

脑内注射谷氨酸、使君子氨酸和卡因酸对中枢作用的比较¹

孙成春, 张士善 (温州医学院药理教研室, 温州 325003, 中国)

Comparison of central effects produced by intracerebral injection of glutamic acid, quisqualic acid, and kainic acid¹

SUN Cheng-Chun, ZHANG Shi-Shan
(Department of Pharmacology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325003, China)

ABSTRACT Icv glutamic acid (Glu), quisqualic acid (QA) and kainic acid (KA) significantly increased spontaneous activity of mice in photocell box, and induced dose-dependent rise of blood pressure in anesthetized rats. Their intensities were arranged in the order of KA > Glu > QA. In mice step-through test Glu 0.1 μ g icv improved learning and memory; KA 1 ng had no evident effect; and QA 0.1 μ g impaired learning and memory, which were also confirmed by step-down test in normal mice. Therefore, the non-NMDA (*N*-methyl-*D*-aspartate) receptor subtype might be different from the NMDA receptor subtype in the action of learning and memory.

KEY WORDS glutamic acid; quisqualic acid; kainic acid; motor activity; blood pressure; intraventricular injections

摘要 用光电管法试验 icv Glu, QA 和 KA 使小鼠自发活动次数增加; 对麻醉大鼠有中枢性依剂量的血压升高, 其作用强度次序为: KA > Glu > QA. 用避暗法 icv Glu 0.1 μ g 改善小鼠学习记忆, KA 1 ng 对其记忆再现无明显影响, QA 0.1 μ g 则损害记忆再现, QA 的作用在小鼠跳台法也予证实. 可见非 NMDA 受体亚型在学习记忆作用上与 NMDA 受体亚型有所不同.

关键词 谷氨酸; 使君子氨酸; 卡因酸; 运动活动; 血压; 脑室内注射

Received 1990 May 3 Accepted 1991 Mar 5
¹ Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 3861216

谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 是哺乳动物中枢广泛存在的一种兴奋性神经递质, 其受体根据激动剂的不同可分为 3 种亚型: *N*-甲基-*D*-门冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartic acid, NMDA) 受体, 使君子氨酸 (quisqualic acid, QA) 受体和卡因酸 (kainic acid, KA) 受体, 后二者常被合称为非 NMDA 受体⁽¹⁾. 对于这些兴奋性氨基酸受体及其亚型在脑内定位分布及其神经毒的研究已有不少报道⁽²⁾, 但其药理作用性质的研究却很少. 本文企图通过受体亚型激动剂及 Glu 药理作用的比较, 阐明各种受体亚型介导的作用. 由于激动剂的强度比较是受体分型的一种经典方法, 所以本文也有助于对亚型的确认.

MATERIALS

昆明种小鼠 326 只, 体重 $22.5 \pm SD 2.5$ g, Wistar 大鼠 49 只, 体重 240 ± 40 g, 雌雄不拘.

L-谷氨酸 (上海试剂三厂), 使君子氨酸 (中国科学院上海药物研究所植物化学研究室提供), 卡因酸 (英国 L Licht & Co.), 均用重蒸馏水的生理盐水配制.

METHODS AND RESULTS

Glu, QA 和 KA 对小鼠自发活动的影响
本实验采用光电管法, 装置为直径 35 cm 高 12 cm 的圆盒, 周边有 3 个光源及与之对应的光电管, 光源分别连接 3 个电子计算器计数. 室温 18-24°C. 小鼠每组 3 只, icv 给药容量 10 μ l, 给药 3-5 min 后放入活动盒, 先熟悉环境 5 min, 记录第二个 5 min 内活动次数. 然后求各组平均值及 SD, 作 *t* 值检验. 以生理盐水对照组的活动次数为 100%, 计算活动

率, Tab 1 表明 Glu icv 0.1, 0.5, 1, 5, 10 μg 均使小鼠自发活动次数增加, 且有量-效关系. QA icv 0.1, 0.5, 1, 5, 10 μg , 除 10 μg 外其余均可使小鼠自发活动次数增加, 作用强度与 Glu 类似且稍弱. KA icv 0.5, 1, 5 ng, 作用比 Glu 强约 100 倍. 如再继续增加剂量至 10 ng 小鼠活动次数明显减少, 10 min 内活动次数在 100 次以下, 用 50 ng, 给药 5 min 后动物表现震颤、竖尾、易惊, 活动次数极少.

Tab 1. Effects of icv glutamate (Glu), quisqualic acid (QA) and kainic acid (KA) on the spontaneous activity in mice. $\bar{x} \pm \text{SD}$, * $P > 0.05$, *** $P < 0.01$.

Drugs	n	Activity / 5 min	Rate (%)
Glu (μg / mouse)			
NS	24	176 \pm 27	100
0.5	12	252 \pm 32***	143
1.0	15	274 \pm 36***	156
5.0	12	331 \pm 35***	188
10.0	12	236 \pm 4***	134
QA (μg / mouse)			
NS	15	244 \pm 17	100
0.1	15	270 \pm 65***	111
0.5	12	330 \pm 13***	135
1.0	15	344 \pm 46***	141
5.0	12	355 \pm 35***	145
10.0	12	229 \pm 25*	94
KA (ng / mouse)			
NS	15	177 \pm 16	100
0.5	21	228 \pm 27***	129
1.0	21	239 \pm 34***	135
5.0	15	258 \pm 15***	146

Glu, QA 和 KA 对麻醉大鼠血压的影响

本实验采用麻醉大鼠直接测压法, 用乌拉坦 25% 1.5 g \cdot kg⁻¹ ip 麻醉, 左侧颈动脉插管, 通过 ZH-3 型血压传感器(贵阳医疗器械厂制造)再连接到 XWT-204 型自动平衡记录仪(上海大华仪表厂生产)描记平均颈动脉压. 大鼠 icv⁽³⁾容量 20 μl , 速度 20 $\mu\text{l} \cdot 15 \text{s}^{-1}$, Glu 和 QA 均用 0.1, 1.0 及 10.0 μg , 可使大鼠动脉

压升高. 给药后血压立即上升, 2 min 内达高峰, 持续 3-5 min 后开始下降, 25-30 min 后恢复正常, 量-效关系明显. KA 用比 Glu 和 QA 小 100 倍的剂量, 分别为 0.001, 0.01, 0.1 μg 也有相同的作用(Tab 2). 若用 1 μg 以上剂量, 给药后血压上升迅速, 平均上升值 $> 8.0 \text{ kPa}$ (60 mm Hg)且不能恢复正常, 维持 in 高血压状态, 直至迅速下降, 大鼠死亡.

Tab 2. Effects of icv glutamic acid (Glu), quisqualic acid (QA) and kainic acid (KA) on blood pressure of rats. $\bar{x} \pm \text{SD}$, *** $P < 0.01$ vs 0.

Drugs (μg / 20 μl)	n	Blood pressure (kPa)			
		Before medication	After medication	Increase	
Glu	0.1	6	17.3 \pm 1.6	21.0 \pm 1.3	3.7 \pm 4.0***
	1.0	5	16.0 \pm 1.4	20.4 \pm 1.2	4.4 \pm 0.6***
	10.0	6	15.7 \pm 2.4	22.2 \pm 2.1	6.5 \pm 0.6***
QA	0.1	6	14.9 \pm 3.0	17.8 \pm 3.1	2.9 \pm 0.7***
	1.0	6	15.8 \pm 1.2	19.6 \pm 1.0	3.8 \pm 0.5***
	10.0	6	15.4 \pm 2.2	21.5 \pm 2.1	6.1 \pm 0.9***
KA	0.001	5	15.1 \pm 2.7	17.7 \pm 2.8	2.6 \pm 0.3***
	0.01	4	15.1 \pm 1.2	19.2 \pm 1.6	4.1 \pm 0.6***
	0.1	5	16.0 \pm 1.8	21.9 \pm 2.7	5.9 \pm 1.1***

Glu, QA 和 KA 对小鼠学习记忆的影响

本实验选用避暗法⁽⁴⁾, 用小鼠穿梭箱改装而成. d 1 训练, 将 5 min 内错误次数为零者剔除, 24 h 后 icv, 5 min 后进行测试, 记录小鼠进入暗间的潜伏期和 5 min 内发生错误的动物数, 然后求潜伏期的平均值及动物错误反应率. 结果 Glu 0.1 μg 可使小鼠潜伏期延长, 与生理盐水对照组相比有显著差异, 说明能促进小鼠记忆再现能力; QA 0.1 μg 则使小鼠潜伏期缩短, 可破坏其记忆力; KA 1 ng 使小鼠潜伏期与对照组相比无显著差别, 对小鼠记忆无明显影响(Tab 3). 大剂量 KA 损害记忆则已有多篇报道. 而 QA 对学习记忆的影响属初次报道, 因此又用跳台法⁽⁵⁾, 于 d 1 训练前 icv QA 0.1 μg , 5 min 后将小鼠放在跳台上,

观察 5 min 内跳下次数, 如果在训练的 5 min 内跳下次数为零者剔除. 24 h 后测试记忆成绩, 即 5 min 内跳下次数称为错误次数, 然后求各组 $\bar{x} \pm SD$, 作 t 值测验. 结果表明生理盐水组 ($n=20$) 和 QA 组 ($n=22$) 训练时错误次数分别为 2.4 ± 1.3 及 3.0 ± 1.3 次 ($P > 0.05$), 24 h 后测试成绩分别为 1.9 ± 1.4 及 3.5 ± 0.8 次 ($P < 0.01$), 与避暗法一致.

Tab 3. Effects of icv 10 μ l Glu, QA and KA on memory of mice in step-through test. $\bar{x} \pm SD$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$.

Drugs (Dose)	n	Latent period (s)	Erroneous rate (%)
NS	15	199 \pm 85	67
Glu (0.1 μ g)	13	259 \pm 59*	46
QA (0.1 μ g)	14	126 \pm 60**	100
KA (1 ng)	14	212 \pm 82*	67

DISCUSSION

Glu 剂量过大可导致动物惊厥, 于惊厥前表现一种称为湿狗效应(wet dog shakes)的症状: 震颤, 竖尾, 活动次数减少, 因而 Glu 10 μ g 时自发活动反少于 5 μ g. Glu 和 KA 均使大鼠血压升高, 由于本实验是在 15 s 内注完, 因而剂量是 Lama⁽⁶⁾报道的 1%. 后者是在 2 min 注完. KA 亚型激动剂, 在小剂量时不影响学习记忆, 而大剂量则为破坏记忆, 但另一亚型激动剂 QA 在与 Glu 同等剂量情况下, 在我们所用两种实验方法中, 也一致表现损害学习记忆的作用, 与 Glu 的作用相反.

Icv Glu, KA 和 QA 对动物自发活动, 血压和学习记忆等 3 种中枢性药理作用表现了不同的效应和强度比, 特别是在学习记忆方面, 表现与前两种效应有截然相反的结果, 提

示非 NMDA 受体亚型在学习记忆上可能与 NMDA 受体亚型有所不同, 即 Glu 的学习记忆促进作用可能是作用于 NMDA 受体亚型所致, 正如 Danysz 等⁽⁸⁾报告 NMDA 受体拮抗剂具有损害记忆的作用. 为进一步证实上述观点, 有必要利用 NMDA 受体亚型激动剂加以证实.

REFERENCES

- 1 Fagg GE. L-Glutamate, excitatory amino acid receptors and brain function. *Trends Neurosci* 1985; 8: 207
- 2 Roberts PJ. Binding studies for the investigation of receptors for L-glutamate and other excitatory amino acids. In: Roberts PJ, Storm-Mathisen J, Johnston GAR, eds. *Glutamate: transmitter in the central nervous system*. Chichester: Wiley & Sons. 1981: 35-54
- 3 Cai NS, Xiao WB, Zhou TC. Effects of an endogenous GABA receptor binding inhibitor on rat blood pressure. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10: 101
- 4 Zheng GT, Wang QZ. Influence of gynosaponin on learning and memory in mice. *J Wenzhou Med Coll* 1988; 18: 6
- 5 Zhang SS, Zhu TJ, Zhang DS, Chen XY. Effects of cerebral GABA level on learning and memory. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10: 10
- 6 Lampa E, Cazzola M, Angrisani M, et al. Cardiovascular effects of intracerebral injections of glutamate and kainate in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9: 252
- 7 Yang FZ, Guo J, Yu QX, Xiao XS. Effects of intraventricular injection of kainic acid on learning and memory behavior in rats. *Nanjing Daxue Xuebao, Ziran Kexue* 1987; 23: 463
- 8 Danysz W, Wroblewski JT, Costa E. Learning impairment in rats by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Neuropharmacology* 1988; 27: 653