

不同强度永磁磁场对小鼠行为的影响

王蕴华 王益民 王东

天津中医药大学 301617

通信作者:王益民,Email:ylzmyh@163.com

【摘要】 目的 在对作用空间磁感强度准确定量的基础上,研究不同强度永磁磁场对小鼠学习认知能力的影响。**方法** 设计加磁装置,对加磁装置内部空间磁场强度进行分析;以昆明小鼠为观察对象,将磁场空间中心点为 122 mT 及 177 mT 的静磁场作用于小鼠头部 7 d 或 14 d 后,采用 Morris 水迷宫观察磁场对小鼠行为学的影响。**结果** 与组内第 1 天比较,7 d 对照组、7 d 122 mT 加磁组第 3 天、第 4 天的逃避潜伏期较短($P < 0.05$)。与 7 d 对照组同时时间点比较,7 d 122 mT 加磁组第 2 天的逃避潜伏期[(36.00±17.94) s]较短($P < 0.05$),7 d 177 mT 加磁组第 3 天[(56.89±28.54) s]、第 4 天的逃避潜伏期[(55.11±23.59) s]较长($P < 0.05$)。与组内第 1 天比较,14 d 对照组第 3 天[(15.75±7.72) s]、第 4 天的逃避潜伏期[(22.74±10.75) s]较短($P < 0.05$)。14 d 122 mT 加磁组第 2 天[(21.13±10.82) s]、第 3 天[(18.61±8.78) s]、第 4 天[(15.61±7.65) s]的逃避潜伏期较组内第 1 天短($P < 0.05$)。与 14 d 对照组同时时间点比较,14 d 122 mT 加磁组第 2 天的逃避潜伏期明显缩短($P < 0.05$),14 d 177 mT 加磁组第 3 天、第 4 天的逃避潜伏期明显较长($P < 0.05$)。与 7 d 对照组比较,7 d 122 mT 加磁组时间比率[(40.10±8.50)%]增加($P < 0.05$),7 d 177 mT 加磁组穿越次数[(1.33±0.54) 次]减少($P < 0.05$)。与 7 d 122 mT 加磁组比较,7 d 177 mT 加磁组穿越次数减少、时间比率降低、游程比率降低($P < 0.05$)。与 14 d 对照组比较,14 d 177 mT 加磁组穿越次数显著减少($P < 0.05$)。与 14 d 122 mT 加磁组比较,14 d 177 mT 加磁组穿越次数[(1.67±0.51) 次]减少、时间比率[(25.05±11.93)%]降低、游程比率[(26.14±5.22)%]降低($P < 0.05$)。**结论** 122 mT 静磁场作用 7 d 或 14 d 后,小鼠的学习记忆能力有一定的提高但并不显著,而 177 mT 静磁场作用 7 d 或 14 d 后,小鼠的学习记忆能力受到了一定的损伤,提示不同强度的磁场对小鼠的学习记忆能力会产生不同的影响。

【关键词】 永磁磁场; 行为学; 磁生物效应; 磁感强度**基金项目:**天津市卫生和计划生育委员会中西医结合课题(2015075)**Fund program:** Tianjin Health and Family Planning Commission's Foundation for Integration of Traditional Chinese and Western Medicine (grant 2015075)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.05.019

在非药物疗法中,磁疗是利用磁场对生物体的相关组织部位或有关穴位进行作用,从而达到治病和保健目的。近年来,已有研究表明不同强度永磁磁源作用于生物体头部会对视觉检测、初级运动皮质内抑制环路、脑组织含水量及大鼠空间记忆等产生显著影响^[1-2]。本研究以昆明小鼠为观察对象,在对作用空间磁感强度准确定量的基础上,探讨不同强度的永磁磁场对小鼠学习认知能力的影响。

材料与amp;方法

一、磁源

采用沈阳产实测极面中心磁感强度值为 153.0 mT 和 233.5 mT 的两种钕铁硼圆磁片,磁源尺寸分别为直径 25 mm×厚度 4 mm 和直径 25 mm×厚度 6 mm。利用定制的加磁装置及计算方法^[3],测定出两种磁源作用空间中心位置的磁场强度分别为 122 mT 以及 177 mT,具体作用空间磁感强度等值线如图 1 所示。

二、实验用动物

选取清洁级昆明雌性小鼠 36 只,由北京维利通利华实验动物技术有限公司提供,体重 18~22 g。

三、实验试剂及仪器

狮头牌食品添加剂复配着色剂(黑),苦味酸。T-6 数字高斯计(北京中国科学院半导体研究所生产),Morris 水迷宫行为学实验由软件系统、图像采集记录系统、带有恒温的圆形水池及圆柱平台共四部分组成。

四、实验分组及加磁

实验采用自主设计的加磁装置,加磁时间分别为 7 d 和 14 d,按照随机数字表法将 36 只昆明小鼠分为 7 d 组和 14 d 组,每组 18 只。7 d 组和 14 d 组每组再设 3 个亚组,7 d 组分为 7 d 对照组、7 d 122 mT 加磁组、7 d 177 mT 加磁组,每亚组 6 只;14 d 组分为 14 d 对照组、14 d 122 mT 加磁组、14 d 177 mT 加磁组,每亚组 6 只。每只动物用稀释的苦味酸做标记进行编号。适应性饲养 3 d 后,记录小鼠体重。加磁实验期间内保证实验室安静,温度恒定为 24 ℃。7 d 组和 14 d 组每日加磁时间均为 1 h,7 d 对照组和 14 d 对照组的小鼠放于同样装置中,但两端圆片并不充磁,放置时间分别为 7 d 和 14 d,每日 1 h。

五、Morris 水迷宫实验

1.适应性训练:加磁期满当日,在水迷宫内放入水,但是不放置平台,对小鼠进行水迷宫适应性训练。每只小鼠适应性训

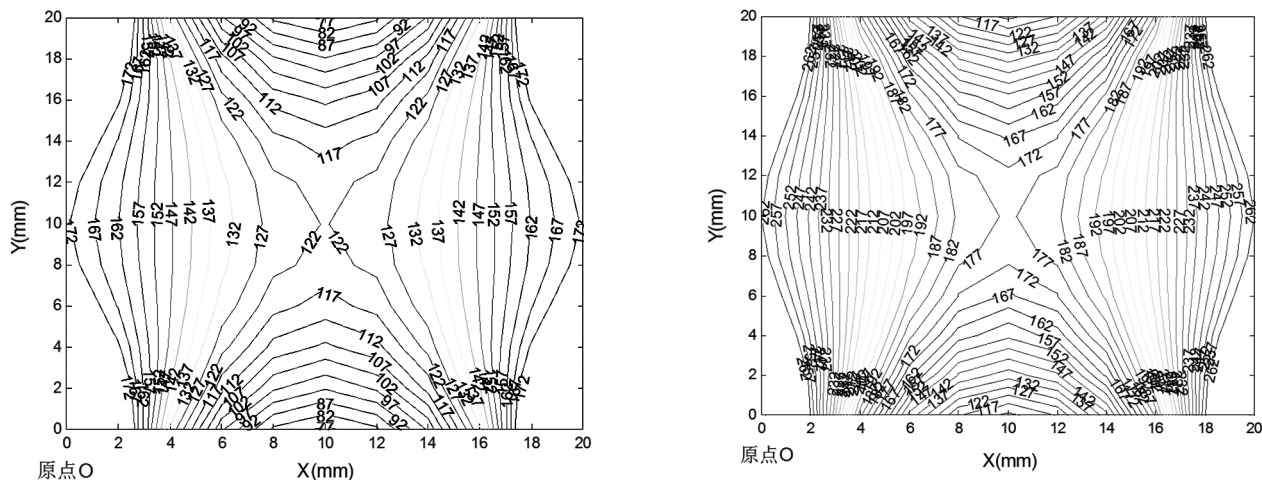


图 1 两种磁源空间磁感强度等值线

练 1~2 min,取出用干毛巾擦干,以防止低体温造成应激。

2.定位航行实验:正式实验前,按照东北(EN)、东南(ES)、西南(WS)、西北(WN)4个方向将水池分为4个象限,将圆柱形平台放在位于WN象限中央,且在水面下1cm处。将画有不同形状黑色标志的白纸贴于4个象限池壁内侧中点处,作为小鼠寻找平台的标记物,且标记物在实验过程中保持固定位置不变。每日每只小鼠进行4次定位航行试验,分别从EN、E、S、WS四个位置面朝水池壁入水。监测时间为90s,小鼠在平台上停留超过2s判定为寻找平台成功,且记录小鼠寻找平台的时间,为逃避潜伏期,作为学习记忆能力的指标;若小鼠90s内未找到平台则潜伏期记为90s,并且引导小鼠置平台上停留10s,让其根据4个象限的参照图形贴纸进行空间学习记忆。寻找平台成功的小鼠也将在平台停留10s,保证每只小鼠学习记忆时间相同。每次训练完毕后,用干毛巾将小鼠擦干,防止低体温造成的应激。每只鼠休息10~15min后再进行下次训练。定位航行实验持续4d,每日的实验起止时间保持一致,并保证环境因素一致性。

3.空间探索实验:连续4日定位航行实验结束后,第5日进行空间探索实验。移除水迷宫装置中的平台后,将小鼠于原平台所在象限的对侧EN象限面朝池壁放入水中。观察小鼠在60s内穿过原平台所在位置的次数、小鼠在原平台所在

象限的游程比率以及时间比率、平均速度,用以评价小鼠的空间记忆能力。

六、统计学方法

采用SPSS 19.0版统计学软件进行数据处理。各组小鼠的逃避潜伏期结果比较,采用重复测量的方差分析;各组空间探索实验结果比较,先检验正态性及方差齐性,若符合正态分布且方差齐,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、各组小鼠的逃避潜伏期比较

与组内第1天比较,7d对照组、7d 122 mT加磁组第3天、第4天的逃避潜伏期较短($P < 0.05$)。与7d对照组同时间点比较,7d 122 mT加磁组第2天的逃避潜伏期较短($P < 0.05$),7d 177 mT加磁组第3天、第4天的逃避潜伏期较长($P < 0.05$)。详见表1。与组内第1天比较,14d对照组第3天、第4天的逃避潜伏期较短($P < 0.05$)。14d 122 mT加磁组第2天、第3天、第4天的逃避潜伏期较组内第1天短($P < 0.05$)。与14d对照组同时间点比较,14d 122 mT加磁组第2天的逃避潜伏期明显缩短($P < 0.05$),14d 177 mT加磁组第3天、第4天的逃避潜伏期明显较长($P < 0.05$)。详见表2。

表 1 7 d 组逃避潜伏期比较(s, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 |
|----------------|----|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 7 d 对照组 | 6 | 53.04±25.13 | 46.91±24.14 | 32.64±14.62 ^a | 34.32±17.54 ^a |
| 7 d 122 mT 加磁组 | 6 | 44.53±22.90 | 36.00±17.94 ^b | 33.81±16.49 ^a | 26.80±14.05 ^a |
| 7 d 177 mT 加磁组 | 6 | 56.00±28.79 | 49.30±22.30 | 56.89±28.54 ^b | 55.11±23.59 ^b |

注:与组内第1天比较,^a $P < 0.05$;与7d对照组同时间点比较,^b $P < 0.05$

表 2 14 d 组逃避潜伏期比较(s, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 |
|-----------------|----|-------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 14 d 对照组 | 6 | 42.87±21.79 | 38.05±17.89 | 15.75±7.72 ^a | 22.74±10.75 ^a |
| 14 d 122 mT 加磁组 | 6 | 40.31±19.99 | 21.13±10.82 ^{ab} | 18.61±8.78 ^a | 15.61±7.65 ^a |
| 14 d 177 mT 加磁组 | 6 | 52.32±25.82 | 36.83±18.80 | 37.05±18.94 ^b | 37.63±18.91 ^b |

注:与组内第1天比较,^a $P < 0.05$;与14d对照组同时间点比较,^b $P < 0.05$

表 3 7 d 组空间探索实验结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 只数 | 穿越次数 (次) | 时间比率 (%) | 游程比率 (%) | 速度 (cm/s) |
|----------------|----|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------|
| 7 d 对照组 | 6 | 2.67±1.03 | 29.32±12.04 | 31.15±10.40 | 21.89±8.89 |
| 7 d 122 mT 加磁组 | 6 | 3.33±1.03 | 40.10±8.50 ^a | 38.71±8.03 | 24.26±4.42 |
| 7 d 177 mT 加磁组 | 6 | 1.33±0.54 ^{ab} | 30.33±11.93 ^b | 23.88±5.46 ^b | 21.52±6.26 |

注:与 7 d 对照组比较,^a $P<0.05$;与 7 d 122 mT 加磁组比较,^b $P<0.05$

表 4 14 d 组空间探索实验结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 只数 | 穿越次数 (次) | 时间比率 (%) | 游程比率 (%) | 速度 (cm/s) |
|-----------------|----|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------|
| 14 d 对照组 | 6 | 3.17±1.60 | 30.98±12.18 | 31.25±10.77 | 29.31±4.49 |
| 14 d 122 mT 加磁组 | 6 | 3.33±1.75 | 36.83±9.27 | 38.62±8.06 | 27.07±3.10 |
| 14 d 177 mT 加磁组 | 6 | 1.67±0.51 ^{ab} | 25.05±11.93 ^b | 25.88±11.48 ^b | 26.14±5.22 |

注:与 14 d 对照组比较,^a $P<0.05$;与 14 d 122 mT 加磁组比较,^b $P<0.05$

二、各组小鼠的空间探索实验结果比较

与 7 d 对照组比较,7 d 122 mT 加磁组时间比率增加 ($P<0.05$),7 d 177 mT 加磁组穿越次数减少 ($P<0.05$)。与 7 d 122 mT 加磁组比较,7 d 177 mT 加磁组穿越次数减少、时间比率降低、游程比率降低 ($P<0.05$)。详见表 3。与 14 d 对照组比较,14 d 177 mT 加磁组穿越次数显著减少 ($P<0.05$)。与 14 d 122 mT 加磁组比较,14 d 177 mT 加磁组穿越次数减少、时间比率降低、游程比率降低 ($P<0.05$)。详见表 4。

讨 论

磁场剂量不仅仅是指磁感强度,对于永磁磁场而言还包括作用时间,只有探讨出不同磁场剂量与作用效果间的关系,即量效关系,才能更好地利用磁的生物效应来治疗各种疾病。在以往的研究中,实验用磁场剂量中磁感强度往往以磁源中心磁场强度值为标准,但磁源所产生的空间磁场会随距磁源距离的增加而快速衰减,提示在磁疗基础研究与临床应用中要特别注意磁源空间磁场的定量问题^[4]。研究还发现,当设计适当的加磁装置来将两个同样尺寸的圆片磁源相对放置并保持适当距离时,在其对应空间的一定范围内能得到一个相对稳定的磁场,从而保证实验研究的准确性。

在磁生物效应的研究中,安全性也是磁作用效果的一个重要组成部分,因为不适宜的磁场剂量会引起副作用。有研究表明,200 mT、400 mT 及 600 mT 中等强度静磁场暴露均会导致大鼠血液流变学异常,引起脑、心、肺、脾、肾等多器官血液循环障碍及实质细胞不同程度变性、凋亡和坏死,且与暴露剂量密切相关^[5]。另有学者报道,将静磁场作用于清醒灵长类生物的视觉皮质,会引起视觉检测任务的可逆性缺损^[6]。有研究报道,静磁场作用还可以调节人类初级运动皮质内抑制环路^[7]。340 mT 磁场作用可导致幼龄动物的脑组织含水量减少,增加成年和老年鼠的脑组织含水量^[8]。128 mT 静磁场的作用下,对大鼠的短期空间记忆能力没有显著影响,但对长远的空间记忆有显著影响,还可导致大鼠在水迷宫中的注意力失调,造成大鼠一定程度上的认知功能损伤,且其大脑中铁含量不变,血浆中铁含量下降^[9-11]。

既往研究发现,较高强度磁场对胎鼠大脑皮质神经元细胞代谢有一定的抑制作用,可诱发胎鼠皮质神经元氧化损伤,并

且神经元细胞的凋亡率也有所增加^[12-14]。本研究选用中心磁感强度值为 153.0 mT 和 233.5 mT 的两种较高磁感强度的磁源,在自行设计的加磁装置中,磁场作用中心点的磁感强度分别达到了 122 mT 和 177 mT。结果显示,122 mT 静磁场作用 7 d 或 14 d 后,小鼠的学习能力有一定的提高,但提高并不显著;而 177 mT 静磁场作用 7 d 或 14 d 后,小鼠在 4 d 时间内并没有达到学习训练的目的,177 mT 加磁组小鼠的学习记忆能力受到了一定的损伤。在撤掉水下平台的空间探索实验中,7 d 122 mT 加磁组小鼠穿越平台的次数最多,且在目标象限停留的时间比率、游程比率均多于对照组和 177 mT 加磁组。

神经元细胞传导的电信号是大脑信息交流的重要途径之一,而神经元细胞内部也存在着离子运动和微电流,外加磁场显然可以对神经元细胞乃至整个神经系统及功能产生影响。目前,磁疗研究虽然已取得了一些成绩,但总体来看还处于起步阶段,其中的许多问题尚需大量的基础和应用研究来证实并探究。在以往的有关研究中,对具体作用区域的磁场定量问题很少有明确的讨论和分析,以致不能在相同或一致磁场实验条件下进行实验结果和结论的比较分析,给磁生物效应的深入研究造成不良影响。在今后的研究中,以磁场准确定量为基础的磁生物效应研究或将成为后续的研究方向与热点。只有在磁场准确定量的基础上,才能为磁生物效应用于临床治疗提供指导依据。

参 考 文 献

- [1] 禹怡君,孙卫斌,任双双,等. 不同强度静磁场促进成骨细胞增殖的分化的研究[J]. 口腔医学研究, 2016, 32(9): 893-896. DOI: 10.13701/j.cnki.kqyxj.2016.09.001.
- [2] 郭志霞,毛立斌,王会琴,等. 中等强度静磁场对 THP-1 细胞分泌炎症因子的影响[J]. 天津医药, 2016, 44(3): 290-293. DOI: 10.11958/20150055.
- [3] 王益民,张皓楠,孟庆楠,等. 磁疗用圆片永磁磁源空间磁场有限元分析[J]. 中国医学物理学杂志, 2010, 27(6): 2294-2298. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2010.06.024.
- [4] 王益民,王蕴华,孟庆楠,等. 磁疗用圆片永磁磁源空间磁感强度理论值与实测值分析[J]. 中国医学物理学杂志, 2012, 29(6): 3809-3813. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2012.06.023.
- [5] 左红艳,刘肖,王德文,等. 静磁场暴露致大鼠血液流变学异常及多

- 器官血液循环障碍[J].中国体视学与图像分析,2014,19(2):176-186.DOI: 10.13505/j.1007-1482.2014.19.02.10.
- [6] Aguila J, Cudeiro J, Rivadulla C. Effects of static magnetic fields on the visual cortex: reversible visual deficits and reduction of neuronal activity[J]. Cereb Cortex, 2016,26(2):628-638.DOI: 10.1093/cercor/bhu228.
- [7] Nojima I, Koganemaru S, Fukuyama H, et al. Static magnetic field can transiently alter the human intracortical inhibitory system [J]. Clin Neurophysiol, 2015, 126 (12) : 2314-2319. DOI: 10.1016/j.clinph.2015.01.030.
- [8] Deghoyan A, Nikoghosyan A, Heqimyan A, et al. Age-dependent effect of static magnetic field on brain tissue hydration [J]. Electromagn Biol Med, 2014, 33 (1) : 58-67. DOI: 10.3109/15368378.2013.783852.
- [9] Maaroufi K, Ammari M, Elferchichi M, et al. Effects of combined ferrous sulphate administration and exposure to static magnetic field on spatial learning and motor abilities in rats [J]. Brain Inj, 2013, 27 (4) : 492-499. DOI: 10.3109/02699052.2012.750753.
- [10] Elferchichi M, Ammari M, Maaroufi K, et al. Effects of exposure to static magnetic field on motor skills and iron levels in plasma and brain of rats [J]. Brain Inj, 2011, 25 (9) : 901-908. DOI: 10.3109/02699052.2011.581640.
- [11] Ammari M, Jeljeli M, Maaroufi K, et al. Static magnetic field exposure affects behavior and learning in rats [J]. Electromagn Biol Med, 2008, 27 (2) : 185-196. DOI: 10.1080/15368370802072158.
- [12] 张皓楠,王益民,孟庆楠,等.永磁磁场对胎鼠大脑皮质神经元细胞的影响[J].生物医学工程与临床,2011,15(2):107-110.
- [13] 张皓楠,王益民,孟庆楠,等.永磁磁场对胎鼠皮质神经元细胞超氧化物歧化酶及丙二醛含量的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2013,35(6):494-496. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.06.020.
- [14] 张皓楠,王益民,孟庆楠,等.永磁磁场对皮质神经元细胞生长与凋亡的影响[J].中国医学物理学杂志,2013,30(2):4056-4058. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2013.02.022.

(修回日期:2019-03-12)

(本文编辑:凌琛)

· 外刊撷英 ·

Recruitment of additional corticospinal pathways in the human brain with state-dependent paired associative stimulation

BACKGROUND AND OBJECTIVE Standard brain stimulation protocols modify human motor cortex excitability by modulating the gain of the activated corticospinal pathways. However, the restoration of motor function following lesions of the corticospinal tract requires also the recruitment of additional neurons to increase the net corticospinal output. For this purpose, we investigated a novel protocol based on brain state-dependent paired associative stimulation.

METHODS Motor imagery (MI)-related electroencephalography was recorded in healthy males and females for brain state-dependent control of both cortical and peripheral stimulation in a brain-machine interface environment. State-dependency was investigated with concurrent, delayed, and independent stimulation relative to the MI task. Specifically, sensorimotor event-related desynchronization (ERD) in the β -band (16-22 Hz) triggered peripheral stimulation through passive hand opening by a robotic orthosis and transcranial magnetic stimulation to the respective cortical motor representation, either synchronously or subsequently. These MI-related paradigms were compared with paired cortical and peripheral input applied independent of the brain state.

RESULTS Cortical stimulation resulted in a significant increase in corticospinal excitability only when applied brain state-dependently and synchronously to peripheral input. These gains were resistant to a depotentiation task, revealed a nonlinear evolution of plasticity, and were mediated via the recruitment of additional corticospinal neurons rather than via synchronization of neuronal firing. Recruitment of additional corticospinal pathways may be achieved when cortical and peripheral inputs are applied concurrently, and during β -ERD. These findings resemble a gating mechanism and are potentially important for developing closed-loop brain stimulation for the treatment of hand paralysis following lesions of the corticospinal tract. **SIGNIFICANCE STATEMENT** The activity state of the motor system influences the excitability of corticospinal pathways to external input. State-dependent interventions harness this property to increase the connectivity between motor cortex and muscles. These stimulation protocols modulate the gain of the activated pathways, but not the overall corticospinal recruitment.

CONCLUSION In this study, a brain-machine interface paired peripheral stimulation through passive hand opening with transcranial magnetic stimulation to the respective cortical motor representation during volitional β -band desynchronization. Cortical stimulation resulted in the recruitment of additional corticospinal pathways, but only when applied brain state-dependently and synchronously to peripheral input. These effects resemble a gating mechanism and may be important for the restoration of motor function following lesions of the corticospinal tract.

【摘自:Kraus D, Naros G, Guggenberger R, et al. Recruitment of additional corticospinal pathways in the human brain with state-dependent paired associative stimulation. J Neurosci, 2018, 38(6):1396-1407. doi:10.1523/JNEUROSCI.2893-17.2017.】