

石杉碱甲对应激诱导的咖啡行为敏感化表达的影响*

张 静^{1,2} 李新旺¹ 马兰花¹

(¹首都师范大学心理学系, 北京市“学习与认知”重点实验室, 北京 100048)

(²湛江师范学院基础教育学院科学教育系, 广东 524300)

摘 要 为探讨石杉碱甲对应激诱导的咖啡行为敏感化表达的影响, 将 40 只动物随机分为 5 组: 盐水组、石杉碱甲组、咖啡组、应激组、石杉碱甲+应激组。实验发现, 急性/慢性空瓶应激都能够激发咖啡行为敏感化的表达, 而石杉碱甲能够显著抑制空瓶应激的这种激发作用。经过咖啡点燃后, 急性空瓶应激并不能显著影响动物的行为敏感化, 提示与成瘾性药物的再现相比, 空瓶应激对动物的影响力度较小。研究结果表明, 石杉碱甲能够抑制急性/慢性空瓶应激诱导的咖啡行为敏感化表达, 表明这类胆碱酯酶抑制剂有可能成为治疗药物依赖的潜在药物。

关键词 石杉碱甲; 行为敏感化; 咖啡; 应激

分类号 B845

1 引言

药物成瘾是当前世界上最严重的公共卫生问题之一, 目前认为它是一种慢性、复发性的脑疾病。行为敏感化(behavioral sensitization)是药物依赖动物的主要行为特征之一, 具体指反复给予成瘾药物后, 不但不降低药物的药理作用(耐受), 反而使动物对药物的行为反应增强的现象。行为敏感化通常表现为精神运动性兴奋, 即高自发性活动(如奔跑)和刻板性行为(如啃、咬齿、嗅、修饰行为, 甚至还可以出现自伤行为等) (Robinson & Berridge, 2001; Jessica, Hector, & Martin, 2008; McDougall, Charntikov, & Cortez, 2009)。研究表明, 介导药物行为敏感化效应与调节药物奖赏效应的神经机制几乎完全重合(Robinson, et al, 2001)。因此, 对行为敏感化神经生理基础的研究有助于揭示药物成瘾的内在机制。行为敏感化的形成过程通常分为三个阶段: 形成(development)期, 转换(transfer)期和表达(expression)期。以咖啡行为敏感化动物模型的建立为例, 与之相对应的三个阶段是: (1) 慢性咖啡处理(形成期)。给小鼠或大鼠腹腔注射咖啡, 每天 1

次, 连续 5~7 天; (2) 药物撤退期(转换期)。停药 48 小时~1 个月。停药期可以促使动物对药物的高活动性转化为行为敏感化; (3) 激发期(表达期)。给予相应或相关的药物或一定强度的应激刺激可以激发动物敏感化的行为表现。

应激是指在内外环境的各种压力下, 机体所处的紧张状态及所出现的各种反应, 包括恐惧、焦虑、愤怒、兴奋、愉快、沮丧等情绪体验。研究表明, 一些特定的应激经历与药物成瘾之间存在着密切联系, 负性生活事件、长期抑郁和生活环境中存在的各种应激源与人类药物滥用的概率增加有关 (Franco, Hubbard, & Martin, 1998)。应激会引起一系列相关脑区的激活: 首先激活促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF), 进而增加促肾上腺皮质激素(adrenal corticotrophic hormone, ACTH)、皮质醇、儿茶酚胺和内源性阿片类药物(endogenous opioid)的释放, 最终促进中脑边缘多巴胺系统(meolimbic dopamine system, MLDS)内多巴胺(dopamine, DA)的释放(Piazza & Le, 1996; Vanderschuren & Kalivas, 2000)。大量研究表明, 夹尾应激、足底电击、亲子隔离、食物限

收稿日期: 2009-06-14

* 本研究得到北京市教委科技发展计划项目(KM200710028021)的资助。

通讯作者: 李新旺, E-mail: pro_xwli@yahoo.com.cn, 电话: (010)68902893

制应激、社交受挫应激等均能显著增加给予成瘾药物动物的自发活动量(Shaham & Hope, 2005)。但也有研究表明,社交受挫应激并没有明显影响可卡因诱发的行为敏感化的表达(Monika, Jennifer, & Katrina, 2002)。

目前,国际上报道的动物情绪应激模型大多是研究动物在特定条件下引起的恐惧情绪,如使大鼠接触猫以产生恐惧情绪(Blanchard, Nikulina, & Sakal, 1998)、给予大鼠电击刺激使其产生被动回避行为(Croiset, Heijnen, & Veldhuis, 1987)等。但对于人类而言,除了恐惧,情绪还有多种形式,如愤怒、焦虑、悲伤等。中国科学院心理研究所生物心理实验室建立了空瓶应激动物模型(林文娟,王玮雯,邵枫,2003),空瓶应激就是在以往固定给予饮水的时间,只给予动物一个没有水的空瓶,动物吸吮空瓶而得不到水,从而产生挫折感。模型中应激组动物所经历的情绪似乎与愤怒、焦虑等关系更为密切;而以往研究表明,慢性给予甲基苯丙胺,动物会产生明显的焦虑、愤怒情绪(Aitchison & Hughes, 2006),慢性给予高剂量的安非他明也能够诱发动物明显的焦虑情绪(Clemens, McGregor, & Hunt, 2007)。

乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)是第一个被发现的神经递质。由于药物成瘾是一种成瘾记忆,而Ach被证明参与了正常的学习记忆过程,并且吗啡成瘾过程中脑内Ach的含量会发生变化,因此中枢胆碱能系统对吗啡成瘾的影响近年来受到人们的广泛关注(Takatoshi & Yasuji, 2003; Jafari, Zarrindast, & Djahanguiri, 2006)。从现有的研究成果来看,在吗啡成瘾过程中,中枢胆碱能系统可能通过与MLDS的交互作用或者通过学习记忆系统发挥作用。研究表明,急性注射大剂量(10 mg/kg以上)吗啡30min会导致大鼠伏隔核(nucleus accumbens, NAc)等脑区细胞间Ach的释放量大幅减少(Fišerová, Consolo, & Kršiak, 1999),而吗啡慢性处理的大鼠在吗啡戒断后的1~21天,其纹状体和NAc中Ach释放量却增加(Tjon, Vries, & Nestby, 1995)。可见NAc内部Ach水平与吗啡强化效应应有特殊关系——细胞间Ach浓度在对吗啡反应(产生奖赏效应)时降低,而在戒断(产生厌恶效应)时升高(Rada, Jensen, & Hoebel, 2001; Mark, Weinberg, & Rada, 1995)。Ach的这种变化被认为是神经系统内部对吗啡发生的长时程神经适应性变化。由此可见,中枢胆碱能系统参与了吗啡等阿片类物质的成瘾

过程(Xiang, Wang, & Wu, 2006)。石杉碱甲(Huperzine A, Hup-A)是近年来从我国中草药千层塔中分离出来的一种新生物碱,它是一种高效、高选择性的胆碱酯酶抑制剂(管林初,崔秋耕,1992)。石杉碱甲可以透过血脑屏障,抑制脑内前额叶皮层、海马等区域的乙酰胆碱酯酶活性,使脑内Ach的含量升高,从而激活脑内胆碱能系统的功能。

已有研究表明,Ach在应激引发啮齿类动物的行为反应过程中具有重要作用(Meshorer, Erb, & Gazit, 2002),如毒蕈碱拮抗剂能够减弱恐惧模型中动物的恐惧反应(Greba, Munro, & Kokkinidis, 2000),减少十字迷宫中动物的探索行为(Degroot & Trei, 2002)。本研究意在探讨应激、中枢胆碱能系统与行为敏感化三者之间的关系:运用空瓶应激模型和行为敏感化模型,考察应激对吗啡诱导的行为敏感化这种成瘾行为的影响并探讨石杉碱甲对空瓶应激诱导的吗啡行为敏感化的影响,以此来探讨中枢胆碱能系统在应激诱导的药物成瘾中的作用。

2 材料和方法

2.1 实验动物

实验动物为雄性Wistar大鼠40只(北京维通利华实验动物技术有限公司),起始体重(200±20)g。动物在45cm×30cm×20cm的塑料笼中群居饲养(每笼4只),自由饮水、进食。光照周期为8:00~20:00。环境温度(22±1)℃。动物在正式实验开始前适应性饲养3天,适应期间每天简短抚摸捉拿动物,使其适应实验人员的操作。

2.2 实验装置

大鼠水平运动测试箱为40cm×40cm×50cm的黑色有机玻璃箱(自行设计制造),底面黑色光滑。摄像跟踪系统(中国科学院心理研究所提供)自动记录动物的水平运动距离。

2.3 实验药品

盐酸吗啡(morphine hydrochloride, 针剂,沈阳第一制药厂),石杉碱甲(江西本草天工科技有限责任公司,使用生理盐水溶解)。所有药物均为腹腔注射(i.p.),注射容量为1mL/kg。吗啡注射剂量为3mg/kg(Rada, Mark, & Pothos, 1991),石杉碱甲的注射剂量为0.1mg/kg(Ashani, & Peggins, 1992)。

2.4 动物分组

本实验共需大鼠40只,随机分为5组,每组各8只。分组情况为:盐水组(Sal组)、石杉碱甲组(Hup组)、吗啡组(Mor组)、应激组(ES组)、石杉碱甲+

应激组(Hup+ES 组)。

2.5 实验程序和药物处理

本实验在行为敏感化研究通常采用的实验范式的基础上作了调整(Kelsey, Beer, & Lee, 2002)。形成期的测试时间仍定为 120min。本研究的预实验结果表明, 药物撤退期和激发前检测期, 动物由于未接受药物注射, 进入 LA 箱后主要为环境探索行为, 在前 60min 内的活动量较大。熟悉环境后, 动物的活动量就显著减少, 所以这两个阶段的测试时间定为 60min; 而接受空瓶应激后的 20min 内, 动物的活动量变化最大, 所以两次激发期时间定为 20min。具体实验程序和药物处理如下:

形成期(day 1~7): 将所有动物放入 LA 检测箱, 5min 后, Sal 组和 Hup 组动物均腹腔注射 0.2mL 生理盐水; Mor 组、ES 组和 Hup+ES 组动物均腹腔注射 3mg/kg 吗啡, 测试其 120min 内的活动量。每天检测一次, 共测试 7 天。

药物撤退期(day 8~21): 将所有动物放入 LA 检测箱, 测试其 60min 内的活动量。每天检测一次, 共测试 14 天。

定时喂水期(day 21~30): 所有动物由群居饲养改为单笼饲养, 对其进行连续 10 天的定时喂水训练, 每日 2 次, 即动物仅在每天的 9:00~9:05 和 21:00~21:05 两个时间段饮水, 其余时间不给水。10 天的定时喂水期完成后, 各组动物均接受激发前检测, 即将其放入 LA 检测箱, 测试 60min。

激发期(day 31~39):

(1) 急性应激激发期(day 31): 早 8:55, Sal 组、Mor 组和 ES 组动物腹腔注射 0.2mL 生理盐水; Hup 组和 Hup+ES 组动物腹腔注射 0.1mg/kg 石杉碱甲。5min 后, Sal 组、Hup 组、ES 组和 Hup+ES 组动物给予 5min 空瓶刺激, 而 Mor 组动物照常定时喂水 5min。然后将所有动物放入 LA 检测箱测试 20min, 以考察急性空瓶应激对吗啡行为敏感化表达的激发作用。以上操作结束后, 各组动物均注射 3mg/kg 吗啡, 放入 LA 检测箱监测 120min, 以检测急性应激对吗啡点燃的行为敏感化的影响。

(2) 慢性应激激发期(day 32~39): 第 32~38 天, 每天 9:00~9:05 和 21:00~21:05 按照表 1 所示的不定期应激程序对 Sal 组、Hup 组、ES 组和 Hup+ES 组动物进行空瓶应激, Mor 组动物照常定时喂水。第 39 天, 早 8:55, Sal 组、Mor 组和 ES 组动物腹腔注射 0.2mL 生理盐水; Hup 组和 Hup+ES 组动物腹腔注射 0.1mg/kg 石杉碱甲。5min 后, Sal 组、Hup 组、

ES 组和 Hup+ES 组动物给予 5min 空瓶刺激, 而 Mor 组动物照常定时喂水 5min, 然后将所有动物放入 LA 检测箱监测 20min, 以考察慢性空瓶应激对吗啡行为敏感化表达的激发作用。

表 1 不定期应激程序

时段	天数							
	32	33	34	35	36	37	38	39
9:00~9:05	N	N	ES	N	ES	ES	N	ES
21:00~21:05	ES	ES	N	ES	N	N	ES	

注: N 代表正常喂水; ES 代表空瓶刺激

2.6 数据统计

所有数据均为平均值±标准误(M±SEM), 行为敏感化形成期和药物撤退期数据采用重复测量的两因素方差(two-way ANOVA)分析。应用单因素方差(one-way ANOVA)分析每次激发期各组动物的活动量差异。以上分析如果差异显著, 采用 LSD 方法进行事后多重比较分析(LSD Post Hoc Tests)。

3 结果

3.1 形成期

Sal 组和 Hup 组动物均腹腔注射 0.2 mL 生理盐水, 将这两组动物所得数据合并为一组, 称为生理盐水处理组(Sal Treated group); 而 Mor 组、ES 组和 Hup+ES 组动物均腹腔注射 3mg/kg 吗啡, 将这三组动物所得数据合并为一组, 称为吗啡处理组(Mor Treated group)。如图 1 所示, 重复测量方差分析表明, 行为敏感化形成期的组别主效应显著 $F(1, 38)=52.670, p<0.001$; 测试主效应显著 $F(6, 228)=3.953, p<0.001$; 组别 $\times$ 测试交互作用显著 $F(6, 228)=5.545, p<0.001$ 。这些结果表明连续注射 3mg/kg 吗啡会导致动物的行为敏感化现象。对吗啡处理组动物每天的活动量进行两两比较后发现, 动物在第 4、6、7 天的活动量均显著高于第 1 天($p<0.05$), 行为敏感化现象明显。

3.2 药物撤退期

生理盐水处理组和吗啡处理组的动物都被放入 LA 检测箱, 测试其 60min 内的活动量。如图 2 所示, 重复测量方差分析表明, 药物撤退期的组别主效应显著 $F(1, 38)=4.627, p<0.05$; 测试主效应显著 $F(14, 532)=8.893, p<0.001$; 组别 $\times$ 测试交互作用显著 $F(14, 532)=2.981, p<0.001$ 。组间比较结果显示, 吗啡处理组动物在第 14、15、16、17 天的活动量显著高于生理盐水处理组, 表明环境线索对行为敏

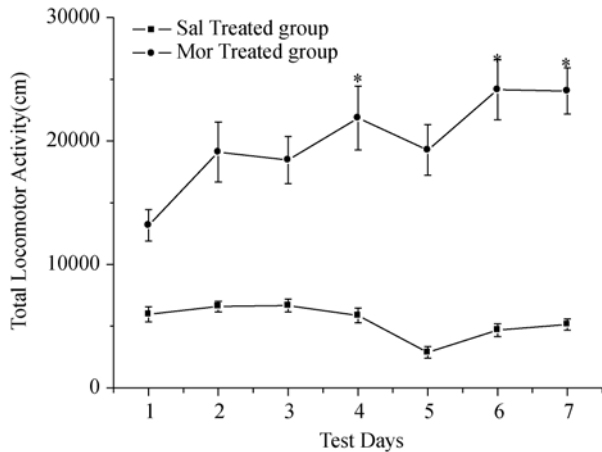


图1 行为敏感化形成期生理盐水处理组和吗啡处理组动物的活动量变化

* $p < 0.05$, 组内与 Day 1 比较

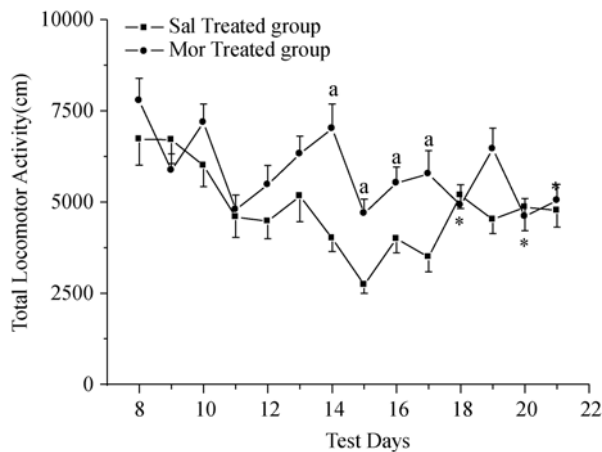


图2 药物撤退期生理盐水处理组和吗啡处理组动物的活动量变化

^a $p < 0.05$, 与生理盐水处理组比较; * $p < 0.05$, 组内与 Day 8 比较

感化的影响先经历了一个转换期(第8~13天), 继而表现出来(第14~17天)。对吗啡处理组动物每天的活动量进行两两比较后发现, 动物在第18、20、21天的活动量均显著低于第8天($p < 0.05$), 并且这三天的活动量与生理盐水处理组没有显著差异, 说明在药物撤退期, 随着时间的推移, 环境线索对吗啡处理组动物的影响逐渐减弱, 动物的活动量逐渐降低, 直至与对照组没有显著差异。

3.3 激发前检测期

各组动物接受为期10天的定时喂水后, 将其放入LA检测箱, 测试60min。单因素方差分析表明, 动物活动量的组间差异不显著 $F(4,35)=0.651$, $p=0.630$ (图略)。这一结果表明定时喂水操作不会对

动物的活动量产生明显影响, 可以进行接下来的激发测试。

3.4 急性应激激发期

3.4.1 急性应激对行为敏感化表达的激发作用

如图3所示, 单因素方差分析表明, 第31天前20min内, 动物活动量的组间差异显著, $F(4, 35)=12.806$, $p < 0.01$ 。事后多重比较分析表明, ES组与其余四组均有显著差异($p < 0.01$)。Sal组动物的活动量较小, 表明单纯的急性空瓶应激并不会显著影响大鼠的水平运动能力。Hup组与Sal组没有差异, 说明0.1mg/kg石杉碱甲不会对大鼠活动量造成明显影响; Mor组与Sal组没有差异, 说明经过药物撤退期, 环境线索的作用已经被消退; ES组与Mor组具有显著差异, 说明急性空瓶应激激发了吗啡行为敏感化的表达; ES组与Hup+ES组具有显著差异, 说明石杉碱甲对急性空瓶应激的激发作用存在抑制性。

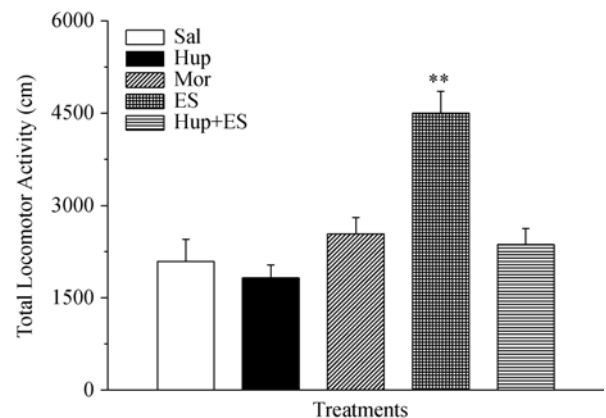


图3 急性应激对行为敏感化表达的激发作用

** $p < 0.01$, 与 Sal 组比较

以往的空瓶应激模型实验没有设定成瘾药物这个因素, 只是单纯考察应激对动物行为的影响, 通常在定时喂水期后, 至少需持续3天的空瓶应激才能诱发出动物明显的行为反应(邵枫, 林文娟, 陈极寰, 2003)。而本实验在使用空瓶应激模型的基础上, 增加了吗啡这个因素, 经过吗啡处理的大鼠会产生药物渴求, 而空瓶应激触发了动物内在强化渴求的因素, 从而使动物表现出行为敏感化, 诱发出明显的行为反应。另外, 以往的空瓶应激模型实验定时喂水期为10min, 急性应激的时间也为10min。而本实验在原模型的基础上作了修改, 定时喂水期缩短为5min, 急性应激的时间也为5min。这样动物所经受的应激程度显著增加, 从而表现为

急性空瓶应激一次就诱发出了动物明显的行为反应。

3.4.2 急性应激对吗啡点燃的行为敏化的影响

如图 4 所示, 单因素方差分析表明, 第 31 天各组动物均注射 3mg/kg 吗啡后 120min 内, 动物活动量的组间差异显著, $F(4, 35)=7.732, p<0.01$ 。事后多重比较分析表明, Hup 组与 Sal 组有显著差异 ($p=0.001$), 这两组动物均为第一次接受吗啡注射, 表明 0.1mg/kg 石杉碱甲能够抑制 3mg/kg 吗啡的急性运动激活效应。ES 组与 Mor 组差异不显著 ($p=0.336$), 表明经过吗啡点燃后, 急性空瓶应激并没有显著影响动物的行为敏化。Hup+ES 组与 ES 组有显著差异 ($p<0.01$), 表明石杉碱甲抑制了啡点燃和急性空瓶应激两个条件共同诱发的行为敏化。

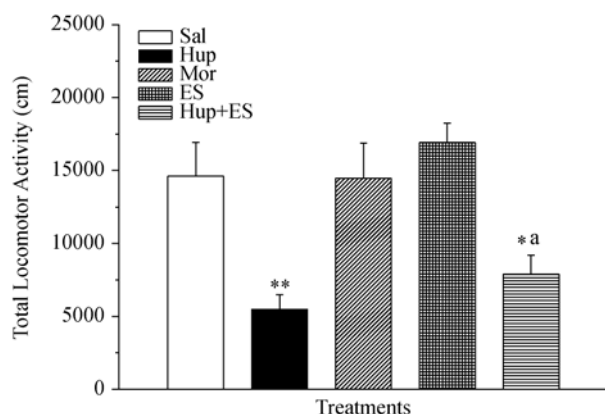


图 4 急性应激对吗啡点燃的行为敏化的影响
 ** $p<0.01$, 与 Sal 组比较; * $p<0.05$, 与 Sal 组比较;
^a $p<0.01$, 与 ES 组比较

另外, 图 1 表明, 吗啡处理组在慢性吗啡处理期形成了明显的行为敏化; 而图 4 中 Sal 组与 Mor 组没有显著差异, 提示 3mg/kg 吗啡似乎并没有激发出 Mor 组动物的行为敏化, 这种现象可能是环境线索被消退的结果, 即 Mor 组动物由于环境线索的影响被减弱, 从而没有表现出行为敏化。这些结果表明, 环境线索是影响行为敏化的重要因素之一。

3.5 慢性应激激发期

如图 5 所示, 单因素方差分析表明, 第 39 天 20min 的检测期内, 动物活动量的组间差异显著, $F(4, 35)=8.114, p<0.01$ 。事后多重比较分析表明, ES 组与其余四组均有显著差异 ($p<0.01$)。Sal 组的数据较小, 表明单纯的慢性空瓶应激并不会显著影响大

鼠的活动量。ES 组与 Mor 组具有显著差异, 说明慢性空瓶应激激发了吗啡行为敏化的表达; ES 组与 Hup+ES 组具有显著差异, 说明石杉碱甲对慢性空瓶应激的激发作用存在抑制性。

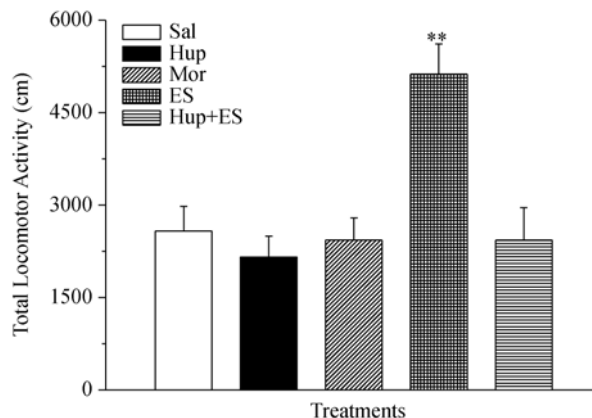


图 5 慢性应激对行为敏化表达的激发作用

** $p<0.01$, 与 Sal 组比较

4 讨论

本研究考察了石杉碱甲对应激诱导的行为敏化表达的影响。在急性应激 20min 检测期和慢性应激 20min 检测期, ES 组与 Mor 组均有显著差异, 表明急性/慢性空瓶应激都能够激发吗啡行为敏化的表达, 揭示了应激情境与成瘾药物诱导的行为敏化之间的确存在着密切关系。研究表明, 应激能够激活下丘脑—垂体—肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA), 通过分泌 CRF 和糖皮质激素(glucocorticoids, Gc)调节机体对成瘾性药物的敏感性。HPA 轴在人体的应激反应中发挥核心作用。应激信号沿中枢神经到达丘脑下部室旁核, 首先引起 CRF 的分泌, 进而引发垂体前叶合成、分泌 ACTH, 最终促进肾上腺皮质的束状带-网状带合成、分泌以皮质醇为中心的 Gc, 促使机体组织产生应激防御反应。CRF 和 Gc 均能影响药物敏感性的发展和表达, 引起 NAc 内的 DA 释放。另外, Gc 自身就具有强化作用, 它可直接作用于 DA 神经元的 Gc 受体, 使 NAc 内 DA 浓度升高, 还可通过增加 DA 受体的表达及增加腺苷酸环化酶的活性等过程来调节 MLDS 的活性, 从而调节行为敏化 (Piazza, et al, 1996)。

在急性应激 20min 检测期和慢性应激 20min 检测期, 胆碱酯酶抑制剂石杉碱甲显著地抑制了急性/慢性空瓶应激对吗啡行为敏化表达的激发作用, 表明吗啡行为敏化与中枢胆碱能系统存在密切

关系。研究者发现,纹状体运动回路受神经递质 DA 和 Ach 的调节:DA 对其具有兴奋作用而 Ach 则抑制其功能。也就是说,纹状体内部 DA 和 Ach 的整合直接控制着运动输出。基底神经节运动中枢(纹状体)回路受到 DA 和 Ach 会聚性交互作用的协调性调节,可以看作是吗啡成瘾过程中 NAc 等脑区 Ach 释放减少、DA 增加,从而影响行为敏感化的生理机制,这一机制可以解释胆碱酯酶抑制剂阻碍吗啡诱导的行为敏感化的原因——胆碱酯酶抑制剂能够提高胆碱能系统的功能,通过交互作用方式抑制由吗啡导致的 DA 释放增加而引起的运动功能增强现象(Nakanishi, Kaneko, & Hikida, 2003)。由此可见,中枢胆碱能系统参与了吗啡成瘾过程,胆碱酯酶抑制剂石杉碱甲可能正是通过提高中枢神经内部胆碱能系统的功能,从而抑制吗啡行为敏感化的。

急性应激激发期,各组动物均注射 3mg/kg 吗啡后 120min 内,ES 组与 Mor 组差异不显著,表明经过吗啡点燃后,急性空瓶应激并没有显著影响动物的行为敏感化,提示与成瘾性药物的再现相比,本实验所采用的 5min 空瓶应激对行为敏感化的影响力度是较小的。在实验过程中,我们发现接受空瓶刺激的动物表现出了咬笼子和空瓶等明显的攻击性行为,提示对于实验动物而言,空瓶刺激使其产生了强烈的愤怒、焦虑等情绪。但与吗啡点燃这个条件相比,应激情境对动物活动量的影响似乎就逊色多了。现实生活中也是如此,当成瘾者再次得到药物的时候会产生强烈的药物渴求,而其它影响因素的作用就微乎其微了。

另外,形成期的数据表明,3mg/kg 的慢性吗啡处理能够使大鼠形成明显的行为敏感化。在药物撤退期,环境线索对吗啡处理组动物的影响表现出以下趋势:先经历一个转换期然后表达出来,继而会随着时间的推移逐渐减弱,动物的活动量逐渐降低,直至与对照组没有显著差异。在急性应激激发期,各组动物均注射 3mg/kg 吗啡后 120min 内,Mor 组动物由于环境线索的影响被减弱,从而没有表现出行为敏感化。这些结果表明,环境线索也是影响行为敏感化的重要因素之一。

本研究证实石杉碱甲能够抑制空瓶应激诱发的吗啡行为敏感化的表达,这个结果对于阐明中枢胆碱能系统参与调节药物成瘾的精神依赖过程,并且有效地抑制应激引起的成瘾行为具有重要的参考价值,但也存在一些不足之处。本研究采用了中

国科学院心理研究所实验室建立的空瓶刺激动物模型,该模型中定时喂水期和急性/慢性空瓶应激激发期内给予大鼠空瓶的时间为 10min,这个时间段能够保证动物每天的正常饮水,不会造成生理上的缺水,从而可以得到相对“纯粹”的情绪应激刺激(林文娟等,2003)。本研究发现每次定时喂水期定为 10min 时,虽然可以观察到大鼠咬笼子和空瓶等明显的冲动行为,但表现在 LA 模型中的活动量上却并不明显,而将每次定时喂水期缩短为 5min 则得到了非常理想的效果,所以本实验中定时喂水期均设为 5min,这样动物所经受的应激程度显著增加,实验结果也表明,急性、慢性空瓶应激都诱发出了动物明显的活动量增加现象。但这样就可能增加了大鼠因为机体缺水而产生生理应激的因素,所以本研究得到的应激刺激应该理解为情绪应激和生理应激的混合,没有将生理因素从情绪对机体的影响作用中分离出去,这个缺憾还需要以后的进一步探索。

5 结论

本研究在行为敏感化研究通常采用的实验范式的基础上作了调整,在该范式下考察了石杉碱甲对空瓶应激诱导的吗啡行为敏感化表达的影响。实验结果表明:

1) 3mg/kg 的慢性吗啡处理能够使大鼠形成明显的行为敏感化。

2) 在药物撤退期,环境线索对吗啡处理组动物的影响表现出以下趋势:先经历一个转换期然后表达出来,继而会随着时间的推移逐渐减弱,动物的活动量逐渐降低,直至与对照组没有显著差异。

3) 急性/慢性空瓶应激都能够激发吗啡行为敏感化的表达,揭示了应激情境与成瘾药物诱导的行为敏感化之间的确存在着密切关系;而石杉碱甲能够显著抑制这种激发作用,说明中枢胆碱能系统在吗啡行为敏感化过程中具有重要作用,石杉碱甲这类胆碱酯酶抑制剂有可能成为治疗药物依赖的潜在药物。

参 考 文 献

- Aitchison, L. K., & Hughes, R. N. (2006). Treatment of adolescent rats with 1-benzylpiperazine: a preliminary study of subsequent behavioral effects. *Neurotoxicol Teratol*, 28, 453–458.
- Ashani, Y., & Peggins, J. O. (1992). Mechanism of inhibition of cholinesterases by huperzine A. *Biochem Biophys Res Commun*, 184, 719–726.

- Blanchard, R. J., Nikulina, J. N., & Sakal, R. R. (1998). Behavioral and endocrine changes following chronic predatory stress. *Physiology & Behavior*, 63, 561–569.
- Clemens, K. J., McGregor, I. S., & Hunt, G. E. (2007). MDMA, methamphetamine and their combination: possible lessons for party drug users from recent preclinical research. *Drug Alcohol Rev*, 26, 9–15.
- Croiset, G., Heijnen, C. J. & Veldhuis, H. D. (1987). Modulation of the immune response by emotional stress. *Life Science*, 40, 775–782.
- Degroot, A., & Treit, D. (2002). Dorsal and ventral hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus maze and shockprobe tests. *Brain Res*, 949, 60–70.
- Fišerová, M., Consolo, S., & Kršiak, M. (1999). Chronic morphine induces long-lasting changes in acetylcholine release in rat nucleus accumbens core and shell: an in vivo microdialysis study. *Psychopharmacology*, 142, 85–94.
- Franco, S. E., Hubbard, J. R., & Martin, P. R. (1998). Stress and Addiction. In: Hubbard, J. R., Workman, E. A. (ed). *Handbook of Stress Medicine* (pp.187–201). New York: CRC Press.
- Greba, Q., Munro, L. J., & Kokkinidis, L. (2000). The involvement of ventral tegmental area cholinergic muscarinic receptors in classically conditioned fear expression as measured with fear potentiated startle (in Chinese). *Brain Res*, 870, 135–141.
- [管林初, 崔秋耕. (1992). 石杉碱甲对樟柳碱所致动物记忆障碍的改善作用. *心理科学*, 8, 24–28.]
- Jafari, M. R., Zarrindast, M. R., & Djahangiri, B. (2006). Influence of cholinergic system modulators on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Physiology & Behavior*, 88 (1/2), 146–151.
- Jessica, J. S., Hector, M. A., & Martin, D. W. (2008). Dissociation between long-lasting behavioral sensitization to amphetamine and impulsive choice in rats performing a delay-discounting task. *Psychopharmacology*, 199, 539–548.
- Kelsey, J. E., Beer, T., Lee E, et al. (2002). Low doses of dizocilpine block the development and subsequent expression of locomotor sensitization to nicotine in rats (in Chinese). *Psychopharmacology*, 161, 370–378.
- [林文娟, 王玮雯, 邵枫. (2003). 慢性情绪应激对大鼠行为、神经内分泌和免疫反应的影响: 一个新的情绪应激模型. *科学通报*, 48(9), 926–929.]
- Mark, G. P., Weinberg, J. B., & Rada, P. V. (1995). Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus. *Brain Research*, 688, 184–188.
- McDougall, S. A., Charntikov, S., & Cortez, A. M. (2009). Persistence of one-trial cocaine-induced behavioral sensitization in young rats: regional differences in Fos immunoreactivity. *Psychopharmacology*, 203, 617–628.
- Meshorer, E., Erb, C., & Gazit, R. (2002). Alternative splicing and neuritic mRNA translocation under long-term neuronal hypersensitivity. *Science*, 295, 508–512.
- Monika, T., Jennifer, B., & Katrina, D. (2002). Social stress does not alter the expression of sensitization to cocaine. *Physiology & Behavior*, 76, 457–463.
- Nakanishi, S., Kaneko, S., & Hikida, T. (2003). Role of synaptic integration of dopaminergic and cholinergic transmission in basal ganglia function. *International Congress Series*, 1250, 487–492.
- Piazza, P. V., & Le, M. (1996). Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse role of an interaction between stress glucocorticoid and dopaminergic neurons. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, 36, 359–378.
- Rada, P., Mark, G. P., & Pothos, E. (1991). Systemic morphine simultaneously decreases extracellular acetylcholine and increases dopamine in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neuropharmacology*, 30, 1133–1136.
- Rada, P., Jensen, K., & Hoebel, B. G. (2001). Effects of nicotine and mecamylamine-induced withdrawal on extracellular dopamine and acetylcholine in the rat nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 157, 105–110.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2001). Incentive - sensitization and addiction. *Addiction*, 96, 103–114.
- Shaham, Y., Hope, B. T. (2005). The role of neuroadaptations in relapse to drug seeking (in Chinese). *Nat Neurosci*, 8, 1437–1439.
- [邵枫, 林文娟, 陈极寰. (2003). 慢性情绪应激对大鼠行为的影响及变化趋势. *中国行为医学科学*, 12(1), 5–7.]
- Takatoshi, H., & Yasuji, K. (2003). Acetylcholine enhancement in the nucleus accumbens prevents addictive behaviors of cocaine and morphine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 6169–6173.
- Tjon, G. H., Vries, T. J., & Nestby, P. (1995). Intermittent and chronic morphine treatment induces long-lasting changes in delta-opioid receptor-regulated acetylcholine release in rat striatum and nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*, 283 (1–3), 169–176.
- Vanderschuren, L. J., & Kalivas, P. W. (2000). Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, 151(2–3), 99–120.
- Xiang, X. H, Wang, H. L., & Wu, W. R. (2006). Ethological analysis of scopolamine treatment or pretreatment in morphine dependent rats. *Physiology & Behavior*, 88(1/2), 183–190.

Effects of Huperzine A on Stress Induced Expression of Morphine Behavioral Sensitization

ZHANG Jing^{1,2}, LI Xin-Wang¹, MA Lan-Hua¹

(¹ Beijing Key Laboratory of Learning and Cognition; Department of Psychology, Capital Normal University, Beijing 100048 China)

(² Department of Science Education, Basic Education College of Zhanjiang Normal University, Guangdong 524300, China)

Abstract

Behavioral sensitization is defined as an increased behavioral response after repeated intermittent treatment with various drugs of abuse and is thought to be involved in drug abuse and addiction. This experiment examined the effects of Huperzine A on stress-induced expression of morphine behavioral sensitization in rats. Rats were treated with saline or morphine (3 mg/kg) for 7 days to induce behavioral sensitization (defined as a progressive increase of locomotor activity in the current study). In the subsequent experimental sessions, a stressor (empty bottle during scheduled water availability) was introduced acutely or chronically to elicit expression of morphine sensitization. The locomotor activities of the rats were monitored daily by using computer-interfaced monitoring system. The distance traveled (cm) during the development period was analyzed by two-way ANOVA with treatment day as the repeated measure. The data from the two challenge tests were separately analyzed by one-way ANOVA. Post hoc analyses (LSD test) were performed for assessing specific group comparison. Morphine induced significant behavioral sensitization during daily treatment. Environmental cue elicited marked hyperactivity during morphine discontinuation, which gradually dissipated within 7 days. Acute or chronic stress treatment both markedly induced expression of behavioral sensitization. A challenge dose of morphine markedly elicited the expression of behavioral sensitization, which was prevented by Huperzine A. In conclusion, this study demonstrated that stress induces robust expression of morphine sensitization and this can be inhibited by a cholinesterase inhibitor Huperzine A. This suggests that drugs that act as cholinesterase inhibitors (e.g. Huperzine A) may be useful therapeutics for opioid addiction.

Key words Huperzine A; behavioral sensitization; morphine; stress