

· 基础研究 ·

8 Hz 次声对大鼠海马和颞叶皮层 5-HT_{1A} 表达的影响

谭永霞 李玲 陈景藻

【摘要】目的 研究 90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz, 130 dB/8 Hz 的次声对 SD 大鼠海马及颞叶皮层 5-HT_{1A} 受体(5-HT_{1A})表达的影响。**方法** 大鼠分别接受 90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 或 130 dB/8 Hz 的次声作用 1, 7, 14, 21, 28, 35 或 42 d, 每天 2 h; 于相应时间点取大鼠脑组织进行 5-HT_{1A} 免疫组织化学染色, 光学显微镜下观察海马及颞叶皮层 5-HT_{1A} 表达的变化。**结果** 次声作用组大鼠脑组织海马及颞叶皮层 5-HT_{1A} 表达均较对照组减少, 90 dB 组、100 dB 组以 35 d 减少最为明显, 而 130 dB 组以 28 d 最为明显(均 $P < 0.01$), 且 35 d 时, 100 dB 组的表达减少较 90 dB 组明显, 各组阳性表达在此后均有所回升。**结论** 90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 和 130 dB/8 Hz 次声可引起大鼠海马及颞叶皮层 5-HT_{1A} 表达减少, 其变化规律与次声作用参数有关, 相同作用时间下, 130 dB 组的变化较 100 dB 组及 90 dB 组的变化明显。

【关键词】 次声; 大鼠; 海马; 颞叶皮层; 5-HT_{1A} 受体

The effect of 8Hz infrasound on expression of 5-HT_{1A} of hippocampus and temporal cortex in rats TAN Yong-xia, LI Ling, CHEN Jing-zao. Department of Rehabilitation and Physiotherapy, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【Abstract】Objective To study the effect of 8Hz infrasound on the expression of 5-HT_{1A} of hippocampus and temporal cortex in rats. **Methods** SD rats were exposed to 8Hz, 90dB, 100dB or 130dB infrasound, respectively for 2 hours daily. Then the rats' brains were taken and given stained immunohistochemically for (5-hydroxy tryptamine receptor, 5-HT_{1A}). The content of 5-HT_{1A} in hippocampus and temporal cortex were detected under an optical microscope. **Results** The animals in the infrasound groups had less expression of 5-HT_{1A} in hippocampus and temporal cortex, and the least were at the 35th day for 90dB group and 100dB group and the 28th day for 130dB group ($P < 0.01$), and on the 35th day, 100dB group had less expression than that of 90dB group. Then the expression of 5-HT_{1A} had an increase in each group. **Conclusion** The decreased expression of 5-HT_{1A} of hippocampus and temporal cortex in rats could result from exposure to infrasound of 8Hz. The changes were related to the parameter of infrasound. The 130dB group had greater change of 5-HT_{1A} in hippocampus and temporal cortex than that of 100dB and 90dB groups after exposure to infrasound for the same period of time.

【Key words】 Infrasound; Rats; Hippocampus; Temporal cortex; 5-HT_{1A}

次声是频率为 0.0001 ~ 20 Hz 的声波。研究表明中枢神经系统是次声的敏感器官之一^[1]。学习和记忆是脑的重要功能, 是动物适应自然, 维持个体生存和种族延续的基本特征。8 Hz 及 16 Hz, 130 dB 次声作用于大鼠, 每天 2 h, 作用 7, 14 或 21 d, 可发现学习记忆相关脑区纹状体一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)阳性神经元表达的变化^[2]。中枢神经系统的 5-HT_{1A} 受体(5-HT_{1A})系统与学习记忆有关^[3]。本研究拟通过动物实验探讨 8Hz 次声对大鼠海马及颞叶皮层学习记忆相关物质 5-HT_{1A} 表达的影响。

材料与方法

一、材料

1. 动物: 一级雄性 SD 大鼠, 由第四军医大学实验动物中心提供, 6 ~ 7 周龄, 体质量 190 ~ 210 g, 实验前 1 周领回, 分笼饲养于安静环境中。动物室温控制在 20 ~ 24℃, 湿度控制在 50% 左右, 动物自由进食、饮水, 正常日光周期。

2. 次声声源及检测系统: 在中国科学院声学研究所和航天工业总公司第 41 所的指导和协作下, 于本校建成次声压力舱系统及检测系统, 声源为电动扬声器。

二、方法

1. 实验方法: 140 只 SD 大鼠随机分为对照组及

基金项目: 全军医学科学技术研究“十五”计划指令性课题(No. 011L071)

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学西京医院康复理疗科

通讯作者: 李玲

90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz, 130 dB/8 Hz 的 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 d 组共 28 组。分别暴露于 90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 及 130 dB/8 Hz 的次声舱每天 2 h, 或不予次声作用作为对照, 至实验期满。

2. 取材方法: 所有动物于最后一次从次声舱取出后立即取材, 常规灌注固定。

3. 试剂: 兔抗 5-HTR 抗体由本校组织胚胎学教研室生产 (1:100), 生物素化羊抗兔 IgG 为 Sigma 公司产品 (1:500), ABC 复合物为 Sigma 公司产品 (1:500)。

4. 染色及计数方法: 在 Leica 恒冷冰冻切片机取冠状切面连续切片, 片厚 35 μm , 隔 5 取 1。采用抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合法 (ABC 法) 染色, DAB 显色 (蓝色反应)。每例动物随机取经结节、乳头体交界平面切片 3 张, 在 10 $\times$ 40 光镜下, 采图取海马 CA1 区及颞叶皮层, 用 MIAS-2000 图文分析系统进行图像分析。取灰度值比较其阳性结果。

三、统计学分析

所得数据用 SPSS 10.0 软件计算 ($\bar{x} \pm s$), 并进行 ANOVA 方差分析, 组间差异采用 Dunnett-*t* 检验。

结 果

一、大鼠海马 5-HTR 染色结果

对照组可见海马各区有大量呈胞浆染色的阳性胶质细胞表达, 呈深蓝色, 高倍镜下呈颗粒状, 胶质细胞胞体小, 核仁不明显, 有较多细而长的突起。次声作用组阳性胶质细胞数目减少, 颜色变淡。90 dB 及 100 dB 组均以 35 d 最少 ($P < 0.01$), 130 dB 组以 28 d 为最少, 且 35 d 时 100 dB 组阳性胶质细胞较 90 dB 组少。此后各组表达均有所回升 (表 1、图 1~2)。

二、大鼠颞叶皮层 5-HTR 染色结果

对照组皮层可见呈胞浆染色的阳性胶质细胞和神经元, 其中浅层可见阳性胶质细胞表达, 胶质细胞胞体小, 有较多细而长的突起, 而锥体层有较多阳性神经元表达, 神经元胞体较大, 核仁较明显, 有 1~2 个较长的突起。次声作用组阳性胶质细胞及神经元数目均减少, 颜色变淡, 90 dB 及 100 dB 组以 35 d 最少 ($P < 0.01$), 而 130 dB 组则以 28 d 为最少, 且 35 d 时, 100 dB 组阳性表达较 90 dB 组少。此后各组阳性表达均有回升 (表 2、图 3~4)。

表 1 不同时间 8 Hz 次声对大鼠海马 CA1 区 5-HTR 表达的影响 (个, $\bar{x} \pm s$)

作用时间	<i>n</i>	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d
对照组	15	53.12 $\pm$ 5.67	55.19 $\pm$ 6.09	54.56 $\pm$ 6.21	53.92 $\pm$ 6.37	52.09 $\pm$ 5.94	52.69 $\pm$ 7.01	54.07 $\pm$ 5.39
90 dB 组	15	46.39 $\pm$ 5.79	38.03 $\pm$ 4.97	29.85 $\pm$ 4.37 [*]	20.98 $\pm$ 3.76 [#]	16.57 $\pm$ 3.46 [#]	9.13 $\pm$ 2.10 [#]	14.08 $\pm$ 3.98 [#]
100 dB 组	15	40.19 $\pm$ 5.31	32.67 $\pm$ 4.56 [*]	25.87 $\pm$ 3.82 [#]	18.89 $\pm$ 3.07 [#]	12.30 $\pm$ 2.97 [#]	8.59 $\pm$ 2.13 [#]	12.02 $\pm$ 2.11 [#]
130 dB 组	15	36.29 $\pm$ 4.21	28.58 $\pm$ 3.61 [*]	21.09 $\pm$ 3.10 [#]	14.09 $\pm$ 2.65 [#]	7.68 $\pm$ 2.01 [#]	13.66 $\pm$ 2.31 [#]	17.54 $\pm$ 2.43 [#]

注: 与对照组相比, ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$

表 2 不同时间 8 Hz 次声对大鼠颞叶皮层 5-HTR 表达的影响 (个, $\bar{x} \pm s$)

作用时间	<i>n</i>	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d
对照组	15	45.38 $\pm$ 6.01	42.68 $\pm$ 5.20	41.55 $\pm$ 5.49	44.29 $\pm$ 5.12	43.82 $\pm$ 4.19	45.08 $\pm$ 5.94	44.94 $\pm$ 5.64
90 dB 组	15	42.67 $\pm$ 4.38	37.38 $\pm$ 4.29	31.61 $\pm$ 4.27 [*]	26.92 $\pm$ 3.96 [*]	20.87 $\pm$ 3.76 [#]	15.66 $\pm$ 2.34 [#]	23.94 $\pm$ 3.29 [#]
100 dB 组	15	39.76 $\pm$ 4.28	35.82 $\pm$ 4.62	27.19 $\pm$ 2.06 [*]	21.94 $\pm$ 2.64 [#]	18.95 $\pm$ 2.04 [#]	13.38 $\pm$ 2.00 [#]	20.89 $\pm$ 2.59 [#]
130 dB 组	15	35.94 $\pm$ 4.72	31.90 $\pm$ 4.21 [*]	23.48 $\pm$ 3.65 [#]	17.96 $\pm$ 2.11 [#]	13.76 $\pm$ 2.01 [#]	22.46 $\pm$ 3.67 [#]	31.26 $\pm$ 4.20 [*]

注: 与对照组相比, ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$

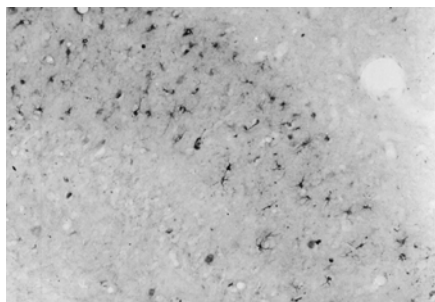


图 1 对照组大鼠海马 CA1 区 5-HTR 阳性表达 (ABC 法 $\times 400$)

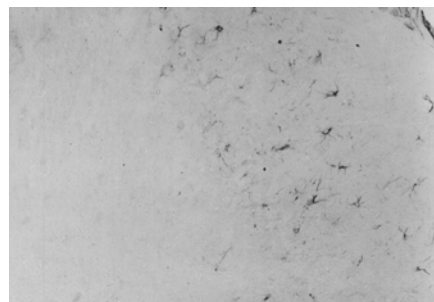


图 2 130 dB/8 Hz, 28 d 组大鼠海马 CA1 区 5-HTR 阳性表达 (ABC 法 $\times 400$)

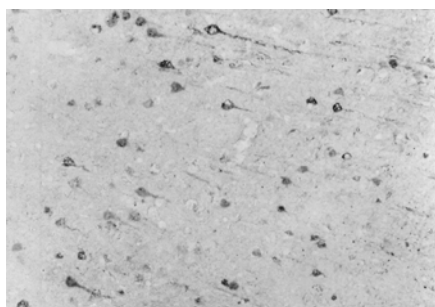


图3 对照组大鼠颞叶皮层 5-HTR 阳性表达(ABC 法 ×400)

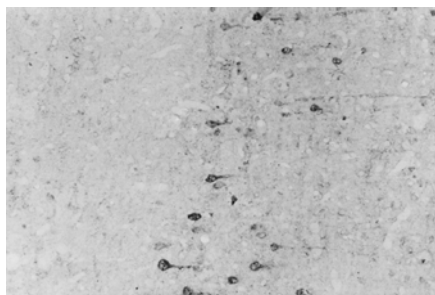


图4 130 dB/8 Hz, 28 d 组大鼠颞叶皮层 5-HTR 阳性表达(ABC 法 ×400)

讨 论

5-HT 是体内重要的神经递质,中枢神经系统中仅占 1%~2%,中枢中 5-HT 虽然含量很少,在调节机体的生理功能方面却发挥着重要的作用。近期研究表明,中枢 5-HT 与学习记忆有关。在学习记忆的敏感化过程中,中间神经元可释放 5-HT,使中间神经元内的 cAMP 增加,cAMP 是细胞信息传递的重要第二信使,可进一步引起运动神经元的兴奋性突触后电位(EPSP),从而促进学习记忆^[4]。5-HT 是通过分布在各处的 5-HTR 而起作用的。5-HTR 有 7 型,每一型中又有不同的亚型,他们在学习记忆中所起的作用不同而且非常复杂。例如 5-HT(1A)受体激动剂 repinotan HCl 可改善大鼠脑损伤后空间学习记忆,使大鼠大脑局部缺血和硬膜下血肿所引起的症状得以改善,使大鼠在水迷宫中的成绩提高,并且伴有海马神经元的增加^[5]。

海马结构位于半球内侧面、属于古皮质,包括胼胝体上回、束状回、齿状回、海马、下托和海马旁回钩的一部分。海马结构与大脑皮质和皮质下中枢有广泛的联系^[6]。

正常情况下,经过训练的大鼠在放射状的迷宫中,可以不走重复的路而得到食物,海马损伤的大鼠则有不同的表现,它们记不住曾经在迷宫内走过的无效通路,要用很长时间才能得到食物^[7]。Miller 等^[8]用电生理学方法证实空间学习记忆时猴的下颞叶皮层有明显的单细胞放电现象,认为其空间学习记忆的中枢定位在下颞叶皮层。由此可见,海马与颞叶皮层不仅存在

纤维联系,而且也有功能方面——空间记忆方面的紧密联系。

次声能引起人体和动物中枢神经的功能变化。90 dB/8 Hz, 130 dB/8 Hz 及 90 dB/16 Hz, 130 dB/16 Hz 的次声分别作用于兔 20 min,以动态脑电记录仪观察其脑电活动发现,90 dB/16 Hz 和 130 dB/16 Hz 次声可使兔脑电活动处于抑制状态,且抑制程度与声压强相关^[9]。

我们相关的研究表明,90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 和 130 dB/8 Hz 的次声作用于大鼠可使其在 Morris 水迷宫中的游泳时间延长,同时伴有海马及颞叶皮层 5-HTR 的减少(次声作用共 6 d,每日次声作用结束后进行水迷宫训练)^[10]。本次实验发现:90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 和 130 dB/8 Hz 的次声作用于大鼠不同时间后,各组大鼠海马及颞叶皮层 5-HTR 表达的变化规律不同。从 1~42 d 的作用期间,各组 5-HTR 阳性表达均呈现先降低、后期有所恢复的特点;90 dB 和 100 dB 组,无论海马还是颞叶皮层均以 35 d 时阳性表达最少,而 130 dB 组则以 28 d 时为最少;1~28 d 的阶段在相同时间点 90 dB, 100 dB 和 130 dB 的阳性表达呈现递减趋势;此后各组阳性表达均逐渐回升;90 dB 组海马及颞叶皮层的阳性表达在 14, 21, 28, 34 和 42 d 均低于正常对照组,且差异有显著性意义;100 dB 组和 130 dB 组海马的阳性表达在 7, 14, 21, 28, 34 和 42 d 均低于正常对照组,且差异有显著性意义,而颞叶皮层的阳性表达在 14, 21, 28, 34 和 42 d 组均低于正常对照组,且差异有显著性意义。提示 90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 和 130 dB/8 Hz 次声可抑制大鼠脑组织海马及颞叶皮层 5-HTR 表达。在上述参数的次声作用早期所致的效应具有累积效应和强度效应,随作用时间的延长效应趋于明显。相同时间时,90 dB, 100 dB 和 130 dB 各组次声所致生物效应呈递增趋势,虽然相同参数的次声同时引起大鼠海马及颞叶皮层 5-HTR 阳性表达的变化,但海马及颞叶皮层变化的程度却不一定平行;后期各组阳性表达均有所回升,提示大鼠脑组织对 90 dB/8 Hz, 100 dB/8 Hz 和 130 dB/8 Hz 次声存在适应现象。我们既往曾观察到 90 dB/8 Hz 和 130 dB/8 Hz 次声引起大鼠海马超微结构的变化以变性为主,次声作用后期其形态学变化有所恢复^[11],这可以为本实验的结果提供形态学方面的依据。文献表明 130 dB/8 Hz 及 90 dB/16 Hz 次声引起小鼠卵泡细胞超微结构变化中,也观察到随作用时间的延长卵泡细胞超微结构的损伤反而有所减轻^[12]。本实验观察时间较短,上述次声作用更长时间后,大鼠海马及颞叶皮层 5-HTR 阳性表达的变化是逐渐恢复还是出现新的变化规律有待于进一步研究。由于次声难以防护,适应性的存在可以为次

声的防护提供新的思路,即可以先予声压级较弱的次声作用一段时间,促使机体的适应机制产生,这方面国外学者在高频噪声防护中已进行了有益的探索^[13]。

参 考 文 献

- 1 叶琳,龚书明,黄晓峰,等. 次声作用对大鼠大脑皮层超微结构的影响. 第四军医大学学报, 2002, 23: 856-858.
- 2 魏智钧,李玲,陈景藻,等. 130 dB 次声对大鼠纹状体 NOS 阳性神经元及 ChAT 免疫阳性神经元表达的影响. 第四军医大学学报, 2003, 24: 289-292.
- 3 Manuel-Apolinar L, Meneses A. 8-OH-DPAT facilitated memory consolidation and increased hippocampal and cortical cAMP production. Behav Brain Res, 2004, 148: 179-184.
- 4 Barbas D, DesGroseillers L, Castellucci VF, et al. Multiple serotonergic mechanisms contributing to sensitization in aplysia: evidence of diverse serotonin receptor subtypes. Learn Mem, 2003, 10: 373-386.
- 5 Kline AE, Yu J, Horvath E, et al. The selective 5-HT(1A) receptor agonist repinotan HCl attenuates histopathology and spatial learning deficits following traumatic brain injury in rats. Neuroscience, 2001, 106: 547-555.
- 6 张朝佑,主编. 人体解剖学. 第2版. 北京:人民卫生出版社,1998. 1294-1298.
- 7 Becker JT, Walker JA, Olton DS. Neuroanatomical base of special memory. Brain Res, 1980, 200: 307-320.
- 8 Miller EK, Li L, Desimone R. A neural mechanism of working and recognition memory in inferior temporal cortex. Science, 1991, 254: 1377-1379.
- 9 刘卫,陈景藻,李玲,等. 次声对兔脑电活动的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24: 269-271.
- 10 谭永霞,李玲,陈景藻. 次声对大鼠学习记忆行为及海马和颞叶皮层 5-HT、5-HTR 的影响. 中国行为医学科学, 2004, 13: 17-19.
- 11 谭永霞,李玲,陈景藻,等. 次声对大鼠海马超微结构的影响. 中国康复理论与实践, 2003, 9: 645-647.
- 12 魏亚宁,刘静,舒青,等. 次声对小鼠卵巢细胞超微结构的影响. 第四军医大学学报, 2003, 24: 293-295.
- 13 Ger P. Acquired resistance to acoustic trauma by stand condition is primarily mediated by changes resisted to the cochlea, not by systemic response. Hear Res, 1999, 74: 31-40.

(修回日期:2004-08-18)

(本文编辑:熊芝兰)

· 研究简报 ·

微波天线阵列在骨肿瘤组织中产生电磁场分布的模拟与调控

席晓莉 汪文秉

目前临床上已广泛应用同轴探头及其阵列治疗骨肿瘤并取得了良好疗效^[1]。从对单天线在骨肿瘤组织中产生电磁场分布的模拟研究中发现,由单天线产生的电磁场能量往往分布于有限区域内,故只能实现对小范围肿瘤组织的治疗,当肿瘤体积较大时,则需要采用由多天线组成的天线阵列,从而实现电磁场能量在大范围肿瘤组织内的较均匀分布^[2]。本研究将针对特定的骨肿瘤模型,分析天线间距及激励相位对天线阵列在骨肿瘤组织中产生电磁场能量分布的影响。

材料与方法

本研究所用的骨肿瘤模型为长 100 mm 的分层柱状骨组织,外层为骨皮质,其内、外半径分别为 20 mm 及 25 mm,中间为长 70 mm 的肿瘤组织,其它部分为正常的松质骨组织,详见图 1。在频率为 2.45 GHz 的电磁场作用下,不同组织的相对磁导率均为 1,相对介电常数及电导率如下:骨皮质为 11 和 0.4 S/m^[3],松质骨为 18.5 和 0.8 S/m^[3],肿瘤组织为 49 和 2.2 S/m^[4]。微波插入探头由耐高温的 SFF-50-5 型聚四氟乙烯同轴电缆剥去外导体及绝缘护套后制成,电缆具体尺寸及

参数如下:内、外导体直径分别为 1.48 mm 及 4.6 mm,电缆外径 6.4 mm,内、外导体间及电缆护套绝缘材料的相对介电常数为 2.2。

根据文献^[2]关于单同轴探头在骨肿瘤组织中电磁场能量分布的研究结果及本研究中的实际模型,选择由插入深度(外导体割断部位在组织中的深度)为 7 mm(此插入深度时的轴向场强分布范围较大)、天线长度(内导体外沿长度)为 35 mm 的 3 个同轴探头组成的探头阵列进行研究,分析不同天线间距及激励相位对肿瘤组织中电磁场能量分布的影响。

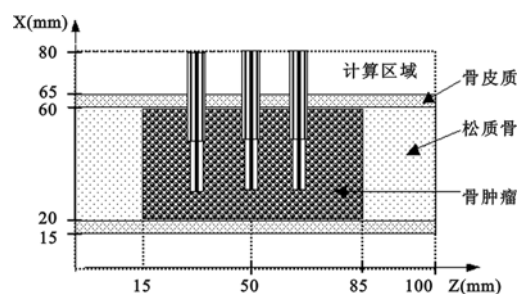


图 1 多天线阵列计算模型(Y=35 mm 的 XZ 截面)

电磁场的数值模拟研究采用时域有限差分法(FDTD)^[5],计算区域为 80 mm×70 mm×100 mm,空间步长为 1 mm,在结构较细微的探头区域采用亚网格技术,亚网格区域内的空间步

基金项目:陕西省教育厅 2003 年科研计划项目(No. 03JK086)

作者单位:710049 西安,西安理工大学(席晓莉);西安交通大学电信学院微波所(汪文秉)