DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.05.013

损毁大鼠中脑导水管周围灰质阻断精氨酸加压素的促记忆效应

熊 鹰 张长城 张光辉 (第三军医大学基础部生理学教研室) 630038

提 要 电解损毁大鼠双侧中脑导水管周围灰质(PAG),5 d后进行穿梭箱主动回避反应(active avoidance response,AAR)训练,正确反应率达80%后,损毁组和假手术组分别ip精氨酸加压素(AVP,6μg/kg)或生理盐水(NS),然后观察各组大鼠AAR的消退情况。结果如下:(1)ip AVP使假手术组大鼠AAR消退明显延缓;(2)ip AVP或NS对损毁组大鼠AAR消退的影响无显著差别;(3)无论ip AVP或NS,损毁PAG的大鼠AAR的消退速度均明显快于假手术大鼠。以上结果提示损毁双侧PAG明显阻断ip AVP对大鼠AAR的易化作用,表明AVP对记忆的促进效果与PAG密切相关。

关键词 精氨酸加压素;水管周灰质;回避学习;记忆

20多年的研究表明,精氨酸加压素(arginine vasopressin,AVP)在学习和记忆中起重要作用。它可延缓大鼠AAR的消退,增强被动回避反应的巩固和再现[1~3]。Kovacs等的实验表明加压素的促记忆效应与海马,隔区等边缘系统结构关系密切[2,3],PAG是边缘系统的一重要镇痛结构,与海马、杏仁核等有广泛的纤维联系[4]。免疫细胞化学的方法证实PAG中有来自室旁核(PVN)的加压素能纤维投射[5]。我室的研究发现PAG在穿梭箱AAR的习得中起重要作用[6],但损毁PAG是否阻断AVP延缓AAR的消退,也即PAG是否参与AVP对记忆的易化,目前未见文献报道,为此,本实验采用核团损毁,外周注射以及行为实验相结合的方法进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 动物和药品

Wistar大鼠,体重200±25g,雌雄兼用,由本校实验动物研究所提供。自由饮水和进食,适应环境1周后才开始实验。精氨酸加压素(arginine vasopressin,AVP),Sigma公司产品,实验前用生理盐水(NS)配成所需浓度。

1.2 PAG损毁

用戊巴比妥钠麻醉(40mg/kg,ip)大鼠,将头部固定在脑立体定位仪上,参照Pellegrino图谱于双侧PAG内各埋置尖端裸露的绝缘电极(直径0.5mm)一个,定位坐标为:A 5.5~6.5,LR 0.5~1.0,H 4.5~5.5。损毁时,通以2mA的电流30s,假手术组除不通电外,其它操作完全一样,术后5 d开始穿梭箱训练。

1.3 穿梭箱训练

穿梭箱(shuttle-box)50cm×30cm×20cm大小,内分A、B两室,室间有拱形小门相通,箱底由15根铜棒(直径0.45cm)组成,可通交流电(50Hz,0.5mA)产生足电震(footshock),以此作为非条件刺激。两室各装一小灯泡(15W),以灯光为条件刺激。实验时,先将大鼠置于A室内适应5min,然后灯亮5s(此时B室不亮),若大鼠不逃至B室,则给予电击5s,使动物逃到B室,间隔15~30s后,B室灯亮(此时A室不亮),训练方法同上,以灯亮后大鼠自动跑至暗室为AAR正确。每天训练25次,以正确反应率连续3 d达到80%以上为学会标准。消退实验,则只给灯光,不给电击,记录大鼠AAR的次数,以AAR的变化作为记忆消退的指标。本实验主要观察给药后AAR的消退情况。以上实验均在避光和安静的环境中进行。

1.4 损毁部位的鉴定

实验结束后,用10%甲醛溶液灌流鼠脑,固定后,行连续切片核实损毁部位。

实验数据均用t检验进行统计学处理。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果

损毁组(lesions)和假手术组(sham)达到学会标准后，立即分别 ip AVP 6μg/kg 或 NS 0.2ml，连续注射3 d，然后观察2、4、6、8、10 d 时 AAR 消退的变化。结果见附表。

附表 损毁 PAG 对 ip AVP 延缓主动回避反应消退的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab Effects of PAG leisions on memory enhancement of ip AVP

	time (d)					
	0	2	4	6	8	10
Lesions+AVP	83.32±9.56	61.58±7.01***	47.09±6.98***	42.97±6.75***	31.26±5.45***	22.72±7.87***
Sham+AVP	86.07±8.32	85.51±8.03	84.73±7.95###	85.02±8.32###	84.05±7.53###	83.10±8.67###
Lesions+NS	82.59±9.36	67.82±7.71++	42.31±6.92+++	38.62±5.90+++	19.81±7.21+++	16.31±6.59+++
Sham+NS	87.02±8.85	82.10±8.76	69.70±6.79	65.21±7.79	41.52±6.82	35.30±5.55

*** $P<0.01$, *vs* sham+AVP; ### $P<0.01$, *vs* sham+NS; ++ $P<0.05$, +++ $P<0.01$, *vs* sham+NS

在假手术组，ip AVP($n=9$)的大鼠与 ip NS($n=10$)的大鼠相比，除第2天以外，其 AAR 消退均明显延缓($P<0.05$)，如第10天，ip AVP 的大鼠 AAR 仍保持83%左右，而 ip NS 的大鼠仅35%。

在损毁组，ip AVP($n=10$)与 ip NS($n=8$)比较，AAR 无显著差别($P>0.05$)，表明损毁 PAG 抵消了 ip AVP 延缓 AAR 消退的作用。

假手术组与损毁组比较，无论 ip AVP 还是 ip NS，损毁组大鼠 AAR 的消退均明显快于假手术大鼠，由此排除了手术因素对实验结果的影响。

以上结果表明，ip AVP 可延缓 AAR 的消退，而损毁 PAG 可阻断 ip AVP 对 AAR 的易化作用。

3 讨论

AVP 与学习记忆关系的研究近年来引起较多学者的关注。多数观点认为 AVP 直接作用于中枢神经系统而发挥促记忆效应[1~3]，但也有人认为 AVP 可能通过改变外周血管的传入信息而起作用[7]。近来甚至有作者报道 AVP 损害大鼠明暗辨别反应的保持[8]，阻碍空间辨别行为的习得[9]，因此，有关加压素在学习记忆中的作用迄今远未阐明。

除下丘脑-神经垂体通路外，现已证实加压素能纤维在下丘脑以外的其它脑区有大量分布，其中与学习记忆关系密切的边缘系统是 AVP 纤维主要的投射区[5,10]，PAG 是边缘中脑的重要结构，其加压素能纤维主要来自 PVN 的投射[5]。Dubois-Dauphin 的实验提示 PAG 中有加压素的结合位点[11]。Fliers 用细胞免疫化学的方法证实老龄鼠 PAG 中加压素能纤维密度明显低于年轻鼠[12]，从而说明老年记忆减退可能与 PAG 中 AVP 纤维减少有关。本实验结果表明 ip AVP 使 AAR 的消退明显延缓，并且这一效应可被损毁 PAG 抵消，由此看出，外周注射 AVP 的促记忆效应与 PAG 密切相关，也即说明 PAG 在 AVP 调控记忆过程中不少缺少。

参考文献

1. Mei ZT, Duan SH. Central sites for the facilitating effects of *arg*-vasopressin (AVP) on learning process in rats. Chin J Physiol Sci, 1991; 7: 99~103
2. Kovacs GL, Bohus B, Versteeg DHG, et al. Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation: site of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic midbrain structures. Brain Res, 1979; 175: 303~314
3. Van Wimersma Greidanus TB, De wied D. Dorsal hippocampus: a site of action of neuropeptides

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

on avoidance behaviour? Pharmacol Biochem Behav,1976;1(5 Suppl):29～33
4. Isaacson RL. The limbic system. 2nd ed. New York and London: Plenum Press,1982
5. Sofroniew MV. Vasopressin, oxytocin and their related neurophysins. In: Bjorklund A, Hokfelt T, editors. Handbook of chemical neuroanatomy Vol 4: GABA and neuropeptides in the CNS, Part I. New York: Elsevier Press,1985:93～152
6. 肖玲远 张长城.PAG 在大鼠主动回避反应习得中的作用.西南师范大学学报(自然科学版),1991;16:368～372
7. Le Moal M, Koob GF, Koda LY, et al. Vasopressin receptor antagonist prevents behaviour effects of vasopressin. Nature,1981;291:491～493
8. Beckwith BE, Tinius TP, Miller DH. Arginine vasopressin facilitates reversal and impairs retention of brightness discrimination in albino rats. Psychobiology,1987;15:329～335
9. McDaniel WF. Arginine vasopressin 4～9 retards spatial alternation learning. Neuropeptides,1989;14:219～224
10. Hess J, Lesser D, Landgraf R. Vasopressin and oxytocin in brain areas of rats selectively bred for differences in behaviour performance. Brain Res,1992;569:106～111
11. Dubois-Dauphin M, Pever P, Tribollet E, et al. Vasopressin in the brain of golden hamster: the distribution of vasopressin binding sites and of immunoreactivity to the vasopressin-related glycopeptide. J Comp Neurol,1990;300:535～548
12. Fliers E, De Vries GJ, Swab DF. Changes with aging in the vasopressin and oxytocin innervation of the rat brain. Brain Res,1985;348:1～8

(收稿:1993-02-02;修回:1993-08-15)

Blockage of arginine vasopressin's effect on memory-enhancement by destruction of periaqueductal gray matter in rats

Xiong Ying, Zhang Changcheng, Zhang Guanghui (Department of Physiology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The effects of the destruction of the periaqueductal gray matter (PAG) on the memory－enhancement by intraperitoneal injection of arginine vasopressin (AVP) were observed in rats. Rats with either sham lesions or electrolytic destruction of the bilateral PAG were trained in a shuttle box for active avoidance response (AAR). After the rats met the criterion of 80% correctness, an intraperitoneal injection of 6 μg/kg of AVP or 0.2ml of saline was given. Extinction of AAR was assessed in the rats. It was found that AVP markedly retarded the extinction of AAR in rats with sham lesion, and the extinction of the rats with destroyed PAG was significantly faster than that of the rats with sham lesion. The above mentioned findings suggest that AVP can act on the central nervous system to enhance memory mediated probably through PAG. This observation provides further support for the suggestion that certain limbic midebrain structures are involved in the memory enhancement by AVP.

Key words argipressin; periaqueductal gray; avoidance learning; memory

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net