于 30 min ,每次训练选取不同的入水点,但同 1 次训练中的全部大鼠采用相同的入水点,每日实验的先后顺序一样,系统自动录像记录大鼠入水后找到平台的游泳时间即逃避潜伏期(latency of escape ,LE) 等相关数据,共训练 3 d 。

1.2.4 不同环境噪音对 SD 大鼠突触素(synaptophysin,SYP)表达的影响 行为学实验结束后,分别取不同环境噪音下培育的大鼠,断颈处死后取海马进行如下实验。

1.2.4.1 半定量 RT-PCR 组织总 RNA 的提取采用 TRIZOL 法; SYP 上游引物:5′-CGAGGTCGAGTTCGAGTACC-3′,下游引物:5′-TCAGCTCCTTGCATGTGTTC-3′。内参照 β-actin 的引物:上游引物:5′-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3′,下游引物:5′-GCTGTCACCTTCACCGTTCC-3′。反应程序为:94 ℃ 4 min,然后94 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共进行 23 个循环;最后 72 ℃ 2 min。1% 琼脂糖凝胶中电泳,凝胶扫描仪观察并记录结果。

1.2.4.2 Western blot 组织总蛋白的提取,蛋白浓度采用考马斯亮蓝法测定;SDS-PAGE 电泳各组蛋白,电泳结束后采用湿转法将蛋白质转移到 PVDF 膜上,膜置于 5% 脱脂奶粉封闭液中 37 ℃孵育 1 h,分别加入小鼠抗大鼠 SYP 一抗和小鼠抗大鼠 β-actin 一抗 4 ℃孵育 12 h,PBST buffer 充分洗膜后,加入 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗 37 ℃孵育 1 h;免疫显色,将 ECL 液滴在膜上,暗室压片,显影定影,扫描结果。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 13.0 软件对所得数据进行统计学分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 环境噪音对新生 SD 大鼠身长、体质量以及生长激素的影响

环境噪音对 10、15、20 d 的大鼠身长和体质量增长的比较,高噪音组低于对照组,且有统计学显著差异 ($P < 0.05$)(表 1)。高噪音组、对照组的生长激素水平也显著不同,分别为[(299.7 ± 4.9),(504.9 ± 13.14) pg/ml],即高噪音组的生长激素表达量低于对照组,具有统计学显著差异($P < 0.05$)。

表 1 环境噪音对新生 SD 大鼠身长、体质量的影响 ($n = 8$, $\bar{x} \pm s$)

日龄	身长(cm)		体质量(g)	
	高噪音组	对照组	高噪音组	对照组
P10	9.54 ± 0.1[a]	9.98 ± 0.1	14.33 ± 0.02[a]	14.51 ± 0.02
P15	10.24 ± 0.1[a]	10.79 ± 0.01	15.31 ± 0.02[a]	15.68 ± 0.01
P20	10.59 ± 0.1[a]	11.68 ± 0.10	16.63 ± 0.02[a]	16.76 ± 0.05

a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.2 环境噪音对新生 SD 大鼠学习和记忆的影响

Morris 水迷宫实验结果显示,高噪音组与对照组比较,大鼠找到平台的潜伏期、靶象限活动时间百分比延长,穿越原平台位置次数增多,且有统计学显著差异($P < 0.05$);表 2 提示高噪音对大鼠的学习和记忆能力有负面影响。同时对照组 SD 大鼠平台搜索策略为直线式或者趋向式,而高噪音组主要为边缘式。

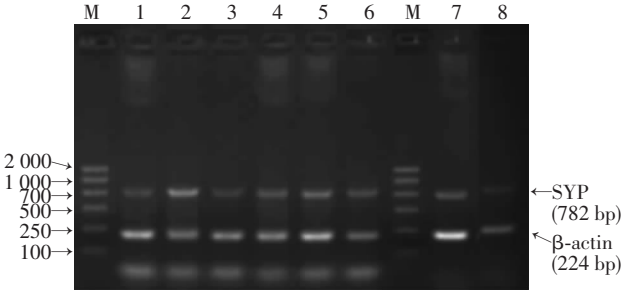
表 2 环境噪音对新生 SD 大鼠学习和记忆的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	例数(n)	SD 大鼠寻台潜伏期(s)	靶象限活动时间百分比(%)	穿越原平台位置次数(次)
高噪音组	8	37.41 ± 10.97[a]	45.76 ± 2.82[a]	3.43 ± 0.98[a]
对照组	8	24.88 ± 10.85	51.01 ± 4.76	2.00 ± 0.82

a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.3 检测不同环境噪音对新生 SD 大鼠 SYP 表达的影响

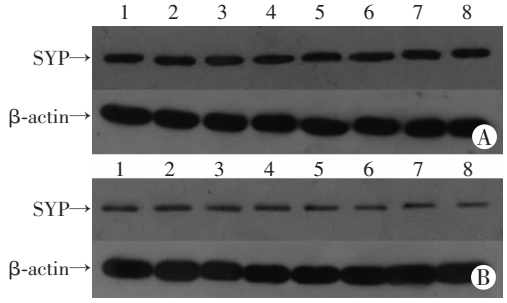
2.3.1 半定量 RT-PCR 检测不同环境噪音对 SD 大鼠 SYP mRNA表达的影响 RT-PCR 结果显示高噪音组、对照组大鼠 SYP mRNA 的相对表达量分别为(0.182 ± 0.008),(1.056 ± 0.011),高噪音组低于对照组,且有统计学非常显著差异 ($P < 0.01$)。(图 1)。



M 标准;1、3、7、8:高噪音组;2、4、5、6:对照组

图 1 高噪音组与对照组 SYP mRNA 表达的影响

2.3.2 Western blot 检测不同环境噪音对 SD 大鼠 SYP 蛋白表达的影响 Western blot 结果显示高噪音组、对照组大鼠 SYP 蛋白表达量分别为(0.168 ± 0.007),(0.432 ± 0.025),高噪音组低于对照组,且有统计学显著差异 ($P < 0.05$)。



A:对照组;B:高噪音组

图 2　Western blot 检测高噪音组与对照组 SYP 表达

3　讨论

噪音除了可以引起听觉系统损害外,还可导致精神生理异常反应、操作能力下降、睡眠剥夺、厌烦反应和消极社会行为等健康问题[4],尚有研究表明噪音会影响孩子的学习以及认知能力[5]。同时已有研究利用动物模型探讨噪音对各个系统的干扰机制[6],本研究探讨噪音对新生鼠发育期间的影响,结果表明高噪音对新生 SD 大鼠的发育会产生一系列不良的影响。

本研究结果显示,高噪音组大鼠的身长和体质量明显低于对照组,且生长激素水平也明显降低,提示高噪音对 SD 大鼠体格生长有负面影响。生长激素为脑垂体前叶分泌的能促进身体生长的一种激素,生长激素促进生长期的骨骺软骨形成,促进骨及软骨的生长,从而使躯体增高。有学者使用鱼作为动物模型研究发现生长激素通过类胰岛素生长因子-1(IGF-1)和类胰岛素生长因子-3(IGF-3)发挥促进身高生长的作用[7]。亦有研究表明,噪音干扰可改变动物食欲,其机制主要是噪音使唾液和胃液分泌减少、消化液酸度降低、胃肠蠕动频率和幅度下降、消化过程减慢[8],通过本研究推测噪音影响大鼠体格生长的机制可能是降低生长激素的分泌水平与降低动物消化功能的协同作用。

目前学者认为海马神经细胞的信息传递以及突触可塑性对学习记忆的产生起着至关重要的作用,这其中突触可塑性被认为是学习记忆的神经生物学基础[9],突触可塑性是指突触在形态结构以及功能上的可变动性以及可修饰性,与突触可塑性相关的蛋白有很多,本研究采用突触蛋白的表达量来间接反映学习记忆的能力,突触蛋白是突触囊泡上的特异性膜通道,突触蛋白的减少使突触囊泡转运能力降低,从而使突触传递功能受阻,进而影响学习记忆。因此本实验分别进行了 Morris 水迷宫实验和 SYP 的检测以评估噪音对大鼠学习记忆能力的影响,结果显示,高噪音组与对照组相比,大鼠找到平台的潜伏期、靶象限活动时间百分比延长,穿越原平台位置次数增多。结果表明高噪音环境下 SYP mRNA 和蛋白的表达水平与正常环境相比明显降低。此外,有研究证实长期的航空器噪音暴露与儿童的阅读能力损害、长时记忆能力下降和厌烦情绪的出现有关[10-11],亦有研究表明机场附近的噪音会影响孩子的学习能力[12],这与我们结果一致。我们的研究结果提示高噪音对大鼠的学习和记忆能力有不良的影响,其机制可能与突触素的分泌减少有关。

Lonavt 等[12]研究还表明通过蛋白激酶 A(PKA)信号通路使底物磷酸化可以导致突触前活化区重构,突触强度发生改变,从而增加学习记忆的能力[13],本实验的结果显示,高噪音环境下会对 SD 大鼠的身长、体质量及学习记忆能力产生不良影响,推测其发生机制可能是高噪音影响了 PKA 的磷酸化。至于是如何影响 PKA 信号通路的机制仍需进一步研究。

参考文献:

[1] 黄孝扬. 噪声对人的影响及评价方法[J]. 汕头科技, 2002, (1): 52-56.
[2] Schust M. Effects of low frequency noise up to 100 Hz[J]. Noise Health, 2004, 6(23): 73-85.
[3] 许志强, 蒋晓江, 周华东. 睡眠剥夺对小鼠学习与记忆功能及海马突触素Ⅰ表达的影响[J]. 重庆医学, 2009, 38(10): 1153-1154.
[4] 奏宏征. 噪声对听觉外系统的影响[J]. 医学信息, 2011, 24(1): 505-506.
[5] Rabat A, Bouyer J J, George O, *et al*. Chronic exposure of rats to noise: relationship between long-term memory deficits and slow wave sleep disturbances[J]. Behav Brain Res, 2006, 171(2): 303-312.
[6] Ravindran R, Rathinasamy S D, Samson J, *et al*. Noise-stress-induced brain neurotransmitter changes and the effect of Ocimum sanctum (Linn) treatment in albino rats[J]. J Pharmacol Sci, 2005, 98(4): 354-360.
[7] Norbeck L A, Sheridan M A. An in vitro model for evaluating peripheral regulation of growth in fish: effects of 17β-estradiol and testosterone on the expression of growth hormone receptors, insulin-like growth factors, and insulin-like growth factor type 1 receptors in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)[J]. Gen Comp Endocrinol, 2011, 173(2): 270-280.
[8] Moslehi A, Nabavizadeh-Rafsanjani F, Keshavarz M, *et al*. Traffic noise exposure increases gastric acid secretion in rat[J]. Acta Med Iran, 2010, 48(2): 77-82.
[9] 韩太真, 吴馥梅. 学习与记忆的神经生物学[M]. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1998: 55-60.
[10] Clark C, Martin R, van-Kempen E, *et al*. Exposure-effect relations between aircraft and road traffic noise exposure at school and reading comprehension: the RANCH project[J]. Am J Epidemiol, 2006, 163(1): 27-37.
[11] Matsui T, Stansfeld S, Haines M, *et al*. Children's cognition and aircraft noise exposure at home--the West London Schools Study[J]. Noise Health, 2004, 7(25): 49-58.
[12] Lonart G, Schoch S, Kaeser P S, *et al*. Phosphorylation of RIM1alpha by PKA triggers presynaptic long-term potentiation at cerebellar parallel fiber synapses[J]. Cell, 2003, 115(1): 49-60.
[13] Cheng L, Wang S H, Chen Q C, *et al*. Moderate noise induced cognition impairment of mice and its underlying mechanisms[J]. Physiol Behav, 2011, 104(5): 981-988.

(**收稿**:2011-12-30;**修回**:2012-03-04)
(编辑　王　红)