



论文

亚磁环境孵化对雏鸡厌恶性条件化记忆的影响及相关的树突棘密度变化

肖颖^{①②}, 王倩^①, 徐慕玲^①, 李俊凤^①, 李兵^{①*}, 蒋锦昌^{①*}

① 中国科学院生物物理研究所, 脑与认知科学国家重点实验室, 北京 100101;

② 中国科学院研究生院, 北京 100049

* 联系人, E-mail: lib@sun5.ibp.ac.cn; jiangjc@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 2008-12-04; 接受日期: 2009-02-10

国家自然科学基金(批准号: 30400090)、国家重点基础研究发展计划(批准号: 2005CB724301)和中国科学院知识创新工程(批准号: KJCX1-09-03)资助项目

摘要 地磁场是地球上生命活动环境的基本要素之一, 而外太空中磁场强度接近于零。以往研究显示, 地磁场消除(即亚磁场)对生物体结构和功能有多方面的负面影响, 但对其作用机制了解仍然很少。本文使用厌恶性条件化学习任务, 研究亚磁环境孵化对日龄雏鸡长时记忆的影响, 分析雏鸡中枢记忆相关核团 IMM 和 MSt 中树突棘密度的变化, 探讨亚磁场生物效应的神经基础。实验结果显示, 在自然地磁环境中孵化的雏鸡, 训练后 4 h 保持显著的厌恶性条件化记忆, 其后记忆随时间逐渐消退; 而在亚磁环境中孵化的雏鸡, 训练后 4 h 已不具有对厌恶性刺激的记忆。对于正常雏鸡, 厌恶性刺激导致两侧脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度均显著升高, 在保持记忆的样本中, 树突棘密度升高幅度更大, 并呈现左侧优势。对于亚磁雏鸡, 树突棘密度升高幅度仅与不具有长时记忆的地磁雏鸡大致相当或略低。由此可见, 中枢记忆相关核团中树突棘大幅增生是长时记忆的必要前提, 地磁场消除可能抑制由厌恶性刺激引发的树突棘增生, 从而造成雏鸡记忆功能受损。

关键词亚磁场
日龄雏鸡
厌恶性条件化记忆
树突棘密度

随着航天事业的发展和生物圈研究的深入, 人们逐渐认识到生命活动必须与其所处的环境条件相适应。作为构成地球环境的基本要素之一, 磁场与生命活动的关系引起了人们广泛的兴趣, 特别是空间生物学和电磁生物学领域得到了人们越来越多的关注。数据显示, 月球周围的磁场强度不及地球磁场强度(约 50 μ T)的 1/1000, 太阳周围磁场强度约 0.21 nT, 银河系磁场强度约 0.1 nT。由此可见, 研究地磁场(geomagnetic field, GMF)消除, 即亚磁场(hypomagnetic field, HMF)的生物效应及其作用机制, 既是发展航天事业、探索宇宙奥秘的需要, 对于认识磁场与

生命活动的关系也具有十分重要的意义。研究发现, 地磁场消除可能在分子、细胞、生理、行为水平导致多种生物体结构和功能异常^[1]。在对脑功能的影响方面, 暴露于亚磁场可干扰小鼠痛觉反应^[2,3], 在亚磁场中孵化的日龄雏鸡长时记忆受损^[4], 连续传代的果蝇记忆逐渐缺失^[5], 在模拟国际空间站的环境中人类被试对情感刺激反应增强^[6]。尽管已有报道显示持续亚磁暴露可使大脑皮层、小脑、脑干中一些重要神经递质的含量发生变化^[7,8], 但对地磁场消除影响动物行为的机制仍有待深入研究。

日龄雏鸡是一种被广泛应用于学习记忆研究的

动物模型. 分子遗传学和解剖学研究显示, 鸟类与哺乳类的脑组织结构存在很大相似性^[9,10]. 在参与记忆加工的脑区及记忆调控机制等方面, 鸡与哺乳类具有很多共同特点, 因而日龄雏鸡模型可能为对哺乳类乃至人类的研究提供重要线索和参考^[11-13]. 在雏鸡脑中, 中间腹内侧旧皮质(intermediate medial mesopallium, IMM, 较早文献中称中间腹内侧上纹体, 即 IMHV)和内侧纹状体(medial striatum, MSt, 较早文献中称旁嗅核, 即 LPO)是参与记忆形成和存贮的主要核团^[14,15]. 记忆加工伴随着基因表达、蛋白质合成、离子通道开放等一系列分子事件以及神经元形态学变化^[15-18], 其中, 树突棘数量、结构和性质的变化与长时记忆的形成和巩固密切相关^[19,20]. 根据上述发现, 本文使用厌恶性条件化学习任务(sickness-conditioned learning task, SCLT)^[21], 进一步研究亚磁场对日龄雏鸡学习记忆功能的影响, 分析雏鸡两侧脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的变化, 探讨亚磁场生物效应的神经基础.

1 材料和方法

1.1 亚磁空间与雏鸡孵化

亚磁空间按前期报道^[22]方法, 由 3 对相互正交的亥姆霍兹线圈分别补偿自然地磁场的垂直、南北和东西分量, 使线圈内部空间中磁场强度接近于零. 用非铁磁性材料制做的多功能孵化箱置于线圈中央. 经调试, 线圈通电补偿时, 孵化箱内残余磁场强度 0.02~1.99 μT , 平均(0.74 $\pm$ 0.18) μT , 所有位点场强均低于正常地磁场强度(北京地区约 50 μT)的 5%, 符合亚磁空间标准.

家鸡(*Gallus domesticus*)种蛋购自中国农业大学种鸡场. 亚磁组雏鸡在上述亚磁实验条件下孵化, 出壳后留置于亚磁空间内直至行为实验开始; 地磁组雏鸡在假暴露条件下孵化. 除磁场因素外, 孵化过程中其他条件和步骤均按常规操作, 各组之间保持一致. 因 SCLT 实验范式的建立需要较大数量的样本, 部分用于行为实验的地磁组雏鸡由中国农业大学种鸡场孵化, 其测试结果与自孵样本无明显差异.

1.2 SCLT 行为实验

参照 Barber 等人^[21]的方法. 30~40 h 龄雏鸡, 每

组 10 只, 随机配对, 分别置于 18 cm $\times$ 25 cm $\times$ 20 cm 的测试箱中, 适应 1 h 后进行行为实验. 预训练用直径为 3 mm 的黑色小圆珠呈现 30 s, 以起始啄食行为. 10 min 后进行训练, 用直径为 3 mm 的铬黄色小珠一次性呈现 30 s, 不啄者被淘汰. 训练后 30 min, 腹腔注射 0.1 mL 1 mol/L LiCl 溶液或 0.9%生理盐水. 注射 LiCl 后, 雏鸡出现生理不适反应, 从而形成对铬黄色小珠的厌恶性条件化记忆. 间隔 2 h 提供清水使之恢复状态.

训练后 4, 6, 8, 24 h 进行测试, 每组雏鸡仅用于其中一个时点. 测试时, 先用铬黄色小珠呈现 30 s, 5 min 后用直径为 3 mm 的金色小珠呈现 30 s. 不啄铬黄色小珠的雏鸡被认为在此时刻保持对注射 LiCl 导致的厌恶性刺激的记忆, 啄铬黄色小珠的雏鸡则被认为丧失了这一记忆. 金色小珠用于检索雏鸡的啄食行为. 少数雏鸡不啄金色小珠, 可能是由于某些原因引起了对小珠的普遍回避或注射 LiCl 造成的生理不适未能恢复, 因而不能确定其对铬黄色小珠的反应是否为条件化回避, 这些样本在分析时应被剔除. 每组雏鸡的记忆保持水平用啄食率衡量, 啄食率=测试时啄铬黄色小珠的雏鸡数/该组有效雏鸡数 $\times$ 100%. 所有实验遵守“注射、测试双盲”原则.

1.3 神经元形态学观察

每个实验条件取 3~5 只雏鸡, 行为测试后即用乙醚深度麻醉, 灌流后开颅取脑. 按脑图谱^[23]定位, 分别取两侧脑的 IMM 和 MSt 组织块, 各约 1 mm $\times$ 1.5 mm $\times$ 2 mm, 用改良的 Golgi 快速银染法显示神经元形态. 所取组织块在 2.5%重铬酸钾与 1%锇酸溶液(4:1)中固定 7 天, 用 0.75%硝酸银溶液清洗并浸泡 6 天. 用 80%和 95%乙醇各脱水 1 h, 100%乙醇脱水 12 h. 组织块浸于乙醚与无水乙醇混合液(1:1) 3~6 h, 4%火棉胶渗透 24 h, 8%火棉胶渗透 1~1.5 h. 滴加 70%乙醇硬化, 20~40 μm 厚度切片, 用 80%, 95%和 100%乙醇依次脱水 5 min, 加木馏油透明后铺片, 加拿大树胶封片. 干燥切片在 Olympus IX-71 型倒置显微镜下观察, 配合 KX14E microCCD 摄像系统进行图像拍摄, 用 Image Pro Plus 图像分析软件进行图像处理和树突段测量. 根据文献报道^[24], 树突中间区域的可见棘密度接近于完整树突的棘密度, 便于测量并足

以用于脑区比较。按此方法, 在高倍物镜下随机选取神经元的完整树突中间段, 测量其长度并计数该段树突上的棘数量, 计算树突棘密度。

1.4 数据分析

实验数据以 $\bar{x} \pm \text{SE}$ 表示。组间比较采用 ANOVA 和 t 检验。

2 结果

2.1 雏鸡的记忆保持水平

注射生理盐水的地磁雏鸡、注射 LiCl 的地磁雏鸡和注射 LiCl 的亚磁雏鸡, 在 SCLT 行为实验中训练阶段的淘汰率依次为 $(6.1 \pm 2.2)\%$ (G-saline, $n=18$), $(8.5 \pm 1.5)\%$ (G-LiCl, $n=49$), $(17.5 \pm 3.7)\%$ (H-LiCl, $n=16$), 测试阶段的淘汰率依次为 $(6.7 \pm 3.0)\%$, $(11.4 \pm 1.8)\%$, $(22.5 \pm 3.6)\%$ (各组均未发现淘汰率与测试时间之间有相关性, 故不同测试时间的数据合并统计)。因为注射是在训练之后进行, G-saline 组与 G-LiCl 组之间训练淘汰率的小幅差别 ($P>0.25$) 应为个体差异和实验误差所致。G-LiCl 组的测试淘汰率高于 G-saline 组, 原因可能与注射 LiCl 造成的生理不适效应有关, 但差异并不显著 ($P>0.1$), 表明其影响有限。H-LiCl 组的训练淘汰率 ($P<0.05$) 和测试淘汰率 ($P<0.02$) 均显著高于 G-LiCl 组, 表明孵化过程中的持续亚磁暴露对在雏鸡上建立 SCLT 实验范式有严重的负面影响。

各组雏鸡在 SCLT 行为实验中的记忆保持水平如图 1 所示。其中, G-saline 组的啄食率在 80% 水平上下, 不同测试时间对应的啄食率无显著差异。这表明在注射生理盐水条件下, 仍有约 20% 的雏鸡在测试时回避铬黄小珠。这种回避与注射 LiCl 导致的厌恶性条件化记忆无关, 而是意味着在该实验范式中, 存在一定的随机回避概率。训练后 4 h, G-LiCl 组的啄食率显著低于 G-saline 组 ($(40.7 \pm 2.5)\%$ vs. $(74.6 \pm 5.9)\%$, $P<0.005$), 表明此时部分地磁雏鸡可保持对铬黄小珠与 LiCl 厌恶性刺激之间联系的长时记忆。训练后 6 h, G-LiCl 组的啄食率上升至 $(63.1 \pm 7.3)\%$, 显著高于训练后 4 h G-LiCl 组的值 ($P<0.02$), 但与训练后 6 h G-saline 组的值 $(76.6 \pm 3.7)\%$ 差异不显著 ($P>0.1$), 表明此时地磁雏鸡的厌恶性条件化记忆已明显减弱。训练后 8 h, G-LiCl 组的啄食率继续上升, 至训练后 24 h 趋于平稳, 虽仍略低于对应的 G-saline 组的值, 但差异均不显著, 体现了地磁雏鸡的记忆随时间延长而逐渐消退的过程。G-LiCl 和 G-saline 组结果与已有文献报道^[21]基本一致, 表明本文建立的 SCLT 实验范式是有效的。

对于亚磁雏鸡(H-LiCl 组), 训练后 4 h 的啄食率 $(82.4 \pm 2.5)\%$ 显著高于 G-LiCl 组对应值 ($P<0.0001$), 与 G-saline 组对应值无显著差异 ($P>0.25$), 表明亚磁雏鸡此时已不具有对铬黄小珠与 LiCl 厌恶性刺激之间

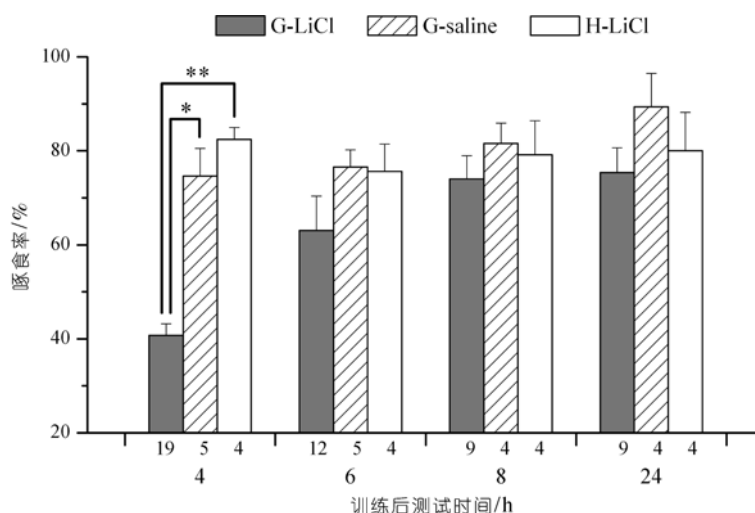


图 1 地磁和亚磁雏鸡在不同测试时间的记忆保持水平

直方柱下方数字为测试组数。* $P<0.005$ 为差异显著, ** $P<0.0001$ 为差异极显著

联系的长时记忆. 训练后 6, 8 和 24 h, H-LiCl 组的啄食率变化不大, 与 G-saline 组对应值差异均不显著, 进一步说明亚磁雏鸡不能长时间保持厌恶性条件化记忆.

2.2 正常雏鸡的树突棘密度变化

鉴于行为实验显示, 正常雏鸡在训练后 4 h 可保持显著的厌恶性条件化记忆, 而在训练后 6 h 记忆已开始消退, 为研究长时记忆形成和保持的神经基础, 选取训练后 4 h 的地磁雏鸡样本作神经元形态学观察, 分析其中枢记忆相关核团中树突棘密度的变化. 如图 2 所示, 两侧脑 IMM 和 MSt 中的树突棘密度具有

相似的分布和变化趋势. 对于未训练组(G-naive)、注射生理盐水的啄(peck)和不啄(no-peck)铬黄小珠组(G-saline-P, G-saline-NP), 数据的分布范围和分布中心都很接近. 注射 LiCl 的啄铬黄小珠组(G-LiCl-P), 分布明显向高端偏移; 不啄铬黄小珠组(G-LiCl-NP), 分布进一步向高端偏移.

上述各组样本之间的比较如图 3 所示. G-naive 组雏鸡既未经过铬黄小珠训练, 也未被注射药物, 可作为比较基准. 与 G-naive 组相比, G-LiCl-NP 和 G-LiCl-P 组各核团中的树突棘密度均显著升高 (G-LiCl-P 组 R-MSt, $P<0.05$; 其余均 $P<0.0001$), G-saline-NP 和 G-saline-P 组均无显著变化($P>0.1$). 这

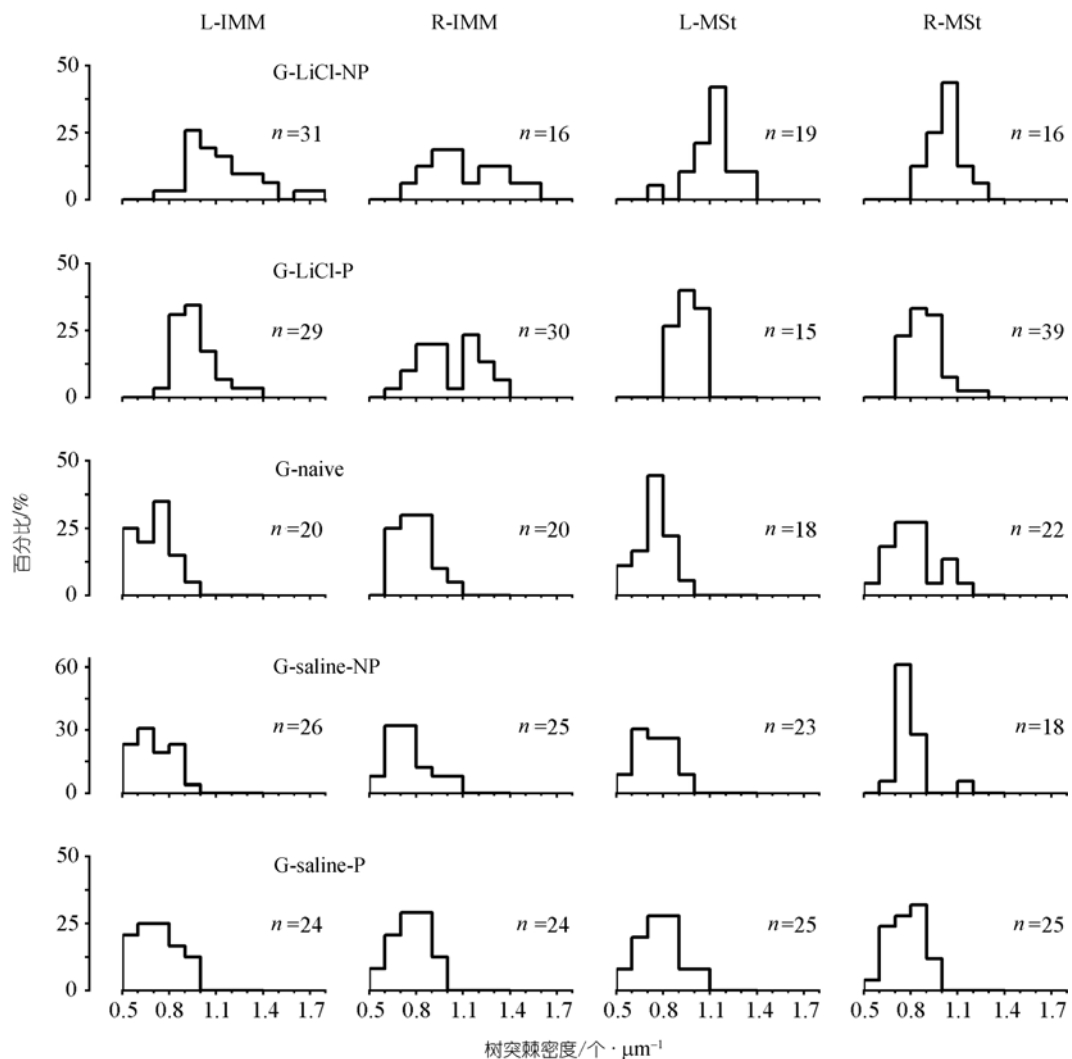


图 2 训练后 4 h 地磁雏鸡左(L-)、右(R-)脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的分布

表明注射 LiCl 可导致雏鸡中枢记忆相关核团中树突棘数量明显增加, 注射生理盐水则无影响. 因此, 此效应来自于由 LiCl 而产生的厌恶性刺激, 而非注射操作本身所致.

比较 G-saline-NP 组和 G-saline-P 组各核团中的树突棘密度, 差异均不显著($P>0.3$), 即行为测试时啄与不啄铬黄小珠的雏鸡之间在形态学观察上并无差异. 这也表明, 少数注射生理盐水的雏鸡回避铬黄小珠是一种与记忆无关的随机行为, 并不伴随中枢记忆相关核团中树突棘的增生.

比较 G-LiCl-NP 组和 G-LiCl-P 组各核团中的树突棘密度, 前者数据均高于后者(R-IMM 不显著, $P>0.1$; 其余均 $P<0.001$). 尽管如前所述, 雏鸡在行为测试时可能存在一定的随机回避概率, 但图 1 中 G-LiCl 组训练后 4 h 的啄食率明显低于 G-saline 组, 说明, G-LiCl-NP 组雏鸡总体上具有显著的长时记忆. 因此, 上述结果表明, LiCl 刺激可导致雏鸡中枢记忆相关核团中树突棘显著增生, 厌恶性条件化记忆的形成和保持与之密切相关, 长时记忆依赖于树突棘的大幅度增生, 树突棘增生不充分可能导致记忆丧失或提前消退.

进一步分析显示, 与 G-naive 组对应核团相比, G-LiCl-NP 组雏鸡的左侧 IMM 和 MSt 中平均树突棘密度分别升高 62%和 48%, 而右侧 IMM 和 MSt 分别

升高 42%和 25%; G-LiCl-P 组的相应数据为, 左侧分别升高 37%和 28%, 右侧分别升高 30%和 10%. 左侧核团中的树突棘增生程度均高于右侧对应核团, 即普遍呈现左侧优势. 这表明与记忆形成和保持相关的树突棘增生效应具有左侧优势.

2.3 亚磁雏鸡的树突棘密度变化

用与上节同样方法, 分析训练后 4 h 的亚磁雏鸡两侧脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的变化. 如图 4 所示, 各核团中的树突棘密度具有相似的分布和变化趋势. 其中, 未训练组(H-naive)的分布与图 2 中 G-naive 组相似; 注射 LiCl 的啄和不啄铬黄小珠组(H-LiCl-P, H-LiCl-NP), 分布均向高端偏移.

上述各组样本之间的比较如图 5 所示. 与 H-naive 组对应核团相比, H-LiCl-NP 组和 H-LiCl-P 组的树突棘密度均显著升高(H-LiCl-P 组 R-IMM 和 L-MSt, $P<0.01$; 其余均 $P<0.0002$); H-LiCl-NP 组雏鸡的左侧 IMM 和 MSt 中平均树突棘密度分别升高 38%和 32%, 而右侧 IMM 和 MSt 分别升高 19%和 30%; H-LiCl-P 组的相应数据为, 左侧分别升高 21%和 19%, 右侧分别升高 16%和 21%. 这表明 LiCl 厌恶性刺激也可导致亚磁雏鸡中枢记忆相关核团中树突棘数量明显增加, 但除 R-MSt 外, 增加幅度均不及地磁雏鸡, 且并未呈现明显的左侧优势.

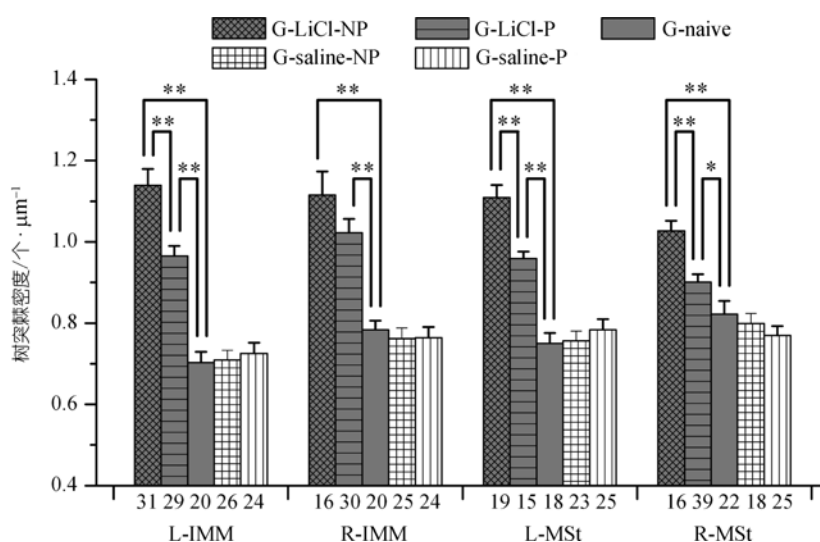


图3 训练后 4 h 地磁雏鸡左、右脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的比较

直方柱下方数字为测量样本数. * $P<0.05$ 为差异显著, ** $P<0.001$ 为差异极显著

比较 H-LiCl-NP 组和 H-LiCl-P 组各核团中的树突棘密度, 前者数据也均高于后者, 但只在 L-IMM 和 L-MSt 达到 $P<0.05$ 的显著性水平, 明显不及 G-LiCl-NP 组和 G-LiCl-P 组间的差异。

亚磁雏鸡与地磁雏鸡之间组对组的比较如图 6 所示。对于未训练组, 亚磁雏鸡的树突棘密度仅在

R-MSt 中显著低于地磁雏鸡($P<0.01$), 在其他核团中均差别不大。而对于行为测试时不啄或啄铬黄小珠的各组, 亚磁雏鸡的数据普遍低于地磁雏鸡的对应值(除啄铬黄小珠组的 R-MSt 外均为 $P<0.05$)。比较 H-LiCl-NP 组和 G-LiCl-P 组, 前者在 R-IMM 中的值甚至低于后者($P<0.01$), 二者在其他核团中的值均十

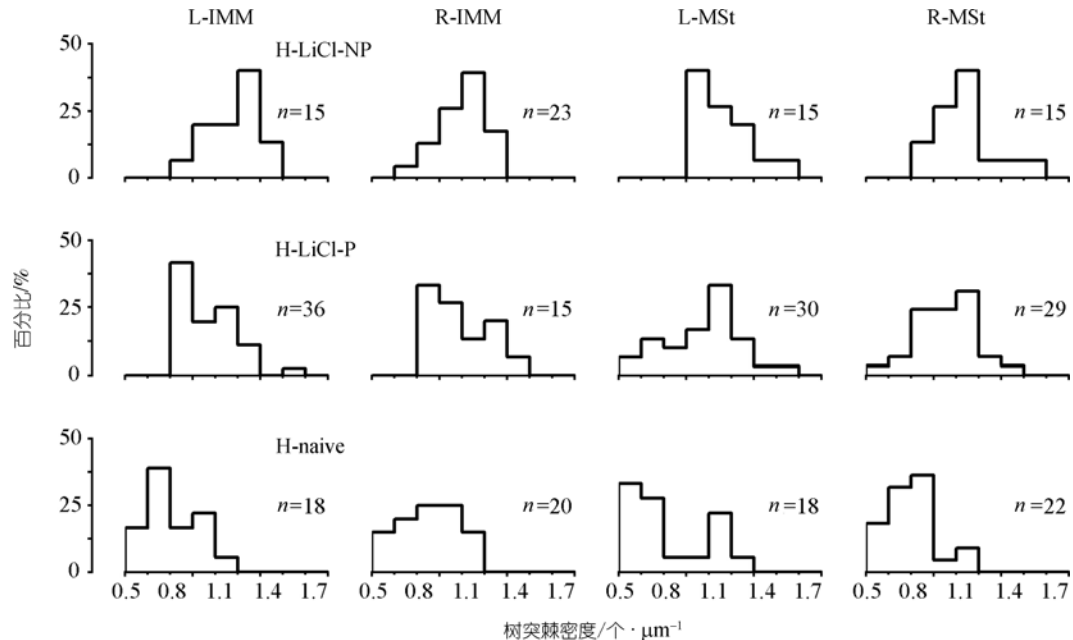


图 4 训练后 4 h 亚磁雏鸡左、右脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的分布

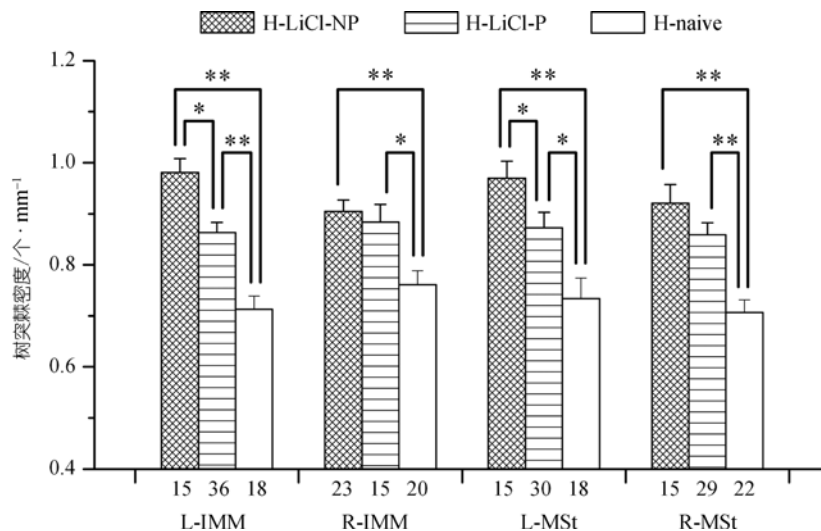


图 5 训练后 4 h 亚磁雏鸡左、右脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的比较
直方柱下方数字为测量样本数. * $P<0.05$ 为差异显著, ** $P<0.0002$ 为差异极显著

分接近($P>0.5$). 虽然考虑到上述 H-LiCl-NP 组和 H-LiCl-P 组间的差异, 不能完全排除个别亚磁雏鸡在测试时对铬黄小珠的回避反应与厌恶性条件化记忆有关, 但对行为实验和形态学观察结果的综合分析表明, H-LiCl-NP 组雏鸡对 LiCl 厌恶性刺激并不具有实质性记忆.

3 讨论

以往研究显示地磁场消除对生命活动有多方面的负面影响^[1], 如早期发育过程中的持续亚磁暴露造成新生动物严重生理损伤^[25,26]. 尽管在相关研究^[4]中未发现亚磁环境对雏鸡的孵化时间和孵化率有明显影响, 但孵出的雏鸡残次率较高, 部分个体出现活动迟钝、动作困难等行为异常. 即使排除残次样本, 亚磁雏鸡在行为实验中的被淘汰率仍显著高于地磁雏鸡, 其主要原因可能是作为实验基础的雏鸡先天性啄食行为受扰或总体行为活性降低. 这些结果提示孵化过程中的持续亚磁暴露可能干扰了胚胎正常发育(特别是中枢神经系统发育)的某些进程, 进而导致孵化后雏鸡行为功能异常.

本文的行为实验中, 在自然地磁环境中正常孵化的雏鸡具有对 LiCl 厌恶性刺激的长时记忆, 此记忆在训练后 4 h 保持显著, 其后随时间逐渐消退; 而孵化过程持续暴露于亚磁环境的雏鸡, 在训练后 4 h

已不具有对厌恶性刺激的记忆. 这说明在亚磁空间中孵化的日龄雏鸡记忆能力下降, 与前期关于亚磁雏鸡在一次性被动回避学习任务(one-trial passive avoidance learning task, OTPAT)中长时记忆受损的发现^[4]相一致, 进一步确认了地磁场消除对学习记忆功能的负面影响. Barber 等人^[21,27]认为, 尽管 SCLT 和 OTPAT 都形成视觉条件化记忆, 其过程和机制可能基本相似, 但由于 SCLT 的训练过程中排除了味觉刺激, 使之成为一个更加单一化的视觉联系任务, 使用该模型有利于区分不同因素引起的生化、生理和形态变化. 因此, 在深入研究日龄雏鸡的学习记忆机制方面, SCLT 模型与 OTPAT 模型相比具有一定的优势. 本文尝试使用这一模型, 探讨亚磁场影响日龄雏鸡学习记忆功能的神经基础, 可望为深入认识磁场与生命活动的关系提供有价值的实验依据.

前人研究发现, IMM 和 MSt 是雏鸡脑参与记忆形成和存贮的主要核团^[14,15], 其中左侧脑的作用更为重要^[28]. 长时记忆的形成始于 L-IMM, 随后 R-IMM 和两侧 MSt 也被激活, 其间伴随着微管蛋白和糖蛋白的合成等分子事件以及一系列神经元形态学变化(如树突棘密度、囊泡数量、突触密度、高度及结构等)^[15~18]. 使用 OTPAT 模型, 在 IMM^[29]和 MSt^[30]均发现与记忆保持相关的树突棘密度升高, 并呈现左侧优势; 但关于 SCLT 模型尚未见报道. 本文

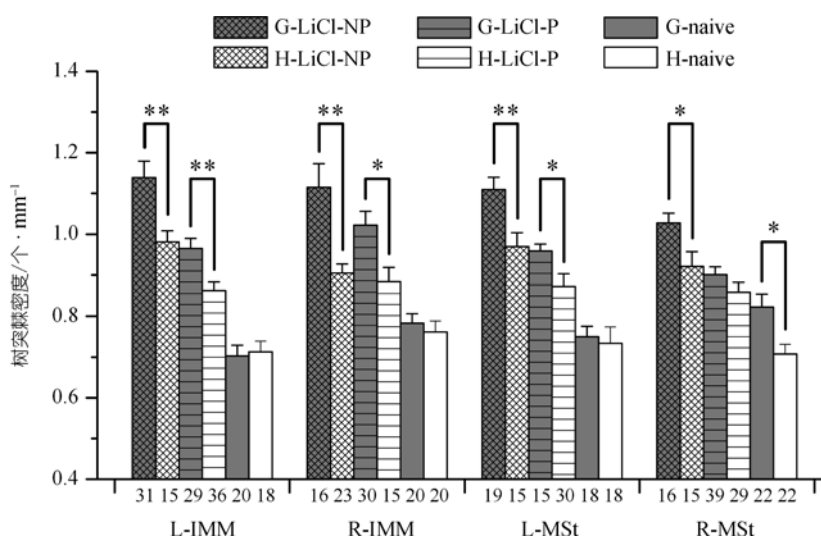


图6 训练后 4 h 亚磁雏鸡与地磁雏鸡左、右脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度的比较
直方柱下方数字为测量样本数. * $P<0.05$ 为差异显著, ** $P<0.005$ 为差异极显著

结果显示, 对于正常雏鸡, 由注射 LiCl 而产生的厌恶性刺激导致左、右脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度均显著升高, 但升高程度存在个体间差异. 按行为测试结果分组后发现, 树突棘密度的升高程度与厌恶性条件化记忆的形成和保持密切相关, 树突棘大幅增生可能是长时记忆的必要前提, 而增生不充分则可能导致记忆丧失或提前消退. 此外, 树突棘增生效应也呈现左侧优势. 这些发现在一定程度上支持 Barber 等人关于 SCLT 和 OTPAT 记忆形成机制基本相似的设想^[21,27], 两侧 IMM 和 MSt 中树突棘增生可能是雏鸡长时记忆的形态基础, 而左侧脑的变化或许更为重要. 两个模型也有一些不同之处, 如有实验显示, OTPAT 记忆需要右侧脑糖蛋白岩藻糖基化, 而左或右侧脑糖蛋白岩藻糖基化均可保持 SCLT 记忆^[31].

对于亚磁雏鸡, 注射 LiCl 也可导致左、右脑 IMM 和 MSt 中树突棘密度升高, 但升高程度低于地磁雏鸡的对应结果. 综合考虑 H-LiCl-NP 组和 H-LiCl-P 组数据, 亚磁雏鸡的树突棘密度升高幅度仅与不具有长时记忆的地磁雏鸡(G-LiCl-P 组)大致相当或略低, 这与亚磁雏鸡在训练后 4 h 不具有厌恶性条件化记忆的行为测试结果相符, 进一步表明长时记忆依赖于 IMM 和 MSt 中树突棘大幅增生, 并提示亚磁雏鸡长时记忆受损与中枢记忆相关核团中树突棘增生不充分有关. 可以推测, 亚磁环境可能通过抑制 IMM 和 MSt 中树突棘数量的增加, 以及某些其他机制的共同作用, 对记忆功能产生负面影响. 值得注意的是, 尽管本实验数据显示, 未训练亚磁雏鸡的 R-MSt 中树突棘密度低于对应的地磁雏鸡, 但其他核团均差别不大, 即尚无充分证据说明, 记忆相关核团中的树突

棘数量在胚胎发育过程中已经受到明显影响. 孵化环境的改变似乎在更大程度上抑制了孵化后由注射 LiCl 而导致的树突棘增生, 这可能与发育过程中的树突棘形成和与事件(如厌恶性刺激)相关的树突棘快速增生在机制上的差异有关. 此问题尚有待更深入研究.

目前对地磁场消除影响生命活动的分子细胞机理的认识还很有限. 长时间暴露于亚磁空间的金黄地鼠脑中, 去甲肾上腺素含量和去甲肾上腺素能神经元数量下降^[8], 而大量工作表明去甲肾上腺素对雏鸡的学习记忆有多方面重要作用^[13,32], 提示在亚磁环境中孵化的雏鸡长时记忆受损可能与其去甲肾上腺素能系统受到影响有关. 有研究显示, 亚磁场可能引起细胞内染色质构型变化, 发生超聚缩^[33]; 亚磁空间中微管组装失调, 甚至难以形成微管样结构^[34]; 亚磁场可能影响体内 Ca^{2+} 平衡、酶活性以及代谢过程^[25,35]. 这些因素均有可能影响与记忆形成和保持相关的某些分子事件, 但现阶段还缺乏它们与雏鸡 IMM 或 MSt 中树突棘密度之间存在联系的直接证据. 揭示亚磁场生物效应的作用机制还需要更广泛的工作积累.

综上所述, 本文发现孵化过程中的持续亚磁暴露使雏鸡的厌恶性条件化记忆受到明显损伤, 该效应与中枢记忆相关核团 IMM 和 MSt 中树突棘增生被抑制密切相关. 此结果为地磁场消除导致生物体结构和功能异常提供了新的实验证据, 同时提示, 正常的地磁环境对脑功能发育具有不可忽视的意义, 载人航天和宇宙探索事业的未来发展需要考虑太空中磁场环境变化对生命活动的负面影响.

参考文献

- 1 Dubrov A P. The Geomagnetic Field and Life: Geomagnetobiology. New York: Plenum, 1989
- 2 Del Seppia C, Luschi P, Ghione S, et al. Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice. *Life Sci*, 2000, 66: 1299—1306[DOI]
- 3 Choleris E, Del Seppia C, Thomas A W, et al. Shielding, but not zeroing of the ambient magnetic field reduces stress-induced analgesia in mice. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 2002, 269: 193—201[DOI]
- 4 王学斌, 徐慕玲, 李兵, 等. 亚磁空间中孵化的一日龄小鸡味觉回避长时记忆受损. *科学通报*, 2003, 48(19): 2042—2045
- 5 Zhang B, Lu H, Xi W, et al. Exposure to hypomagnetic field space for multiple generations causes amnesia in *Drosophila melanogaster*. *Neurosci Lett*, 2004, 371: 190—195[DOI]
- 6 Del Seppia C, Mezzasalma L, Messerotti M, et al. Simulation of the geomagnetic field experienced by the International Space Station in its revolution around the Earth: effects on psychophysiological responses to affective picture viewing. *Neurosci Lett*, 2006, 400: 197—202[DOI]

- 7 李俊凤, 吴奇久, 王倩, 等. 零磁空间对金黄仓鼠脑中几种神经递质的影响. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28(3): 358—361
- 8 Zhang X, Li J-F, Wu Q-J, et al. Effects of hypomagnetic field on noradrenergic activities in the brainstem of golden hamster. Bioelectromagnetics, 2007, 28: 155—158[DOI]
- 9 Jarvis ED, Güntürkün O, Bruce L. Avian brains and a new understanding of vertebrate brain evolution. Nat Rev Neurosci, 2005, 6: 151—159[DOI]
- 10 Reiner A. A new avian brain nomenclature: why, how and what. Brain Res Bull, 2005, 66: 317—331[DOI]
- 11 Rose S P R. God's organism? The chick as a model system for memory studies. Learn Mem, 2000, 7: 1—17[DOI]
- 12 Gibbs M E, Gibbs C, Csillag A, et al. Brain mechanisms, cognition and behaviour in birds. Brain Res Bull, 2008, 76: 167—169[DOI]
- 13 Gibbs M E. Memory systems in the chick: regional and temporal control by noradrenaline. Brain Res Bull, 2008, 76: 170—182[DOI]
- 14 Csillag A. Striato-telencephalic and striato-tegmental circuits: relevance to learning in domestic chicks. Behav Brain Res, 1999, 98: 227—236[DOI]
- 15 Stewart M G, Rusakov D A. Morphological changes associated with stages of memory formation in the chick following passive avoidance training. Behav Brain Res, 1995, 66: 21—28[DOI]
- 16 Rose S P R. How chicks make memories: the cellular cascade from c-fos to dendritic remodelling. Trends Neurosci, 1991, 14: 390—397[DOI]
- 17 Rose S P R, Stewart M G. Cellular correlates of stages of memory formation in the chick following passive avoidance training. Behav Brain Res, 1999, 98: 237—243[DOI]
- 18 Crowe S F, Sherry J M, Hale M W. Remembering that things have changed: a review of the cellular mechanisms of memory re-consolidation in the day-old chick. Brain Res Bull, 2008, 76: 192—197[DOI]
- 19 Kasai H, Matsuzaki M, Noguchi J, et al. Structure-stability-function relationships of dendritic spines. Trends Neurosci, 2003, 26: 360—368[DOI]
- 20 Segal M. Dendritic spines and long-term plasticity. Nature Rev Neurosci, 2005, 6: 277—284[DOI]
- 21 Barber T A, Klunk A M, Howorth P D, et al. A new look at an old task: advantages and uses of sickness-conditioned learning in day-old chicks. Pharmacol Biochem Behav, 1998, 60: 423—430[DOI]
- 22 蒋锦昌, 王学斌, 徐慕玲, 等. 亚磁空间生物学效应研究的实验系统. 生物物理学报, 2003, 19(2): 218—221
- 23 Youngren O M, Phillips R E. A stereotaxic atlas of the brain of the three-day-old domestic chick. J Comp Neurol, 1978, 181: 567—599[DOI]
- 24 Horner C H, Arbuthnott E. Methods of estimation of spine density—are spines evenly distributed throughout the dendritic field? J Anat, 1991, 177: 179—184
- 25 Kopanav V I, Efimenko G D, Shakula A V. Biological effect of a hypogeomagnetic environment on an organism. Biol Bull Acad Sci USSR, 1979, 6: 289—298
- 26 Asashima M, Shimada K, Pfeiffer C J. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster*. Bioelectromagnetics, 1991, 12: 215—224[DOI]
- 27 Barber T A, Howorth P D, Klunk A M, et al. Lesions of the intermediate medial hyperstriatum ventrale impair sickness-conditioned learning in day-old chicks. Neurobiol Learn Memory, 1999, 72: 128—141[DOI]
- 28 Gibbs M E, Andrew R J, Ng K T. Hemispheric lateralization of memory stages for discriminated avoidance learning in the chick. Behav Brain Res, 2003, 139: 157—165[DOI]
- 29 Patel S N, Stewart M G. Changes in the number and structure of dendritic spines 25 hours after passive avoidance training in the domestic chick, *Gallus domesticus*. Brain Res, 1988, 449: 34—46[DOI]
- 30 Lowndes M, Stewart M G. Dendritic spine density in the lobus parolfactorius of the domestic chick is increased 24 h after one-trial passive avoidance training. Brain Res, 1994, 654: 129—136[DOI]
- 31 Barber A J, Rose S P R. Amnesia induced by 2-deoxygalactose in the day-old chick: lateralization of effects in two different one-trial learning tasks. Behav Neural Biol, 1991, 56: 77—88[DOI]
- 32 Gibbs M E, Summers R J. Role of adrenoceptor subtypes in memory consolidation. Prog Neurobiol, 2002, 67: 345—391[DOI]
- 33 Belyaev I Y, Alipov Y D, Harms-Ringdahl M. Effects of zero magnetic field on the conformation of chromatin in human cells. Biochim Biophys Acta, 1997, 1336: 465—475
- 34 Wang D L, Wang X S, Xiao R, et al. Tubulin assembly is disordered in a hypogeomagnetic field. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 376: 363—368[DOI]
- 35 Belyavskaya N A. Biological effects due to weak magnetic field on plants. Adv Space Res, 2004, 34: 1566—1574[DOI]