

三种饮用水对小鼠学习记忆及 海马神经递质的影响

陈荣河 庄严 余艺文¹ 辛凡 黄桦² 潘豪杰 阮国洪³
福建医科大学卫生检验与检疫学系 福州 350108



摘要:目的 探究3种饮用水对小鼠学习记忆及海马内神经递质的影响。方法 测定纯水、自来水及天然矿泉水水质参数:溶解性总固体(TDS)、总硬度、耗氧量(OC)、钠、钾、钙、镁及偏硅酸。将60只ICR小鼠随机分为3组,每组20只,雌雄各半,分别用纯水(对照组)、自来水、天然矿泉水喂养90天,采用Morris水迷宫实验、避暗实验检测小鼠的学习和记忆能力,实验结束后立即处死小鼠,取海马测定乙酰胆碱(Ach)、一氧化氮(NO)、谷氨酸(Glu)、 γ -氨基丁酸(GABA)含量和乙酰胆碱酯酶(AChE)、乙酰胆碱转移酶(ChAT)、总一氧化氮合酶(T-NOS)活性。结果 自来水、天然矿泉水各水质参数均高于纯水。定位航行实验第1天,自来水组小鼠逃避潜伏期 $[(69.15 \pm 50.87) \text{ s}]$ 明显短于纯水组 $[(86.07 \pm 44.03) \text{ s}]$,差异有统计学意义($P < 0.05$);与纯水组(30.00%)比较,自来水组小鼠多采用有效搜索策略(51.25%)较少采用无效搜索策略,差异有统计学意义($P < 0.05$)。空间探索实验中,自来水组、天然矿泉水组小鼠平台象限活动时间[分别为 $(28.44 \pm 10.17) \text{ s}$ 和 $(28.81 \pm 12.43) \text{ s}$]明显长于纯水组 $[(19.84 \pm 9.59) \text{ s}]$,差异有统计学意义($P < 0.05$)。避暗实验中,自来水组、天然矿泉水组小鼠训练潜伏期[分别为 $(60.27 \pm 57.84) \text{ s}$ 和 $(58.12 \pm 42.52) \text{ s}$]和测验潜伏期[分别为 $(209.54 \pm 121.41) \text{ s}$ 和 $(271.40 \pm 90.44) \text{ s}$]均明显长于纯水组 $[(10.99 \pm 9.40) \text{ s}$ 和 $(72.77 \pm 67.51) \text{ s}]$,且测验中小鼠5 min内电击次数[分别为 (0.90 ± 0.88) 次和 (0.10 ± 0.32) 次]、错误反应动物百分率(分别为50%和20%)明显少于纯水组 $[(5.00 \pm 4.62)$ 次、90%],差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与纯水组 $[(8.53 \pm 2.12) \mu\text{g}/\text{mg prot}$ 和 $(0.94 \pm 0.49) \text{ U}/\text{mg prot}]$ 比较,自来水组、天然矿泉水组小鼠海马中Ach含量 $[(11.18 \pm 3.46) \mu\text{g}/\text{mg prot}$ 和 $(12.91 \pm 3.91) \mu\text{g}/\text{mg prot}]$ 明显升高、AChE活性 $[(0.41 \pm 0.21) \text{ U}/\text{mg prot}$ 和 $(0.54 \pm 0.28) \text{ U}/\text{mg prot}]$ 明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。但各组小鼠饮水量、摄食量及海马Glu、GABA、NO、ChAT、T-NOS差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 相比于纯水,长期饮用自来水或天然矿泉水更有利于小鼠的学习与记忆,其可能与海马乙酰胆碱水平较高有关。

关键词: 饮用水 水迷宫实验 避暗实验 学习记忆 神经递质

中图分类号: R338.64 R123.1

文献标志码: A

基金项目:福建省科技计划重大项目(No. 2012Y4004)

作者简介:陈荣河,男,硕士研究生,研究方向:饮水与健康,E-mail: c13960885786@126.com

1 厦门大学流行病学与卫生统计学系

2 中山大学流行病学与卫生统计学系

3 通信作者:阮国洪,男,博士,教授,研究方向:饮水与健康,E-mail: 843806593@qq.com

Effect of three kinds of drinking water on learning and memory and hippocampal neurotransmitter of mice

CHEN Ronghe , ZHUANG Yan , YU Yiwen , XIN Fan , HUANG Hua ,
PAN Haojie , RUAN Guohong

Department of Health Inspection and Quarantine , Fujian Medical University , Fuzhou 350108 , China

Abstract: Objective To explore the effect of three kinds of drinking water on learning and memory and hippocampal neurotransmitter of mice. **Methods** Water quality parameters , including total dissolved solid (TDS) , total hardness , oxygen consumed (OC) , sodium , potassium , calcium , magnesium and metasilicic acid , were measured for pure water , tap water and natural mineral water. A total of 60 ICR mice (half male and half female) were randomly divided into three groups and fed with pure water (control group) , tap water and mineral water for 90 days. After learning-memory abilities were detected with Morris water maze and passive avoidance test , mice were killed and hippocampi were removed immediately to measure contents of acetylcholine (Ach) , nitric oxide (NO) , glutamic acid (Glu) and gamma-aminobutyric acid (GABA) and activities of acetylcholinesterase (AChE) , choline acetyltransferase (ChAT) and total nitric oxide synthase (T-NOS) . **Results** Water quality parameters were higher in tap water and natural mineral water than in pure water. On the first day of place navigation test , the escape latency of tap water group [(69. 15 ± 50. 87) s] was obviously shorter than that of pure water group [(86. 07 ± 44. 03) s] ($P < 0. 05$) , and mice in tap water group chose effect strategies (51. 25%) more frequently compared to control mice (30%) ($P < 0. 05$) . In the probe trial , the swimming time of the targeted quadrant was significantly longer in tap water group [(28. 44 ± 10. 17) s] or mineral water group [(28. 81 ± 12. 43) s] than in pure water group [(19. 84 ± 9. 59) s] ($P < 0. 05$) . In passive avoidance test , the training latency and testing latency were significantly longer in tap water group [(60. 27 ± 57. 84) and (209. 54 ± 121. 41) s] or mineral water group [(58. 12 ± 42. 52) and (271. 40 ± 90. 44) s] than in pure water group [(10. 99 ± 9. 40) and (72. 77 ± 67. 51) s] ($P < 0. 05$) , as the frequency of electric shock and the percentage of animals showing errors in tap water group [(0. 90 ± 0. 88) times and 50%] or mineral water group [(0. 10 ± 0. 32) times and 20%] were obviously less than those in pure water group [(5. 00 ± 4. 62) times and 90%] ($P < 0. 05$) . Compared with pure water group [(8. 53 ± 2. 12) μg/mg prot and (0. 94 ± 0. 49) U/mg prot] , a significant increase of Ach concentration and a significant decrease of AChE activity were observed in tap water group [(11. 18 ± 3. 46) μg/mg prot and (0. 41 ± 0. 21) U/mg prot] or mineral water group [(12. 91 ± 3. 91) μg/mg prot and (0. 54 ± 0. 28) U/mg prot] ($P < 0. 05$) . **Conclusion** Compared with pure water , long-term drinking tap water or mineral water is more beneficial to learning and memory of mice , and it may be associated with a higher content of hippocampal Ach.

Key words: drinking water , water maze test , passive avoidance test , learning and memory , neurotransmitter

学习与记忆是脑的高级功能之一 涉及各种神经递质与相关受体之间的相互作用。大脑有超过

100 亿个神经细胞 ,每个脑细胞含有高达 85% 的水分。研究表明大鼠围产期饮用纯水协同食物中低

镁会迟滞仔鼠早期学习能力的形成^[1],而饮用富氢水可以改善快速老化模型小鼠的认知障碍^[2]。由此可见,饮用不同类型的饮用水可能影响到机体学习与记忆,但是目前国内外有关资料仍较缺乏,且仅局限在行为学方面的观察,少有深入到学习记忆相关的神经生物化学方面的研究。纯水、自来水及天然矿泉水是人们日常生活中常见的饮用水,本研究拟以这3种饮用水为原材料开展动物实验,初步比较和分析不同饮用水对小鼠学习记忆相关的行为学变化、海马内神经递质含量及有关代谢酶活性的影响,并探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

自来水(福州市政供水管网末梢水,未进行深度处理)、纯水(电导率 $\leq 5 \mu\text{S}/\text{m}$,福建医科大学药理学学院实验室提供)、天然矿泉水(富含硅、钙、镁等矿物元素,福建省润和矿泉水有限公司提供),均符合相应国家饮用水水质标准。乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)、乙酰胆碱转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、总一氧化氮合酶(total nitric oxide synthase, T-NOS)及谷氨酸(glutamic acid, Glu)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)、 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA) ELISA试剂盒(上海江莱生物科技有限公司)。

Morris水迷宫系统(西班牙Panlab公司),SBA-2程控避暗箱(中国医学科学院药物研究所),UV9200紫外分光光度计、VIS-7220N可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),TAS986火焰原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器责任有限公司),Multiskan MK3全自动酶标仪(芬兰Labsystems公司)。

1.2 实验动物

3周龄清洁级ICR小鼠60只,雌雄各半,体重 $15 \sim 18 \text{ g}$,由福建医科大学实验动物中心提供,许可证号SCXK(闽)2012-0001。饲养于清洁动物实验房,环境温度(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,环境相对湿度(55 ± 15)%。动物实验符合国家《实验动物管理条例》,并经福建医科大学动物伦理委员会批准。

1.3 分组与处理

适应性喂养1周后,将小鼠按体重随机分为3组:纯水组(对照)、自来水组、天然矿泉水组,每组20只,雌雄各半,各组小鼠自由饮水摄食,每天记录饮水量摄食量。90 d后,进行Morris水迷宫

与避暗实验以检测小鼠的学习记忆能力,结束后颈椎脱臼处死小鼠,冰上快速剥离双侧海马组织,检测各种指标。

1.4 水质参数测定

参照国家标准《生活饮用水标准检测方法》(GB/T 5750—2006),饮用水溶解性总固体(total dissolved solids, TDS)测定采用称量法,总硬度(以 CaCO_3 计)测定采用乙二胺四乙酸二钠滴定法,耗氧量(oxygen consumed, OC,以 O_2 计)测定采用酸性高锰酸钾滴定法;参照国家标准《饮用天然矿泉水检验方法》(GB/T 8538—2008),钠、钾、钙及镁含量测定采用火焰原子吸收分光光度法,偏硅酸(H_2SiO_3)含量测定采用硅钼黄分光光度法。

1.5 Morris水迷宫实验

Morris水迷宫主要由内含平台的圆形水池和记录装置组成。水池的直径110 cm,高50 cm,内侧池壁上标明4个入水点,由此将其等分为4个象限。于第三象限中心放置一可移动圆柱形隐藏平台,直径9 cm,高29 cm,低于水面2 cm。水温保持(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。记录装置包括摄像机和录像机。测定内容包括定位航行实验和空间探索实验。定位航行实验共4 d,小鼠每天进行4次训练,分别从4个象限固定位置放入水中,每次训练以所有小鼠都完成一次训练后,再进行下一次训练,时间间隔20 min以上。记录小鼠2 min内找到平台所需时间(即逃避潜伏期),如果小鼠在120 s内未找到平台,将其引到平台上放置10 s,此时潜伏期记为120 s;还需记录各组小鼠有效搜索策略(趋向式或直线式)和无效搜索策略(随机式或边缘式)的次数。第5天进行空间探索实验,撤掉水中平台,以第一象限为入水点,记录小鼠2 min内游泳速度、穿过平台次数以及在平台所在象限活动时间。

1.6 避暗实验

避暗箱分为明暗两室,训练时将小鼠面部背向洞口放入明室,同时启动记录装置,小鼠进入暗室就遭受电击,记录小鼠从放入明室到进入暗室遭受电击所需的时间(即潜伏期),训练5 min,并记录5 min内电击次数及计算各组进入暗室(错误反应)的动物百分率。24 h后,重复相同操作进行测验,记录测验潜伏期、电击次数及错误反应动物百分率。

1.7 海马神经递质及相关酶测定

剥离出的海马组织用冷生理盐水制备成10%匀浆液,3500 r/min离心10 min,取上清液分

别按照试剂盒说明书测定海马组织的 Ach、NO、Glu、GABA 含量和 AChE、ChAT、T-NOS 活性。

1.8 统计分析

数据处理与分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较时,若方差齐,运用单因素方差分析,进一步的两两比较采用 LSD-*t* 检验,若方差不齐,采用 Kruskal-Wallis *H* 检验分析;计数资料的组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 饮用水水质情况

由表 1 可见,3 种饮用水的 TDS、总硬度、钠、钾、钙、镁及偏硅酸含量高低依次为天然矿泉水 > 自来水 > 纯水,而 OC 高低依次为自来水 > 天然矿泉水 > 纯水。

表 1 三种饮用水的水质情况

组别	TDS	总硬度	OC	钠	钾	钙	镁	偏硅酸
纯水	1.00	<1.00	<0.05	<0.01	<0.05	<0.05	<0.02	<1.00
自来水	82.00	21.00	0.88	8.77	1.26	5.35	1.86	14.37
天然矿泉水	199.50	68.12	0.16	15.26	4.44	19.32	4.83	87.89

2.2 小鼠饮水量、摄食量情况

在整个实验过程中,纯水组、自来水组及天然矿泉水组小鼠的饮水量分别为 (6.77 ± 1.24) 、 (6.36 ± 1.32) 、 (6.53 ± 1.94) mL/d,摄食量分别为 (4.62 ± 0.92) 、 (4.37 ± 0.73) 、 (4.33 ± 0.83) g/d,差异均无统计学意义。

2.3 小鼠 Morris 水迷宫实验情况

2.3.1 定位航行实验各组小鼠逃避潜伏期比较
由表 2 可见,第 1 天,自来水组小鼠逃避潜伏期明显短于纯水组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。但第 2、3、4 天,各组小鼠逃避潜伏期差异均无统计学意义。

表 2 各组小鼠逃避潜伏期的比较

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
纯水	86.07 ± 44.03	71.06 ± 49.58	71.98 ± 48.73	76.33 ± 49.46
自来水	69.15 ± 50.87 ⁽¹⁾	62.69 ± 45.58	58.02 ± 48.07	73.41 ± 48.99
天然矿泉水	71.76 ± 46.38	69.15 ± 48.38	71.17 ± 50.51	71.10 ± 50.53

注: (1) 与纯水组比较 $P < 0.05$

2.3.2 定位航行实验各组小鼠搜索策略比较

由表 3 可见,第 1 天,纯水组与自来水组小鼠搜索策略差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.49, P < 0.05$),与纯水组比较,自来水组小鼠多采用有效策略(趋向式或直线式),较少采用非有效策略(随机式或边缘式)。但第 2、3、4 天,各组小鼠搜索策略差

异无统计学意义。

2.3.3 空间探索实验各组小鼠空间探索能力比较
由表 4 可见,自来水组、天然矿泉水组小鼠平台象限活动时间明显长于纯水组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。但各组小鼠在穿平台次数和速度上,差异无统计学意义。

表 3 各组小鼠搜索策略的比较

组别	第 1 天		第 2 天		第 3 天		第 4 天	
	有效策略	无效策略	有效策略	无效策略	有效策略	无效策略	有效策略	无效策略
纯水	24	56	31	49	33	47	36	44
自来水	41	39	44	36	41	39	42	38
天然矿泉水	38	42	33	47	32	48	42	38
合计	103	137	108	131	106	134	120	120

表 4 各组小鼠空间探索能力的比较

组别	平台象限活动时间/s	穿平台次数	速度/(mm/s)
纯水	19.84 ± 9.59	1.35 ± 1.46	66.30 ± 35.30
自来水	28.44 ± 10.17 ⁽¹⁾	1.70 ± 2.11	74.56 ± 36.37
天然矿泉水	28.81 ± 12.43 ⁽¹⁾	2.00 ± 2.18	75.01 ± 36.37

注: (1) 与纯水组比较 $P < 0.05$

2.4 小鼠避暗实验情况

由表 5 可见,自来水组、天然矿泉水组小鼠在训练和测验中遭受电击的潜伏期均明显长于纯水组,且测验中小鼠 5 min 内电击次数明显少于纯

水组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。此外,测验中自来水组、天然矿泉水组小鼠错误反应的动物百分率也明显小于纯水组,差异有统计学意义($\chi^2 = 7.62$ 和 19.80 , $P < 0.05$)。

表 5 各组小鼠潜伏期、电击次数及错误反应动物百分率的比较

Table 5 Comparisons of latency, electric shock frequency and percentage of animals showing errors among different groups ($n = 20$, $\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期/s		电击次数/(次/5min)		错误反应动物百分率/%	
	训练	测验	训练	测验	训练	测验
纯水	10.99 ± 9.40	72.77 ± 67.51	6.50 ± 4.25	5.00 ± 4.62	100	90
自来水	60.27 ± 57.84 ⁽¹⁾	209.54 ± 121.41 ⁽¹⁾	5.20 ± 2.70	0.90 ± 0.88 ⁽¹⁾	95	50 ⁽¹⁾
天然矿泉水	58.12 ± 42.52 ⁽¹⁾	271.40 ± 90.44 ⁽¹⁾	5.50 ± 2.46	0.10 ± 0.32 ⁽¹⁾	100	20 ⁽¹⁾

注: (1) 与纯水组比较 $P < 0.05$

2.5 小鼠海马神经递质含量及相关代谢酶活性的变化

由表 6 可见,与纯水组比较,自来水组、天然矿泉水组小鼠海马中 Ach 含量明显升高、AChE

活性明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。而各组小鼠海马中 NO、Glu、GABA、T-NOS 及 ChAT 的差异则均无统计学意义。

表 6 各组小鼠海马神经递质含量及相关代谢酶活性的比较

Table 6 Comparisons of hippocampal neurotransmitter content and its metabolism-related enzyme activity among different groups ($n = 20$, $\bar{x} \pm s$)

组别	Ach/ ($\mu\text{g}/\text{mg prot}$)	AChE/ ($\text{U}/\text{mg prot}$)	ChAT/ ($\text{U}/\text{mg prot}$)	NO/ ($\mu\text{mol}/\text{g prot}$)	T-NOS/ ($\text{U}/\text{mg prot}$)	Glu/ ($\mu\text{mol}/\text{g prot}$)	GABA/ ($\mu\text{mol}/\text{g prot}$)
纯水	8.53 ± 2.12	0.94 ± 0.49	9.92 ± 2.01	6.32 ± 3.70	0.81 ± 0.63	207.63 ± 104.04	194.62 ± 71.63
自来水	11.18 ± 3.46 ⁽¹⁾	0.41 ± 0.21 ⁽¹⁾	8.84 ± 3.58	6.49 ± 2.94	1.11 ± 0.47	256.32 ± 68.92	173.98 ± 49.10
天然矿泉水	12.91 ± 3.91 ⁽¹⁾	0.54 ± 0.28 ⁽¹⁾	9.27 ± 3.23	4.75 ± 2.89	1.07 ± 0.29	210.52 ± 113.77	185.86 ± 48.86

注: (1) 与纯水组比较 $P < 0.05$

3 讨论

Morris 水迷宫实验是研究啮齿类动物学习记忆能力的经典实验之一,定位航行实验和空间探索实验是其最基本的程序^[3]。定位航行实验是用来评估动物获取空间信息的能力,即学习能力;空间探索实验是用来评估动物的记忆能力。定位航行实验第 1 天,相比于纯水组,自来水组小鼠逃避潜伏期明显缩短,且小鼠更多采用有效搜索策略(趋向式或直线式),较少采用非有效搜索策略(随机式或边缘式);但第 2、3、4 天,各组小鼠的逃避潜伏期及搜索策略差别不大。这种情况表明要达到相同的学习成绩,自来水组小鼠所需要的学习时间短于纯水组,其拥有较好的学习能力。随后的空间探索实验显示,自来水组、天然矿泉水组小鼠平台象限活动时间明显长于纯水组,且穿平台次数和速度也呈升高趋势,初步提示自来水组、天然矿泉水组小鼠的记忆能力可能优于纯水组。

避暗实验是利用啮齿类动物趋暗避明习性设计的,也是检测学习记忆能力的经典方法之一^[4]。实验中的训练成绩和测验成绩分别用于

反映动物的学习和记忆能力。结果显示自来水组、天然矿泉水组小鼠训练和测验的潜伏期均明显长于纯水组,且测验中小鼠 5 min 内电击次数、错误反应动物百分率明显少于纯水组。此情况同样提示自来水组、天然矿泉水组小鼠的学习记忆能力比纯水组更好,与水迷宫实验的结论基本一致。

海马是学习、记忆等高级神经活动的重要部位,其与学习记忆之间有着非常紧密的联系^[5-8]。在海马内含有各种与学习记忆相关的化学物质^[9-11],如乙酰胆碱、谷氨酸、 γ 氨基丁酸、多巴胺、一氧化氮等神经递质。本研究中各组小鼠海马 Glu、GABA、NO 含量差异并不明显,但是自来水组、天然矿泉水组小鼠海马 Ach 含量却明显高于纯水组。脑组织内 Ach 是由 ChAT 催化合成,并在突触间隙被 AChE 水解,ChAT 和 AChE 分别是 Ach 的合成酶和分解酶,二者共同维持 Ach 的动态平衡。酶活性测定结果显示,各组小鼠海马 ChAT 活性无明显差异,但自来水组、天然矿泉水组小鼠海马 AChE 活性明显低于纯水组。由于整个实验过程各组小鼠饮水、摄食量差异不大,故推

测该现象的发生可能与饮用水水质差异有关。水质检测结果表明,自来水、天然矿泉水均含有一定量的矿物元素,而纯水几乎无任何矿物成分。经长期饮用自来水、天然矿泉水后有可能引起小鼠脑组织钠、钾、钙、镁、铁、铜等元素水平的相对升高。体外实验研究发现,钙、铁、铜离子具有抑制 AChE 活性的作用^[12],因此相比于纯水组,自来水组、天然矿泉水组小鼠海马 AChE 活性较低,分解 Ach 能力稍弱,从而引起海马 Ach 含量呈现较高水平。以上分析仅为笔者推测,其机制是否如此,还有待进一步验证。

综上所述,相比于纯水,长期饮用自来水或天然矿泉水更有利于小鼠的学习与记忆,其可能与海马 Ach 水平较高有关。目前,在水污染日益严重的背景下,纯水因其水质清纯、不含任何有害物质及微生物而深受人们的喜爱,但本研究的结论实际上也从侧面提示,纯水的长期饮用可能对机体的学习记忆产生有害作用,不利于机体健康,并不适合人们长时间饮用。

参考文献

[1] 曾惠,舒为群,赵清,等. 饮用纯水协同食物低镁对围产期仔鼠学习与记忆能力的影响[J]. 环境与健康杂志 2008 24(7): 480-483.
 [2] GU Y, HUANG C S, INOUE T, et al. Drinking hydrogen water ameliorated cognitive impairment in senescence-accelerated mice [J]. J Clin Biochem Nutr 2010 46(3): 269-276.
 [3] 封敏,卢圣锋,张承舜,等. 国内大鼠 Morris 水迷

宫实验现状与分析[J]. 辽宁中医杂志 2011 38 (11): 2170-2172.
 [4] 薛丹,陈善广,徐淑萍,等. 构建自动、智能及敏感度高的避暗实验检测系统[J]. 中国组织工程研究与临床康复 2010 14(15): 2778-2782.
 [5] SOUMIREU-MOURAT B. Neuronal networks and memory: role of the hippocampus [J]. J Soc Biol, 2001 195(4): 351-354.
 [6] MOSER M B, MOSER E I. Functional differentiation in the hippocampus [J]. Hippocampus 1998 8(6): 608-619.
 [7] LEUNER B, GOULD E. Structural plasticity and hippocampal function [J]. Ann Rev Psychol 2010, 61: 111-140.
 [8] STOLLERY B, CHRISTIAN L. Glucose, relational memory, and the hippocampus [J]. Psychopharmacology 2015 232(12): 2113-2125.
 [9] HASSELMO M E. The role of acetylcholine in learning and memory [J]. Curr Opin Neurobiol, 2006 16(6): 710-715.
 [10] 吕和平,任爱红,武晓洛,等. 海马在学习记忆中的作用研究进展[J]. 河南科技大学学报: 医学版 2002 20(4): 354-355.
 [11] PAUL V, EKAMBARAM P. Involvement of nitric oxide in learning & memory processes [J]. Indian J Med Res 2011 133(5): 471-478.
 [12] POHANKA M. Copper, aluminum, iron and calcium inhibit human acetylcholinesterase *in vitro* [J]. Environ Toxicol Pharmacol 2014 37(1): 455-459.

收稿日期: 2015-10-16

(上接第 557 页)

[6] PIGUET P F, COLLART M A, GRAU G E, et al. Requirement of tumor necrosis factor for development of silica-induced pulmonary fibrosis [J]. Nature, 1990 344(6263): 245-247.
 [7] 隋君娜,张华,牟晓峰,郭建. TNF-α 在矽肺纤维化发病机制中的作用研究[J]. 工业卫生与职业病, 2015(5): 389-393.
 [8] GARN H, FRIEDETZKY A, KIRCHNER A, et al. Experimental silicosis: a shift to a preferential IFN-γ-based Th1 response in thoracic lymph nodes [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000 278 (6): 1221-1230.
 [9] 李娟,李超,郑全辉,等. 矽肺大鼠血清中 Th1/Th2 类细胞因子的研究[J]. 中国工业医学杂志 2014 (4): 291-293.

[10] 袁宝军,丁秀荣,刘志忠,等. 矽肺患者血清白细胞介素-12 和 γ-干扰素水平变化[J]. 中国职业医学, 2006, 33(2): 111-113.
 [11] 李倩,王世鑫. 白细胞介素-18 与矽肺纤维化[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2008, 26(7): 443-445.
 [12] 彭守春,胡旭,魏路清,等. 特发性肺纤维化患者辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2 的研究[J]. 中华内科杂志 2013 52(6): 489-493.
 [13] 成红. 实验性矽肺模型大鼠血清中细胞因子的表达及意义[D]. 合肥: 安徽医科大学 2012.
 [14] KIKUCHI N, ISHII Y, MORISHIMA Y, et al. Nrf2 protects against pulmonary fibrosis by regulating the lung oxidant level and Th1/Th2 balance [J]. Respir Res 2010 11: 31.

收稿日期: 2015-07-23