

噪声对幼鼠学习记忆与海马单胺类神经递质的影响

汤艳¹, 李祥¹, 李娟², 李华³

(1 泸州医学院公共卫生系环境卫生与劳动卫生教研室, 四川 泸州 646000 2 泸州医学院医学分子生物学实验室, 四川 泸州 646000 3 泸州医学院药理教研室, 四川 泸州 646000)

摘要: 目的 观察噪声对幼鼠学习记忆及海马单胺类神经递质的影响, 探讨噪声对幼鼠学习记忆的影响机制。方法 将 24只 SD幼鼠, 随机分为噪声组和对照组, 噪声组在 80 dB (A) 噪声下持续暴露 1个月, 用 Morris水迷宫测试幼鼠学习记忆能力, 用高效液相色谱-电化学法检测幼鼠海马单胺类神经递质多巴胺 (DA)、去甲肾上腺素 (NE) 和 5-羟色胺 (5-HT) 的含量。结果 Morris水迷宫定航实验噪声组幼鼠 4 d的平均逃避潜伏期分别为 64.54 s、31.98 s、14.69 s、6.95 s, 均较对照组明显延长 ($P < 0.05$); 空间搜索实验噪声组幼鼠跨台次数为 6.75次、距离百分比为 25.19%、时间百分比为 23.90%, 均较对照组明显降低 ($P < 0.01$)。高效液相色谱-电化学法检测发现噪声组幼鼠海马 DA、NE和 5-HT的含量分别为 253.18 ng/g、140.01 ng/g、114.21 ng/g, 均较对照组明显减少 ($P < 0.01$)。结论 噪声暴露下幼鼠海马 DA、NE、5-HT含量降低, 幼鼠学习记忆能力下降。

关键词: 噪声; 学习记忆; 海马; 单胺类神经递质

中图分类号: TB53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2010)03-0181-03

Effect of noise on learning memory ability and monoamine neurotransmitter in hippocampus of immature rats

TANG Yan, LI Xiang, LI Juan, LI Hua

(Department of Occupational and Environmental Medicine, Luzhou University of Medical Science, Luzhou 646000, China)

Abstract: Objective To observe the effect of noise on learning memory and contents of monoamine neurotransmitter in hippocampus of immature rats, exploring its possible mechanism. Methods Twenty-four young SD rats were randomly divided into noise exposure group and control group. Rats in the noise exposure group were exposed to 80 dB (A) noise for one month. Then measure their learning and memory abilities by Morris water maze test. The contents of monoamine transmitters such as dopamine (DA), norepinephrine (NE) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in hippocampus of rats were also detected by high performance liquid chromatography with electrochemistry detector. Results Morris water maze test showed that the average escape latency periods of rats in the noise exposure group (were 64.54 s, 31.98 s, 14.69 s and 6.95 s in various four days respectively) were significantly longer than that in control group ($P < 0.01$). The frequency to stride across platform of rats in the noise exposure group was less significantly than that in the control group ($P < 0.01$). The space search test showed that the percentages of the time and distance of rats in noise exposure group were significantly less than that in control group ($P < 0.01$). Contents of DA, NE and 5-HT in hippocampus of rats in noise exposure group were all significantly lowered compared with the rats in control group ($P < 0.01$). Conclusions The results showed that noise exposure could impair learning and memory abilities in immature rats, which might be attributed to the reduction of monoamine neurotransmitter contents in hippocampus.

Key words: noise; learning and memory; hippocampus; monoamine neurotransmitter

噪声与大气污染、水污染被视为当今世界三大公害, 对人体的影响是多方面的。噪声除了对听觉系统造成损害外, 还会造成消化、免疫、生殖、神经等系统非特异性损害。在神经行为损害方面, 除职业噪声接触人群外, 儿童是噪声损害的高危易感人群。长期的航空器噪声暴露, 可影响儿童的阅读能力、数学运算能力、即时记忆以及延迟记忆等认知能力^[1-3]。铁路、公路、高速路等产生的环境噪声可以引起接噪儿

童精神卫生指数下降以及课堂表现不佳^[4]。长期在高于 55 dB(A) (WHO指导限值) 环境中生活学习的儿童注意力、社会适应能力显著下降^[5]。噪声对儿童学习记忆的损害逐渐成为社会普遍关注的公共卫生问题。故本研究拟以幼鼠为研究对象, 观察噪声暴露后, 幼鼠学习记忆能力和海马神经元单胺类神经递质的改变, 探讨噪声损害儿童学习记忆能力的机制。

1 材料与方法

1.1 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 21 d健康的雄性 SD幼鼠 24只 (由泸州医学院动物实验中心提供), 随机分为对照组和噪声组,

收稿日期: 2009-09-08 修回日期: 2009-12-30

基金项目: 四川省卫生厅资金项目 (070228)

作者简介: 汤艳 (1976-), 女, 讲师, 硕士, 从事职业卫生与职业医学研究。

各 12 只。以 DF1681 型噪声信号发生器作为声源, 经 N 型精密声级计标定噪声强度为 80 dB(A), 其主要频率范围 0.25~4.00 kHz, 整个过程鼠笼内声压级变化范围不超过 2 dB(A)。噪声暴露从早上 9 点到下午 5 点, 每天 8 h, 持续暴露一个月。噪声组与对照组除噪声暴露这个研究因素外其他试验条件一致。

1.2 幼鼠空间学习记忆能力测试 (Morris 水迷宫)

噪声暴露结束后, 用 Morris 水迷宫对幼鼠空间学习记忆能力进行测试。该装置为一只不锈钢圆形水池, 直径 130 cm, 高 50 cm。在圆池的上方等距离地设有 A、B、C、D 4 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四个象限。实验前将水池灌以清水至预定高度约 30 cm, 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 33 cm 处放一个直径为 9 cm, 高为 2.9 cm 的圆形透明平台, 平台顶低于水面 1 cm。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。

1.2.1 定位航行实验 用于测量幼鼠对水迷宫学习和记忆的获取能力。实验历时 5 d, 第 1 天让幼鼠自由游泳 2 min, 从第 2 天分上、下午两个时间段, 每个时间段训练 4 次, 训练时随机选择一个入水点, 将幼鼠头朝池壁放入水中, 记录幼鼠寻找并爬上平台时所需要的时间 (即逃避潜伏期), 在 4 次训练中幼鼠分别从 4 个不同的入水点入水, 规定每次的实验时间为 120 s, 如果幼鼠在规定的 120 s 内找不到平台, 须将其引导至平台, 让其在平台上站立 10 s (这时逃避潜伏期记为 120 s), 每次训练间隔 60 s。

1.2.2 空间搜索实验 用于测量幼鼠学会寻找平台后, 对平台空间位置记忆的保持能力。即在第 5 天最后 1 次训练后撤除水下平台, 然后任选同一个入水点将幼鼠面向池壁放入水中, 记录其在 120 s 内跨过平台相应位置的次数, 记录其原平台所在象限的游泳距离占总距离的百分比 (%)、时间百分比 (%)。

1.3 海马单胺类神经递质的检测

行为学实验结束后, 噪声组和对照组各 12 只幼鼠, 断头处死, 在冰台上迅速取出脑组织并分离海马组织, 取右侧海马组织投入液氮中冷冻, 然后移入 -80℃ 冰箱保存待测。待检测时取出海马组织置于 500 μl 甲醇中冰浴下用内切式匀浆器匀浆, 4℃ 离心, 取上清液 20 μl 进样。

采用高效液相色谱-电化学检测法检测单胺类神经递质的含量^[3]: 流动相为乙酸钠-甲醇 (96:4), 流速为 1.2 ml/min, Discovery C18 (250×4.6) 5 μm

色谱柱。

按下面的公式计算每克海马组织中单胺类神经递质的含量: $\text{单胺含量 (ng/g)} = \frac{20 \mu\text{ 进样中单胺含量 (ng)}}{20 \mu\text{ l}} \times \frac{\text{样品总量 (\mu l)}}{\text{海马湿重 (g)}}$

1.4 数据处理

用 SPSS10.0 软件进行统计分析, 实验数据用均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两个样本均数间的比较用 t 检验。

2 结果

2.1 噪声对幼鼠学习记忆能力的影响

2.1.1 定航实验 在 4 d 的 Morris 水迷宫定航行实验中, 随着训练次数的增加, 噪声组幼鼠和对照组幼鼠寻找平台的平均逃避潜伏期都呈下降趋势, 但噪声组幼鼠 4 d 寻找平台的平均逃避潜伏期分别为 64.54 s、31.98 s、14.69 s、6.95 s, 均较对照组明显延长, 两组差异均具有统计学意义 (见表 1)。

表 1 Morris 水迷宫定航行实验中幼鼠的平均逃避潜伏期 ($\bar{x} \pm s$, n=12)

分组	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
对照组	43.86±15.15	21.01±6.15	9.19±5.41	4.04±1.07
噪声组	64.54±22.41	31.98±10.56	14.69±5.76	6.95±1.93
t 值	3.75	4.40	3.41	4.57
P 值	0.01	0.00	0.01	0.00

2.1.2 空间搜索实验 在 Morris 水迷宫空间搜索实验中, 噪声组幼鼠跨台次数为 6.75 次, 距离百分比为 25.19%, 时间百分比为 23.90%, 均较对照组明显降低, 差异均有统计学意义 (见表 2)。

表 2 Morris 水迷宫空间搜索实验中幼鼠跨台次数、距离百分比和时间百分比 ($\bar{x} \pm s$, n=12)

分组	跨台次数	距离百分比	时间百分比
对照组	10.35±2.68	40.23±8.34	38.31±6.97
噪声组	6.76±1.52	25.19±4.12	23.90±3.23
t 值	3.30	4.58	5.31
P 值	0.005	0.000	0.000

2.2 噪声对海马单胺类神经递质含量的影响

高效液相色谱-电化学法检测结果, 噪声组幼鼠海马 DA、NE 和 5-HT 的含量分别为 253.18 ng/g、140.01 ng/g、114.21 ng/g, 均较对照组明显减少, 两组差异均具有统计学意义 (见表 3)。

表 3 噪声暴露对幼鼠海马 NE、DA 和 5-HT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=12)

分组	DA	NE	5-HT
对照组	316.15±40.24	187.75±26.69	224.10±40.01
噪声组	253.18±30.21	140.01±21.11	114.21±18.35
t 值	4.33	4.86	11.93
P 值	0.002	0.001	0.000

3 讨论

从神经学发育的成熟度方面,将啮齿类动物与灵长类动物进行对照,刚出生的幼鼠相当于人类孕 28 周的胎儿,出生 1 周的幼鼠相当于人类 36 周的胎儿,出生后 21 周哺乳期结束时的幼鼠相当于人类 1~2 岁的幼儿^[9]。又由于生活范围所限,儿童接触的噪声主要是生活噪声和交通噪声。全国各大城市的平均交通噪声一般在 76~80 dB(A),生活噪声一般在 80 dB(A)及以下^[7]。噪声达到 75 dB(A)时就会干扰人们的睡眠、学习、工作能力等^[8]。故本研究选择日龄为 21 d 的幼鼠为研究对象,用 DF1681 型噪声信号发生器作为噪声源模拟一个强度为 80 dB(A)的噪声环境,将幼鼠暴露于环境噪声中持续一个月,观察幼鼠的学习记忆能力和海马单胺类神经递质的改变。

国内外学者^[9-10]研究发现,胎儿期噪声暴露可影响大鼠的神经行为发育,导致成年期空间学习记忆能力受损。本研究用 Morris 水迷宫检测在 80 dB 环境噪声暴露后幼年大鼠的学习记忆能力,与对照组比较,噪声组大鼠寻找平台的平均逃避潜伏期明显延长,跨台次数、距离百分比和时间百分比明显减少,提示噪声组大鼠空间学习记忆能力较对照组降低,说明幼年期噪声暴露也可影响大鼠的神经行为发育,导致成年期空间学习记忆能力明显下降。

噪声作为一种应激原,对中枢神经递质有一定的影响。Ravindran 等^[11]研究发现,大鼠暴露于白噪声(100 dB×4 h/d×15 d)后,大脑中枢神经递质去甲肾上腺素、肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺(5-HT)等的水平受到影响。Kim 等^[9]研究发现大鼠孕期噪声暴露可以使其后代背侧核和中缝核内 5-羟色胺合成酶和色氨酸羟化酶表达升高。McDonald 等^[12]研究发现 5-HT_{2A} 受体参与了慢性应激效应的调节,采用 5-HT_{2A} 受体拮抗剂(SR46349B)可以拮抗噪声对认知功能的不利效应。而本研究则发现 80 dB 噪声暴露下幼鼠海马神经元 DA、NE 和 5-HT 的含量明显降低,说明噪声暴露除对中枢单胺类神经有影响,对学习记忆密切相关的边缘系统海马神经元的单胺类神经递质也有一定的影响。

学习记忆不仅与胆碱能神经系统密切相关,并且与单胺类神经递质——去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)密切相关,它们之间相互制约处于一种平衡状态^[13]。NE 对学习记忆的影响表现为,NE 神经元兴奋性增高可改善学习记忆,其兴奋性降低可减弱学习记忆功能。5-HT 在学习记忆过程中以兴奋作用为主,可触发学习记忆能力的易化作

用。DA 与记忆的关系,初步推测是通过调节精神活动、情绪、识别、思维和推理过程间接影响记忆能力^[14]。本研究发现幼年期大鼠暴露于噪声环境中,成年后学习记忆能力明显受损,同时还发现其海马神经单胺类神经递质含量减少,故可推测幼年期噪声暴露对大鼠神经行为发育的影响可能与海马单胺类神经递质含量降低有关。

参考文献

- [1] Clark C, Martin R, Van Kempen E. 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.
- [2] Matsui T, Satisfed 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.
- [3] Satisfed SA, Berglund B, Clark C. Aircraft and road traffic noise and children's cognition and health: a cross-national study [J]. *Lancet* 2005; 365 (9475): 1942-1949.
- [4] Lercher P, Evans GW, Matis M, et al. Ambient neighborhood noise and children's mental health [J]. *Occup Environ Med* 2002; 59 (6): 380.
- [5] Ristovska G, Gjorgjev D, Popjordanova N. Psychosocial effects of community noise: cross sectional study of school children in urban center of Skopje, Macedonia [J]. *Public Health* 2004; 45 (4): 473-476.
- [6] Prisoner D F, Frye C A, Zimmerberg B. Social isolation stress during the third week of life has age dependent effects on spatial learning in rats [J]. *Behav Brain Res* 2002; 128 (2): 153-160.
- [7] 陈俊廷. 结合现状对城市噪声污染的探讨 [J]. *广东科技*, 2007; 10 (173): 349-350.
- [8] 郑摄传, 林育纯, 张津. 城市交通噪声污染及其对市民的影响 [J]. *预防医学情报杂志*, 1995; 11 (2): 88-90.
- [9] Kim H, Lee M H, Chang H K. Influence of prenatal noise and music on the spatial memory and neurogenesis in the hippocampus of developing rats [J]. *Brain Dev* 2006; 28 (2): 109-114.
- [10] 高菲, 蒲青, 陈良, 等. 大鼠胎儿暴露对成年后听觉目标探索行为的影响 [J]. *动物学杂志*, 2007; 42 (5): 20-26.
- [11] Ravindran R, Devir S, Samson J, et al. Noise stress induced brain neurotransmitter changes and the effect of Ocimum sanctum (Linn) treatment in albino rats [J]. *Pharmacol Sci* 2005; 98 (4): 354-360.
- [12] McDonald LM, Morima P M, Vythilingam G N, et al. Latent inhibition is attenuated by noise and partially restored by a 5-HT_{2A} receptor antagonist [J]. *Behav Pharmacol* 2002; 13 (8): 663-667.
- [13] Birtheimer A, Stemmelin J, Jackisch R, et al. Presynaptic modulation of acetylcholine, noradrenaline and serotonin release in the hippocampus of aged rats with various levels of memory impairment [J]. *Brain Res Bull* 2003; 60 (3): 283.
- [14] 文春晓. 神经递质在学习记忆中的作用 [J]. *武警医学院学报*, 2009; 18 (1): 65-67.