

· 基础研究 ·

调制脉冲磁场对大鼠记忆保持和再现能力的影响及其机制

郭明霞 王学民 马舜尧 王明时

【摘要】目的 探讨调制脉冲磁场对大鼠记忆保持及再现能力的影响及其作用机制。方法 采用改良“十”字迷宫法测试磁场对大鼠记忆行为的影响;通过电镜观察磁场对大鼠海马组织神经细胞形态的影响。结果 20 Hz 调制脉冲磁场刺激后大鼠记忆再现能力明显降低($P < 0.05$),刺激后 1 h 大鼠记忆保持能力明显降低($P < 0.05$),刺激后 24 h 磁场对记忆保持的影响基本消失($P > 0.05$),磁场对记忆的影响因记忆内容而异。20 Hz 调制脉冲磁场刺激后大鼠海马神经元突触形态发生变化。结论 脉冲磁场引起神经突触变化是其影响大鼠记忆能力的主要作用机制之一。

【关键词】 记忆能力; 脉冲磁场; 海马; 突触

Effect of modulated pulse magnetic fields on memory retention and retrieval ability of rats and its mechanism

GUO Ming-xia*, WANG Xue-min, MA Shun-yao, WANG Ming-shi. * Department of Medical Imaging, Tianjin Medical University, Tianjin 300203, China

【Abstract】 Objective To explore the effect and the mechanism of modulated magnetic pulse fields on memory retention and retrieval ability of rats. Methods The influence of different pulsed magnetic fields on memory performance of rats was evaluated by using cross maze test, the morphological changes of neurons and nerve synapses in the hippocampus of rats were observed by the electronic microscopy. Results The 20 Hz modulated - pulse magnetic field impaired the memory retrieval ability and the memory retention significantly after 1 hour of exposure of the rats to it ($P < 0.05$), but the influence died down after 24 hours ($P > 0.05$). These influences on nerve tissues were also observed in rats underwent the 10Hz modulated magnetic stimulation, manifested as an initial increase in ability of memory in the first 24 hours after the stimulation, but no significant difference from the control was found. The influence of magnetic fields on memory depended on what the rats remembered. Conclusion Changes in the nerve synapses may be a main factor of mechanisms of the influence of pulse magnetic fields on memory ability of rats.

【Key words】 Memory ability; Pulse magnetic field; Hippocampus; Synapse

对学习及记忆的研究历来受到神经科学领域的高度重视。近年来,人们从不同角度和不同层次对学习记忆的神经机制进行了研究,并取得了一定的进展^[1-3]。经颅磁刺激技术已经成为非常有效的研究工具,用于学习记忆的脑区定位及对短时记忆获得影响等方面的研究^[4-5]。但目前还未发现调制脉冲磁场对长时记忆保持和再现能力的影响及其作用机制的有关报道。

根据多年来的研究基础^[6-7],我们研究了不同调制频率的脉冲磁场对大鼠长时记忆保持和记忆再现能力的影响,并观察了调制脉冲磁场对大鼠海马组织神经突触超微结构的影响,以揭示磁场对大鼠记忆能力影响的作用机制。

材料与方法

一、磁场刺激装置

脉冲磁场发生装置为本实验室研制。该仪器由低频脉冲发生器、高频脉冲发生器(50 kHz)、功率放大器和输出耦合器构成。专用芯片组成低频脉冲发生器,输出频率可由程序控制,将输出脉冲直接加在高频脉冲发生器的 RESET 端,构成低频信号对高频脉冲磁场的调制。磁场输出耦合器由多匝线圈紧密、均匀绕制而成。磁感应强度为 2.3 mT。

二、大鼠记忆能力测试

采用改良“十”字迷宫法^[8],该装置由黑、白两色有机玻璃板构成,两明臂和两暗臂(每个臂的长×宽×高为 35 cm×9 cm×20 cm)呈“十”字交叉,交叉处为白色。明臂无盖,暗臂遮蔽,四臂中央底板画一道白色细线。测试时,将大鼠置于明臂顶端,背离中央交叉处,同时开始记时。大鼠喜暗,转身探究步入暗臂,当

作者单位:300203 天津,天津医科大学医学影像学系(郭明霞);天津大学精密仪器及光电子工程学院(王学民、马舜尧、王明时)

大鼠四肢跨越暗臂中央白线时算作进入暗臂,停止计时。记录时间为潜伏期,潜伏期短说明记忆能力强。

三、磁场刺激模型

选健康 Wistar 雄性大鼠 30 只(天津医科大学动物中心提供),体重约 150 g,随机分为 6 组,即实验 1、2、3、4 组和对照 1、2 组,每组 5 只大鼠。实验 1、3 组接受调制频率为 10 Hz 的脉冲磁场刺激,实验 2、4 组接受调制频率为 20 Hz 的脉冲磁场刺激,磁场刺激为经颅刺激,输出耦合线圈置于大鼠头顶上方 2 mm,刺激时间均为 20 min。以下各步实验中,对照组大鼠头顶线圈不通电,其它与实验组处理方法相同。

实验前 1 周将大鼠领回喂养,熟悉迷宫,并进行了学习训练。对照 1 组及实验 1、2 组大鼠在迷宫中进行 10 次训练后,实验 1、2 组分别接受磁场刺激,并于磁刺激后 1 h 和 24 h 对照组及实验组进行记忆保持能力测试;对照 2 组及实验 3、4 组大鼠每天在迷宫中训练 10 次,共训练 3 d,第 4 天实验 3、4 组分别接受磁场刺激,之后对照组及实验组直接进行记忆再现能力测试。

四、电击后磁场刺激模型

选健康 Wistar 雄性大鼠 15 只,接受迷宫训练数次,然后在每只大鼠进入暗臂后分别给以峰值 80 V 的电脉冲刺激 3 s;将大鼠随机分为对照组和实验 a、b 组,每组各 5 只,实验 a 组电击后 5 min 接受 20 Hz 调制脉冲磁场刺激 20 min,并于磁场刺激后 3 h 对大鼠进行迷宫测试,实验 b 组电击后 24 h 接受 20 Hz 调制脉冲磁场刺激 20 min,并与对照组一同进行迷宫测试。

五、透射电镜标本制作

选健康 Wistar 雄性大鼠 6 只,分为实验组与对照组,每组各 3 只。实验组接受调制频率为 20 Hz 的脉冲磁场刺激,每天刺激 30 min,连续刺激 3 d。第 3 天磁场刺激后,将实验及对照组大鼠迅速处死,取新鲜脑海马组织,立即以 2.5% 戊二醛·多聚甲醛固定,1% 四氧化锇后固定,乙醇逐级脱水,Epont 812 环氧树脂包埋,瑞典 LKB-V 型超薄切片机半薄切片(1 μm)定位后,进行超薄切片(厚度 50 ~ 70 nm)醋酸铀、柠檬酸铅染色,日本 JEOL-100CX 透射电镜观察。

六、统计学分析

实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验进行统计学分析。

结 果

一、调制脉冲磁场对大鼠记忆保持和再现能力的影响

大鼠记忆保持和再现能力测试结果如表 1、表 2 所示。结果表明,20 Hz 调制脉冲磁场刺激后 1 h 大鼠记忆保持能力明显降低($P < 0.05$),刺激后 24 h 的结

果与对照组比较,表明磁场的影响基本消失($P > 0.05$);10 Hz 调制脉冲磁场刺激后 1 h 和 24 h 大鼠记忆保持能力有所增强,但实验组与对照组相比差异无显著性。20 Hz 调制脉冲磁场刺激后大鼠记忆再现能力明显降低($P < 0.05$);10 Hz 调制脉冲磁场刺激后大鼠记忆再现能力测试时,实验组入暗臂潜伏期稍微缩短,与对照组相比,差异无显著性。

表 1 调制脉冲磁场对大鼠记忆保持能力的影响($s, \bar{x} \pm s$)

组 别	大鼠入暗臂潜伏期	
	刺激后 1 h	刺激后 24 h
对照 1 组	7.41 $\pm$ 1.94	11.07 $\pm$ 4.93
实验 1 组	5.13 $\pm$ 2.11	8.62 $\pm$ 3.27
实验 2 组	12.72 $\pm$ 2.10*	12.86 $\pm$ 3.91

注: * 与对照 1 组相比, $P < 0.05$

表 2 调制脉冲磁场对大鼠记忆再现能力的影响($s, \bar{x} \pm s$)

组 别	大鼠入暗臂潜伏期
对照 2 组	6.11 $\pm$ 2.03
实验 3 组	5.26 $\pm$ 1.30
实验 4 组	11.42 $\pm$ 3.00*

注: * 与对照 2 组相比, $P < 0.05$

二、20 Hz 调制脉冲磁场对受电击大鼠记忆的影响

实验 a、b 组与对照组大鼠进行迷宫测试时,大鼠均拒绝再次进入经受过电击的暗臂。该实验结果表明,大鼠经受过电击产生的痛苦记忆不会受磁场刺激的改变,即磁场对大鼠记忆的影响因其记忆内容而异,记忆深刻的事情不受影响。

三、调制脉冲磁场对大鼠脑神经细胞超微结构的影响

电镜观察结果表明,实验组海马组织神经元胞浆内可见钙颗粒增多,突触小泡显著增多,突触后致密物质增厚,树突及血脑屏障周围星形胶质细胞水分增加(见图 1)。

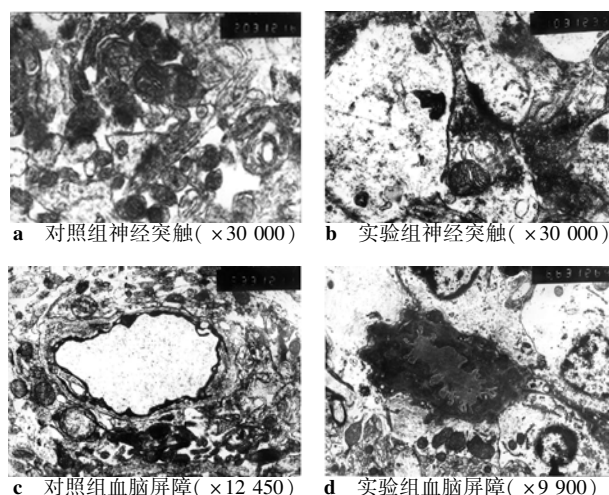


图 1 大鼠海马组织神经细胞超微结构

讨 论

大鼠记忆测试实验结果表明,调制脉冲磁场作用能影响大鼠的记忆保持和再现能力,但不同调制频率的磁场产生的影响不同,并且磁场对大鼠记忆的影响因其记忆内容而异。磁场对大鼠记忆能力的影响随时间延长逐渐消失。

电镜观察结果显示,降低大鼠记忆能力的调制脉冲磁场同时引起神经细胞内钙颗粒增加、突触小泡数量增加、突触后致密物质增厚、树突及星形胶质细胞内水分增加。神经细胞 Ca^{2+} 是偶联细胞膜去极化与神经递质释放或激活酶促反应的“第二信使”, Ca^{2+} 可激活与神经递质合成有关的酪氨酸羟化酶和色氨酸羟化酶,以影响乙酰胆碱(Ach)、5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)等神经递质的生物合成,并促使神经元的突触小泡释放神经递质。而研究结果已经证明,Ach、5-HT、NE 等神经递质是影响动物和人学习记忆能力的主要因素。因此,通过上述实验可以确定,磁场作用促进 Ca^{2+} 内流,进而促使神经递质的合成、储存及释放,并通过神经递质与突触后膜化学受体分子的结合,引发一系列突触后生物化学反应,改变细胞放电方式,使化学突触传递过程发生变化,最终影响学习记忆能力。突触后致密物质增厚就是神经递质与突触后膜化学受体分子结合引起受体分子构象变化的表现。同时由于磁场作用使 Na^{+} 内流增加,大量水分子进入细胞

内,造成神经元树突及神经胶质细胞内水分增加。脉冲磁场引起神经突触变化可能是其影响大鼠记忆能力的主要作用机制之一。

参 考 文 献

- 1 Steckler T, Sahgal A, Aggleton JP, et al. Recognition memory in rats - III. Neurochemical substrates. *Prog Neurobiol*, 1998, 54:333-348.
- 2 Williams JH. Frequency-specific effects of flicker on recognition memory. *Neuroscience*, 2001, 104:283-286.
- 3 Givens B. Low doses of ethanol impair spatial working memory and reduce hippocampal theta activity. *Alcohol Clin Exp Res*, 1995, 19:763-767.
- 4 Berman RM, Narasimhan M, Sanacora G, et al. A randomized clinical trial of repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of major depression. *Biol Psychiatry*, 2000, 47:332-337.
- 5 Ruohonen J, Ravazzani P, Grandori F, et al. Theory of multichannel magnetic stimulation: toward functional neuromuscular rehabilitation. *IEEE Trans Biomed Eng*, 1999, 46:646-651.
- 6 冯远明,郭青,王明时. 时变磁场促进睡眠的实验研究. *中华物理医学杂志*, 1993, 15:73-75.
- 7 Zhang J, Wang XM, Wang MS. Experimental study on improving the quality of sleep by alternating magnetic field. *Chin J Biomed Eng*, 1997, 6:109-110.
- 8 王建红,蔡景霞. 学习记忆小动物模型浅谈. *生物学通报*, 1999, 34:36-38.

(收稿日期:2002-09-02)

(本文编辑:郭正成)

· 短篇论著 ·

1 例青少年重度颈椎后突畸形的诊治报道

林岳军 杨建伟 李泽兵 姜立本

在青少年脊柱疾病中,以侧弯畸形居多,但颈椎后突畸形却非常少见。我院康复医学科于 2001 年 9 月收治了 1 例重度颈椎后突畸形病例,经详细诊断,精心治疗后,效果满意。现报道如下。

患者为女性,16 岁,身高 153 cm,体重 36 kg,初中文化,曾在外地打工 1 年余。患者于 2001 年 4 月的某天晚上,俯卧伏枕入睡。次日起床后,发现颈部酸痛且症状持续,并常常发生低头或抬头时活动受限,可在颈后部扪及一隆起,同时伴有左上肢酸胀不适,以上臂及前臂为甚,时有头晕,无双上肢麻木,无四肢乏力及二便障碍。外院摄 X 线片发现颈椎后突畸形,CT 示 C_1 、 C_2 椎体无异常,齿状突骨质完整。外院医生多建议采用纠正姿势继续观察、石膏外固定、手术内固定或植骨融合等治疗,但由于手术疗法风险性较大,保守疗法的疗效预计值较低,

患者在综合考虑后均未接受。患者于 2001 年 9 月来我院康复科就诊,X 线示颈椎后突,胸椎轻度右侧弯,腰椎曲度变直, S_1 隐裂,再摄张口位 X 线片,齿状突可见,右侧关节间隙稍宽,颈椎 MRI 示颈椎后突畸形,椎体形态信号正常,各椎间隙间无明显狭窄,椎间盘未见突出,椎管无狭窄,为求进一步诊治,遂收住我科。

入院后检查发现颈椎后突畸形,各棘突无压痛,双上肢腱反射、肌力、肌张力正常,左上肢前臂桡侧浅感觉略减退,双侧 Hoffman 征(-),胸椎轻度右侧弯,腰椎前凸消失且轻度左侧弯,双下肢肌力、肌张力、感觉等正常。颈椎活动受限,屈曲 $30 \sim 35^\circ$,后伸 $25 \sim 30^\circ$,侧弯和旋转基本正常。颈椎 X 线检查示颈椎后突畸形,如借用 Cobb 方法^[1],则向后成角约 41° ,成角最高点在 C_5 棘突,见图 1 所示;颈椎 MRI 示除颈椎后突畸形外,再无特殊情况。