基础研究 文章编号:0253-3626(2009)05-0521-04

短期丰富生存环境对中老年大鼠空间学习能力的作用及性别差异

黄春霞[1],杨俊卿[2],卢 伟[3],杨 姝[3,4],李 琛[3,4],唐 勇[3]

(重庆医科大学 1. 基础医学院生理学教研室;2. 基础医学院药理学教研室;3. 基础医学院组织学与胚胎学教研室;4. 附属第一医院神经内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨短期丰富生存环境对中老年大鼠空间学习能力的作用及性别差异。方法:将 14 月龄的 Sprague-Dawley(SD)大鼠分雌、雄性后再随机分为丰富生存环境组与空白对照组,前者在丰富生存环境条件下饲养,后者在普通环境下饲养,4 个月后分别测试在 Morris 水迷宫中的成绩。结果:短期丰富生存环境下,雌性大鼠的空间学习能力显著强于空白对照组,而同样条件干预的雄性大鼠空间学习能力与空白对照组相比无显著性差异。另外,在普通环境中饲养 4 个月的雄性大鼠空间学习能力明显强于雌性大鼠,而丰富生存环境条件下雌、雄性大鼠空间学习能力相比无显著性差异。结论:中老年雄性大鼠空间学习能力强于雌性大鼠,但中老年雌性大鼠大脑功能的可塑性可能要强于雄性大鼠,短期丰富生存环境的干预对于中老年雌性大鼠空间学习能力有显著性影响。本研究结果为将来寻找延缓大脑衰老过程的行为学手段提供了重要的理论依据。

【关键词】大鼠;空间学习能力;丰富生存环境;性别差异;Morris 水迷宫

【中国图书分类法分类号】R338.64 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-12-08

Effects of short-term enriched environment on the spatial learning capacity of middle-aged rats and sex difference

HUANG Chun-xia, et al

(*Department of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of the short-term enriched environment on the spatial learning capacity of middle-aged rats and to figure out if the effects are sex dependent. *Methods*: 14-month old male and female Sprague-Dawley rats were randomly divided into enriched group and standard group. Enriched rats were reared in enriched environment and standard rats were reared in standard environment for 4 months prior to the assessment in Morris water maze. *Results*: Compared with the standard environment, enriched environment could only promote the spatial learning capacity of the middle-aged female rats. The spatial learning capacity of standard male rats was superior to that of the standard females; however, the spatial learning capacity of enriched male rats was equal to that of the enriched females. *Conclusion*: Short-term enriched environment remarkably improved the spatial learning capacity of middle-aged female rats. The spatial learning capacity of middle-aged male rats was better than female rats, but the plasticity of the brain function in middle-aged female rats may be better than that in male rats. The results in the present study provide an important theoretical basis for the future study that searches for behavioral strategy to postpone the progress of brain aging.

【Key words】Rat; Spatial learning capacity; Short-term enriched environment; Sex difference; Morris water maze

丰富生存环境最早来自于美国人赫伯(Hebb, D.O)的研究。20 世纪 40 年代末期,赫伯将大鼠暴露在丰富生存环境当中,发现大鼠的水迷宫成绩提高。丰富生存环境干预已经被证实是一种简便有效的治疗康复手段,对于延缓衰老、增进智力也有一定作用。其主要包含社会交往和生存环境两个方面,通常包括较大的活动空间、多变的环境以及动物间更多的交往。不少研究表明啮齿类动物暴露于

作者介绍:黄春霞(1979-),女,助教,硕士,研究方向:神经生物学。

通讯作者:唐 勇,男,教授,E-mail:ytang062@yahoo.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金(30440082,30572075);国家人事部 2005 年度高层次留学人才回国工作资助经费;教育部重点科研项目;教育部留学人员科研启动基金;重庆市自然科学基金(CSTC,2005 BB5034)。

丰富生存环境中可以提高学习记忆能力[1-3]。但是，人们也越来越认识到丰富生存环境作为一种干预手段，其最佳开始时间，持续时间，干预的强弱以及性别差异等等对于丰富生存环境干预效果具有重要的影响作用。目前为止，短期丰富生存环境对中老年雄性和雌性动物的大脑空间学习能力的作用，尚未见研究报道。在此，本实验中我们选用 Sprague-Dawley(SD)大鼠作为研究对象，用 Morris 水迷宫来评估短期丰富生存环境干预是否对中老年大鼠的空间认知能力具有积极作用以及是否具有性别差异。

1 材料和方法

1.1 实验动物

32 只 14 月龄的 SD 雄性大鼠，体重(280 ± 20) g，由第三军医大学动物中心提供。丰富生存环境组动物包括：中老年(14 月龄)SD 大鼠 16 只，雄性 8 只，雌性 8 只。空白对照组动物包括：中老年(14 月龄)SD 大鼠 16 只，雄性 8 只，雌性 8 只。

1.2 丰富生存环境干预实验

将丰富生存环境组大鼠分性别放入自制大木箱中(120 cm × 60 cm × 50 cm)饲养，每箱 8 只动物。箱内放置各种形状的管道、玩具、攀爬架、小球、铃铛、积木、瓶子、滚轮、盒子等刺激物，每周更换 1 次。干预时间为 4 个月。将空白对照组大鼠分性别在普通标准铁笼中（40 cm × 30 cm × 30 cm）饲养，3 ~ 4 只 1 笼。饲养时间为 4 个月。丰富生存环境组和空白对照组均提供室温 21℃ ± 2℃，12 h 光照和 12 h 暗昼夜光变化，自由进食进水，定期换笼。

1.3 Morris 水迷宫测试

采用 DMS-2 型电脑全自动程控 Morris 水迷宫（中国医学科学院药物研究所）。水迷宫直径为 150 cm，高为 50 cm，将圆桶等分为 4 个象限，设置 A、B、C、D 共 4 个入水点。将一个有机玻璃制圆柱型平台(直径 9.5 cm，高 28.5 cm)随机放入某一象限的中间。水池内加入自来水，并用墨汁染色，使水变为不透明，水温控制在 23℃ ~ 25℃之间，同时保持周围环境的安静。

每组大鼠均用 Morris 水迷宫进行连续 5 d 的空间记忆和学习能力的测试。前 4 d 为隐藏平台实验。水面高于平台 1 ~ 2 cm，每个入水点均要测试一次，入水点顺序随机选择。先把动物置于平台上 15 s，让其熟悉周围环境，放动物入水时头朝向池壁，轻放入水。记录动物的寻台时间(从入水到找到平台且四肢爬上平台的时间，即潜伏期)。若入水 180 s 仍未找到水池中的平台，可将其置于平台上 15 s，并且记录寻台时间为 180 s。若动物爬上平台未停留 15 s 又入水游泳则继续计时，直到其爬上平台停留 15 s 或游泳时间超过 180 s。一个入水点测试结束，从平台上取下休息 60 s 后再进行下一个入水点的测试。测试环境及平台位置相对不变。第 5 d 为可见平台实验，重新选择一个象限放置平台，并把水放出一些，使平台高出水面 1 ~ 2 cm。仅选择两个离平台距离较远的入水点测试，其它过程同隐藏平台实验。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 16.0 统计软件进行分析，经过正态分布检验后对隐藏平台实验的数据进行重复测量数据的方差分析，可见平台实验的数据用非参数检验进行分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 短期丰富生存环境对行为学结果的影响

在 4 个月的丰富生存环境条件下饲养至 18 月龄的雌性大鼠与在普遍标准笼中饲养至 18 月龄的雌性大鼠的隐藏平台实验中，丰富生存环境组大鼠每天的潜伏期均明显短于空白对照组（$P<0.05$）；而在可见平台实验中，两组大鼠的潜伏期之间没有区别(表 1，图 1)。但是丰富生存环境条件下饲养至 18 月龄的雄性丰富生存环境组大鼠和空白对照组大鼠，隐藏平台与可见平台实验均不存在显著性差异(表 1，图 2)。

表 1 各组平台实验中的潜伏期(s)，$\bar{x}\pm s$ 表示

测试时间	雌性		雄性	
	丰生组	对照组	丰生组	对照组
第 1 d	68.5 ± 13.4**	134.0 ± 12.0	60.0 ± 8.7	68.8 ± 8.7
第 2 d	15.5 ± 4.4**	92.8 ± 13.2	19.3 ± 4.8	30.8 ± 6.1
第 3 d	14.0 ± 1.9**	77.5 ± 17.0	12.9 ± 1.8	13.7 ± 3.4
第 4 d	9.4 ± 0.8*	49.8 ± 13.6	11.8 ± 3.4	13.8 ± 2.8
第 5 d	23.1 ± 5.6	30.3 ± 10.6	14.9 ± 2.1	10.0 ± 1.8

注：同性别的丰生组与对照组相比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$

2.2 性别对行为学结果的影响

在普通标准笼中饲养至 18 月龄的空白对照组雌、雄性大鼠隐藏平台实验(前 4 d)中,每天的潜伏期之间均存在显著性的性别差异($P<0.05$),雄性大鼠的潜伏期明显短于雌性大鼠; 而可见平台实验(第 5 d)中,雌、雄性大鼠的潜伏期之间并无显著性的差异(表 2,图 3)。在丰富生存环境条件下饲养至 18 月龄的雌、雄性大鼠隐藏平台实验每天的潜伏期之间均无显著性的差异;可见平台实验也未发现显著性差异(表 2,图 4)。

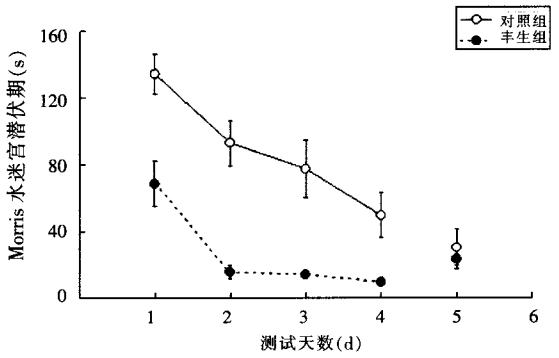


图 1 雌性丰富生存环境组与空白对照组大鼠水迷宫潜伏期的比较

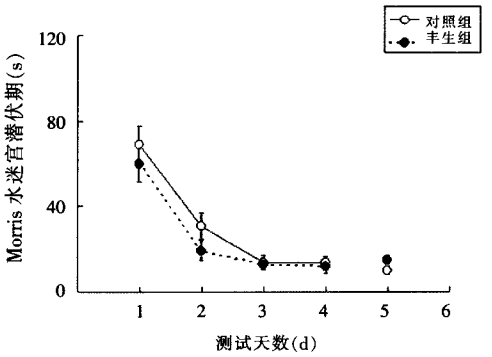


图 2 雄性丰富生存环境组与空白对照组大鼠水迷宫潜伏期的比较

表 2 各组平台实验中的潜伏期(s),$\bar{x}\pm s$ 表示

测试时间	丰生组		对照组	
	雌性	雄性	雌性	雄性
第 1 d	68.5 ± 13.4	60.0 ± 8.7	134.0 ± 12.0**	68.8 ± 8.7
第 2 d	15.5 ± 4.4	19.3 ± 4.8	92.8 ± 13.2**	30.8 ± 6.1
第 3 d	14.0 ± 1.9	12.9 ± 1.8	77.5 ± 17.0**	13.7 ± 3.4
第 4 d	9.4 ± 0.8	11.8 ± 3.4	49.8 ± 13.6*	13.8 ± 2.8
第 5 d	23.1 ± 5.6	14.9 ± 2.1	30.3 ± 10.6	10.0 ± 1.8

注:同样的组别内,雌性与雄性相比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

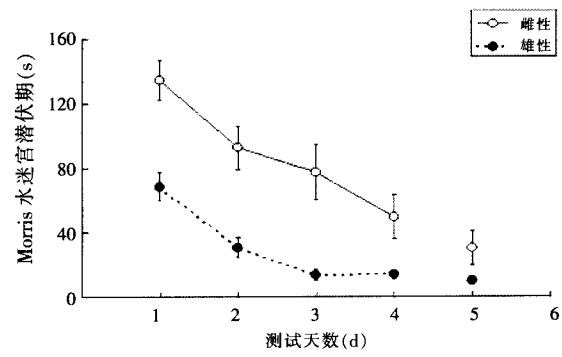


图 3 空白对照组雌、雄性大鼠水迷宫潜伏期的比较

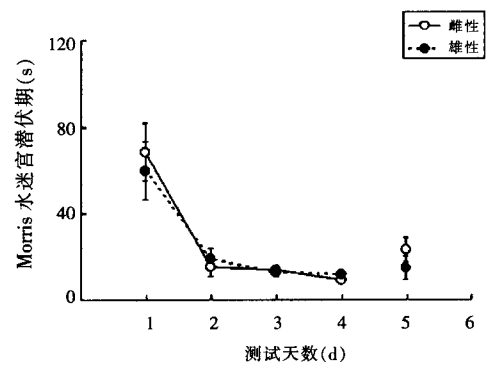


图 4 丰富生存环境组雌、雄性大鼠水迷宫潜伏期的比较

3 讨 论

英国心理学家 Morris 于 20 世纪 80 年代初设计 Morris 水迷宫并应用于学习记忆脑机制中[4]。经典的 Morris 水迷宫所检测的是大鼠在多次的训练中,学会寻找固定位置的隐蔽平台,形成稳定的空间位置认知。Morris 水迷宫主要应用在学习记忆的神经生物学机制探讨和神经药理的研究。本实验将 Morris 水迷宫与丰富生存环境干预结合起来,了解丰富生存环境对中老年雄性和雌性动物的大脑空间学习能力的作用。

Morris 水迷宫第 5 d 可见平台实验反映的是动物的游泳能力和视力等与空间学习能力无关的这些干扰因素,是专门设计用于测试这些干扰因素的影响。本实验中,第 5 d 可见平台实验的潜伏期两组间均无显著性的差异,说明我们获得的空间学习能力的测试结果未受动物的游泳能力和视力等因素影响。

研究者 Coleman 认为,大鼠在 12 月龄左右进入衰退期,18 月龄左右进入老年期[5]。本研究中,我们选择了 14 月龄作为中老年组大鼠,将中老年大鼠放入丰富生存环境中饲养 4 个月后,与同年龄段的空白对照组大鼠进行比较。研究发现 14 月龄的雌性丰富生存环境干预组大鼠的空间学习能力有显著性的提高,而 14 月龄雄性丰富生存环境干预组大鼠的空间学习能力并没有明显的改变。同样的条件下,运用同样的干预手段,雌性和雄性中老年大鼠的空间学习能力的变化为何有所不同?我们推测 14 月龄的雌性大鼠对丰富生存环境可能具有更高的敏感性,雌性大鼠大脑在 14 月龄时的可塑性较雄性大鼠更好,14 月龄雌性大鼠大脑对丰富生存环境的反应较同龄雄性组强的机制尚待进一步研究。这一研究结果提示,对于雌性动物即使在 14 月龄才开始给予短期丰富生存环境干预,也可能延缓大脑衰老的进程;而对于雄性动物,为延缓大脑衰老进程,给予短期丰富生存环境干预的时间要在 14 月龄前,具体的最晚有效干预时间尚待进一步的研究。

许多研究表明性别对多种行为学的表现影响很大,如空间学习记忆能力等[6-9]。范小兰等发现 45 d 的不同性别大鼠的逃避潜伏期(5 d 均值)有差别,雄性大鼠的逃避潜伏期低于雌性大鼠[10]。Frick 等发现 17 月龄雌性 C 57 BL/6 NIA 小鼠的空间记忆能力受损较雄性小鼠更严重[11]。本实验发现在普通环境下饲养至 18 月龄的雄性大鼠前 4 d 空间学习能力明显优于雌性大鼠,我们的研究结果与大多数研究结论一致。而经过 4 个月丰富生存环境干预后,18 月龄雌、雄性大鼠的空间学习能力已不存在明显的性别差异。引起该变化的原因可能是短期丰富生存环境对中老年雌、雄性大鼠空间学习能力均有促进作用,并且对雌性大鼠的作用更为明显,或者说短期丰富生存环境只对中老年雌性大鼠的空间学习能力有促进作用。因此,在应用 Morris 水迷宫研究正常大鼠的空间学习记忆能力时,应分性别进行实验,以避免性别因素对测试结果的影响。

以上研究结果提示,对于雌性动物,即使在 14 月龄才给予短期丰富生存环境刺激,仍能显著性提高大脑的空间学习能力。对于雄性动物,开始丰富环境干预的时间需要比雌性动物提前,具体最晚给予干预的时间尚待进一步研究。本研究结果为今后运用类似的干预手段来延缓老年大脑功能下降提供重要的理论依据。

参 考 文 献

[1] Kempermann G, Kuhn H G, Gage F H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment[J]. Nature, 1997, 386(6624): 493-495.

[2] Frick K M, Fernandez S M. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice[J]. Neurobiol Aging, 2003, 24(4): 615-626.

[3] Frick K M, Stearns N A, Pan J Y, et al. Effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry in middle-aged mice[J]. Learning and Memory, 2003, 10(3): 187-198.

[4] Morris R G M, Garrud P, Rawlins J N P, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions[J]. Nature, 1982, 297: 681 - 683.

[5] Coleman P D. How old is old[J]. Neurobiol Aging, 1989, 10(2): 115.

[6] Markowska A L. Sex dimorphisms in the rate of age-related decline in spatial memory: relevance to alterations in the estrous cycle[J]. J Neurosci, 1999, 19(18): 8122-8133.

[7] Gresack J E, Frick K M. Male mice exhibit better spatial working and reference memory than females in a water-escape radial arm maze task[J]. Brain Res, 2003, 982 (1): 98-107.

[8] Silverman I, Phillips K, Silverman L K. Homogeneity of effect sizes for sex across spatial tests and cultures: implications for hormonal theories [J]. Brain Cogn, 1996, 31(1): 90-94.

[9] Seidlitz L, Diener E. Sex differences in the recall of affective experiences[J]. J Pers Soc Psychol, 1998, 74(1): 262-271.

[10] 范小兰,王 玮,赵小贞.年龄、性别因素对大鼠 Morris 水迷宫测试成绩的影响[J]. 福建医科大学学报, 2003, 37(1): 53-54.

[11] Frick K M, Burlingame L A, Arters J A, et al. Reference memory, anxiety and estrous cyclicity in C57BL/6NIA mice are affected by age and sex[J]. Neuroscience, 2000, 95(1): 293-307.

(责任编辑:关蕴良)