

# MK-801 对海洛因成瘾大鼠学习记忆功能的影响\*

肖 邦<sup>1,2</sup>, 潘贵书<sup>1△</sup> (1. 遵义医学院生理学教研室, 贵州遵义 563003; 2. 川北医学院生理学教研室, 四川南充 637000)

**【摘要】 目的** 探讨 MK-801 对海洛因成瘾大鼠学习记忆功能的影响。**方法** 将 30 只 SD 大鼠随机分成海洛因成瘾组、MK801 组及对照组。采用 Morris 水迷宫实验中的定位航行实验以及空间探索实验评价各组大鼠学习记忆能力。**结果** 定位航行实验中, 各组大鼠逃避潜伏期和搜索距离均随训练进程延长而逐渐缩短; 成瘾组大鼠搜索距离大于 MK-801 组和对照组 ( $P < 0.05$ )。空间探索实验中, 成瘾组大鼠安全岛所在象限搜索时间及安全岛所在象限游泳距离占总距离的百分比均小于对照组及 MK-801 组 ( $P < 0.05$ ), 但对照组与 MK-801 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。**结论** 海洛因成瘾可损伤大鼠学习记忆能力, MK-801 可减轻海洛因造成的大鼠学习记忆功能损伤。

**【关键词】** 海洛因成瘾; MK-801; Morris 水迷宫实验; SD 大鼠

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.17.006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)17-2357-02

**Effect of MK-801 on learning and memory function of heroin-addictive rats\*** XIAO Bang<sup>1,2</sup>, PAN Gui-shu<sup>1△</sup> (1. Staff Room of Physiology, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563003, China; 2. Staff Room of Physiology, North Sichuan Medical University, Nanchong, Sichuan 637000, China)

**【Abstract】 Objective** To study the effect of MK-801 on learning and memory function of heroin-addictive rats. **Methods** Thirty SD rats were randomly assigned into heroin dependent group, MK-801 group and control group. The ability of special learning and memory were tested by Morris water maze. **Results** The escape latency and the searching distance of heroin dependent group were significantly longer than control group and MK-801 group in place navigation test ( $P < 0.05$ ). The explore time and the distance of original platform area in proportion to the total distance of heroin dependent group were less than control group and MK-801 group in spatial probe test ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Heroin dependence could impair the ability of learning and memory of rats, MK-801 could reduce the impairment of learning and memory function in heroin dependent rats.

**【Key words】** heroin addiction; MK-801; Morris water maze; SD rat

海洛因作为阿片类毒品, 成瘾性极大, 对社会造成严重危害。长期使用海洛因可导致严重的继发性疾病, 同时也可损伤学习记忆功能。N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体是谷氨酸受体之一, 与学习记忆功能关系密切, 激活 NMDA 受体对学习记忆功能具有促进作用。地卓西平马来酸盐(MK-801)是一种高亲和力的 NMDA 受体非竞争性拮抗剂。本研究分析了 MK-801 对海洛因成瘾大鼠行为学和学习记忆功能影响。现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 清洁级健康 SD 大鼠 30 只, 雄性, 体质量 220~260 g, 购自第三军医大学大坪医院动物中心[许可证号 SCXK-(军)2007017]。SD 大鼠分笼饲养, 自由饮水、进食。按随机分组的原则, 将 30 只 SD 大鼠分为海洛因成瘾组、MK801 组和对照组, 每组各 10 只。

**1.2 实验药品** 海洛因由贵州省公安厅提供。盐酸纳洛酮注射液购自美国 Sigma 公司。MK-801 购自瑞士 ALEXIS 公司。

## 1.3 方 法

**1.3.1 动物模型建立** 海洛因成瘾组、MK-801 组大鼠按逐日递增海洛因 3 mg/kg 的原则处理<sup>[1]</sup>。首日每次剂量 3 mg/kg, 每日称重, 2 次/日, 上午 9:00、下午 5:00 各给药 1 次。连续皮下注射 9 d, 第 9 天时的每次剂量达 27 mg/kg。MK-801 组在每次海洛因给药前 15~30 min 给予 MK-801 (0.1 mg/kg)。第 10 天用 5 mg/kg 纳洛酮诱发戒断症状, 观察 30 min 并记录戒断症状出现次数, 并进行相关评分<sup>[2-4]</sup>。确定大鼠成瘾后, 每天注射 1 次维持剂量海洛因 (27 mg/kg), 直至实验停止。按海洛因成瘾组给药方式注射等容积生理盐水建立对照组。

**1.3.2 Morris 水迷宫实验** Morris 水迷宫实验包括定位航行实验和空间探索实验。定位航行实验历时 4 d, 每天上、下午定时训练 1 次, 确定大鼠找到安全岛的时间(逃避潜伏期)。第 5 天撤除安全岛, 进行空间探索实验。将大鼠在同一入水点放入水中, 记录 120 s 内大鼠在原安全岛所在象限的搜索时间及原安全岛所在象限游泳距离占总距离百分比, 安全岛位于水池第 2 象限。

\* 基金项目: 贵州省省长基金资助项目(c-349)。

作者简介: 肖邦, 男, 助教, 硕士, 主要从事神经电生理学研究。△ 通讯作者, E-mail: pgs@zmc.edu.cn。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行数据处理和统计学分析。剂量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单方差分析或  $t$  检验。  $P < 0.05$  为比较差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 海洛因成瘾大鼠模型的建立** 在纳洛酮处理并戒断后, 海洛因处理大鼠出现明显戒断症状, 表现为扭体、清理皮毛、站立、异常姿势等, 部分大鼠表现舔阴动作、前爪颤抖和高度激惹等现象。经 30 min 观察, 各组大鼠戒断症状持续时间见表 1。

**2.2 定位航行实验** 各组大鼠逃避潜伏期及搜索距离比较见

表 2~3。各组大鼠逃避潜伏期及搜索距离均随训练进程延长呈下降趋势。海洛因成瘾组大鼠逃避潜伏期及搜索距离长于 MK-801 组和对照组 ( $P < 0.05$ ), 对照组与 MK-801 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**2.3 空间搜索实验** 各组大鼠空间搜索实验成绩比较见表 4。海洛因成瘾组大鼠对安全岛所在象限的搜索时间及安全岛所在象限游泳距离占总距离百分比低于对照组和 MK801 组 ( $P < 0.05$ ), 对照组与 MK-801 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 1 各研究组纳洛酮戒断症状持续时间比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{min}$ )

组别	<i>n</i>	湿狗样抖	伸展	清理皮毛	站立	扭体	齿颤	上睑下垂
对照组	10	0.3 ± 0.55	0.7 ± 0.83	1.0 ± 1.05	0.9 ± 0.93	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00
海洛因成瘾组	10	1.6 ± 0.44*▲	4.0 ± 1.02*▲	5.0 ± 0.87*▲	6.4 ± 1.33*▲	0.2 ± 0.44*	1.1 ± 0.33*▲	1.1 ± 0.33*▲
MK-801 组	10	0.8 ± 0.76	1.4 ± 0.55*	2.1 ± 1.28*	2.1 ± 0.52*	0.2 ± 0.33	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 MK-801 组比较, ▲  $P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠定位航行实验逃避潜伏期比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{s}$ )

组别	<i>n</i>	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
对照组	10	58.45 ± 7.25	39.15 ± 6.73	24.91 ± 3.21	8.33 ± 3.26
海洛因成瘾组	10	114.67 ± 4.28*▲	101.32 ± 7.34*▲	91.38 ± 8.45*▲	71.85 ± 9.67*▲
MK-801 组	10	55.21 ± 8.53	37.43 ± 6.88	26.19 ± 3.67	10.33 ± 1.45

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 MK-801 组比较, ▲  $P < 0.05$ 。

表 3 各组大鼠定位航行实验平均搜索距离比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{cm}$ )

组别	<i>n</i>	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
对照组	10	1 482.34 ± 247.72	1 152.11 ± 204.32	663.53 ± 142.31	283.65 ± 36.26
海洛因成瘾组	10	2 420.04 ± 210.25*▲	2 754.22 ± 87.29*▲	1 953.72 ± 183.14*▲	1 333.26 ± 134.51*▲
MK-801 组	10	1 564.43 ± 203.31	1 343.21 ± 192.77	682.25 ± 153.83	302.49 ± 69.31

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 MK-801 组比较, ▲  $P < 0.05$ 。

表 4 各组大鼠空间探索实验成绩比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	安全岛象限搜索时间 (s)	安全岛象限游泳距离占总距离百分比 (%)
对照组	10	33.12 ± 4.23	27.89 ± 3.21
海洛因成瘾组	10	18.94 ± 3.05*▲	15.83 ± 3.90*▲
MK-801 组	10	32.70 ± 5.22	26.63 ± 3.71

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 MK-801 组比较, ▲  $P < 0.05$ 。

**3 讨 论**

长期吸食阿片类药物可引起不同程度的学习记忆功能减退, 但药物成瘾对学习记忆功能的具体影响机制尚未明确。NMDA 受体在学习记忆方面具有重要作用, 特别在突触传递长时程增强 (LTP) 诱导方面非常重要, 而 LTP 是学习记忆的神经生物学基础之一。

MK-801 是 NMDA 受体非竞争性拮抗剂。有研究证实, 联合应用阿片类药物和 MK-801 能减缓和 (或) 逆转多种动物对阿片类药物的耐受程度和依赖性<sup>[5-6]</sup>, 但具体作用机制尚不完全清楚。本研究中, MK-801 组大鼠在每次海洛因处理前 30

min 给予 MK-801, 结果显示该组大鼠戒断症状与海洛因成瘾组大鼠相比明显减弱, 抽搐、肌肉紧张、湿狗样抖、舔阴等戒断症状明显减弱。

Morris 水迷宫实验适用于评估学习记忆功能的行为学方法<sup>[7]</sup>。Morris 水迷宫实验主要用于评价实验动物的空间位置感觉和方向感觉的学习记忆能力。其原理是强迫实验动物游泳, 同时学习在水中寻找安全岛, 通过分析其寻找安全岛所用时间和所走路程, 从而对实验动物学习记忆功能进行评价。本研究中的 Morris 水迷宫实验结果显示, 海洛因成瘾组大鼠与对照组、MK-801 组大鼠相比, 逃避潜伏期明显延长, 安全岛搜索距离明显增加, 说明海洛因成瘾组大鼠学习记忆功能已经受损。对照组与 MK-801 组大鼠相比, Morris 水迷宫实验的各项数据比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 说明 MK-801 可减轻或抑制海洛因成瘾对大鼠学习记忆功能的损伤。MK-801 的作用机制可能是海洛因激活 NMDA 受体, 增强其活性, 而 MK-801 可阻断其活性, 抑制与其相关的神经可塑性变化, 或是抑制海洛因等阿片类药物的神经敏化作用。其具体作用机制尚有待更深一步的研究。

术,术中囊肿容易破裂,流出的囊液可种植于盆腔正常组织,故术后复发率较高。因此,单纯使用手术治疗 EMS,在防止疾病复发方面的效果并不理想,有必要在术后进行药物治疗。手术后用药的目的在于巩固手术效果,抑制病情发展,预防复发,促进患者排卵。

有研究表明,子宫内膜异位囊肿的复发与雌激素水平紧密相关,通过药物治疗降低患者术后雌激素水平,有助于抑制异位内膜病灶的生长,在缓解疼痛、改善生育状况、延缓复发时间方面具有重要作用<sup>[9]</sup>。西药治疗 EMS 主要采用假孕或假绝经疗法。虽西药治疗的疗效较佳,但药物价格昂贵,不良反应明显,且存在停药后复发的可能。中医认为 EMS 发病机制为伤寒相搏导致肝肾功能失调,冲任不和,瘀血阻滞,离经之血集聚日久成为癥瘕。西医所认为的生殖内分泌功能均属于中医中肾的功能,而肾与肝有密切的联系,肾虚可致肝郁气滞以至血淤。EMS 属于自身免疫性疾病,而异位的子宫内膜可使外周血和腹腔液中出现的多种特异性抗体是导致患者不孕的重要因素。中药治疗 EMS 以调节免疫及内分泌为原则,主要采用补肾祛瘀并重的药方。黄芪、人参、冬虫夏草等补肾药物均有增强淋巴细胞和自然杀伤细胞活性的作用,对导致 EMS 患者不孕的细胞免疫功能缺陷具有一定的治疗作用。活血化瘀药物(如赤芍、当归、四物汤等)则能升高患者白细胞水平,促进 T 细胞转化。因此,补肾药物和活血化瘀药物的复方制剂在治疗 EMS 及其所致不孕方面具有相应的中医理论基础。故本研究选择了以丹参、莪术、三七等数味中药制成的丹莪妇康煎膏。配方中的紫丹参和三七具有改善微循环的作用,莪术、赤芍、三棱、紫丹参具有抗肿瘤、抗炎、解痉止痛和降脂抗栓的作用,当归具有双向调解子宫收缩和抗炎止痛的作用,香附和延胡索具有解热、镇痛和镇静的作用。体外研究表明,丹莪妇康煎膏可使异位内膜上皮细胞萎缩、坏死、腺体缩小<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,与术后给予 EMS 患者丹那唑相比,术后给予丹莪妇康煎膏虽然无法提高症状缓解率和降低复发率,但可明显降低患者术后雌二醇水平及阴道出血、更年期反应等不良反应发生率,且仅有 1 例患者因消化道反应明显较重而终止治疗。

综上所述,与丹那唑相比,腹腔镜手术联合丹莪妇康煎膏治疗 EMS 的疗效相似,不会增加复发率,不良反应发生率低,值得推广应用。

参考文献

[1] 吴春玲. 腹腔镜下卵巢子宫内膜异位囊肿剔除术不同止血方法对卵巢储备功能的影响[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(29):4641-4643.

[2] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2005.

[3] 孙爱军, 薛薇. 不孕患者子宫内膜异位囊肿的手术决策及卵巢功能保护问题[J]. 实用妇产科杂志, 2012, 28(8): 617-619.

[4] 张春娥, 李菊英. 丹莪妇康煎膏治疗子宫内膜异位症疗效观察[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6):1478-1479.

[5] 王蕊, 文巧英, 王兰银. 丹莪妇康煎膏治疗子宫内膜异位症痛经的临床效果观察[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(14):1899-1901.

[6] Guo SW. Recurrence of endometriosis and its control[J]. Hum Reprod Update, 2009, 15(4):441-461.

[7] 张丽. 不同剂量甲氨蝶呤保守治疗异位妊娠临床疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(15):2386-2387.

[8] 朱姝, 温坚. 腹腔镜手术联合达菲林治疗卵巢子宫内膜异位囊肿的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(36): 5848-5849.

[9] 乔海风, 刘曼华, 陶潜. Mmp-9、P53 在子宫内膜异位症组织中的表达及相关性研究[J]. 南通大学学报:医学版, 2009, 29(4):341-343.

[10] 刘莉, 朱新群. 子宫内膜异位症术后加用药物辅助治疗 145 例疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(21):3288-3290.

(收稿日期:2014-02-22 修回日期:2014-05-03)

(上接第 2358 页)

参考文献

[1] 潘贵书, 徐国强, 李淑芳, 等. 海洛因成瘾大鼠模型的建立[J]. 贵阳医学院学报, 1997, 22(增刊):46-47.

[2] 张开镐. 药物依赖性的动物实验方法(一)[J]. 中国药物依赖性杂志, 1999, 8(1):23-26.

[3] Maldonado R, Negus S, Koob GF. Precipitation of morphine withdrawal syndrome in rats by administration of mu delta and kappa selective opioid antagonists[J]. Neuropharmacol, 1992, 26(12):1231-1233.

[4] Wei E, Loh HH, Way EL. Quantitative aspects of precipitated abstinence in morphine dependent rats[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1973, 184(2):398-403.

[5] Gerasimov MR, Ashby CR, Gardner EL, et al. Gamma-vinyl GABA inhibits methamphetamine, heroin, or ethanol-induced increases in nucleus accumbens dopamine [J]. Synapse, 1999, 34(1):11-19.

[6] Elliott K, Minami N, Kolesnikov YA, et al. The NMDA receptor antagonists, LY274614 and MK801, and the nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine, attenuate analgesic tolerance to the mu-opioid morphine but not to kappa opioids[J]. Pain, 1994, 56(1):69-75.

[7] Morris RGM, Garrud P, Rawlins HNP, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions[J]. Nature, 1982, 297(5868):681-683.

(收稿日期:2014-01-22 修回日期:2014-04-17)