

[论著]

诺米芬新对慢性吗啡处理后小鸡自发活动量的影响^{*}

肖琳 谭北平 隋南^{**}

(中国科学院心理研究所心理健康重点实验室,北京,100101)

摘要 目的:探求吗啡对刚出生的小鸡自发活动量的影响以及行为敏感化的多巴胺神经机制。方法:连续7 d每天给予小鸡 ip 不同剂量的吗啡(5、10、20 mg·kg⁻¹),观察其行为敏感化效应,撤药3 d后观察多巴胺转运体阻断剂诺米芬新(0.5、1 mg·kg⁻¹)的干预效果。结果:反复给药后,5 mg·kg⁻¹吗啡显著增加小鸡的自发活动量($P < 0.05$, $P < 0.01$),而且其自发活动量随给药次数的增多而不断增高;20 mg·kg⁻¹吗啡则明显降低小鸡的自发活动量($P < 0.05$)。诺米芬新呈剂量依赖性增加5 mg·kg⁻¹组小鸡的自发性活动量($P < 0.05$)。结论:反复小剂量吗啡处理能够导致鸟类行为敏感化效应,多巴胺可能在其中起重要作用。

关键词 行为敏感化;吗啡;小鸡;多巴胺;诺米芬新

EFFECTS OF NOMIFENSINE ON LOCOMOTOR SENSITIZATION IN CHICKS PRETREATED WITH MORPHINE

XIAO Lin, TAN Beiping, SUI Nan

(Mental Health Key Laboratory, Institute of Psychology, CAS, Beijing, 100101)

ABSTRACT *Objective*: To investigate the locomotor stimulant effect of morphine on newly hatched chicks and the role of dopaminergic mechanisms in opioid-induced locomotor sensitization. *Methods*: Newly hatched male chicks were administrated morphine of various doses (5, 10, 20 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ip) for 7 days and 3 days after cessation of treatment challenged with dopamine reuptake blocker nomifensine (0.5, 1 mg·kg⁻¹, ip). *Results*: Repeated administration of 5 mg·kg⁻¹ morphine significantly elicited progressive locomotor activity relative to saline ($P < 0.001$) while 20 mg·kg⁻¹ induced a behavioral depression ($P < 0.05$). The locomotor responses to the dopamine reuptake blocker nomifensine were also dose-dependently sensitized in chicks pre-exposed to 5 mg·kg⁻¹ morphine ($P < 0.05$). *Conclusion*: Behavioral sensitization to effects of morphine may be highly conserved across species, which supports the possibility that the increased dopaminergic activity is involved in the development of behavioral sensitization to morphine.

KEY WORDS behavioral sensitization; morphine; chick; dopamine; nomifensine

敏感化是反复使用成瘾药物之后,药物的精神活性、奖赏和强化等效应的增强^[1]。通常使用动物的自发活动量(locomotor activity, LA)对敏感化效应进行评估,即行为敏感化^[1]。近年的研究表明,行为敏感化和成瘾者的一些特征性行为相联系,如对药

物的渴求,强迫性的用药行为以及不断的复吸^[2]。但是对行为敏感化的中枢调节机制并不十分清楚。一些研究认为行为敏感化是由与药物奖赏作用关系密切的中脑多巴胺(dopamine, DA)系统所介导^[3],也有证据表明在行为敏感化与DA系统敏感化之间没有时间上的关联^[1,2]。因此探讨DA系统在药物精神运动刺激效应中的作用已成为药物滥用研究中的热点。

在药物成瘾的研究中常用哺乳类如猴子、大鼠等实验动物。相比之下,对鸟类的研究比较少。但

^{*} 国家自然科学基金(30170324, 30230130)、中国科学院知识创新工程项目(KSCXZ-2-03, KSCX2-SW-204-02)

^{**} 通讯作者,电话:010-64860858 传真:010-64857369; Email: suin@psych.ac.cn

鸟类有其自身的优越性,如小鸡的成本低,易于操作和饲养管理,颅骨薄,脑内注射方便等。因此本研究将探求建立小鸡的行为敏感化模型,观察吗啡剂量与小鸡自发活动量的动态变化关系,并探讨行为敏感化的 DA 机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物

京白 939 一日龄小鸡 37 只,起始体重 $40 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$,健康活泼,购自北京市种禽公司,在不锈钢笼 (40 cm \times 20 cm \times 40 cm) 内饲养,每笼 4 只。控制室温为 30 ± 2 ,湿度为 $60\% \pm 5\%$,保持光照节律 (7:00 - 19:00 照明)。自由饮水,每日早、中、晚给食 3 次。

1.2 试验药物

盐酸吗啡 (morphine hydrochloride, MH) 粉剂,青海制药厂生产 (青卫药准字 (1995) 第 0113 号) 和诺米芬新 (nomifensine maleate salt, Sigma 公司,美国) 溶于 0.9% 的生理盐水中。

1.3 试验装置

LA 实验系统由 8 个有机玻璃的实验箱 (每个 26 cm \times 28 cm \times 45 cm) 和悬挂在实验箱正上方的摄像头以及与之相连的计算机组成 (自研)。摄像头同时追踪每个实验箱中动物的水平活动距离。数据由计算机自动收集。

1.4 试验程序

小鸡随机分为 3 个实验组和 1 个对照组 (每组只数见图 1)。首先对所有小鸡进行 90 min 基础活动量测试,然后连续 ip 吗啡 7 d,3 个实验组的吗啡剂量分别是每天 5、10、20 mg \cdot kg⁻¹,同时每天给予对照组 2 ml \cdot kg⁻¹ 的生理盐水。在用药的 d1、3、5、7,小鸡 ip 吗啡后立即监测 90 min 的 LA;在用药的 d2、4、6 所有小鸡均在饲养的笼子中给吗啡或生理盐水,不监测 LA。用药 7 d 后,撤药 3 d,先分别对 5 mg \cdot kg⁻¹ 吗啡组和对照组记录 90 min 的 LA,然后给两组小鸡 ip 诺米芬新 0.5 mg \cdot kg⁻¹ 立即监测 90 min 的 LA,24 h 后再重复一次实验,但注入诺米芬新的剂量为 1 mg \cdot kg⁻¹。

1.5 数据分析

监测 90 min 内动物的水平活动距离由计算机自动收集,被记做象素 (象素越大表示动物的水平活动距离越大)。15 min 为一个时间段。采用 SPSS 10.0 for Windows 统计软件包。对于 LA 变化的分析用多元方差的重复测量。显著性检验采用独立样本

t 检验。

2 结果

2.1 不同吗啡剂量组 LA 变化趋势

以每次 90 min 测试结果的总数代表相应测试日的 LA。各组 LA 的基线没有显著性的差异 ($P > 0.05$),用药 d1 各剂量吗啡对小鸡 LA 均有降低作用,但只有 20 mg \cdot kg⁻¹ 吗啡组与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05$)。随着给药天数的增加,与对照组相比,5 mg \cdot kg⁻¹ 吗啡组在用药 d3、d5、d7 的 LA 有显著性的增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),而且 LA 随着给药次数增加而有不断增高的趋势 (d3:增加了 121.29%; d5:增加了 126.44%; d7:增加了 132.94%)。和对照组相比,20 mg \cdot kg⁻¹ 的吗啡剂量则明显降低了小鸡的 LA (d5:降低了 41.83%; d7:降低了 55.77%)。见图 1。

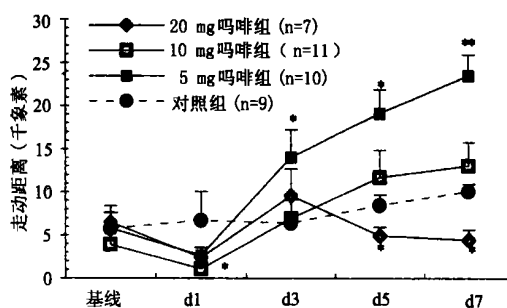


图 1 不同剂量的吗啡对小鸡 LA 的作用
注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较

2.2 5 mg \cdot kg⁻¹ 吗啡组每天各时段 LA 变化趋势

进一步分析 5 mg \cdot kg⁻¹ 吗啡组测试日给药后的时间变化趋势,如图 2 显示,与对照组相比,连续给药 2 d 后 LA 开始增加。有显著性差异的时间段分别是 d 3:90 min 时增加了 543.52%; d 5:15 min 时增加了 72.69%,75 min 时增加了 349.18%,90 min 时增加了 187.73%; d 7:45 min 时增加了 418.50%,60 min 时增加了 373.47%,75 min 时增加了 302.17%,90 min 时增加了 649.14%。

2.3 诺米芬新对吗啡处理后小鸡 LA 的作用

戒断 3 d 后,5 mg \cdot kg⁻¹ 吗啡组和注射生理盐水后对照组的 LA 没有显著性差异 ($P > 0.05$)。然后注射不同剂量的诺米芬新,与各自对照组 LA 相比,注射 0.5 mg \cdot kg⁻¹ 诺米芬新后吗啡组 LA 增加了 186.44%,对照组 LA 增加了 52.46%;注射 1 mg \cdot kg⁻¹ 诺米芬新后吗啡组 LA 增加了 442.73%,对

照组 LA 增加了 126.73%,在此剂量下诺米芬新对

吗啡组 LA 的增加尤为明显 ($P < 0.05$), (见表 1)。

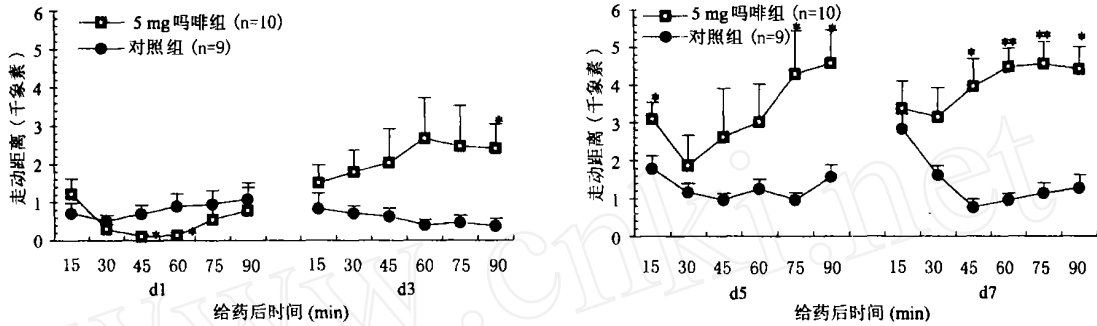


图2 每天 5 mg · kg⁻¹吗啡组 LA 的变化趋势

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较

表 1 诺米芬新对吗啡处理后小鸡 LA 的作用

药 物	运动距离(万象素, $\bar{x} \pm s$)	
	对照组 ($n=9$)	吗啡组 ($n=10$)
诺米芬新($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
0	10.45 \pm 3.77	7.68 \pm 4.97
0.5	15.93 \pm 11.03	22.00 \pm 8.68
1	23.68 \pm 11.29	41.69 \pm 23.07*

* $P < 0.05$, 与对照组比较

3 讨论

吗啡对运动的影响因剂量不同而不同,小剂量增加活动性 (hyperactivity), 大剂量则抑制活动性 (hypoactivity)^[4]。本研究也表明大剂量 (20 mg · kg⁻¹) 吗啡对小鸡的活动有抑制作用 ($P < 0.05$), 而小剂量 5 mg · kg⁻¹ 吗啡能显著增加小鸡的 LA ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并随给药次数的增加 LA 呈不断上升的趋势, d7 增加了 132.94%。由此可见,反复使用 5 mg · kg⁻¹ 吗啡能诱导出小鸡的行为敏感化。以前我们的研究表明 4 mg · kg⁻¹ 为使大鼠 LA 保持兴奋的最小适宜剂量,在该剂量下,每天给药后 15 - 20 min 达到 LA 的最高峰^[5]。与大鼠比较,小鸡每天给药后 LA 随时间变化的趋势并不一致, d3 时曲线最高峰出现在 60 min; d5 时出现在 75 min; d7 时出现在 60 min。但与对照组有显著性差异的时间段则随给药天数的增加不断前移。在 d7 时,给药后 45 min 出现与对照组的显著性差异。

虽然在药物成瘾的研究中常用哺乳类动物,但有研究表明成瘾药物的作用在其它较低等的生物中也有体现。吗啡在新出生的小鸡中能诱导出

CPP^[6];可卡因可以建立鸽子的自身给药^[7],也能诱导出鹌鹑的 CPP 及行为敏感化^[8]。斑马鱼 (zebrafish) 可以形成酒精依赖和可卡因诱导的 CPP,近年来已被运用于成瘾的基因研究中^[9,10]。本实验也证实了在新出生的小鸡上可以建立吗啡诱导的行为敏感化。这说明成瘾药物有广泛的生物学基础。这可能与成瘾药物作用的中枢部位有关。大量研究表明脑内存在奖赏系统 (rewarding system),它是生物体在不断适应外界环境,维持机体存活及种族繁衍的进化过程中形成的,所有天然的奖赏性刺激(如食物,性等)都是通过作用于这个系统而引起奖赏效应,而成瘾性药物也直接或间接通过兴奋这个系统产生强烈的欣快感,而引发“心瘾”^[11]。中脑腹侧被盖区 (ventral tegmental area, VTA) 到伏核 (nucleus accumbens, NAc) 的 DA 能投射是多种成瘾物质引起奖赏效应的共同通路。另外的研究表明,在鸟类与哺乳动物脑内,DA 系统中突触前后的基本特征是相似的,鸟类的 DA 系统有与哺乳动物相同或相似的受体亚型,而且这些受体亚型的分布区域都与哺乳动物的类似^[12]。如在鸟类和哺乳动物内的纹状体内都发现存在 DA 的 D1 和 D2 类型的受体分布^[13]。这些神经解剖学的证据表明,虽然鸟类与哺乳动物的中枢神经系统在进化上不同,但是它们可能有共同的成瘾生物学机制。

在本研究中,与盐水对照组相比,1 mg · kg⁻¹ 诺米芬新显著增加了吗啡处理组小鸡的 LA ($P < 0.05$)。这说明慢性吗啡处理可以导致小鸡脑内 DA 神经系统的敏化。这与另外一些研究的结果相符,如 DA 受体激动剂阿朴吗啡能明显增加吗啡敏化后的小鼠的活动量^[14]; DA 转运子拮抗剂 GBR - 12909 能显著增加吗啡或苯丙胺处理后的大

鼠的活动量^[15]。但有研究表明慢性可卡因注射后引起行为敏感化,而并不伴随中脑 DA 水平的升高;而且,DA 受体拮抗剂并不能阻断吗啡行为敏感化的形成^[1,2]。对此的合理解释是,虽然成瘾药物引起的行为敏感化有脑内的 DA 系统的参与,但它并不是行为敏感化形成的唯一原因。与 DA 系统相互作用的其他神经递质系统,如阿片肽、谷氨酸、5-羟色胺

等,也可能参与成瘾药物精神运动兴奋性的形成。这需要进一步的研究探讨。

总之,本实验研究表明反复给予小剂量吗啡能对刚出生小鸡形成行为敏感化,而且吗啡的这种运动刺激作用可能部分是由脑内 DA 神经系统的敏化所导致。由于鸟类与哺乳动物相比有很多优越性,因此,鸟类能够成为药物成瘾研究中另外一种合适的模型。

4 参考文献

- Spanagel R. Modulation of drug-induced sensitization processes by endogenous opioid systems[J]. Behav Brain Res, 1995, 70: 37 - 49
- Powell KR, Holtzman SG. Parametric evaluation of the development of sensitization to the effects of morphine on locomotor activity[J]. Drug Alcohol Depend, 2001, 62: 83 - 90
- 罗小景, 隋南. 成瘾药物诱导的行为敏感化及其中枢调节机制[J]. 中国药物依赖性杂志, 2001, 10(3): 164 - 167
- Babbini M, Davis WM. Time-dose relationships for locomotor activity effects of morphine after acute or repeated treatment[J]. Br J Pharmacol, 1972, 46: 213 - 224
- 陈晶, 胡家芬, 杨小燕, 等. 小剂量吗啡对大鼠活动性的影响[J]. 心理学报, 2000, 32(3): 296 - 300
- Bronson ME, Wages TD, Beddingfield T, et al. Morphine, MDMA, and nucleus accumbens produce a conditioned place preference in newly hatched chickens[J]. Exp Clin Psychopharmacol, 1996, 4: 352 - 362
- Winsauer PJ, Thompson DM. Cocaine self-administration in pigeons[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1991, 40: 41 - 52
- Levens N, Akins CK. Cocaine induces conditioned place preference and increases locomotor activity in male Japanese quail[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2001, 68: 71 - 80
- Gerlai R, Lahav M, Guo S, et al. Drinks like a fish: zebra fish (Danio rerio) as a behavior genetic model to study alcohol effects[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2000, 67(4): 773 - 782
- Darland T, Dowling JE. Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish[J]. PNAS, 2001, 98(20): 11691 - 11696
- Robbins TW, Everitt BJ. Drug addiction: bad habits adds up[J]. Nature, 1999, 398: 567 - 570
- Durstewitz D, Kröner S, Güntürkürk O. The dopaminergic innervation of the avian telencephalon[J]. PIN, 1999, 59: 161 - 196
- Sun ZQ, Reiner A. Localization of dopamine D1A and D1B receptor mRNAs in the forebrain and midbrain of the domestic chick. J Chem Neuroanatomy[J], 2000, 19: 211 - 224
- Kim HS, Jang CG, Park WK. Inhibition by MK-801 of morphine-induced conditioned place preference and postsynaptic dopamine receptor supersensitivity in mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1996, 55: 11 - 17
- Vanderschuren LJMJ, Schoffelmeer ANM, Mulder AH, et al. Dopaminergic mechanisms mediating the long-term expression of locomotor sensitization following pre-exposure to morphine or amphetamine[J]. Psychopharmacology, 1999, 143: 244 - 253

收稿日期: 2003 - 01 - 08

修回日期: 2003 - 03 - 14

《药物流行病学杂志》2004 年征订启事

《药物流行病学杂志》由中国药学会主办。该刊为医药科研、生产、经营、使用和管理等方面全面提供对药物有效性、安全性、经济性、适用性的评价信息。1992 年创刊, 双月刊, 为科技部中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊, 且为国内许多大型检索数据库和《国际药学文摘》收录。设有“述评”“药效评价”“药物不良反应与安全用药”“药物利用”“国外进展”“药物经济学”“方法资源”“讲座论坛”和“病例报道 病案分析”等栏目, 由药物流行病学杂志社编辑出版, 大 16 开本, 56 页码, 印刷装帧精良。每期定价 5 元, 全年 30 元。国内统一刊号: CN42 - 1333/R, 邮发代号 38 - 187。欢迎广大读者到当地邮局订阅, 漏订者可直接向编辑部补订。地址: 湖北省武汉市兰陵路 2 号药物流行病学杂志编辑部。邮编: 430014, 电话: (027) 82778580, 82835077, 82782449。电子信箱: acjpe077@public.wh.hb.cn, ywlxbzz@periodicals.net.cn。网址: http://www.cjpe.com.cn。现有少量近年杂志的精装合订本, 欲购者请与编辑部联系。