

纳络酮、地卓西平(MK-801)对大鼠食物渴求的影响*

李勇辉^{1,2} 郑希耕¹ 王冬梅^{1,2} 刘彩谊^{1,2} 白云静^{1,2} 杨晓燕¹ 隋南¹

(¹中国科学院心理研究所,中国科学院心理健康重点实验室,100101) (²中国科学院研究生院 北京,100087)

摘要 实验以条件性位置偏爱(CPP)的表达为渴求模型观察纳络酮及 MK-801 对大鼠食物 CPP 表达的影响,探讨摄食行为调控的心理机制。48 只 SD 大鼠分成食物组(24)与对照组(24),3 轮食物匹配训练后,在 CPP 表达前分别注射生理盐水、纳络酮($1.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)及 MK-801($0.1\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),观察各组动物在食物匹配训练侧停留时间的变化。结果发现,MK-801 促进食物 CPP 的表达,但纳络酮对食物 CPP 的表达没有显著影响。以上结果表明 MK-801($0.1\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)增强动物的食物渴求至少是其增加摄食量的原因之一,而 $1.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的纳络酮降低动物的摄食量并不是由于食物渴求的下降导致的。MK-801 与纳络酮调节动物摄食行为的心理机制可能不一致。

关键词 食物渴求,纳络酮,MK-801,条件性位置偏爱,表达。

分类号 B845

1 前言

摄食行为正常的发动与终止是动物赖以生存的基础,机体的多数神经递质(如,谷氨酸、5-羟色胺)和神经肽(如,内源性阿片肽、胃肠道神经肽)都参与摄食行为的调节与控制^[1,2]。中枢(如,伏隔核)注射 NMDA 受体激动剂 N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA),或者外周、脑室注射 NMDA 受体拮抗剂地卓西平(MK-801)均能增加动物的摄食量^[1,3];阿片系统激动剂吗啡外周或中枢注射也增加动物的摄食量,而其拮抗剂纳络酮则减少动物的摄食量^[2]。尽管大量研究表明阿片与 NMDA 受体系统参与动物摄食量的调控,但这些研究主要关注这两个系统参与摄食量调控的生理机制^[4](如,代谢信号的传递速度等)。事实上在摄食过程中摄食量变化的同时伴随着一系列心理过程的变化,如食物渴求程度的变化等,这些心理过程不仅能改变摄食量,而且还影响食物的选择,进食时间的长短、次数等行为过程。一般而言,食物渴求是摄食动机产生的前提,食物渴求强摄食量就大,反之进食量就少。考察阿片与谷氨酸系统对食物渴求程度的影响对理解摄食量调控的心理机制具有重要意义。据我

们所知,目前 MK-801 对食物渴求的影响未见报道,阿片系统对摄食动机的作用尚存在一定的分歧^[5,6],有待更多的研究进一步明确。

条件性位置偏爱(CPP)的表达是衡量渴求的有效模型^[7],CPP 表达的高低能反映食物渴求的强弱。但 CPP 表达的前提是动物能够正常运动,急性注射吗啡的初期抑制动物的运动,所以吗啡的运动抑制效用可能会干扰 CPP 的正常表达;而阿片受体拮抗剂纳络酮对动物的运动没有显著影响。已有研究表明 $0.1\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 MK-801 与 $1.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的纳络酮都能改变动物的摄食量^[8,9],故本实验应用 CPP 模型来考察该剂量的纳络酮与 MK-801 对食物渴求的影响,探讨阿片与谷氨酸系统调节摄食行为的可能心理机制。

2 材料与方法

2.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 48 只,初始体重 $240 \pm 20\text{g}$,动物在 $25\text{cm} \times 22.5\text{cm} \times 30\text{cm}$ 的不锈钢笼中单笼饲养,自由饮水、进食。光周期为 7:00~19:00,实验室温度控制在 $20 \sim 24^\circ\text{C}$,相对湿度为 40%~60%。适应性饲养 5 天后开始限制性进食。适应期间每天抚摩

收稿日期:2004-11-26

* 本研究受国家重点基础研究发展计划(973 计划,2003CB515404)、国家自然科学基金重点项目(30230130,30170324)、中科院知识创新工程项目(KSCX2-SW-204-02,KSCX-2-03)资助。

通讯作者:隋南,E-mail: suin@psych.ac.cn 电话:(010)64850858

捉拿动物,使其适应实验主试人员的操作。

2.2 实验装置

三箱式条件性位置偏爱测试箱,由 80cm × 40cm × 50cm 黑色有机玻璃长方体箱构成,中间箱体 14cm × 40cm × 50cm,两端箱体 33cm × 40cm × 50cm,中间与两端箱体之间的隔板中央靠近底面有一 10cm × 10cm 的门洞。两端箱体的环境线索存在显著差异,一端箱体四侧壁为 3cm 宽的红色竖条纹,光滑底面;另一端箱体四壁无条纹,栅格底面。中央箱体侧壁无条纹,光滑底面。摄像跟踪系统自动记录动物在三个箱体内停留的时间。

2.3 限制性进食程序

适应性饲养 5 天后,大鼠开始限制性进食,每晚 19:00 定时进食,每天 1 次,每天 10 ~ 15g,直至体重降到限制性程序开始时体重的 80% ~ 85%,然后每天根据体重调节进食量保持体重相对稳定。整个实验阶段均维持限制性进食。

2.4 药物

MK-801 (sigma, Lot 22k4611),纳络酮 (sigma, Lot 42k1184),两种药物均用生理盐水溶解, MK-801 (0.1mg · ml⁻¹) 与纳络酮 (1.0mg · ml⁻¹) 都是腹腔注射给药,注射容量为 1ml · kg⁻¹ 体重。

2.5 CPP 训练程序

CPP 测试分为适应、自然位置偏爱倾向测试、条件化匹配训练、训练后偏爱测试四个阶段。第 1 天适应环境,适应时打开门洞,将大鼠放在中央箱内让其自由活动 15min,熟悉测试环境,不记录其在各箱体内的停留时间。第 2、3 天分别进行一次自然偏爱倾向测试,程序与第 1 天相同,记录其在三个箱体内的停留时间。以这 2 次测试的平均值作为自然偏爱基值,结果表明动物在两端箱体内停留的时间无显著差异 (276 ± 13s, 255 ± 13s),说明自然状态下动物对两端箱体没有明显的偏爱。第三阶段为条件匹配训练阶段,分 6 天进行,每天训练 1 次。食物、生理盐水训练交替进行。本实验采用部分对抗平衡程序 (counterbalance procedure),第 1 次训练时,食物组一半动物在非条纹侧进行食物训练,另一半动物在条纹侧进行食物训练;对照组在两端箱体内均为生理盐水训练。食物匹配训练时在箱内撒布 15g 食物颗粒,训练时间为 60min;生理盐水匹配训练时,箱体内无食物,训练时间也是 60min。第 2 天不论是食物组还是对照组都在与第 1 天相反的箱体内进行生理盐水训练。第 3、4 天及第 5、6 天训练程序与第

1、2 天一致。第 4 阶段为 CPP 测试阶段,在条件训练结束后第 2 天进行训练后位置偏爱测试。将食物组、对照组动物随机分成 3 组,分别在测试前 15 分钟注射生理盐水、MK-801 (0.1mg · kg⁻¹)、纳络酮 (1.0mg · kg⁻¹),然后放入中央箱内,打开门洞,大鼠在箱内自由活动 15 min,记录其在各箱体内的停留时间。

2.6 数据统计

食物训练侧停留时间的变化采用 2 × 3 × 2 三因素重复测量方差分析,组别为组间变量 (对照组、食物组),表达前处理为组间变量 (生理盐水、MK-801、纳络酮),测试次数为组内变量 (训练前基值测试,训练后测试)。采用 SPSS 11.5 for Windows 统计软件分析数据。

3 结果

3.1 MK-801 增强食物 CPP 的表达

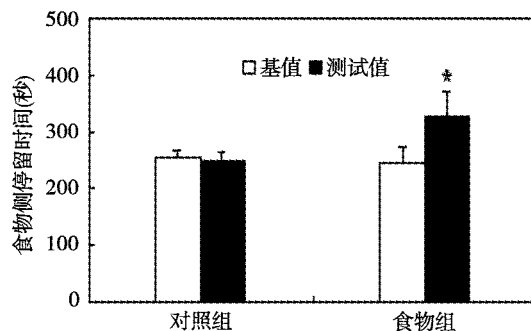


图 1 表达前注射生理盐水对食物 CPP 的影响

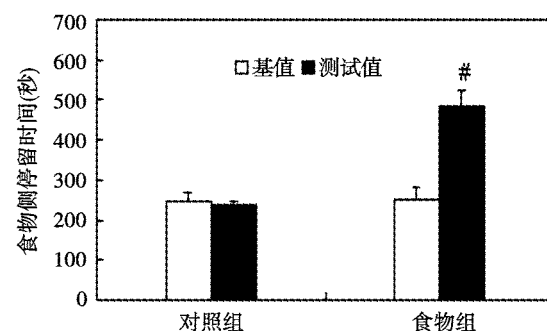


图 2 表达前注射 MK-801 对食物 CPP 的影响

如图 1 示,方差分析结果表明,“处理”、“组”与“测试”三个变量交互作用显著, $F(2, 36) = 3.40, p < 0.05$;在 CPP 表达测试前注射生理盐水时,“组”与“测试”两个变量交互作用接近显著, $F(1, 12) = 3.89, p = 0.07$;食物组在食物训练侧停留时间大于对照组 ($p = 0.09$),说明形成了食物 CPP。表达前注射 MK-801 对食物 CPP 表达的影响如图 2 示,

“组”与“测试”两个变量交互作用显著, $F(1, 12) = 30.51, p < 0.01$; 食物组在食物训练侧停留时间显著大于对照组 ($p < 0.01$), 说明表达前注射 MK-801 也形成了显著的食物 CPP。并且 MK-801 促进食物 CPP 的表达 (如图 4 所示), 对于食物组而言, “处理”与“测试”两个变量交互作用显著, $F(2, 18) = 3.62, p < 0.05$; 各组的基值没有显著差异, $F(2, 18) = 0.1, p > 0.05$; 但测试值差异显著, $F(2, 18) = 5.22, p < 0.05$; MK-801 组在食物侧停留时间显著大于生理盐水组 ($p < 0.01$)。以上结果表明经过三轮训练后表达前无论是注射生理盐水还是 MK-801 都能形成食物 CPP, 并且 MK-801 增强食物 CPP 的表达。

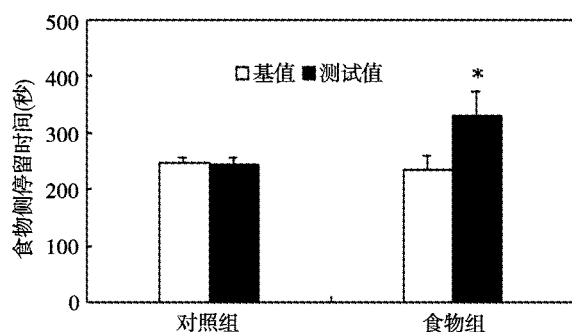


图3 表达前注射纳络酮对食物 CPP 的影响

3.2 纳络酮不影响食物 CPP 的表达

表达前注射纳络酮对食物 CPP 表达的影响如图 3 示, 方差分析结果表明, “组”与“测试”两个变量交互作用接近显著, $F(1, 12) = 4.10, p = 0.09$, 食物组在食物侧停留时间显著大于对照组 ($p = 0.07$), 说明注射纳络酮后也形成了明显的食物 CPP; 但是纳络酮也不促进食物 CPP 的表达, 如图 4 所示, 对食物组而言, 尽管“处理”与“测试”两个变量交互作用显著, $F(2, 18) = 3.62, p < 0.05$; 各组表达时测试值差异显著, $F(2, 18) = 5.22, p < 0.05$; 但多重比较表明纳络酮组与生理盐水组在食物侧停留时间没有显著差异 ($p > 0.05$)。以上结果表明表达前注射纳络酮对食物 CPP 的表达没有显著影响。

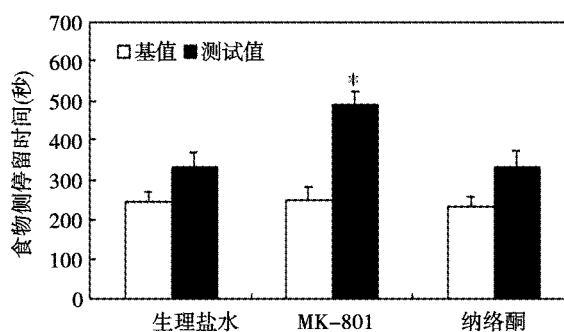


图4 MK-801、纳络酮对食物 CPP 表达程度的影响

4 讨论

动物摄食量的变化受许多因素影响, 包括摄食运动(咀嚼、撕咬等)、胃肠蠕动与排空速度、饱感信号的传递等生理因素, 以及食物的可口性、进食时的情绪体验与食物渴求程度(摄食动机)等心理因素^[10]。本实验主要考察阿片、NMDA 受体拮抗剂对食物渴求这一心理因素的影响, 探讨摄食量变化的心理机制。结果发现 MK-801 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 增强食物 CPP 的表达, 而纳络酮 ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对食物 CPP 的表达没有显著影响。说明该剂量的 MK-801 能够增强动物的食物渴求, 而 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 纳络酮对食物渴求没有显著影响。就我们所知, 这是首次报道 MK-801 对食物渴求的影响。以上结果说明 MK-801 增强食物渴求是其增加摄食量的原因之一, 而纳络酮 ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 减少摄食量并非降低了食物渴求所致。因此, 尽管这两种药物都能改变动物的摄食量但其具体心理机制可能存在差异。

目前大多研究仅关注摄食量调控的生理机

制^[10, 11], MK-801 增加摄食量的可能机制是干扰了进食后消化道饱感信号的传递, 延长进食时间^[12-15]。摄食量调控心理机制的研究很少, 我们的实验表明 MK-801 促进食物 CPP 的表达, 而 CPP 表达的高低不仅与渴求程度(动机的强弱)密切相关还受记忆提取的影响。因此 CPP 表达的增强是否代表渴求程度的增加需要排除药物干预对记忆提取的影响。有研究表明 MK-801 对空间记忆提取无显著影响^[16]。而在成瘾药物的研究中 MK-801 抑制吗啡 CPP 的表达^[17], 说明 MK-801 不太可能促进吗啡相关线索记忆的提取, 即使吗啡相关记忆有一定的特异性, 但与食物线索相关的记忆至少有部分共同的特点。因此, MK-801 不太可能促进食物相关记忆的提取。由此推测 MK-801 促进食物 CPP 的表达并不是促进记忆提取的结果, 可能是促进了动物对食物的渴求程度, 但还需要其他模型进一步确认。

无论是中枢还是外周注射纳络酮都减少动物摄食量^[1, 2, 8], 一般认为纳络酮减少摄食量的可能原因有二: 一是降低食物渴求或摄食动机, 二是改变食物

的可口性或降低进食时的正性情绪体验。尽管食物渴求程度与可口性有密切关系,二者主要区别是渴求是在接触食物之前就已经产生,而可口性的变化是在进食过程中才能体现。因此二者在调节机制存在差异^[18]。

纳络酮对摄食动机(食物渴求)的影响存在一定分歧,主要与实验使用的模型有关。累进比率操作性条件反射是衡量动物动机的常用模型,断点(breaking point)的高低代表动机的强弱。实验表明纳络酮显著降低动物压杆进食的断点^[19],说明纳络酮降低动物的觅食动机。巷道迷宫是测量动物摄食动机(食物渴求)的另一种模型,动物在巷道中跑向食物终点的速度是衡量动机的指标之一。研究表明,纳络酮也不影响动物在巷道中的奔跑速度,说明纳络酮对摄食动机(食物渴求)没有显著影响^[6]。比较两个模型发现,累进比率程序中,动物通过一定次数的压杆后获得一定量食物,吃完所得到的食物后继续压杆获取下一次食物。因此在获得衡量摄食动机的指标(断点)前动物已经多次进食,这一过程中如果纳络酮影响食物的可口性将会干扰对摄食动机(食物渴求)的观察;而在巷道迷宫实验中,衡量动机指标的奔跑速度是动物接触食物前测量的。所以两个指标的效度不一致。而累进比率程序中第1次压杆潜伏期或得到第一次食物的压杆次数的多少与巷道迷宫实验中的奔跑速度是等质的指标,反映动物对食物的渴求程度。实验表明纳络酮对累进比率程序中获得第1次食物强化的压杆次数没有影响^[20]。而且,通过对摄食过程的行为分析发现纳络酮抑制摄食过程发生在晚期而对早期没有影响^[8],进一步表明纳络酮对食物渴求没有显著影响。我们实验也表明 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的纳络酮对食物 CPP 的表达没有影响,但该剂量的纳络酮减少摄食量。以上事实表明 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的纳络酮减少摄食量并不是降低了食物渴求所致。食物可口性的下降是纳络酮降低动物摄食量的主要原因^[21-24]。

综上所述, MK-801 增强食物渴求是其增加摄食量的原因之一,纳络酮($1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)减少摄食量不是由于它降低了食物渴求所致。两种药物调节摄食行为的心理机制可能存在差异。这种差异产生的中枢机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- Kelley A E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neurosci Biobehav Rev*, 2004, 27(8): 765 ~ 776
- Bodnar R J. Endogenous opioids and feeding behavior: a 30-year historical perspective. *Peptides*, 2004, 25(4): 697 ~ 725
- Burns G A, Ritter R C. The non-competitive NMDA antagonist MK-801 increases food intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1997, 56(1): 145 ~ 149
- Treece B R, Ritter R C, Burns G A. Lesions of the dorsal vagal complex abolish increases in meal size induced by NMDA receptor blockade. *Brain Res*, 2000, 872(1-2): 37 ~ 43
- Cleary J, Weldon D T, O'Hare E, et al. Naloxone effects on sucrose-motivated behavior. *Psychopharmacology*, 1996, 126(2): 110 ~ 114
- Kirkham T C, Blundell J E. Effects of naloxone and naltrexone on the development of satiation measured in the runway: comparisons with d-amphetamine and d-fenfluramine. *Pharmacol Biochem Behav*, 1986, 25: 123 ~ 128
- Markou A, Weiss F, Gold L H, Caine SB, Schulteis G, Koob GF. Animal models of drug craving. *Psychopharmacology (Berl)*, 1993, 112(2-3): 163 ~ 182
- Glass M J, Grace M K, Cleary J P, et al. Naloxone's effect on meal microstructure of sucrose and cornstarch diets. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 281(5): R1605 ~ R1612
- Burns G A, Fleischmann L G, Ritter R C. MK-801 interferes with nutrient-related signals for satiation. *Appetite*, 1998, 30(1): 1 ~ 12
- Sclafani A. Oral and postoral determinants of food reward. *Physiol Behav*, 2004, 81: 773 ~ 779.
- Treece B R, Covasa M, Ritter RC, et al. Delay in meal termination follows blockade of N-methyl-D-aspartate receptors in the dorsal hindbrain. *Brain Res*, 1998, 810(1-2): 34 ~ 40
- Covasa M, Ritter R C, Burns G A. Reduction of food intake by intestinal macronutrient infusion are not reversed by NMDA receptor blockade. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278(2): R345 ~ R351
- Covasa M, Ritter R C, Burns G A. NMDA receptor participation in control of food intake by the stomach. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278(5): R1362 ~ R1368
- Covasa M, Ritter R C, Burns G A. NMDA receptor blockade attenuates CCK-induced reduction of real feeding but not sham feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004, 286(5): R826 ~ R831
- Shinozaki H, Gotoh Y, Ishida M. Selective N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonists increase gastric motility in the rat. *Neurosci Lett*, 1990, 113: 56 ~ 61
- Riedel G, Platt B, Micheau J. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res*, 2003, 140(1-2): 1 ~ 47
- Tzschenke T M, Schmidt W J. Interactions of MK-801 and GYKI 52466 with morphine and amphetamine in place preference conditioning and behavioural sensitization. *Behav Brain Res*, 1997, 84(1-2): 99 ~ 107
- Berridge K C. Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci Biobehav Rev*, 1996, 20(1): 1 ~ 25

- 19 Glass M J, O'Hare E, Cleary J P, et al. The effect of naloxone on food-motivated behavior in the obese Zucker rat. *Psychopharmacology*, 1999, 141(4): 378 ~ 384
- 20 Rudski J M, Billington C J, Levine A S. Naloxone's effects on operant responding depend upon level of deprivation. *Pharmacol Biochem Behav*, 1994, 49: 377 ~ 383
- 21 Glass M J, Grace M, Cleary J P, et al. Potency of naloxone's anorectic effect in rats is dependent on diet preference. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 1996, 271: R217 ~ R221
- 22 O'Hare E O, Cleary J, Bartz P J, et al. Naloxone administration following operant training of sucrose water discrimination in the rat. *Psychopharmacology*, 1997, 129(3): 289 ~ 294
- 23 Yeomans M R, Gray R W. Selective effects of naltrexone on food pleasantness and intake. *Physiol Behav*, 1996, 60(2): 439 ~ 446
- 24 Fantino M, Hosotte J, Apfelbaum M. An opioid antagonist, naltrexone, reduces preference for sucrose in humans. *Am J Physiol*, 1986, 251: R91 ~ R96

EFFECT OF NALOXONE AND DIZOCILPINE ON FOOD CRAVING IN RATS

Li Yonghui^{1,2}, Zheng Xigeng², Wang Dongmei^{1,2}, Liu Caiyi^{1,2}, Bai Yunjing^{1,2}, Yang Xiaoyan², Sui Nan²

(¹ Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences; Key laboratory of mental health, CAS; ² Graduate School of CAS, Beijing, 100101, China)

Abstract

Ingestive behavior was evolutionarily important for survival in animals. A serial of studies demonstrated that dizocilpine (MK-801) increased but naloxone decreased the food intake in rats. However, it was elusive how they mediated ingestive behavior in rats. Food craving was one of the most important factors to impact food intake. In the present experiment, the effects of naloxone and dizocilpine on food craving of the rats were investigated with conditioned place preference (CPP) paradigm. After received 3 conditioning sessions with food, the rats were injected with saline, naloxone ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and MK-801 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) during the expression of CPP test, and the time spent in the food-associated compartment was observed. The results showed the rats developed significant preference for food-paired side, and MK-801 potentiated the expression of food-induced CPP, but naloxone had no effect on the expression of food CPP. The present data suggested that the enhancement of food craving was one of the possibilities of MK-801-induced increase of food intake, but it might not be the reduction of food craving that led to the naloxone-induced decrease of food intake. The psychological mechanism of ingestive behavior mediated by naloxone and MK-801 may be dissociated.

Key words food craving, naloxone, MK-801, conditioned place preference, expression.