

干预措施对精神依赖药物成瘾生理生化机制的影响

俞发荣¹, 李建军¹, 俞鑫², 连秀珍¹, 谢明仁^{1*}, 李登楼¹

(1. 甘肃政法学院 甘肃省证据科学技术研究与应用重点实验室, 兰州 730070)

2. University of Southern California, Los Angeles 90033, USA)

【摘要】 目的 探讨干预措施对精神依赖药物(海洛因)成瘾生理生化机制的影响。**方法** 连续给予 Wistar 大鼠海洛因 135 mg/kg 14 d, 建立海洛因成瘾大鼠模型, 或给予利血平 2.5 mg/kg 后再给予海洛因, 观察利血平对海洛因成瘾的干预作用。用酶联免疫吸附法(ELISA)检测大鼠血液中去甲肾上腺素(NA)、环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)和脑组织中氨基丁酸(GABA)、多巴胺(DA)含量。**结果** 大鼠海洛因组和利血平组血液中 cAMP 水平比对照组分别升高了 18.87% 和 35.27%, cGMP 水平降低了 10.15% 和 17.69%; 海洛因组 NA 水平比对照组升高了 34.05%, 利血平组降低了 45.34%; 海洛因组大脑额叶皮质(PFC)、伏隔核(NAc)、丘脑(thalamus)和杏仁核(amygdala) GABA 水平比对照组分别降低了 36.55%、40.35%、42.34%、45.76% ($P < 0.01$), 利血平组分别升高了 31.06%、25.91%、49.32%、17.97% ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 海洛因组和利血平组 DA 水平比对照组分别升高了 82.83%、68.19%、87.26%、82.46% ($P < 0.01$) 和 8.79%、19.06%、21.65%、19.49% ($P < 0.05$)。给予海洛因和利血平后, 大鼠的脑电图、心电图的频率均出现了明显的差异。**结论** 去甲肾上腺素和多巴胺是体内引起海洛因成瘾的影响因素, 利血平使去甲肾上腺素耗竭, 干预了海洛因成瘾的生化过程。

【关键词】 海洛因; 成瘾; 利血平; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 06-0799-05

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.06.020

Effects of intervention on the physiological and biochemical mechanisms of psycho-dependent drug addiction

YU Farong¹, LI Jianjun¹, YU Xin², LIAN Xiuzhen¹, XIE Mingren^{1*}, LI Denglou¹

(1. Gansu Institute of Political Science and Law Key Laboratory of Evidence of Science and Technology Research and Application, Lanzhou 730070, China. 2. University of Southern California, Los Angeles 90033, USA)

Corresponding author: XIE Mingren. E-mail: xmr7600@gsli.edu.cn

【Abstract】 Objective To study the effects of intervention on physiological and biochemical mechanism of psycho-dependent drug(heroin)addiction. **Methods** The rat models of heroin addiction were established by treated with heroin 135 mg/kg to Wistar rats for 14 days, or treated with reserpine 2.5 mg/kg and then heroin, and the intervention effect of reserpine on heroin addiction was assessed. Levels of noradrenaline (NA), adenosine cyclophosphate (cAMP), guanosine cyclophosphate (cGMP) and hydroxybutyric acid (GABA), dopamine (DA) in blood and brain tissue of rats were

【基金项目】 甘肃省自然科学基金项目(17JR5RA158), 甘肃省高校科技创新团队项目(2016C-09), 兰州市科技计划项目(2015-3-80), 兰州市人才创新创业项目(2016-RC-85)。

Funded by Gansu Natural Science Foundation Project (17JR5RA158), Gansu University Science and Technology Innovation Team Project (2016C-09), Lanzhou City Science and Technology Plan Project (2015-3-80), and Lanzhou City Talent Innovation and Entrepreneurship Project (2016-RC-85).

【作者简介】 俞发荣(1959—)男, 博士, 研究员, 研究方向: 法医生物学、社会环境压力对人类健康的影响、药理学和毒理学实验及实验动物学。Email: tim9898@163.com

【通信作者】 谢明仁(1977—), 男, 副教授。研究方向: 证据科学技术。Email: Xmr7600@gsli.edu.cn

determined by ELISA. **Results** The levels of cAMP in the heroin group and reserpine group were increased by 18.87% and 35.27%, and the cGMP levels were decreased by 10.15% and 17.69%, respectively. NA level in the heroin group was increased by 34.05% than the control group and decreased by 45.34% than the reserpine group. The levels of GABA in the frontal cortex (PFC), nucleus accumbens (NAc), thalamus (Thalamus) and amygdala (Amygdala) of the heroin group were reduced by 36.55%, 40.35%, 42.34% and 45.76%, respectively, compared with the control group ($P < 0.01$), while the levels GABA in the four tissues of the reserpine group were increased by 31.06%, 25.91%, 49.32 and 17.97%, respectively ($P < 0.05, P < 0.01$). The levels of DA in the four tissues of the heroin group and reserpine group were increased by 82.83%, 68.19%, 87.26%, 82.46% ($P < 0.01$) and 8.79%, 19.06%, 21.65%, 19.49% ($P < 0.05$), respectively, compared with the control group. After heroin and reserpine were given, there were significant differences in the frequency of EEG and ECG in the rats. **Conclusions** Noradrenaline and dopamine are the key factors to induce heroin addiction *in vivo*. Reserpine depletes noradrenaline and interferes with the biochemical process of heroin addiction.

【Keywords】 heroin; addiction; reserpine; rats

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

精神依赖药物成瘾不但危害成瘾者自身的身心健康,还会造成严重的社会问题^[1]。在精神依赖药物中,海洛因成瘾尤为突出。从偶尔的喜好吸食到长期的滥用,一旦成瘾,即使采用长时间的强制性的戒欲,几乎也很难康复^[2]。研究发现,海洛因滥用者大脑额叶^[3]、中脑腹侧被盖区^[4]均受到不同程度的损伤;血压、血细胞数、血红蛋白含量均出现异常改变^[5]。给予成瘾大鼠电针刺激,可调节多巴胺能神经元的异常表达,对成瘾大鼠的多巴胺能神经元起到保护作用^[6]。心理学研究发现,海洛因依赖者行为冲动性显著增高^[7],及时对海洛因成瘾者进行心理健康治疗,对脱毒后预防复吸起到积极作用^[8]。但是,引起精神依赖药物(海洛因)成瘾的体内因素是什么?对如何预防和干预精神依赖药物(海洛因)成瘾及其机制的有关报道较少。因此,本文以 Wistar 大鼠为实验对象,建立海洛因成瘾的动物模型,给予利血平作为干预措施,寻找引起精神依赖药物(海洛因)成瘾的体内因素,观察干预措施对海洛因成瘾的作用,为精神依赖药物成瘾制定新的、有效的预防策略提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

雄性 SPF 级 Wistar 大鼠,6 周龄,体重 180~190 g,购于甘肃中医药大学科研实验中心【SCXK(甘)2015-0001】,实验在甘肃政法学院 SPF 级动物实验室完成【SYXK(甘)2015-0006】。实验按 3R 原则给予实验动物人道关怀(伦理委员会审批号码:GZF-2018-003)。

1.1.2 试剂与仪器

海洛因(含量:86.8%,其余成分为葡萄糖)。纳洛酮注射液,天津百世化工有限公司;去甲肾上腺素、环磷酸腺苷、环磷酸鸟苷、氨基丁酸、多巴胺试剂盒,武汉艾美捷科技有限公司;Thermo MK3 酶标仪,上海赛默生物科技发展有限公司;Dossy-2H 生理参数采集仪,四川达硕生物科技有限公司。

1.2 方法

将雄性 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为 3 组,每组 10 只动物。(1)海洛因组:按快速递增法给药^[4];(2)利血平组:每天肌肉注射利血平 2.5 mg/kg(1/4 LD₅₀)3 h 后,再注射海洛因 135 mg/kg;(3)对照组:肌肉注射葡萄糖 40 mg/kg,每天 1 次;实验第 15 天,各组大鼠用乙醚吸入麻醉,用 Dossy-2H 多通路生理参数采集仪检测海洛因对神经生理的影响。第 16 天,腹腔注射纳洛酮 4.0 mg/kg,1 h 后,观察大鼠出现戒断症状。各组大鼠用乙醚无痛麻醉后采血、剥取脑组织,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 NA、cAMP、cGMP、GABA、DA 的含量。

1.3 统计学方法

实验数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理。组间差异采用单因素方差分析,用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,海洛因对大鼠血和脑组织 NA、DA、cAMP、cGMP、GABA 水平的影响程度用百分比表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的一般状况

海洛因组大鼠给予纳洛酮 1 h 后,戒断反应症状明显,成瘾大鼠模型建立成功;利血平组大鼠未

出现明显的戒断反应症状。

2.2 海洛因对大鼠血液中核苷酸和 NA 水平的影响

检测结果发现,海洛因组和利血平组 cAMP 水平比对照组分别升高了 18.87% 和 35.27% ($P < 0.05$, $P < 0.01$),cGMP 水平比对照组分别降低了 10.15% 和 17.69% ($P < 0.05$);海洛因组 NA 水平比对照组升高了 34.05%,利血平组降低了 45.34% ($P < 0.01$)。(图 1)

2.3 海洛因对大鼠脑组织中 GABA 水平的影响

检测结果发现,海洛因组大鼠额叶皮质(PFC)、伏隔核(NAc)、丘脑(thalamus)和杏仁核(amygdala) GABA 水平比对照组分别降低了 36.55%、40.35%、42.34%、45.76% ($P < 0.01$),利

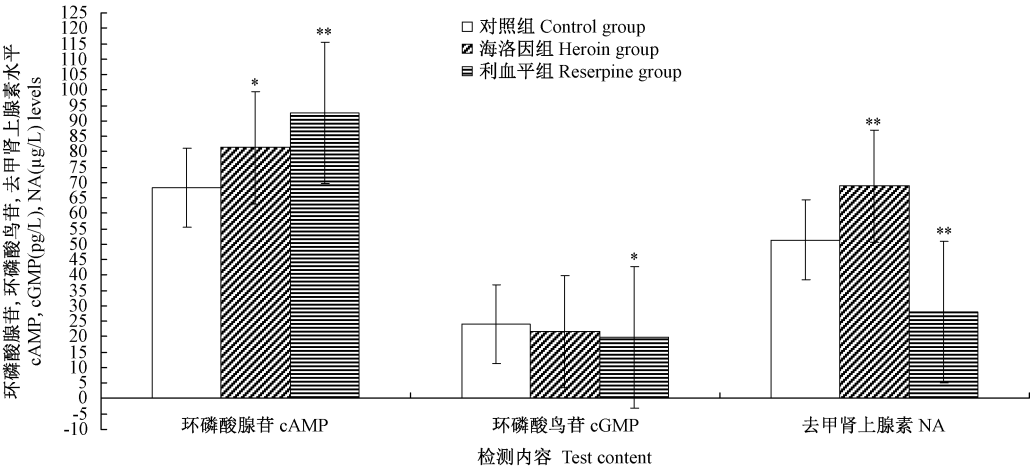
血平组分别升高了 31.06%、25.91%、49.32%、17.97% ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。(图 2)

2.4 海洛因对大鼠脑组织中 DA 水平的影响

检测结果发现,海洛因组和利血平组大鼠额叶皮质(PFC)、伏隔核(NAc)、丘脑(thalamus)和杏仁核(amygdala) DA 水平比对照组分别升高了 82.83%、68.19%、87.26%、82.46% ($P < 0.01$)和 8.79%、19.06%、21.65%、19.49% ($P < 0.05$)。(图 3)

2.5 海洛因对大鼠神经电生理的影响

海洛因组和利血平组大鼠的脑电图(electroencephalogram, EEG)、心电图(electrocardiogram, ECG)频率均出现了明显的差异。(图 4)



注:与对照组比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。下图同。
图 1 海洛因对大鼠血液中核苷酸和 NA 水平的影响

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (The same in the following Figures)

Figure 1 Effects of heroin on the blood levels of nucleotide and NA in the rats

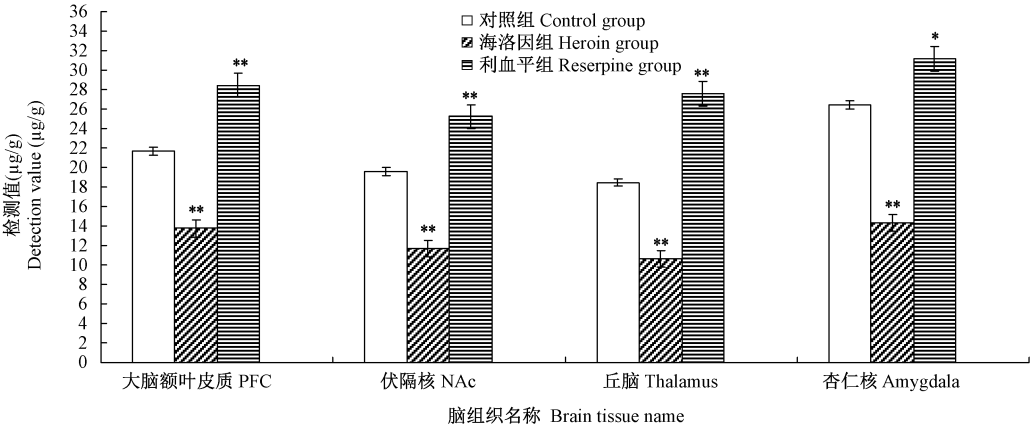


图 2 海洛因对大鼠脑组织中 GABA 水平的影响
Figure 2 Effect of heroin on GABA levels in the rat brain

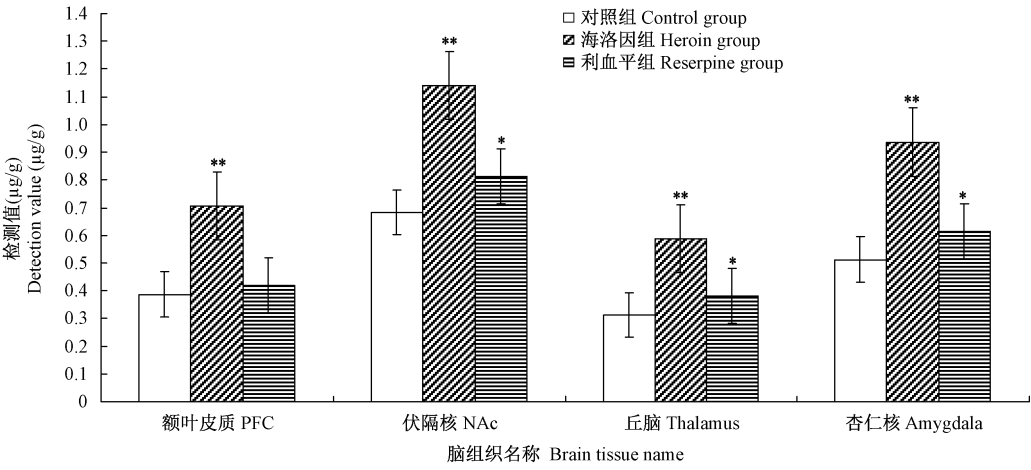


图3 海洛因对大鼠脑组织中 DA 的影响

Figure 3 Effects of heroin on the DA levels in the rat brain tissues

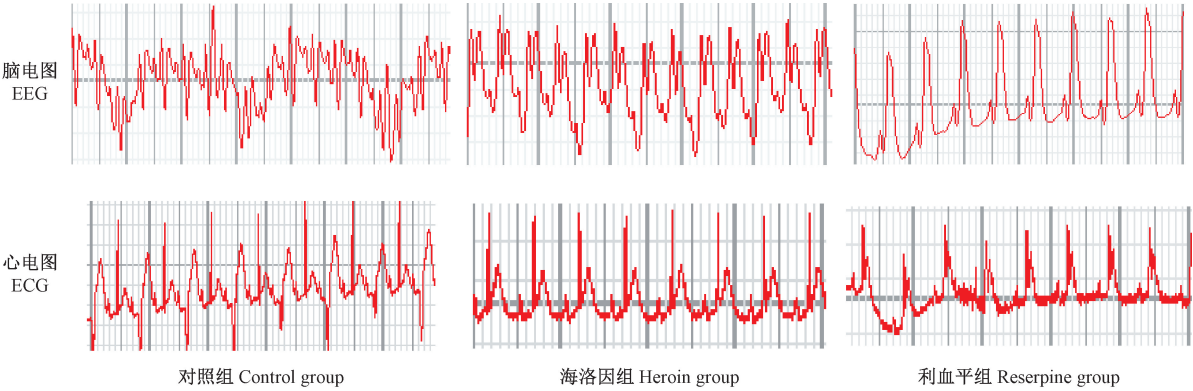


图4 海洛因对大鼠神经电生理的影响

Figure 4 Effect of heroin on neurophysiology of the rats

3 讨论

近年研究认为,精神依赖药物的成瘾是脑组织内有关神经核团对相应药物的适应性过程^[9]。海洛因成瘾不仅导致大脑内有关神经核团诱导反应的急剧增加,直接损害神经元、星形胶质细胞以及血脑屏障的通透性改变^[10],而且导致海洛因依赖者更大区域大脑损伤和脑功能异常的持续影响^[11]。给予海洛因可引起纹状体多巴胺水平升高^[12],这在寻找海洛因成瘾和恢复中起着关键作用^[13]。功能性成像(fMRI)研究表明,大脑内存在一个奖赏系统,其中伏隔核(NAc)在药物成瘾的病理生理学中起着关键作用^[14],其他脑区(如腹侧被盖区(VTA)多巴胺(DA)能神经元主要投射到 NAc 和额叶皮质(PFC),用 6-羟 DA 分别损毁 NAc 和 VTA^[15],发现 VTA 中 DA 能神经元投射到前额叶皮层和嗅结节的 DA 能纤维也被破坏。研究发现,精神依赖药物成瘾发生与中枢的多种神经递质系统

有关,如去甲肾上腺素(NA)系统、多巴胺(DA)系统等^[16]。目前认为,多巴胺系统与海洛因成瘾的机制有关^[17]。海洛因能诱导脑组织中 DA 和 NA 水平升高,当体内 NA 水平升高时将引起血压升高,继而使脑组织内的氨基丁酸(GABA)水平下降^[18]。由此看出,精神依赖药物(海洛因)的药理作用至少部分可以通过抑制脑内 GABA 的释放来调节,海洛因作为“第一信使”与伏隔核(NAc)等相应受体结合后,激活腺苷酸环化酶(AC),在细胞内产生 cAMP(“第二信使”),进一步诱发细胞表型发生变化。实验结果发现,海洛因可使神经元内 cAMP 信号转导通路活动增强,从而引起体内 cAMP、NA 和 DA 水平升高,GABA 水平下降。当给与利血平后,周围交感神经、脑及其他组织中 NA 水平下降,GABA 回升,大鼠成瘾和戒断的症状明显减弱,大鼠的脑电图、心电图发生明显的改变。结果提示,NA、DA 类激素是海洛因成瘾的体内主要因素。海洛因在体内解离成 6-乙酰吗啡与组织细胞膜受体结合

后激活 AC,使 ATP 分解形成 cAMP(第二信使),继而促进 DA、NA 合成和释放,导致成瘾和戒断症状出现。

参 考 文 献(References)

- [1] 袁杰,刘兴党,韩梅. SPECT、PET 神经受体和转运体显像技术在海洛因成瘾研究中的应用[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2013, 37 (1): 30-33, 41.
Yuan J, Liu XD, Han M. Neuroreceptor and its transporters imaging by PET and SPECT in heroin addiction [J]. Intl J Rad Med Nucl, 2013, 37(1): 30-33, 41.
- [2] Kovatsi L, Fragou D, Samanidou V, et al. Drugs of abuse; epigenetic mechanisms in toxicity and addiction [J]. Curr Med Chem, 2011, 18 (12): 1765-1774.
- [3] 杨玲,张更生,赵鑫. 海洛因依赖者抑制控制功能的损伤机制及其可逆性 [J]. 心理科学进展, 2014, 22 (3): 439-447.
Yang L, Zhang GS, Zhao X. Damage mechanism and reversibility of inhibition control function of heroin addicts [J]. Adv Psychol Sci, 2014, 22(3): 439-447.
- [4] 俞发荣,连秀珍,谢明仁,等. 海洛因成瘾模型建立及中脑腹侧被盖区 Bax 的表达 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20 (6): 82-84.
Yu FR, Lian XZ, Xie MR, et al. Establishment of heroin addiction model and expression of Bax in ventral tegmental area [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2012, 20(6): 82-84.
- [5] 刘环,张伟,邓小冬,等. 吸毒对外周血生化指标、BMI 及血压的影响分析 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2018, 27(4): 267-271.
Liu H, Zhang W, Deng XD, et al. Effects of drug use on peripheral blood biochemical indexes, BMI and blood pressure [J]. Chin J Drug Dep, 2018, 27(4): 267-271.
- [6] 梁艳,曾亮,张彦瑾,等. 电针对吗啡成瘾大鼠中枢多巴胺能神经元的影响 [J]. 上海中医药大学学报, 2017, 31(6): 86-90.
Liang Y, Zeng L, Zhang YJ, et al. The effect of electricity on dopaminergic neurons in the brain of morphine-addicted rats [J]. Acad J Shanghai Univ Trad Chin Med, 2017, 31(6): 86-90.
- [7] 赵辉,杨波,朱千,等. 海洛因依赖者对毒品相关线索的前注意偏向 [J]. 中国临床心理学杂志, 2016, 18(5): 795-799.
Zhao H, Yang B, Zhu Q, et al. The former attention bias of heroin addicts to drug-related cues [J]. Chin J Clin Psychol, 2016, 18 (5): 795-799.
- [8] 韩慧,范成路,陈哈晖,等. 海洛因依赖者的人格特征及相关因素对复吸行为的影响 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2015, 24 (6): 466-469.
Han H, Fan CL, Chen HH, et al. The effect of personality characteristics and related factors on relapse behavior of heroin addicts [J]. J Drug Dep, 2015, 24(6): 466-469.
- [9] Self DW, Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug reinforcement and addiction [J]. Anl Rev Neur, 2015, 18: 463-495.
- [10] 韦献良,韦力,廖章鼎,等. 海洛因成瘾致大鼠脑损害的几种超微结构病理变化的鉴别 [J]. 广西医科大学学报, 2009, 26(6): 865-867.
Wei XL, Wei L, Liao ZD, et al. Identification of several ultrastructural pathological changes in brain damage induced by heroin addiction in rats [J]. J Guangxi Med Univ, 2009, 26 (6): 865-867.
- [11] 龙江,况伟宏,彭祖贵,等. 新型毒品滥用者大脑神经毒性损害的 PET 研究 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2012, 21(4): 295-298.
Long J, Kuang WH, Peng ZG, et al. PET study on neurotoxic damage of brain in new drug abusers [J]. Chin J Drug Dep, 2012, 21(4): 295-298.
- [12] Zhang Y, Picetiti R, Eduardo RB, et al. Mouse model of the OPRM1 (A118G) polymorphism: differential heroin self-administration behavior compared with wild-type mice [J]. Neuropsychopharmacology, 2015, 40(5): 1091-1100.
- [13] Bossert JM, Stern AL. Role of ventral subiculum in context - induced reinstatement of heroin seeking in rats [J]. Addict Biol, 2014, 19(3): 338-342.
- [14] Seifert CL, Magon S, Sprenger T, et al. Reduced volume of the nucleus accumbens in heroin addiction [J]. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2015, 265 (8): 637-645.
- [15] Goeders NE, Smith JE. Cortical dopaminergic involvement in cocaine reinforcement [J]. Science, 1983, 221 (4612): 773-775.
- [16] 张栋梁,沈泽虹,陈德兴. 多巴胺系统与药物成瘾的关系 [J]. 神经解剖学杂志, 2010, 26(5): 564-568.
Zhang DL, Shen ZH, Chen DX. The relationship between dopamine system and drug addiction [J]. Chin J Neur, 2010, 26(5): 564-568.
- [17] 李锦,曹丹旎,吴宁. 抗阿片成瘾药物研究历史与现状 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26 (3): 255-262.
Li J, Cao DN, Wu N. History and current status of research on anti-opioid addiction drugs [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2012, 26 (3): 255-262.
- [18] Xi ZX, Wu GH, Elliot A S, et al. GABAergic mechanisms of heroin-induced brain activation assessed with functional MRI [J]. Magn Res Med, 2002, 48(5): 838-843.

[收稿日期] 2018-08-22