

Budipin对记忆行为、神经介质及脑皮层电活动的影响

中国科学院心理研究所生理心理专业组 匡培梓 陈双双

解放军总医院神经介质实验室 匡培根 戴富林 张凤英

内容提要 本文研究了Budipin对动物记忆行为、脑皮层电图及中枢乙酰胆碱含量的影响。评价记忆行为的指标为条件性回避反应(CAR)出现率、平均反应时、CAR出现率达到90%所需训练次数和连续出现CAR的能力。结果发现: Budipin对未巩固的记忆影响较大, 脑皮层电图的变化主要表现为皮层与海马导联的 δ 波增加及 θ 波减少及皮层节律同化减弱, 以及对新异刺激(纯音及触)的平均电反应百分率下降; 还发现皮层、尾核及海马的乙酰胆碱含量降低。本工作提示: 长期应用 Budipin 可能影响学习新事物的能力及影响信息储存。

Budipin为哌啶衍生物, 系一种新型抗帕金森氏病药物, 有抗胆碱能作用, 并可增强中枢多巴胺能系统的功能^[1]。在服用该药后, 对改善主要症状有较好疗效, 副作用亦较小。但部分患者在长期服用该药后, 出现记忆减退, 此系疾病本身发展所致, 抑或 Budipin引起, 很难从临床观察中获得确切的回答。我们用动物实验的方法, 观察了不同剂量 Budipin 对新近形成尚未巩固的的记忆的影响, 和同一剂量 Budipin 对不同巩固程度的的记忆的影响, 同时我们还对注射 Budipin 后不同时间的大鼠的大脑皮层、海马和尾状核乙酰胆碱 (ACH) 含量进行了测定并观察了该药对家兔脑皮层及海马电活动的影响。现分别报道如下。

对记忆行为的影响

材料和方法 记忆行为实验装置和方法与本室以前曾报道的相似^[2]。以灯光回避条件反射作为学习内容。将3天预备训练合格的61只大鼠, 随机分成6组。其中第1(n=10)、2(n=10)及3(n=11)组在第三天训练合格后[即回避条件反应(CAR)出现率能达到80%者], 即刻腹腔注射Budipin, 剂量分别为5、10及20mg/kg, 用以观察不同剂量对新近形成而尚未巩固的的记忆的影响; 第4组(n=9)为第1、2、3组

的对照组, 给予等容生理盐水; 第5(n=11)及第6(n=10)组(为第5组的对照组), 在第三日训练结束后, 追加训练3天, 使初步形成的回避条件反射得到巩固, 于第六日训练结束后, 第5组即刻腹腔内注射 Budipin 10mg/kg, 第6组给予等容生理盐水。训练均每日1回, 每回连续训练10次。前述各组均在注射后1小时及第1~7日进行记忆检查, 方法与训练时相同。记忆行为的检查成绩用下列4项观察指标: CAR出现率、平均反应时、CAR出现率达到90%所需训练次数和连续出现CAR的能力(用连续出现CAR的次数表示)。

结果 (一)不同剂量 Budipin 对新近形成尚未得到巩固的的记忆的影响。(1)Budipin 对 CAR出现率和平均反应时的影响: 注射不同剂量 Budipin 后1小时, 各药物组的平均反应时开始延长, 其中第3组(4.72 ± 0.22 秒)与对照组(2.83 ± 0.33 秒)间的差异有显著性; 同时 CAR出现率亦均开始延长, 且第2组($72.00 \pm 6.46\%$)及第3组($49.09 \pm 6.53\%$)与对照组($87.78 \pm 3.24\%$)间的差异有显著性。以后各检查日的结果(表1、2)表明: 各药物组的平均反应时的延长、CAR出现率的降低以及它们的恢复与剂量有一定的关系。(2)CAR出现率达到90%所需训练次数: 注射不同剂量Budipin

表1 不同剂量Budipin对平均反应时的影响

注射后时间 (天)	平均反应时 $\bar{x} \pm SE$ (秒)			
	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组 (对照组)
1	3.71 ± 0.28*	4.17 ± 0.35*	5.00 ± 0.27**	2.88 ± 0.26
2	3.43 ± 0.25	4.67 ± 0.16***	5.10 ± 0.27***	3.12 ± 0.09
3	3.01 ± 0.17	5.27 ± 0.37***	5.12 ± 0.31***	3.23 ± 0.19
4	3.03 ± 0.13	4.80 ± 0.43**	4.19 ± 0.18**	2.95 ± 0.29
5	2.85 ± 0.15	3.83 ± 0.25*	4.38 ± 0.19***	2.95 ± 0.29
6	2.85 ± 0.18	3.17 ± 0.28	3.48 ± 0.17*	2.89 ± 0.17
7	3.09 ± 0.13	3.09 ± 0.30	3.00 ± 0.13	3.13 ± 0.29

注: 与对照组比较: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

表2 不同剂量Budipin对CAR出现率的影响

注射后时间 (天)	CAR 出现率 $\bar{x} \pm SE$ (%)			
	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组
1	71.00 ± 7.06	61.00 ± 5.26***	43.64 ± 7.78***	85.56 ± 1.76
2	81.00 ± 5.26	50.00 ± 5.16***	53.64 ± 6.91***	85.56 ± 2.42
3	86.00 ± 1.63	35.00 ± 6.19***	50.91 ± 5.13***	84.44 ± 2.42
4	90.00 ± 2.11	52.00 ± 6.46***	64.55 ± 5.11**	88.89 ± 3.51
5	87.00 ± 1.53	70.00 ± 2.98***	67.27 ± 4.86***	91.11 ± 2.61
6	92.00 ± 1.33	86.00 ± 4.00	81.82 ± 4.64	91.11 ± 2.00
7	92.00 ± 1.33	87.00 ± 3.00	92.73 ± 2.73	86.67 ± 2.36

注明同表 1

后, 第 2 组和第 3 组分别为 50 次和 70 次, 均较对照组 (13 次) 显著或极显著增加, 而第 1 组 (26 次) 与对照组间的差异无显著意义。(3) CAR 连续出现能力: 注射 Budipin 后, 动物连续出现 CAR 的能力受到损害, 尤以注射后第 3 日为明显, 如第 2 组和第 3 组的 21 只大鼠, 仅有 1 只能连续出现 CAR 5 次以上, 而对照组的动物全部能连续出现 CAR 5 次以上, 与对照组比较, 差异均极显著。第 1 组与对照组间无显著性差异。

(二) Budipin 对较为巩固的的记忆的影响。
(1) 第 5 组在注射 Budipin 后, 其各记忆检查日的平均反应时与第 6 组比较, 仅在注射后第 1 日两组间的差异显著 ($t=2.609, P<0.05$), CAR 出现率两组间差异均不显著。第 5 组各阶段的平均反应时及 CAR 出现率分别作 F 测验, F 值分别为 0.670 及 0.495, 差异均无显著性。(2) CAR 出现率达 90% 所需训练次数: 第 5 组平均需训练 18 次, 第 6 组 14 次, 两组差异

不显著。(3) CAR 连续出现的能力: 第 5 组仅在注射药物后第 1 日, 11 只大鼠中有 4 只 CAR 不能连续出现 5 次以上, 与第 6 组比较, 其差异极显著。其余各阶段两组间差异均不显著。

对大脑皮层及海马电活动的影响

材料和方法 选用家兔 13 只, 雄性, 体重 2~3Kg, 随机分为两大组: 药物组 7 只, 对照组 6 只。实验组静脉注射 Budipin 2.5mg/Kg, 对照组给予等容积生理盐水。实验前 6 日, 将 4 枚电极分别植入动物的双侧海马背部, 电极参照布瑞希氏家兔脑图谱定点⁽³⁾: AP4, P(L) 3.5, H5.5, AP4, R(L) 4.5, H5.0。另 4 枚分别植入皮层体感区和枕区。脑电图描记系采用日本 4113 型脑电图仪, 进行脑皮层电图 (ECoG) 描记, 同时用 MAF-7 型自动频率分析仪, 对左海马和左体感区电活动作频率区段积分谱描记。在给药前先描记自发电位和诱发反应 5 分钟以上, 然后, 立即静注 Budipin 或生

理盐水。并于注射后1、48小时,第3、5及7天按上述程序重复ECoG描记。并在给药1、24小时后,分别观察家兔对纯音(250Hz, 85.5db)和触压(250g)刺激的皮层惊觉反应;并分别测试其ECoG的惊觉反应率,每回实验20次,刺激呈现4秒。

结果 (一)Budipin对家兔皮层、海马自发电位的影响。在正常状态下,其皮层电位的 δ/θ 比值以接近1.0,海马电图的 δ/θ 比值以 <1.0 为其特点。静注Budipin 1小时后,不论皮层或海马,均表现为 δ 波增加及 θ 波减少,以及皮层节律同化减弱。皮层 δ/θ 比值由0.94上升为1.45,即 δ 波之百分率大大超过 θ 波,呈 δ 波占优势。这种皮层电活动的 δ/θ 比值,由给药前接近1变为大于1,不仅在给药后1小时可以见到,而且在给药后第7日仍然可以看到,仅给药后1小时与给药前比较差异显著(表3)。对照组在注射生理盐水前后, δ/θ 比值无显著性改变。
(二)家兔对新异刺激的ECoG惊觉反应。海马电活动呈现为有规则的 θ 波;在皮层体感区和枕区或表现为低振幅快波,或为有规则的低振幅 θ 波。给药后,家兔对新异刺激的ECoG惊觉反应出现率明显下降,尤其在给药1小时后,对纯音ECoG惊觉反应出现率仅22.1%($\pm 4.3\%$),对照组为74.2%($\pm 10.6\%$),两组间差异极显著($P < 0.01$);在给药后24小时,对触压刺激的惊觉反应出现率为45%($\pm 5.5\%$),与对照组83.3($\pm 6.0\%$)比较,差异也

表3 Budipin对家兔皮层、海马自发电位 δ/θ 比值的影响

时 间	药 物 组		对 组 照	
	皮 层	海 马	皮 层	海 马
注射前	0.94 \pm 0.10	0.71 \pm 0.08	1.19 \pm 0.34	0.85 \pm 0.20
注射后				
1小时	1.45 \pm 0.12*	0.94 \pm 0.07	1.08 \pm 0.49	0.89 \pm 0.15
1天	1.08 \pm 0.08	0.94 \pm 0.13	1.35 \pm 0.28	0.82 \pm 0.26
3天	1.22 \pm 0.11	1.00 \pm 0.05	1.08 \pm 0.31	0.83 \pm 0.28
5天	1.18 \pm 0.10	0.81 \pm 0.05		
7天	1.22 \pm 0.16	0.91 \pm 0.05		

注:与注射前比较,* $P < 0.05$

极显著($P < 0.01$)。

对大脑皮层、海马和尾核 ACh含量的影响

材料和方法 雄性大白鼠30只,体重200~300g,随机分为实验组(20只)及对照组(10只),实验组均腹腔注射Budipin 10mg/kg,对照组注射等容生理盐水。实验组分为A组及B组,分别在注射药物后1小时及72小时,对照组在注射生理盐水后1小时快速断头取脑,并分别取出大脑皮层、海马和尾核,称重,加入毒扁豆碱洛氏液,匀浆,离心后取上清液待测,脑组织中ACh含量,用生物测定法在水蛭背腹肌上进行^[4]。

结果 实验A组海马、大脑皮层及尾核的ACh含量分别为2.44 \pm 0.29、2.67 \pm 0.35和1.40 \pm 0.31($\bar{x} \pm SE \mu\text{g/g}$ 下同),而对照组分别为11.95 \pm 0.74、10.41 \pm 0.63和3.56 \pm 0.44。两组分别比较,实验A组各脑区的ACh含量均显著或极显著下降。实验B组,上述各脑区的ACh含量分别为6.58 \pm 0.52、7.21 \pm 0.84和2.23 \pm 0.35,仍然显著或极显著低于对照组各脑区的ACh含量。

讨 论

(一)不同剂量Budipin对大鼠新近形成尚未巩固的记忆的影响 从本实验结果来看,小剂量Budipin对各项记忆检查指标的影响较小,影响时间也短;大剂量时则相反。说明Budipin对大鼠新近形成尚未巩固的记忆损害,显示量效关系。

(二)Budipin对较为巩固的记忆的影响 从本工作第5、6组的实验结果来看,对大鼠新近形成尚未巩固的记忆,具有显著损害作用的Budipin剂量(10mg/kg),对较为巩固的记忆的影响并不明显。提示,Budipin影响记忆,主要是干扰了记忆的巩固阶段,使动物新近获得的CAR不能正常地保持。

(三)Budipin对各脑区ACh含量的影响

Ach生物测定结果表明, Budipin使大鼠大脑皮层、海马和尾核的Ach含量明显下降。抗胆碱能药物影响记忆,可能是通过降低脑内,尤其是海马的Ach含量,致使胆碱能系统活性降低而引起。根据Deutsch“记忆突触”学说^[2],胆碱能突触在学习和记忆过程中,突触间隙的Ach量必须达到一定的临界水平,才能引起突触后神经元兴奋。Budipin使Ach含量下降,使突触间隙的Ach含量低于兴奋阈值,从而影响了正常突触的传递功能,妨碍了学习与记忆。

(四)Budipin对脑皮层及海马电活动的影响 本试验经ECoG及自动频率分析所得的结果表明,给予Budipin后,无论皮层或海马均表现 δ 波增加, θ 波减少及皮层节律同化减弱;这结果与抗胆碱能药物樟柳碱的影响也相一致,提示Budipin可使皮层兴奋性和灵活性低^[6],我们曾观察到电刺激海马背部,有抑制主动性行为及空间辨别的作用,使尝试错误增多^[7];电损毁海马可削弱ECoG探究反应^[8],说明海马结构的完整性,对维持皮层一定水平的机能状态,以实现探究反应是必要的。此外,在本工作中还发现,Budipin可使皮层对新异刺激

的惊觉反应降低,而探究反应系初级认识活动之一,积极参与机体认识活动的发展和适应行为模式的建立。因之,Budipin降低皮层兴奋性和灵活性以及削弱探究反应,可能为其影响动物记忆功能的机制之一。

参 考 文 献

[1] 匡培根,等. BY-701对脑组织单胺类介质含量的影响. 生理心理学第二届学术讨论会论文集. 中国心理学生理心理专业委员会. 1982: 44~46.
 [2] 匡培根,等. 抗帕金森氏病新药BY-701和樟柳碱对大鼠学习和记忆影响的初步观察. 第一届全军神经内科学术会议资料选编. 全军神经内科专业学术会议. 1981: 37~41.
 [3] 布瑞希 J等, (范世藩等译). 电生理学方法. 上海科学技术出版社. 1983: 355~356.
 [4] 匡培根,等. 电针对穴位(肌肉)灌流液乙酰胆碱含量的影响. 中华神经精神科杂志 1978; 11:101.
 [5] Deutsch JA. The cholinergic synapse and the site of memory. Science 1971; 174:788.
 [6] Kuang Peigen, et al. Effect of Anisodine on memory. J Trad Chin Med 1982; 2:277~284.
 [7] 邵道生, 匡培根. 电刺激海马背部对建立空间辨别回避条件反射的影响. 心理学报 1981; 13(3):353~357.
 [8] 刘善循, 匡培根. 电损毁海马对大白鼠短时记忆的影响. 生理心理学术会议论文集. 中国心理学生理心理专业委员会. 1981: 34~36.

(1985年6月收稿 同年8月修回)

EFFECTS OF BUDIPIN ON MEMORY BEHAVIOR, NEUROTRANSMITTER AND ECoG IN ANIMALS

Kuang Peizi and Chen Shuangshuang. *Psychology Institute of the Chinese Academy of Sciences.*

Kuang Peigen, Dai Fulin and Zhang Fengying. *General Hospital of PLA.*

The effects of Budipin on memory behavior, ECoG and central acetylcholine contents in animals were studied. Memory deficits were evaluated on the basis of the percentage of conditioned avoidance reaction(CAR), the mean response time, the mean ability to perform correctly 5 successive times in 10 trials and the mean number of trials to correctly perform 9 out of 10 trials. It was found that the Budipin affected the unconsolidated memory. It was also found that the mnemonic effects of Budipin were associated with ECoG changes and cholinergic reduction in cortex, caudate nucleus and hippocampus. The ECoG changes that occurred in the drug-treated animals showed an increase of δ rhythm and a decrease of θ rhythm in cortical and hippocampal tracings and a relative desynchronism in cortex. The major findings in electrical responses to novel stimuli were that the mean percentage of the electrical response to pure tones and touches were significantly reduced. These findings suggested that the longterm administration of Budipin would raise the possibility of impairing the ability for the patients to learn new materials and store or acquire the new informations.