

## 短期小剂量甲基苯丙胺对大鼠学习记忆与脑电位的影响

王 峰<sup>1</sup>, 黄宏平<sup>2</sup>, 朱庆春<sup>2</sup>, 张环环<sup>2</sup>, 王邦安<sup>2</sup>, 汪萌芽<sup>2</sup>

(皖南医学院 1. 医学三系法医毒理和毒物化学教研室, 2. 人文与管理系细胞电生理研究室, 安徽 芜湖 241002)

**摘要:** **目的** 观察小剂量短期甲基苯丙胺(MA)对学习记忆和脑诱发电位的影响。**方法** 12 只成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠每天 ip 注射 MA 5 mg·kg<sup>-1</sup>, 连续 7 d。主动回避行为测试方法检测大鼠的学习和记忆能力, 用躯体感觉诱发电位检测大鼠脑电生理活动。**结果** 与正常对照组相比, MA 5 mg·kg<sup>-1</sup> 组大鼠在主动回避行为测试的学习阶段, 学会躲避电击前的失败次数明显减少(24 ± 11 vs 171 ± 71,  $P < 0.01$ ); 在记忆阶段失败次数也显著低于正常对照组(41 ± 36 vs 149 ± 79,  $P < 0.05$ ); 另外, MA 组大鼠的躯体感觉诱发电位最大正向波的潜伏期与正常对照组相比明显缩短[28 ± 11 vs (47 ± 13) ms,  $P < 0.05$ ]。**结论** 短期小剂量使用 MA 可增强大鼠某些学习记忆能力, 并与脑体表感觉诱发电位的潜伏期缩短有一定的关系。

**关键词:** 甲基苯丙胺; 主动回避反应; 躯体感觉诱发电位

**中图分类号:** R964 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)03-0250-04

**DOI:** 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.03.006

甲基苯丙胺(methamphetamine, MA)属于苯丙胺类中枢兴奋剂, 是新型非法精神刺激药, 具有极强的药物依赖性, 俗称“冰毒”。在 MA 滥用人群中, 药物依赖者每天的用药剂量通常在 500 mg 左右, 滥用方式多以烫吸为主<sup>[1]</sup>。大多数滥用者平均滥用 7 d 或 3 次时, 就会感到不适或出现戒断症状<sup>[2]</sup>, 提示 MA 极易成瘾。目前研究表明, 人类长时间使用 MA 会导致严重的神经系统损伤, 进而影响到认知功能的持续损伤, 包括注意力、记忆力和执行功能障碍<sup>[3]</sup>。长期慢性使用 MA 导致人脑的一系列退行性改变, 包括多巴胺和 5-羟色胺轴突的损伤, 不同脑区均可见灰质缺失, 同时伴有白质和小胶质细胞增生。在 MA 神经毒性的动物模型上, 可见单胺能神经末梢的变性和神经元凋亡, 细胞和分子机制涉及到氧化应激, 兴奋性毒性, 过高热, 神经炎症反应, 线粒体功能障碍以及内质网应激反应<sup>[4]</sup>。脑功能的损伤包括学习记忆等认知功能的损害, 而 MA 极易成瘾又意味着 MA 某种程度上加强了与毒品有关的记忆功能, 这种矛盾的机制尚未有很好的解释。笔者提出 MA 在用药初期可能对学习记忆功能的影响

是积极的, 由此引起的细胞和分子机制参与形成与成瘾有关的记忆假说。本研究通过短期小剂量给予大鼠 MA, 模拟 MA 依赖者脑功能的亚急性改变, 观察 MA 短期依赖对大鼠的主动回避行为和体表感觉诱发电位造成的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 药品和试剂

MA 标准品, 购自中国药品与生物制品检定所(批号 171212-200603), 用生理盐水配制成浓度为 1 g·L<sup>-1</sup> 溶液。戊巴比妥钠, 分析纯。

#### 1.2 主要仪器

Gemini™ 回避系统(美国, San Diego Instruments, Inc.)进行主动回避反应测试, 用 Powerlab 多通道生理功能记录系统(澳大利亚, AD Instruments)进行大鼠躯体感觉诱发电位检测。

#### 1.3 动物及分组

12 只清洁级 Sprague-Dawley 大鼠, 雄性, 体质量 180 ~ 200 g, 购自浙江省实验动物中心, 动物许可证号: SCXK2008(浙)0033。大鼠随机分为正常对照组和 MA 组, 正常对照组大鼠 ip 给予生理盐水, MA 组 ip 给予 MA 5.0 mg·kg<sup>-1</sup>, 每天 1 次, 连续 7 d。第 7 天给药后 2 h 进行主动回避行为实验。

#### 1.4 主动回避反应实验

根据文献[5]略作改动, 将实验分 3 个阶段: 熟悉阶段, 学习阶段和记忆阶段。在学习阶段训练大

**基金项目:** 安徽省教育厅基金资助项目(KJ2008B233); 第四批安徽省优秀青年科技基金资助项目(08040106817); 皖南医学院博士启动基金; 安徽省重点学科生理学科资助

**作者简介:** 王 峰(1968 -), 男, 实验师, 学士, 主要从事法医毒物化学和毒理学的研究。

**通讯作者:** 黄宏平, E-mail: hphuang2007@yahoo.com.cn, Tel: (0553)3932276

鼠在每个测试周期中将条件刺激亮灯和非条件刺激足底电击建立联系,共进行 200 次,每次间隔 30 s。主动回避反应成功标准是当仅有亮灯刺激出现时,大鼠就逃至另一侧暗箱,躲避电击刺激。如果大鼠在受到电击后,才逃至另一侧暗箱,来躲避电击刺激,或在亮灯刺激和电击刺激下均未逃至另一侧暗箱,即判定为主动回避反应失败。以 10 次学习中有 9 次主动回避反应成功为学会标准,记录学会前失败的次数,用于判断大鼠的学习能力。学会后将大鼠放回饲养笼中,200 次仍未学会的大鼠也放回笼中,记录失败次数为 200。记忆阶段是在 24 h 后,重复学习阶段的训练,同样以 10 次学习中有 9 次主动回避为学会标准,记录学会前失败的次数,用于判断大鼠记忆的保持能力。

### 1.5 躯体感觉诱发电位的检测

各组大鼠主动回避行为观察结束后,3% 戊巴比妥钠  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  麻醉,动物体温加热垫维持大鼠肛温在  $32^\circ\text{C}$ 。俯卧位固定,暴露颅骨,用导电胶将盘状记录电极(直径约 5 mm)牢固固定于颅骨上冠状缝和矢状缝的相交处记录脑诱发电位,参考电极固定于耳部皮肤,刺激电极固定于尾部根部皮肤。记录电极与 Powerlab 多通道生理功能记录系统相连,经滤波、放大和数字转换后输入计算机,应用 Scope 软件进行数据采集、保存和分析。恒流刺激幅度为 3 mA,刺激时程 0.1 ms,采样频率为 4 kHz,叠加平均 256 次,记录躯体感觉诱发电位的潜伏期及波幅的变化。

### 1.6 统计学分析

实验结果数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 Prism3.0 统计软件,采用非参数检验比较两组间差异,以  $\alpha = 0.05$  为检验水准。

## 2 结果

### 2.1 甲基苯丙胺对大鼠主动回避行为的影响

与正常对照组相比,MA 组大鼠在学习阶段学会躲避电击前的失败次数明显减少( $24 \pm 11$  vs  $171 \pm 71$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0.01$ );在记忆阶段失败次数也显著低于正常对照组( $41 \pm 36$  vs  $149 \pm 79$ ,  $n = 6$ ,  $P < 0.05$ )。说明 MA 组大鼠在学习阶段即显示出较好的学习能力,而且记忆阶段表现了较好的记忆保持能力。

### 2.2 甲基苯丙胺对大鼠躯体感觉诱发电位的影响

MA 组大鼠的躯体感觉诱发电位最大正向波的潜伏期为( $28 \pm 11$ ) ms,与正常对照组( $47 \pm 13$ ) ms 相比明显缩短( $n = 6$ ,  $P < 0.05$ )。躯体感觉诱发电

位最大正向波的波幅,MA 组大鼠为( $8.5 \pm 7.2$ )  $\mu\text{V}$ ,正常对照组为( $8.4 \pm 8.2$ )  $\mu\text{V}$ ,无统计学差异。说明短期小剂量给予 MA 主要是减少大鼠躯体感觉诱发电位的潜伏期,对躯体感觉诱发电位幅度没有明显影响(图 1)。

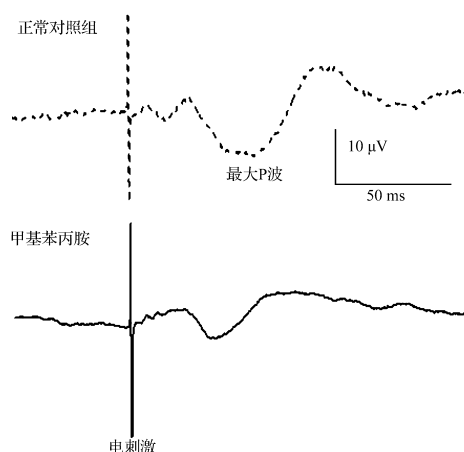


图 1 甲基苯丙胺对大鼠躯体感觉诱发电位的影响。大鼠 ip 给予 MA  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  7 d 连续波形中方向向下的波规定为正向波(P波),方向向上的波规定为负向波。电刺激大鼠尾根部皮肤。

Fig. 1 Effect of methamphetamine on somatosensory evoked potential.

## 3 讨论

主动回避行为的条件反射,是目前被广泛采用的动物行为研究模式之一<sup>[6]</sup>。本行为学实验结果发现,ip 给予大鼠 MA  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,持续 7 d,MA 组大鼠主动回避反应增强。早期有研究表明,慢性小剂量每天 ip 注射 MA  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续用药 20 d,大鼠主动回避测验中成功次数减少<sup>[7]</sup>。Long-Evans 雄性大鼠每天注射 4 次 MA  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,2 h 1 次,用药 1 周,导致主动回避明显不足,反应潜伏期增加 24%<sup>[8]</sup>。说明小剂量长期使用 MA 和神经毒性剂量给大鼠 MA 均可造成主动回避反应减弱。这些结果与本实验结果都支持 MA 对大脑认知功能的影响与 MA 的用药剂量和用药时程等用药方式存在密切关系。也有研究发现神经毒性剂量 MA 对大鼠主动回避反应没有影响,大鼠每天 4 次 sc 给予 MA  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,每 2 h 1 次,给药 1,2 和 4 周后主动回避学习没有变化,神经毒性剂量 MA 没有造成明显的行为学变化可能与补偿机制或抵消 MA 造成的神经化学变化机制有关<sup>[9]</sup>。本实验中 MA 组大鼠的学习记忆能力并未受损,反而与正常对照组相比有所增强,这可能与短期小剂量用药有关,此时 MA 对中

神经系统认知功能的影响尚未达到产生毒性的程度。志愿者口服 MA 0.21 ~ 0.42 mg·kg<sup>-1</sup>时(相当于体质量 70 kg 的个体每天服用 15 ~ 30 mg),可使认知功能增强<sup>[10]</sup>。大鼠短期小剂量使用 MA 造成的学习记忆能力增强是否参与药物的成瘾性记忆机制值得探讨。为了进一步了解 MA 增强主动回避行为的脑电生理机制,观察了大鼠体表刺激产生的诱发电位。躯体感觉诱发电位是利用平均叠加技术特异性地记录外周刺激引起大脑感觉中枢的电活动,反映从躯体皮肤感受器,到脊髓,丘脑,大脑皮质的上行传导通路之间的联系,躯体感觉诱发电位是常被用于分析大脑信息处理的电生理测量方法,可以反映大脑感觉皮质的感觉认知功能。本实验结果发现,MA 组大鼠躯体感觉诱发电位的最大正向波潜伏期缩短,提示 MA 组大鼠主动回避反应增强可能与大脑信息处理过程加速,信息处理时间缩短有关。用 MA 灌流正常雄性大鼠海马脑片时,长时程动作电位幅度增加,可能与 MA 影响到海马的 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体有关<sup>[11]</sup>。本实验是先给大鼠小剂量 MA 5 mg·kg<sup>-1</sup>,持续 7 d,然后观察到大鼠行为学表现中学习记忆能力的增强,这种增强作用是由 MA 导致的,其可能的机制与学习记忆增强的机制相关。药物成瘾理论研究认为,吸毒过程产生激励动机学习,药物改变了学习记忆系统<sup>[12]</sup>。由于脑的不同认知功能牵涉到中枢神经系统不同脑区和不同的神经递质系统。研究表明,MA 对脑认知功能的影响与神经递质系统如多巴胺,5-羟色胺,谷氨酸和一氧化氮等变化有关<sup>[13]</sup>。大量文献研究表明,成瘾药可以影响中枢神经系统与学习记忆有关的谷氨酸,多巴胺,去甲肾上腺素等递质受体系统,启动了与学习记忆有关的信号传导机制<sup>[14]</sup>。进一步深入研究这些递质系统变化的细胞和分子机制,将有助于揭示 MA 增强学习记忆与药物成瘾之间的关系。

志谢:感谢安徽省公安厅肖圣兵老师,祁秋景老师在药品购买过程中提供帮助。

#### 参考文献:

- [1] 李春生,王汉文,梁若冰,宣刚,刘琳. 苯丙胺类成瘾人员生存状况的观察[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2008, **14**(4):226-228.
- [2] 王艳芬,张玉竹,连智,孙桂宽,鲍彦平,刘志民. 北京地区三种新型毒品流行滥用特征[J]. 中国药物依赖性杂志, 2008, **17**(6):445-454, 459.
- [3] Barr AM, Panenka WJ, MacEwan GW, Thornton AE, Lang DJ, Honer WG, *et al.* The need for speed: an update on methamphetamine addiction[J]. *J Psychiatry Neurosci*, 2006, **31**(5):301-313.
- [4] Krasnova IN, Cadet JL. Methamphetamine toxicity and messengers of death[J]. *Brain Res Rev*, 2009, **60**(2):379-407.
- [5] Santín LJ, Miranda R, Begega A, Cuesta M, Arias JL, Rubio S. Active avoidance conditioning in rats; absence of sex difference and estrous effect[J]. *Psicothema*, 1999, **11**(3):655-661.
- [6] Powell RW, Morris G. A comparison of escape and avoidance conditioning in wild and domesticated rats[J]. *J Exp Anal Behav*, 1968, **11**(4):473-478.
- [7] Yamamura T, Hishida S, Hatake K, Taniguchi T, Ouchi H. Effects of daily administration of methamphetamine on multiple active/passive avoidance performance in rats[J]. *Behav Brain Res*, 1993, **53**(1-2):105-112.
- [8] Walsh SL, Wagner GC. Motor impairments after methamphetamine-induced neurotoxicity in the rat[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1992, **263**(2):617-626.
- [9] Timár J, Gyarmati S, Szabó A, Fürst S. Behavioural changes in rats treated with a neurotoxic dose regimen of dextrorotatory amphetamine derivatives[J]. *Behav Pharmacol*, 2003, **14**(3):199-206.
- [10] Johnson BA, Ait-Daoud N, Wells LT. Effects of isradipine, a dihydropyridine-class calcium channel antagonist, on D-methamphetamine-induced cognitive and physiological changes in humans[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2000, **22**(5):504-512.
- [11] Hori N, Kadota MT, Watanabe M, Ito Y, Akaike N, Carpenter DO. Neurotoxic effects of methamphetamine on rat hippocampus pyramidal neurons[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2010, **30**(6):849-856.
- [12] Kelley AE, Berridge KC. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs[J]. *J Neurosci*, 2002, **22**(9):3306-3311.
- [13] Nordahl TE, Salo R, Leamon M. Neuropsychological effects of chronic methamphetamine use on neurotransmitters and cognition: a review[J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2003, **15**(3):317-325.
- [14] Berke JD, Hyman SE. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory[J]. *Neuron*, 2000, **25**(3):515-532.

## Effect of short-term methamphetamine exposure on memory and somatosensory evoked potential of rats

WANG Feng<sup>1</sup>, HUANG Hong-ping<sup>2</sup>, ZHU Qin-chun<sup>2</sup>, ZHANG Huan-huan<sup>2</sup>,  
WANG Ban-an<sup>2</sup>, WANG Meng-ya<sup>2</sup>

(1. Department of Forensic Toxicology and Toxicchemistry, the Third Faculty of Medicine, 2. Lab of Cell Electrophysiology, Faculty of Humanities and Management, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

**Abstract:** **OBJECTIVE** To investigate the effect of short-term methamphetamine (MA) exposure on learning and memory behavior and somatosensory evoked potential (SEP) of rats. **METHODS** Adult male Sprague-Dawley rats were ip given MA 5.0 mg·kg<sup>-1</sup>, for 7 d. Learning and memory abilities were observed with active avoidance test and brain electrophysiology was evaluated by SEP. **RESULTS** Compared with normal control group, during active avoidance test, failure times in MA 5 mg·kg<sup>-1</sup> group were decreased in the learning stage (24 ± 11 vs 171 ± 71, n = 6, P < 0.01) and in the memory stage (41 ± 36 vs 149 ± 79, P < 0.05), respectively. The latency of SEP was shortened in MA 5 mg·kg<sup>-1</sup> group [(28 ± 11) ms vs (47 ± 13) ms, n = 6, P < 0.05]. **CONCLUSION** Short-term and low dose of MA exposure can enhance learning and memory in rats, related to decreased latency of SEP.

**Key words:** methamphetamine; active avoidance test; somatosensory evoked potential

**Foundation item:** The project supported by Foundation of Bureau of Education of Anhui Province(KJ2008B233); the Fourth Excellent Youth Science and Technology Foundation of Anhui Province(08040106817); the Startup Foundation for Doctors of Wannan Medical College; and by Physiology in Key Discipline of Anhui Province

**Corresponding author:** HUANG Hong-ping, E-mail: hphuang2007@yahoo.com.cn, Tel: (0553)3932276

(收稿日期: 2010-05-24 接受日期: 2010-10-19)

(本文编辑: 乔虹)