

# 中枢胆碱能系统在小鸡记忆形成 过程中的作用<sup>1)</sup>\*

俞旭初 陈双双 匡培梓

(中国科学院心理研究所, 北京, 100012)

## 摘 要

中枢胆碱能系统在记忆形成过程中的特异性作用仍有待于进一步探讨。该研究观察了东莨菪碱对小鸡一次性被动回避行为的影响, 主要结果如下: 1. 训练前颅内注射一定剂量的东莨菪碱可引起一日龄小鸡的记忆障碍; 2. 无论是训练前15分钟还是训练前30分钟注射, 东莨菪碱引起的记忆障碍均起始于训练后15—20分钟之间; 3. 研究中所用剂量的东莨菪碱不影响小鸡的啄食行为、味觉功能及兴奋水平。上述结果提示, 中枢胆碱能系统可能较特异性地参与中时记忆的形成过程。

关键词 东莨菪碱, 一日龄小鸡, 中时记忆。

## 1 引言

任何一种记忆的形成均有赖于神经系统对最初信息的加工, 行为神经科学把这种过程称为记忆形成过程<sup>[1,2]</sup>。虽然近年来中枢胆碱能系统在学习记忆中总体作用已被人们普遍认识<sup>[3,4]</sup>, 但对该系统与记忆形成过程之间的确切关系仍有不少争议<sup>[5]</sup>。其中一个重要的原因是缺乏理想的动物行为模型, 因为深入研究记忆形成过程必须要求所采用的动物行为模式允许研究者能够比较精确地观察这一过程中发生的行为和神经系统的变化。近年来受到重视的小鸡一次性被动回避行为模式被认为是基本上符合以上要求的。该模式的主要优点是, 动物只需经过一次短暂的训练就可形成相当持久的记忆行为。这一特点能使研究者相当精确地观察记忆形成过程不同阶段的行为学特点以及相应的神经系统的功能状态<sup>[6]</sup>。

本工作拟以经典的胆碱能受体拮抗剂东莨菪碱作为工具药物, 采用小鸡一次性被动回避行为模式探讨该系统在记忆形成过程中的作用。

## 2 实验方法

### 2.1 动物

雄性京白904一日龄小鸡, 体重40g左右, 健康活泼, 于实验当日购自北京市种禽公司种鸡场。

### 2.2 实验程序

1) 本文修改稿于1995年7月4日收到。

\* 国家科委项目中国科学院匹配经费重大项目。

陕西师大硕士研究生高扬参加了部分实验工作。

前三个实验所采用的程序参照目前国际上流行的 La Trobe 模式<sup>[6,7]</sup>,并根据大量预实验的结果作了一些改动。动物成对地放入每个实验箱内,20 只为一组,待适应半小时后开始按以下序列进行实验: 1) 预训练,让小鸡啄食蘸清水的金属小圆珠(直径 3 毫米),激发其啄食行为。预训练共进行两次,间隔 20 分钟。2) 训练,预训练结束后 30 分钟开始,其方法是给小鸡呈现蘸有邻氨基苯甲酸甲酯(methylantranilate, MeA)的红色玻璃圆珠(直径 6.0 毫米)。小鸡啄食后多表现出摆头、后退、惊叫等厌恶反应(digust reactions)。少数不啄红珠或未表现出明显的厌恶反应的动物在数据处理时将被去掉。3) 测试,根据不同的实验要求在训练后不同时间进行,共进行两次。第一次用大小和外形与训练时所用的完全一样的红色小珠,第二次采用同样大小的蓝色小珠,均蘸清水而不蘸 MeA。两次测试间隔 3 分钟。以上每个序列小珠的呈现时间均为 10 秒,同时记录每只动物啄小珠的次数。

实验四根据小鼠的旷场行为模式改变<sup>[8]</sup>,具体方法见下文。

### 2.3 药物及注射方法

盐酸东莨菪碱为 Merck 公司产品,在实验开始前用生理盐水配成所需浓度。采用目前国际上通用的小鸡颅内注射法给药<sup>[6]</sup>:按小鸡的脑图谱<sup>[9]</sup>,操作 Hamilton 步进注射器,从腹内侧上纹体在颅骨表面的投影区垂直进针 3.5 毫米,针尖约在上述脑图谱的 A4-5, H7-8, 旁开 2 毫米处,即在腹内侧上纹体和新纹体复合体内。这两个核团在小鸡学习记忆中的重要作用已被证实<sup>[6]</sup>。注射容量为每侧 10 微升,这是目前大多数小鸡行为药理学实验室通用的注射容量<sup>[6,6]</sup>。

### 2.4 数据分析和统计

由于训练时采用了红色小珠,因此记忆水平的测量指标采用测试时小鸡对红珠的回避率,而动物对蓝珠的回避率则用作药物是否影响啄食行为的重要指标。回避率的计算方法是:回避率 = 测试时对小珠回避的动物数 ÷ 训练时啄红珠并表现出明显厌恶反应的动物数 × 100%。用药组和控制组之间差异的考验采用  $\chi^2$  检验。实验四采用方差分析法。

## 3 实验结果

### 3.1 实验一 不同剂量的东莨菪碱对小鸡学习记忆的影响

由于有关东莨菪碱对小鸡记忆行为影响的报告较少<sup>[6]</sup>,因此本实验首先系统地观察了 3.13—50.0 毫摩尔浓度的东莨菪碱对小鸡一次性回避行为的影响。各组动物均在训练前 30 分钟注射药物(控制组注射生理盐水),训练后 130 分钟进行测试。

从图 1 可见,注射 12.5—50.0 毫摩尔剂量范围东莨菪碱的小鸡,其测试时对红珠的

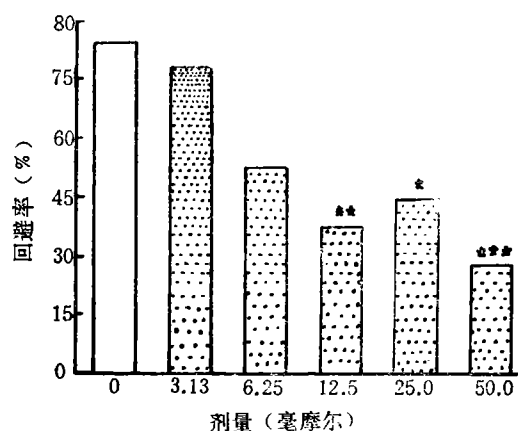


图 1 不同剂量的东莨菪碱对小鸡一次性被动回避行为的影响

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.025$ , \*\*\*  $p < 0.01$

避率均低于控制组,  $\chi^2$  检验表明其差异均达到显著水平。相反, 注射同样剂量药物的动物对蓝珠的回避率与控制组之间没有显著差异。

### 3.2 实验二 不同时间给药条件下东莨菪碱对小鸡学习记忆的影响

根据实验一的结果选用 12.5 毫摩尔, 分别于训练前 30、15、5 分钟和训练后立即注射药物, 相应的控制组也分别于上述时间注射 10 微升的生理盐水。测试均在训练后 130 分钟进行。

表 1 不同时间给药条件下测试时对红珠的回避率 (%)

	给药时间(分钟)			
	训 练 前			训 练 后
	30	20	5	立即
生理盐水	80.0	77.0	82.0	72.0
东莨菪碱 (12.5毫摩尔)	33.0**	40.0*	19.0***	56.0

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.025$ , \*\*\*  $p < 0.01$

实验结果见表 1。  $\chi^2$  检验表明, 除了训练后给药组外, 训练前给药各组测试时对红珠的回避率均显著低于相应的控制组, 而所有各组动物之间对蓝珠的回避率的差异则不显著。

### 3.3 实验三 东莨菪碱对训练后不同时间记忆保持水平的影响

本实验试图通过观察东莨菪碱对训练后不同时间记忆保持水平的影响, 探讨胆碱能系统与记忆形成过程之间的关系。另外还对训练前 30 分钟和 15 分钟给药所引起的记忆障碍的起始时间进行了比较。东莨菪碱的剂量仍为 12.5 毫摩尔。

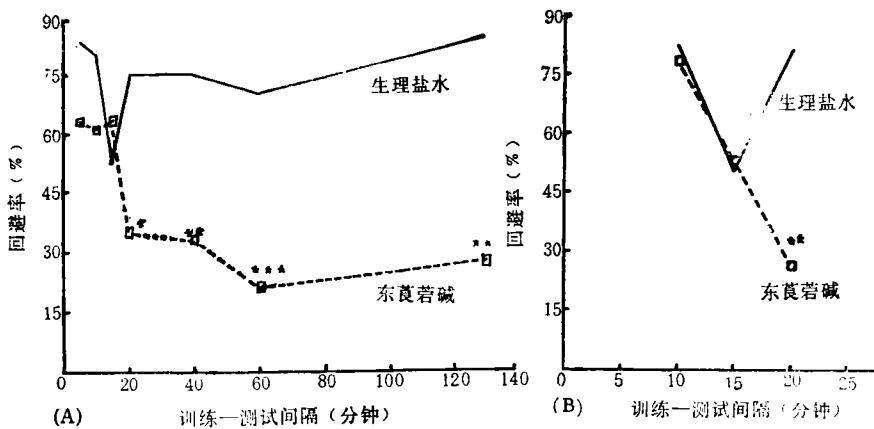


图 2 不同时间给药对小鸡训练后记忆保持水平的影响  
A: 训练前 30 分钟用药, B: 训练前 15 分钟用药  
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.025$ , \*\*\*  $p < 0.01$

从图 2 (A)可见, 训练前 30 分钟注射东莨菪碱, 虽然在训练后 5, 10 及 15 分钟对红珠的回避率与控制组动物接近, 但训练后 20 分钟开始明显降低, 与相应的控制组之间的

差异均达到显著水平。但无论是在什么时间测试, 药物对蓝珠的回避率均没有明显影响。图 2 (B) 显示, 训练前 15 分钟给药与训练前 30 分钟相似, 也约于训练后 20 分钟开始出现记忆障碍。

此外, 在以上三个实验中, 我们对训练时各组动物之间对 MeA 的厌恶反应进行了观察。每组动物起始时均为 20 只, 训练时啄食红珠并表现出厌恶反应的动物在 16 和 20 只之间, 即各组的厌恶反应率在 80% 和 100% 之间, 经  $\chi^2$  检验其差异没有达到显著水平。

### 3.4 实验四: 东莨菪碱对小鸡旷场行为的影响

由于较大剂量的东莨菪碱可以引起小鸡兴奋水平的变化<sup>[10]</sup>, 而动物兴奋水平的改变又可能影响学习记忆, 因此本实验采用了常用于测量动物兴奋水平的旷场行为对这种效应进行观察。40 只动物随机分成一个控制组和三个给药组, 每组 10 只。控制组注射生理盐水, 给药组分别注射 12.5、25.0 和 50.0 毫摩尔的东莨菪碱。实验在一个  $20 \times 20 \times 30$  厘米的纸箱内进行, 箱底被均匀地划分为 25 个小格。分别于注射后 10 分钟和 30 分钟将动物放入箱内, 观察动物在 60 秒内行走的格数。

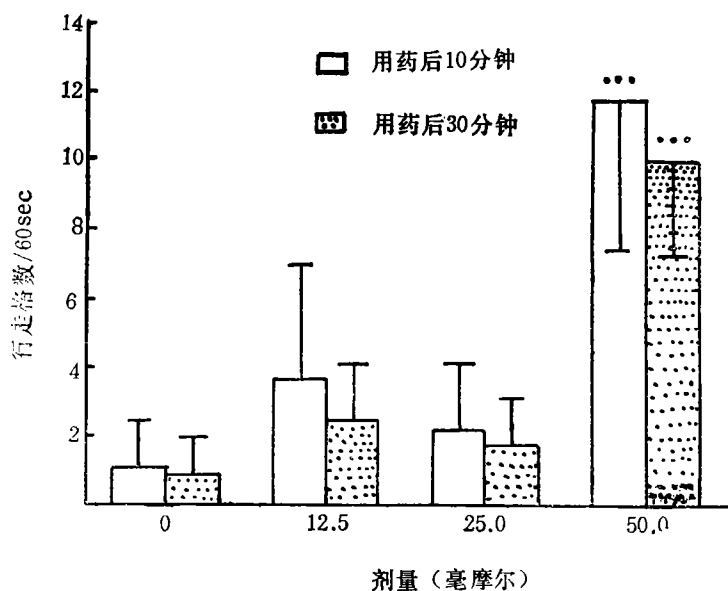


图 3 不同剂量的东莨菪碱对小鸡旷场行为的影响

\*\*\*  $p < 0.01$

实验结果见图 3。对四个组总的方差分析表明, 无论是用药后 10 分钟还是用药后 30 分钟, 组间差异均非常显著。其中, 用药后 10 分钟的  $F(3, 36) = 17.49$ ,  $p < 0.001$ , 用药后 30 分钟的  $F(3, 36) = 24.31$ ,  $p < 0.001$ 。但多重比较进一步显示, 只有 50.0 毫摩尔剂量组与控制组之间的差异达到显著水平 ( $p < 0.01$ ), 其它各组之间的差异均不显著。

## 4 讨 论

大量文献报告, 抗胆碱能药物可以引起人类、非人灵长类和啮齿类等多种动物的记忆障碍<sup>[3,4]</sup>。与之相反, 虽然小鸡脑内含有丰富的胆碱能受体<sup>[11]</sup>, 但人们对鸟类胆碱能系统

与学习记忆之间的关系所知甚少。本文实验一、二结果清楚地显示,在一定的时间范围内,东莨菪碱剂量依赖性地破坏小鸡的学习记忆行为。这些结果总体趋势与有关文献的报告<sup>[5,12]</sup>一致,提示小鸡中枢胆碱能系统与哺乳动物相似,均在学习记忆中起着重要的作用。

从理论上讲,记忆形成过程是可以通过某些操作被分解为几个相对独立的阶段的。Gibbs 和 Ng<sup>[2]</sup>曾利用与本文相似的实验方法,根据其多年的实验结果,提出记忆形成三阶段模型,认为记忆形成过程至少包括短时、中时和长时记忆三个相对独立的阶段。三个阶段的形成时间分别为训练后 5 分钟、20 分钟和 60 分钟,它们分别依赖于细胞膜超极化、钠泵活性和蛋白质合成。该模型最近几年又有了新的发展并得到了其他一些作者的支持<sup>[10,13]</sup>。如果胆碱能系统直接参与记忆形成的某个阶段,那么抗胆碱能制剂引起的记忆障碍将比较稳定地在训练后某一时间出现。实验三对这种假设进行了检验。首先,对于注射生理盐水的动物,在训练后 15 分钟出现一次短暂的记忆下降现象,我们和其它一些作者均发现,这一现象也见于未经任何药理学干扰的动物<sup>[9,14]</sup>,并被解释为短时记忆向中时记忆转化的转折点(transition)。实验三的结果还表明,无论是训练前 15 分钟还是训练前 30 分钟给药,东莨菪碱引起的记忆障碍均起始于训练后 15 分钟至 20 分钟之间。换句话说,在一定的时间范围内,不同时间注射东莨菪碱所引起的记忆障碍其起始时间基本上是一致的。上述结果强烈地提示,东莨菪碱较特异地作用于记忆形成过程的某一阶段。由于东莨菪碱所致的记忆障碍的起始时间正好落在中时记忆的起始阶段,因此我们认为,东莨菪碱的作用是阻断了中时记忆的形成过程。这些结果还为记忆形成过程多阶段观点提供了新的证据。值得指出的是,Patterson<sup>[5]</sup>等人于训练前 5 分钟注射东莨菪碱也曾得到基本一致的记忆保持曲线,但他们仅观察了一种给药时间的记忆保持曲线,因而并不足以解释药物对记忆形成过程的特异作用。Gibbs 和 Ng 的上述模型还认为中时记忆的形成依赖于钠泵的活性,那么,东莨菪碱对中时记忆的作用是否与钠泵的活性有关呢? Rose 等人<sup>[15]</sup>的工作提示这种可能性是存在的。他们发现,小鸡一次性被动回避行为可以引起暂时的 M 受体结合力的升高,钠泵抑制剂 ouabain 不但影响中时记忆的形成,而且还阻断了训练引起的 M 受体结合力的升高。

在利用东莨菪碱研究记忆的神经机制时,应引起注意的是,该药物引起的记忆障碍可能是它对记忆的直接作用,也可能是通过作用于动物的感觉、运动、注意等功能而间接地影响记忆行为的<sup>[10]</sup>。但从本文的一系列实验结果来看,后一种可能性似乎很小。首先,实验一至三结果显示,动物训练时对 MeA 的厌恶反应和测试时对蓝色小珠的回避率不受药物的影响,提示东莨菪碱对小鸡的味觉功能和啄食行为均没有明显的影响。其次,从实验三可见,注射了东莨菪碱的动物在训练后 15 分钟之前均保持着良好的记忆水平,表明该药物不是通过影响运动、注意等功能而对记忆产生破坏作用的。第三,实验四的结果提示,除了 50.0 毫摩尔剂量外,本文使用的其它剂量均未导致小鸡兴奋性水平的改变。

## 参 考 文 献

- 1 Hebb D O. *The Organization of Behavior*. New York: Wiley, 1949.
- 2 Gibbs M E, Ng K T. Psychobiology of memory; Towards a model of memory formation. *Biobehavioral Reviews*, 1977; 1: 113—136.
- 3 Bartus R T, Dean R L, Flicker C. Cholinergic pharmacology; An integration of human and animal research on memory. In: Meltzer H Y. ed, *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. New York: Raven Press, 1985: 219—231.
- 4 Weng Xuchu, Hu Jishen, Guan Linchu. The effects of anisodine on performance in Morris water maze task in rats. In: Wang Su. ed, *Proceedings of the Second Afro-Asian Psychological Congress*. Beijing: Peking University Press, 1992: 832—837.
- 5 Patterson T A, Lipton J R, Bennet E L et al. Cholinergic antagonists impair formation of intermediate-term memory in the chick. *Behavioral and Neural Biology*, 1990; 54: 63—74.
- 6 Andrew R J. ed. *Neural and Behavioural Plasticity: The Use of the Domestic Chick as a Model*. Oxford: Oxford University Press, 1991: 5—57.
- 7 管林初, 陈双双. 利用小鸡建立学习和记忆模型的方法介绍. *心理学报*, 1991; 23: 319—324.
- 8 管林初, 姚 林. 脑复康、石杉碱甲、纹胶蓝、豆腐果甙和樟柳碱对动物旷场行为的影响. *心理学报*, 1988; 20: 211—214.
- 9 Youngen O M, Phillips R E. A stereotaxic atlas of the brain of the three-day-old domestic chick. *Journal of Comparative Neurology*. 1978; 181: 567—600.
- 10 Zolman J F, Mattingly B A, Sahley C L. Cholinergic involvement in inhibitory behavior of the young domestic chick. *Behavioral Biology*, 1978; 23: 415—432.
- 11 Coulter J C. Chick brain cholinergic receptors studied by antagonist labeling: distribution, ontogeny and function. Ph. D. Thesis, The Open University, Milton Keynes, 1982.
- 12 Mattingly B A, Zolman J F. The effect of para-chlorophenylalanine and scopolamine on passive avoidance in chicks. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1981; 14: 669—676.
- 13 Serrano P A et al. Differential effects of protein kinase inhibitors and activators on memory formation in the 2-day-old chick. *Behavioral and Neural Biology*, 1994; 61: 60—72.
- 14 翁旭初, 陈双双, 匡培梓. 小鸡一次性被动回避模型行为特点的研究. *心理学动态*, 1995, (3): 51—55.
- 15 Rose S P R, Gibbs M R, Hambley J. Transient increase in forebrain muscarinic cholinergic receptor binding following passive avoidance learning in the young chick. *Neurosciences*, 1980; 5: 169—172.

## ROLE OF THE CENTRAL CHOLINERGIC SYSTEM IN MEMORY FORMATION IN YOUNG CHICKS

Weng Xuchu, Chen Shuangshuang, Kuang Peizi

*(Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences Beijing, 100012)*

### Abstract

The central cholinergic system has been long implicated in learning and memory processes in mammals. However, the precise role of this system in memory formation in birds remains to be determined. Using a one-trial passive avoidance task, we demonstrated that inhibition of the central cholinergic system activities by intracranial injection of scopolamine produced amnesia in a dose-dependent manner. The amnesia induced by scopolamine in this task developed between 15—20 minutes after training whenever the drug was administered 15 or 30 minutes before training. Since scopolamine in present doses did not affect disgust reactions, general pecking behavior, and motor behavior as shown in an open field task, the memory effects of scopolamine observed in this study cannot be easily attributed to processes unrelated to memory processing, such as sensorimotor performance and general arousal. These results suggested a specific role of the avian central cholinergic system in the formation of intermediate-term memory, strongly supporting the three-stage model of memory formation originally proposed by Gibbs and Ng (1977)

**Key words** Scopolamine, One-day-old chick, Intermediate-term memory.