

小剂量吗啡对大鼠活动性的影响*

陈晶 胡家芬 董闽田** 杨晓燕 隋南

(中国科学院心理研究所, 北京 100101)

摘要 腹腔注射不同剂量吗啡(8, 4, 2, 1mg/kg/day), 观察各组大鼠在给药后不同时间内的活动性(locomotor activity, LA)。连续给药8天, 每天给药后95min内, 每间隔15min, 记录大鼠5min内在限定空间中所走格数。结果表明: 随吗啡给药剂量或次数增加, LA呈升高趋势; 使大鼠LA明显兴奋的适宜低剂量为4mg/kg/day, 该剂量下每天给药后15—20min LA为峰值, 而且此时段LA逐日升高, 至第8日出现下降趋势。此结果在一定程度上动态地揭示了吗啡剂量、作用时间及其运动效应之间的相互关系。

关键词 吗啡, 活动性, 剂量, 时间, 大鼠。

分类号 R395

1 前言

吗啡(Morphine)是天然阿片类物质的有效提取成分, 作为镇痛药在临床中被广泛应用。基于其反复用药易导致身体和心理依赖(physical and psychological dependence)的特性^[1], 在基础研究中也一直一直被用作成瘾(addiction)的基本工具药。其药理作用如镇静、安眠、镇痛、呼吸抑制、降温等, 是以中枢抑制为主, 但也可兴奋脑内某些核团或运动系统, 可能的机制有赖于吗啡剂量或内源性阿片受体的不同亚型及其相互之间的颞颞作用^[2-4]。尽管目前的研究表明, 边缘中脑多巴胺系统介导的药物渴求(craving)、欣快(euphoria)感等吗啡药理作用与成瘾有直接关系^[1, 5], 但这些倾向于主观感受的作用, 很难直观地体现于动物行为表现中; 在大量动物成瘾实验中, 很少能直接观察到真正意义上的成瘾行为^[6]。因此, 测量与吗啡药理作用相关的行为活动指标如LA可能更为客观, 而且已有研究表明吗啡所致的运动兴奋与其奖赏效应呈正相关^[7, 8]。LA包括走动、直立、理毛等, 而其中走动距离或时间相对比较容易操作, 是更为常用的记录指标^[9-13]。

研究吗啡剂量及其体内过程与行为反应的动态关系, 对研究和对抗吗啡成瘾有重要意义。研究结果已表明: 大剂量阿片类物质或内源性阿片肽都可

使人、大鼠和其它动物出现木僵、环状运动和刻板行为, 甚至导致肌肉强直^[4]。吗啡对运动的影响因剂量不同而不同, 小剂量使活动性增高(hyperactivity), 而大剂量则降低活动性(hypoactivity)^[10]。由我们的实验观察看, 吗啡剂量高至25mg/kg/day以上时, 大鼠活动明显减少, 50mg/kg/day时, 呈静卧状态可长达40分钟。吗啡的中枢抑制作用还影响学习和记忆功能^[14-17], 而成瘾相关的行为训练, 如条件性位置偏爱(conditioned place preference, CPP)、自身给药(self-administration, SA)等, 都有赖于大鼠基本的学习记忆功能和行为能力的保持。因而探讨不同小剂量吗啡对大鼠LA的影响及其时间变化规律, 可能为CPP及SA训练提供有意义的剂量、时程及行为效应参数, 并可为进一步探索对抗吗啡作用的有效药物或方法开辟新的途径。

2 材料与方方法

2.1 实验动物 雄性Wistar大鼠(北京医科大学动物房提供), 实验起始体重 160 ± 30 g, 共30只, 随机匹配分成4个吗啡剂量组、1个生理盐水(normal saline, NS)对照组, 每组6只。整个实验期内摄食饮水自由, 保持自然昼夜节律。全部行为测试均在8:30am—12:30am之间完成。

本文初稿收到日期: 1999-04-12, 修改稿收到日期: 1999-06-10。

* 中科院生物科学和技术特别支持费(STZ97-2-09)、国家自然科学基金(39970256)。

** 福建漳州175医院神经内科。

2.2 药品及实验装置 4个实验组腹腔注射盐酸吗啡(morphine hydrochloride, MH, 青海制药厂生产), 剂量分别为 8、4、2、1mg/kg/day。MH 以 NS 稀释为 2.5、1.25、0.63、0.31mg/ml 不同相应浓度, 使各 MH 组注射容量均为 3.2ml/kg/day。对照组 NS 注射容量也为 3.2ml/kg/day。LA 测试装置为参照国外文献^[10]自行设计的 40 × 40 × 25cm³无顶木箱, 底部划分为 16 个同等大小方格(10 × 10cm²)以记录大鼠走动距离。

2.3 实验程序 适应训练及分组: 为避免大鼠在新颖环境中的探究反射对 LA 的影响, 于用药前 1 天将 50 只大鼠分别放入实验箱 5min × 2 次, 间隔 60min, 使之熟悉实验环境, 同时记录每次大鼠于实验箱中 5min 内走动格数。大鼠均从实验箱中心点入箱, 四肢连续沿走动方向移动一格或相当于一格距离则计数为一格, 以秒表计时。依据每只大鼠平均成绩划分 LA 等级(60~80 格/5min; 40~59 格/5min; 30~39 格/5min; < 30 格/5min 剔除)并匹配分组, 随机设定 MH 组和对照组。

用药后 LA 变化趋势测试: 分别在给药后 15、30、45、60、75、90min 时, 将大鼠放入实验箱, 记录其在 5min 内所走格数。每天注射剂量不变, 连续测试 8 天。

2.4 数据处理 采用 SPSS 软件包, 对相同条件下各实验组与对照组间进行 One-way ANOVA 检验, 两组间采用独立样本 t 检验。

3 结果

3.1 各组日 LA 变化趋势及比较

为寻找 MH 剂量与其运动效应之间的关系, 以每天 6 次测试结果的均数代表日 LA(见图 1), 可见随 MH 剂量增加, LA 曲线呈上移趋势。检验结果显示, 各测试日组间比较均有显著差异(见表 1)。第 1 日测试中只有 4mg/kg/day 组 LA 值高于对照组, 其余都低于或近似于对照组, Post Hoc 检验显示 4mg/kg/day 组分别与 8、2mg/kg/day 组有差异(前者 P = 0.011; 后者 P = 0.006), 但各实验组与对照组间无统计学差异(见图 2)。第 2 至 8 日 8、4mg/kg/day 组 LA 均显著高于对照组, 2mg/kg/day 组只在第 2、5、6 日有差异, 而 1mg/kg/day 组各测试日与对照组均无差异。因此 4mg/kg/day 为本实验条件下 LA 显著高于对照组的最小 MH 剂量, 而且随给药次数增多, LA 随剂量增加而增高的趋势更加明显。

3.2 4mg/kg/day MH 组每天各时段 LA 变化趋势

进一步分析最宜剂量 4mg/kg/day 组每天给药后 LA 的时间变化趋势, 如图 3 所示: 在此剂量下, 随给药天数增加, LA 时间变化曲线有上移趋势; 每天给药后 LA 随时间变化的趋势基本一致, 最高峰均在每次给药后 15—20min, 30—35 下降明显, 40—45 下降趋势变缓或略呈增加趋势, 60—80 继续轻微上升或略有下降, 90—95 时最低或接近最低。对照组每日 LA 高峰也在 15—20min, 15—50min 呈下降趋

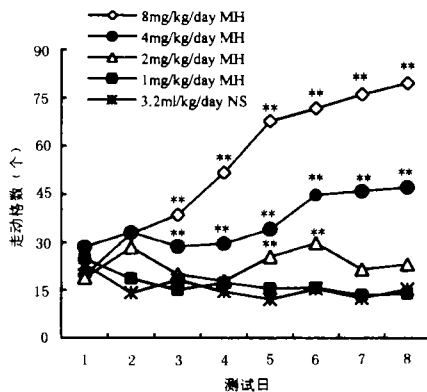


图1 大鼠在不同剂量MH或NS连续8天作用下每日所走格数比较

注: ** P<0.01, 第1、2日比较结果另见图2.

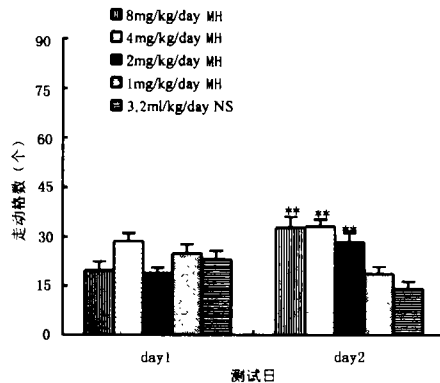


图2 第1、2测试日各组大鼠走动格数比较 (mean±S.E.)

注: ** P<0.01.

表1 每一测试日各MH组及对照组间大鼠平均走动格数比较结果

测试日	1	2	3	4	5	6	7	8
F(4, 175)值	2.61	11.90	13.91	22.72	40.90	55.27	50.56	81.15
P值	<0.05	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

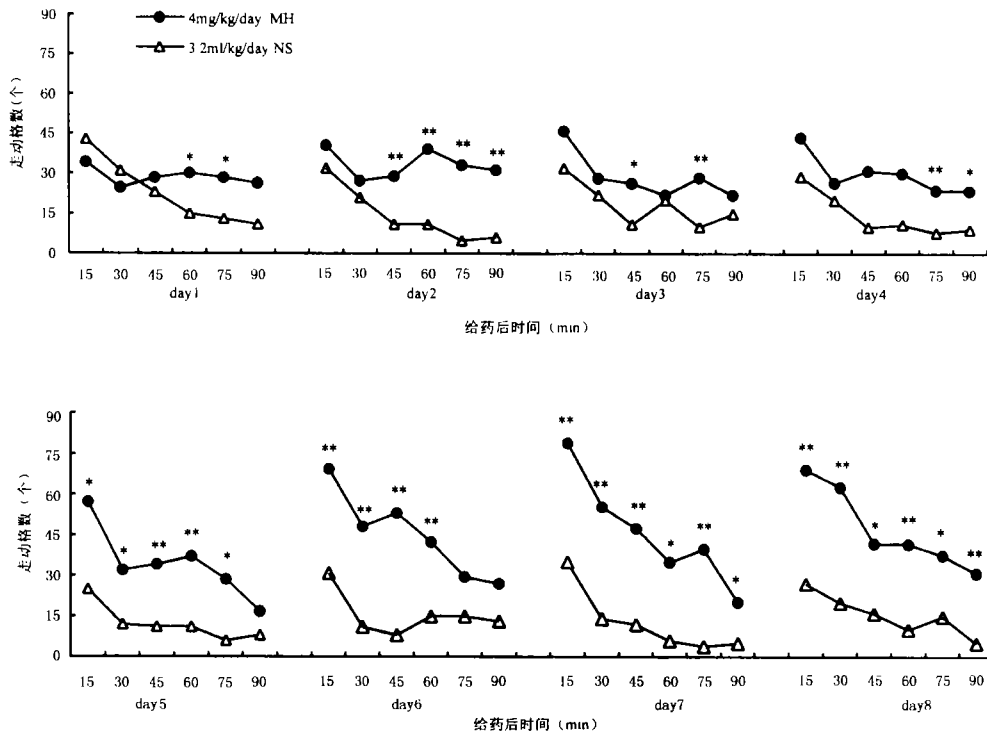


图3 4mg/kg/day MH组与对照组每天给药后各时段LA变化趋势及比较

注: * P<0.05; **P<0.01

势,之后下降缓慢或趋于平稳,但变化幅度较小,随给药天数增加,曲线无上移。

3.3 4mg/kg/day MH组给药后LA高峰8天变化趋势

在了解本实验条件下使LA明显兴奋的最宜剂量及每日LA高峰所在时段基础上,分析LA高峰8天中变化趋势并与对照组比较。如图4所示:4mg/kg/day组高峰时段LA前7天持续增加,第8日出现下降趋势,第5—8日与对照组间有显著差异。

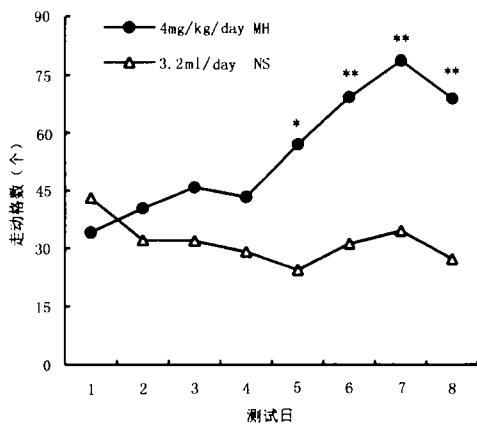


图4 4mg/kg/day MH组及对照组每天给药后LA高峰(15—20min)8天变化趋势

注: * P<0.05; ** P<0.01

4 讨论

本实验所测的吗啡作用下大鼠LA包括随机活动和与剂量相关的吗啡运动行为药理作用,实验时对走动格数、直立、修饰等活动均做了记录,因为统计时发现以走动格数和以各项活动数目总和为指标的结果一致,所以只选用相对可以严格定量的走动格数作为统计指标。结果表明:第1天各MH组LA与对照组无差异,如图3所示,对照组第1天给药后头三个时相的LA明显高于后7天,可能因为仍有一定程度的探究行为,而影响统计结果。此现象可通过在每天给药前进行一定时间的预适应来加以控制,并可借此观察给药间隔对LA的影响。第2至8日结果均说明,本实验条件下4mg/kg/day为使大鼠LA保持兴奋的最小适宜剂量,该剂量下每日LA最高峰均在给药后15—20min。据此, CPP及SA等行为实验所用吗啡剂量可能以4mg/kg/day左右的低剂量为宜,训练可在给药后20分钟内进行。Bardo等^[18]针对CPP模型所做的元分析(meta-analysis)显示,吗啡剂量在1—10mg/kg/day范围内,作为成瘾表现的位置偏爱更为明显,而且给药后训练时间短于20分钟或长于45分钟均好于25至30分钟。本实验结果与此相符,表明一定程度的LA兴奋性可

能与大鼠更为明显的位置偏爱表现有关,此结果支持了啡所致运动兴奋与其奖赏效应呈正相关的结论。

本实验中,不同剂量吗啡作用下大鼠 LA 除第一天外均为 8mg/kg/day 组 > 4mg/kg/day 组 > 2mg/kg/day 组,而且 8、4mg/kg/day MH 组与对照组间差异随给药次数增加而更为明显,表现出明显的剂量效应关系。4mg/kg/day MH 组 8 天中每次给药后 LA 时间变化趋势基本一致,表明 LA 曲线可以稳定地反映啡运动效应,而且该组 LA 时间变化曲线也明显随给药次数增加而上移。本实验测得啡作用下大鼠 LA 8 天中一致而稳定的剂量、时间、运动效应变化规律,表明以走动距离为代表的 LA 指标能够可靠而敏感地反映啡的整体行为药理作用,此结果在一定程度上动态地揭示了啡剂量、作用时间及其运动效应之间的相互关系。

以往啡相关行为实验中因考虑其耐药性^[1,19,20]的影响,有的采用递增剂量给药方法^[21]。由对本实验 4mg/kg/day MH 组 LA 高峰 8 天变化趋势的分析可见,其在前 7 天内持续升高,第 8 日虽然出现下降趋势,但仍然与对照组间有显著差异,提示大鼠在同一剂量啡持续作用一周之后仍无耐药性产生。根据此结果, CPP、SA 或 LA 等模型中如采用适宜低剂量可不考虑给予递增剂量。

LA 实验方法最初用于研究细胞兴奋性,进而扩展至整体运动行为,简便直观而且客观,易于操作、记录和比较,在中枢兴奋剂如苯丙胺,及以抑制作用为主的药物如啡等的相关研究中都有应用^[9,11-13,22,23]。这一方法的突出优点在于它可在整体条件下定量统一地研究药物体内过程与行为药理反应的动态规律,而且可以研究药物与其作用相关因素或其它药物之间的协同或对抗作用关系,分析作用机制或寻找干预手段,因此,对研究和对抗致瘾药的药效和寻找对抗方法有重要意义。

参 考 文 献

- Self D W, Nestler E J. Molecular mechanisms of drug reinforcement and addiction. *Annual Reviews of Neuroscience*, 1995, 18:463—495
- 姜佐宁, 万文鹏. 药物滥用. 科学出版社, 1992. 64—65
- Martin W R. Pharmacology of opioids. *Pharmacological Reviews*, 1984, 15(4):283—323
- Gilman A G, et al. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapies. New York: Pergamon. 1996. 529—530
- Koob G F, Moal M L. Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*, 1997, 278(3):52—58
- Piazza P V, Moal M L. The role of stress in drug self-administration. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1998, 19:67—74
- Spanagel B, Barden N, et al. Morphine-induced locomotor and neurochemical stimulation is enhanced in transgenic mice with impaired glucocorticoid receptor function. *The Journal of Neuroendocrinology*, 1996, 8:93—97
- Wise R A, Bozarth M A. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Reviews*, 1987, 94:469—492
- Hooks M S, Jones G H, et al. Individual differences in amphetamine sensitization: dose-dependent effects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1991, 41:203—210
- Bechara A, Kooy D V D. Lesions of the tegmental pedunculopontine nucleus: effects on the locomotor activity induced by morphine and amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1992, 42:9—18
- Shoaib M, Spanagel R, et al. Strain differences in the rewarding and dopamine-releasing effects of morphine in rats. *Psychopharmacology*, 1995, 117:240—247
- Marinelli M, Aouizerate B, et al. Dopamine-dependent responses to morphine depend on glucocorticoid receptors. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*, 1998, 95:7742—7747
- Schiltein S, Agmo A, et al. Intraaccumbens injections of substance P, morphine and amphetamine: effects on conditioned place preference and behavioral activity. *Brain Research*, 1998, 790:185—194
- 韩济生. 神经科学纲要. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993. 729—731
- Ewan C M, Paul E G. Memory modulation across neural systems: intra-amygdala glucose reverses deficits caused by intraseptal morphine on a spatial task but not on an aversive task. *The Journal of Neuroscience*, 1998, 18:3853—3858
- Ragozzino M E, Wenk G L, et al. Glucose attenuates a morphine-induced decrease in hippocampal acetylcholine output: an in vivo microdialysis study in rats. *Brain Research*, 1994, 655:77—82
- Saha N, Datta H, Sharma P L. Effects of morphine on memory: interactions with naloxone, propranolol and haloperidol. *Pharmacology*, 1991, 42:10—14
- Bardo M T, Rowlett J K, Harris M J. Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1995, 19(1):39—51
- Nestler E J, Hope B T et al. Drug addiction: a model for the molecular basis of neural plasticity. *Neuron*, 1993, 11:995—1006
- Nestler E J, Aghajaniann G K. Molecular and cellular basis of addiction. *Science*, 1997, 278(3):58—63
- Blander A, Hunt T, et al. Conditioned place preference: an

- evaluation of morphine's positive reinforcing properties. *Psychopharmacology*, 1984, 84:124—127
- 22 Gaytan O, Swann A, Dafny N. Time-dependent differences in the rat's motor response to amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1998, 59(20):459—467
- 23 Stohr T, Wermeling D S, et al. Rat strain differences in open-field behavior and the locomotor stimulating and rewarding effects of amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1998, 59(4):813—818

THE EFFECTS OF LOW DOSE MORPHINE ON LOCOMOTOR ACTIVITIES IN RATS

Chen Jing Hu Jiafen Dong Mintian* Yang Xiaoyan Sui Nan

(*Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101*)

Abstract

The locomotor activities (LA) of rats were tested every 15 mins for 95 mins after morphine injected intraperitoneally with 8, 4, 2, 1mg/kg/day respectively once a day during the 8-day experiment, and the number of squares ($10 \times 10 \text{ cm}^2$) which the rats passed by in 5 mins were recorded. Results showed that there were significant differences between the groups treated with 8 or 4mg/kg/day of morphine and normal saline on day2-8, and between the groups with 2mg/kg/day of morphine and the control group on day2, 5 and 6. Thus 4mg/kg/day was the most suitable low dose of morphine for activating LA. The peak effect of 4mg/kg/day of morphine was at 15—20 mins after injection, and it kept going up for 8 days. It was suggested that low dose of morphine may be more suitable for related behavioral effects such as those of conditioned place preference or self-administration, and the best time course for training tasks may be within 20 min after the rats were exposed to morphine.

Key words rats, low dose morphine, locomotor activity.

* the 175th Hospital in Fu Jian province.