维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)05-0557-03

噪声对生长发育期大鼠学习记忆行为及GABA神经元表达的影响

汤 艳[1,2],程淑群[1],袁海艳[1],涂白杰[1]

(1. 重庆医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室,重庆 400016;2. 泸州医学院公共卫生系,泸州 646000)

【摘 要】目的:探讨噪声对生长发育期大鼠学习记忆能力的影响及其机制。方法:将24只Wistar幼鼠,随机分为噪声组和对照组,噪声组在90dB(A)噪声下持续暴露1个月,用Morris水迷宫测定大鼠的空间学习记忆能力,用免疫组化法观察其海马区r-氨基丁酸(Aminobutyric acid,GABA)阳性神经元的表达。结果:在Morris水迷宫试验中,噪声组寻找平台的潜伏期较对照组延长($P<0.05$),末次跨台次数较对照组减少($P<0.01$)。噪声组海马区GABA阳性神经元的数量及染色强度较对照组显著降低。结论:噪声可使生长发育期大鼠学习记忆能力下降,这可能与海马区GABA的合成减少,使神经元的突触抑制效应减弱,LTP的诱导和维持受损有关。

【关键词】噪声;学习记忆;海马;GABA

【中国图书分类法分类号】R134+.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-09-18

The influence of noise on learning memory behaviors in and expression of GABA neurons in hippocampus

TANG Yan, et al

(*Department of Occupational and Environmental Medicine, College of Public Health, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To probe the effect of noise on the capabilities of learning and memory of growing rat and its possible mechanism. *Methods*: 24 Wistar growing rats were divided randomly into two groups, noise group and control group. The growing rats in the noise group were exposed to 90dB(A) noise constantly for one month. The capabilities of learning and memory of growing rats were measured by means of Morris water maze test. An immunohistochemical method was used to observe the expression of aminobuty-ric acid(GABA) positive neurons in hippocampus. *Results*: The test of Morris water maze showed that the mean escape latency of growing rats in the noise group were longer than that in the control group and the frequency to bestride platform were less. The number of GABA positive neurons and the magnitude of tinction in hippocampus of growing rats in the noise group were reduced markedly than that in the control group. *Conclusion*: The noise does impair the capabilities of learning and memory of growing rats. The impairment may be related with the reduction of GABA contents in hippocampus, which could decrease the depressive effect of neuronic synapse and impair the induction and maintenance of the long term potentiation.

【Key words】 Noise; Learning and memory; Hippocampus; GABA

随着城市化和工业化进程的不断提高,噪声污染问题日益严重,已成为城市的主要环境公害之一。噪声对健康的损害可累及多个系统,对神经行为功能的损害主要表现为降低学习记忆能力,造成接触人群的工作和学习效率以及生活质量下降[1]。为探讨噪声对学习记忆行为发育的影响及其机制,本实验以生长发育期大鼠为研究对象,观察噪声对其学习记忆的影响及海马区GABA阳性神经元的表达及变化。

作者介绍:汤 艳(1976-),女,讲师,硕士,研究方向:职业卫生与职业医学

通讯作者:涂白杰,男,副教授,E-mail:baijietu@hotmail.com。

基金项目:重庆市教育委员会资助(99022)。

1 材料与方法

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.1 试剂和仪器

GABA 免疫组化试剂盒(武汉博士德公司),DF1681 型噪声信号发生器(长沙精诚建材仪器科贸有限公司),Morris 水迷宫(北京硕林苑科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和噪声暴露 用 Morris 水迷宫测试并选择学习记忆能力相近、日龄为 21d 健康的雄性 Wistar 幼鼠 24 只(由重庆医科大学实验动物中心提供),随机分为对照组和噪声组,各 12 只。以 DF1681 型噪声信号发生器作为噪声源,经 N 型精密声级计标定噪声强度为 90dB(A),主要频率范围 0.25 ~ 4.00kHz(赫兹),整个过程鼠笼内声压级变化范围不超过 2dB(A)。噪声暴露从早上 9 点到 5 点,每天 8h,持续暴露 1 个月。噪声组与对照组除噪声暴露外其他试验条件一致。

1.2.2 行为学测定(Morris 水迷宫系统测定) 噪声暴露结束后应用 Morris 水迷宫(由重庆医科大学药学院提供)对大鼠空间学习记忆能力进行测定。该装置为 1 只不锈钢圆形水池,直径 130cm,高 50cm。在圆池的上方等距离的设有 A、B、C、D4 个标记点,作为动物的入水点,以这 4 个点在水面和水池的投射点将水面分为 4 个象限。实验前将水池灌以清水至预定高度约 30cm,再加入适当的黑色原料,使水池成为不透明的黑色,水温一般控制在 22℃ ± 1℃之间,在第 3 象限正中离池壁 33cm 处放一个直径为 9cm,高为 29cm 的圆形透明平台,平台顶低于水面 1cm。实验时保持环境安静,迷宫外参照物(如门、窗、实验者等)保持不变。(1)定位航行试验:用于测量大鼠对水迷宫学习和记忆的获取能力。实验历时 5d,第 1d 让大鼠自由游泳 2min;从第 2d 分上、下午 2 个时间段,每个时间段训练 4 次,训练时随机选择 1 头朝池壁放入水中,记录大鼠寻找并爬上平台时所需要的时间(即逃避潜伏期),在 4 次训练中大鼠分别从 4 个不同的入水点入水,规定每次的实验时间为 120s,如果大鼠在规定的 120s 内找不到平台,须将其引导至平台,让其在平台上站立 10s(这时逃避潜伏期记为 120s),每次训练间隔 60s。取 4 次逃避潜伏期平均值作为其每一个训练时间段的逃避潜伏期。(2)空间搜索试验:用于测量大鼠学会寻找平台后,对平台空间位置记忆的保持能力。即在第 5d 最后 1 次训练后撤除水下平台,然后任选同一个入水点将大鼠面向池壁放入水中,测其在 120s 内跨过平台相应位置的次数。

1.3 GABA 检测

水迷宫测试结束后,用 10%水合氯醛对进行大鼠腹腔注射,麻醉后立即开胸暴露心脏,经左心室插管至主动脉,同时剪开右心耳,快速灌注生理盐水,至肝脏变白改灌注液为 4%多聚甲醛,灌注时间约 30min,见大鼠尾巴、四肢僵硬视为满意,然后开颅快速取出大脑组织投入 4%多聚甲醛溶液中固定,石蜡包埋切片,免疫组化按免疫组化试剂盒说明进行。每只大鼠随机取 5 张切片,光镜下随机选取海马区(CA1、CA2、CA3)及齿状回(DC)共 4 个视野(10 × 40),观察 GABA 神经元的染色,形态,并在目镜测微尺下,对 100 个方格范围内阳性细胞进行计数。

1.4 数据处理

用 SPSS10.0 软件进行数据处理分析,各指标结果以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两个样本均数间的比较用 t 检验,$P<0.05$ 视为差异有统计学显著意义。

2 结 果

2.1 噪声对大鼠空间学习能力的影响(Morris 水迷宫试验)

2.1.1 定航试验 在 4d 8 个时间段的定航行试验中,噪声组和对照组寻找平台的平均逃避潜伏期都呈下降趋势,但噪声组寻找平台的平均逃避潜伏期始终较对照组延长,两组差异具有统计学意义(表 1)。

2.1.2 空间搜索试验 在空间搜索试验结果显示,噪声组末次跨平台次数较对照组明显减少,差异具有统计学意义(表 2)。

表 2 不同组别大鼠水迷宫末次跨台次数($\bar{x} \pm s$)

分组	跨台次数
噪声组	6.75 ± 1.52
对照组	10.35 ± 2.68

注:*. 与对照组比较 t=3.30,P=0.005

2.2 GABA 情况分析

免疫组化光镜观察海马和齿状回的 GABA 阳性神经元包浆染色呈黄色,对照组 GABA 阳性神经元表达多、染色深、排列紧密,而噪声组 GABA 阳性神经元表达少、染色浅、排列稀疏(见图 1~4)。噪声组在 CA1、CA2、CA3 和 DC 阳性神经元数目明显少于对照组,差异具有统计学意义(表 3)。

表 1 大鼠寻找平台的平均逃避潜伏期(s,$\bar{x} \pm s$)

分组	1	2	3	4	5	6	7	8
噪声组	78.35 ± 20.17	50.73 ± 15.08	36.13 ± 10.19	27.83 ± 8.74	18.86 ± 5.01	10.52 ± 2.56	8.06 ± 2.07	6.95 ± 1.83
对照组	54.10 ± 13.42	33.62 ± 8.43	24.42 ± 5.77	17.59 ± 4.52	11.10 ± 2.81	7.86 ± 2.12	5.41 ± 1.63	4.04 ± 1.07
t	2.83	2.8	2.83	2.94	3.82	2.26	2.84	3.88
P	0.013 3	0.014 1	0.013 4	0.010 7	0.001 9	0.040 0	0.013 0	0.001 7

维普资讯 http://www.cqvip.com

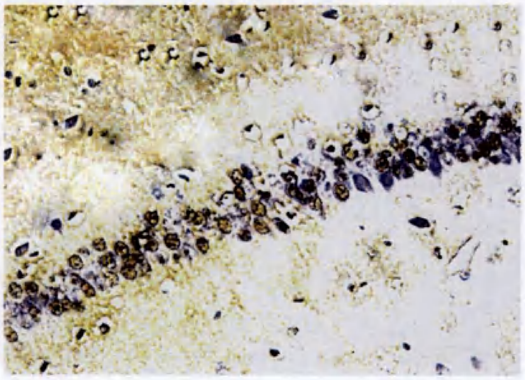


图 1 噪声组海马区 GABA 阳性神经元的表达
(ABC 染色,×40)

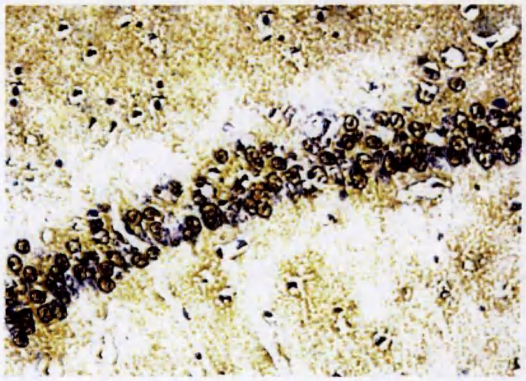


图 2 对照组海马区 GABA 阳性神经元的表达
(ABC 染色,×40)

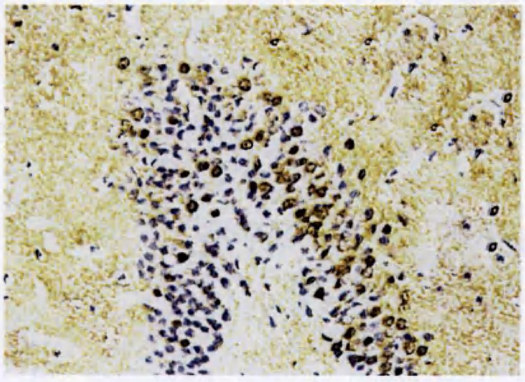


图 3 噪声组齿状回 GABA 阳性神经元的表达
(ABC 染色,×40)

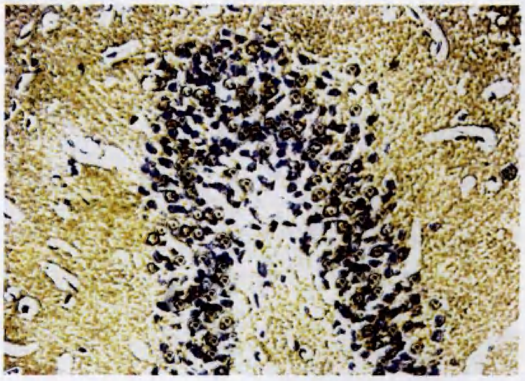


图 4 对照组齿状回 GABA 阳性神经元的表达
(ABC 染色,×40)

表 3 噪声暴露对大鼠海马区 GABA 阳性神经元数目的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	CA1	CA2	CA3	DC
噪声组	14.70 ± 3.24	12.75 ± 3.65	14.30 ± 2.39	14.25 ± 1.83
对照组	29.30 ± 4.31	26.62 ± 4.24	26.00 ± 4.66	32.00 ± 4.14
t	7.67	7.01	6.28	11.09
P	0.000 1	0.000 1	0.000 1	0.000 1

3 讨 论

Morris 水迷宫能反映鼠类空间学习记忆的形成和维持时间,是记忆量化的良好指标[2];而且对生长发育期大鼠海马的损害特别敏感[3]。Morris 水迷宫的定航试验用于测试动物获取经验即学习的能力,逃避潜伏期延长提示学习能力降低;空间探索试验用于测试动物保持记忆的能力,测量值减少提示记忆保持能力降低。本研究 Morris 水迷宫试验结果显示噪声组寻找平台的平均逃避潜伏期比对照组明显延长,末次跨台次数明显减少。说明噪声可使生长发育期大鼠的空间学习能力和记忆保持能力下降,对学习记忆行为发育具有损害作用。

本次研究发现海马各区及齿状回的 GABA 阳性细胞表达噪声组较对照组少,染色浅,排列稀疏,说明噪声使海马区 GABA 合成降低。这与刘美莲等研究发现强噪声暴露能降低脑内 Glu、GABA 等氨基酸的含量一致[4]。GABA 合成减少可能与在噪声暴露下生成 GABA 的前体 Glu 合成减少有关。

GABA 是中枢神经系统中主要的抑制性神经递

(下转第 587 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

本组眶腔重建手术病例，眶壁用 Medpor 衬垫主要原因是；眼球移位下陷 5mm 范围就会发生复视，而扩大的眶腔复位后常常大于正常值，眶壁为弧形，Medpor 薄片材料便于剪裁，可重叠使用。加之易塑形，使眶修复精确度提高，对眼球复位治疗复视有重要作用。

过去使用自体肋骨、髂骨作为眶修复植入材料是因为取材容易，但容易吸收，远期效果差。目前多用颅骨外板下颌外板等密质骨[10]。对骨缺损大的患者我们采用颅骨外板修复，一方面是取材方便(头皮冠状切口)，且有一定厚度，供骨量较大。但应注意眶修复术中塑形困难，远期容易变形。Medpor 材料组织相容性好、塑形容易、硬度适中、吸收率低、并发症少及手术效果稳定持久，主张用 Medpor 材料修复[11]。

参 考 文 献

[1] Raskin EM,Millman AL,Lubkin V,et al. Prediction of late enophthalmos by Volumetric analysis of orbital fractures[J]. Ophthal plast Reconstr Surg,1998;14(1):19-26.

[2] 杨连海，薛新生，廉宗澈，等.眼球内陷与爆裂性骨折眼眶容积扩大 CT 测量研究[J]. 中华放射学杂志，2004;38(8):873-875.

[3] Manson PN,Clifford CM,Su CT,et al. Mechanism of global support and posttraumatic enophthalmos:I.The anatomy of the ligament sling and its relation to intramuscular cone orbital fat[J]. Plast Reconstr surg,1986;77(2):193-202.

[4] 邵象清.人体测量手册[M].第 1 版.上海：上海辞书出版社，1985.57-64.

[5] Metzger M,Schon R,Wever N,et al. Anatomical 3-dimensional pre-bent titanium implant for orbital floor fractures[J]. Ophthalmology,2006;113(10):1863-1868.

[6] 范先群，沈 勤，李海生，等.眼眶爆裂性骨折伴眼球内陷的眼眶容积测量[J]. 中华眼科杂志，2002;38(1):39-41.

[7] Ye J,Kook KH,Lee SY.Evaluation of computer-based volume measurement and porous polyethylene channel implants in reconstruction of large orbital wall fractures[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2006;47(2):509-513.

[8] Ploder O,Oeckher M,Klug C,et al.Isolated fractures of the orbital floor.Mund Kiefer Gesichtschir,2005;9(2):95-100.

[9] Waitzman AA,Posnick JC,Armstrong DC,et al. Craniofacil skeletal me asurements based on computed tomography:Part 1.accuracy and reproducibility[J]. Cleft Palate Craniofac J,1992;29(2):112-117.

[10] 夏德林，归 来，张智勇，等.自体颅骨外板、下颌骨外板整复颅颌面创伤后继发鼻畸形[J].中华整形外科杂志，2004;20(3):209-211.

[11] 邓 诚，归 来，张智勇，等.高密度多孔聚乙烯在眶颧骨折继发畸形修复重建术中的应用[J]. 实用整形美容外科杂志，2003;14(1):23-25.

(责任编辑：关蕴良)

(上接第 559 页)

质，对中枢神经元电活动有广泛的抑制效应，对学习记忆的作用也是通过抑制性调节实现的，在学习记忆形成过程中起着重要的作用。在 LTP 诱导阶段 GABA 可以通过自身磷酸化作用降低对 NMDA 受体的抑制作用，从而促进 NMDA 受体的活化，促进大量 Ca^{+} 内流，触发 LTP 的产生[5]。在 LTP 的维持阶段，即海马 LTP 形成后，部分突触处于超极化状态，突触的兴奋性开始有所下降，而中间神经元 GABA 能神经则活动加强，NMDA 受体数目下调，GABA 受体上调，产生抑制作用，与 Glu 的兴奋作用达到平衡，有利于突触可塑性的形成和维持[6]。故噪声暴露降低海马区 GABA 含量，使神经元的突触抑制效应减弱，LTP 的诱导和维持受损，可能是噪声降低生长发育期大鼠学习记忆能力，影响学习记忆发育的机制之一。

参 考 文 献

[1] 姚玉红，彭 斌.城市区域环境噪声对人心理和生理功能影响研究进展[J]. 现代预防医学，2000;27(4):571-572.

[2] Frisone DF,Frye CA,Zimmerberg B. Social isolateon stress during the third week of life has agedependent effects on spatial learning in rats[J]. Behav Brain Res,2002;128(2):153-160.

[3] Poucet B,Save E,Lenck-Santini PP.Sensory and memory properties of hippocampal place cells[J]. Rev Neurosci,2000;11(2-3):95-111.

[4] 刘美莲，沈于阗，李楚华.噪声对脑内氨基酸水平的影响[J]. 环境科学与技术，2005;28(1):38-39.

[5] 童晓华，张丹参，孟宪勇.Glu/GABA 水平相关性对学习记忆的影响[J]. 中国老年学杂，2006;26(2):283-285.

[6] Xu L,Anwyl R,Rowan MJ.Spatial exploration induces a reversal of long-term potentiation in rat hippocampus[J]. Nature,1998;394(6696):891-894.

[7] McBain CJ,Freund TF,Mody L. Glutamaterqic synapses onto hippocampal intemeurons:precision timing without lasting plasticity[J]. Trends neurosci,1999;22(5):228-235.

(责任编辑：冉明会)