

恒河猴海洛因依赖动物模型的建立

张晓冬 郭晓红 郭玲 张肇玫 张正仙 侯云成 郑春兰 曾庆云¹ 蒋家雄(昆明 650031 昆明医学院药物依赖研究所,¹ 昆明 650032 昆明医学院第一附属医院)

摘要 目的:用吗啡依赖猴作对比,对海洛因依赖猴模型进行研究。方法:给猴每日3次臀部皮下注射海洛因,连续注射10周。结果:随着注射海洛因时间的延长,猴的戒断症状逐渐加重。结论:本实验可使猴在10周内形成海洛因依赖动物模型,具有成瘾过程平稳、海洛因用量少、成瘾时间缩短等优点。

关键词 海洛因;恒河猴;模型

Establishment of animal model of heroin dependent macaca mulatta

Zhang Xiaodong(Zhang XD) ,Guo Xiaohong(Guo XH) ,Guo Ling(Guo L) ,et al(Institute of Drug Dependence ,Kunming Medical College ,Kunming 650031)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study heroin-dependent macaca mulatta model through contrast to morphine-dependent Macaca mulatta. **METHOD:** Macaca mulatta in this study were injected subcutaneously in buttock with heroin three times a day for ten weeks. **RESULTS:** Withdrawal symptoms deteriorated as injection period of heroin was protracted. **CONCLUSION:** This study can turn macaca mulatta into heroin-dependent animal model. It has the advantages such as stable addiction process, low dose of heroin, shorter period of addiction and etc.

KEY WORDS heroin, macaca mulatta, model

海洛因是危及全球的三大毒品之一,其滥用是令人瞩目而又棘手的问题,对社会、家庭、个人所造成的严重危害,已为国际、国内所关注。寻找对脱毒治疗的有效药物已成为当务之急。进行脱毒药物的筛选研究,动物模型是基础,目前国内外主要采用的是吗啡依赖动物模型。但在临床上,病人主要是海洛因依赖,吗啡依赖仅为医源性所致,人数不多。海洛因为二乙酰吗啡,其水溶性更大,吸收较快,并且脂溶性也较大,易于透过血脑屏障进入中枢,而吗啡难于透过血脑屏障,脑中只有较低浓度。海洛因作用比吗啡强2~3倍,出现欣快比吗啡快,临床上二者依赖强度和治疗难度也有所不同。故采用海洛因依赖模型进行研究可能更接近于临床实际。经过多年努力及多次反复实验,我所建立了海洛因依赖恒河猴动物模型。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 恒河猴(Macaca mulatta)10只,年龄4.5±1.5岁,雌雄均有,体重(5.6±1.0)kg(中国科学院云南省灵长目实验中心)。随机分为2组,海洛因组,吗啡组,每组5只。

实验猴单笼喂养,由专人负责打扫卫生,每天喂营

养配方主食2次,中间喂一次瓜子及水果或蔬菜以保证各种必需营养成分的供给。猴购入后饲养15~30d适应环境后方用于实验。

1.1.2 药品 海洛因:白色粉末,纯度为88.12%(云南省昆明市公安局)。临用时用灭菌蒸馏水溶解。

盐酸吗啡(青海制药厂,批号:951030),临用时用灭菌蒸馏水溶解。

盐酸纳洛酮(北京四环制药厂,批号:950906)。

1.2 方法

1.2.1 海洛因或吗啡依赖猴形成的给药方法 以剂量递增方法形成海洛因依赖猴。恒河猴5只,臀部皮下注射海洛因溶液,每天3次(8:00,13:00,18:00)。起始剂量为0.8mg/(kg·d),每周递增一倍,从第6周起维持第5周所用剂量直至第10周结束(表1)。

1.2.2 吗啡依赖猴形成的给药方法 参考文献^[1]。恒河猴5只,臀部皮下注射吗啡溶液,每天3次(8:00,13:00,18:00)。剂量第1,2,3周分别为3,6和10mg/(kg·d),从第4周起改为15mg/(kg·d),维持至第10周结束(表1)。

1.2.3 催促实验 两组猴从注射海洛因或吗啡开始,分别在10,20,30和40d时进行催促实验。用盐酸纳洛

表 1 药物用量表

| 周次 | 海洛因/mg/(kg·d) | 吗啡/mg/(kg·d) |
|----|---------------|--------------|
| 1 | 0.8 | 3 |
| 2 | 1.6 | 6 |
| 3 | 3.2 | 10 |
| 4 | 6.4 | 15 |
| 5 | 12.8 | 15 |
| 6 | 12.8 | 15 |
| 7 | 12.8 | 15 |
| 8 | 12.8 | 15 |
| 9 | 12.8 | 15 |
| 10 | 12.8 | 15 |

酮 0.5 mg/kg,皮下注射进行催瘾,观察注射盐酸纳洛酮后 20 min 内猴出现的戒断症状。固定专人进行评分,及时了解在依赖形成过程中猴对海洛因或吗啡依赖的程度。

1.2.4 自然戒断实验 注射海洛因或吗啡 10 周后,停止注射,观察猴的戒断反应。每天定时由专人进行评分,直到戒断症状完全消失为止。

1.2.5 评分方法 制定戒断症状观察表^[2]。观察症状共 36 项:烦躁不安、啼鸣、激惹、稀便、流涎、颜面潮红、面色苍白、意向性震颤、厌食、肌肉僵硬、立毛、抱腹、无力、躺卧、腹泻、跌倒、奇异姿势、行为异常、恶心、呕吐、咬栏、咬骨头、倒立、转圈、翻滚、争斗、精神萎靡、渴求、攻击行为、哈欠、闭目侧卧、呼吸急促、衰竭状态、抽搐、死亡。

评分标准:无症状 0 分,出现症状 1 分,症状严重 2 分,症状极重 3 分。评分人员均由 3 位通过培训后的专人各自分别对每猴进行观察、评分及记录。评分人员独立计分,不得讨论。将 3 人对每猴的评分总和除以 3,即得催促或自然戒断各猴戒断症状的实际得分。

2 结果

2.1 催促实验

海洛因组:注射海洛因 10d 时,进行第 1 次催促实验,猴已表现出烦躁不安、意向性震颤、奇异姿势、流涎、流涕、激惹、咬栏、稀便、立毛等症状,但症状较轻,得分为 3.76 ± 0.51 ;注射海洛因 20d 时,进行第 2 次催促实验,以上症状逐渐加重,得分为 5.58 ± 1.20 ;注射海洛因 30d 时,进行第 3 次催促实验,除以上症状加重外,部分猴出现恶心、呕吐、啼鸣、呼吸急促、咬骨头、行为异常、翻滚,得分为 12.96 ± 2.24 ;注射海洛因 40d 时,以上症状已为严重或极重,部分猴出现争斗、转圈、翻滚、倒立,得分为 15.58 ± 1.48 。吗啡组:注射吗啡

10d 时,进行第 1 次催促实验,猴已表现出烦躁不安、意向性震颤、奇异姿势、闭目侧卧、啼鸣、颜面潮红、恶心,得分为 2.7 ± 1.3 ;注射吗啡 20d 时,进行第 2 次催促实验,以上症状逐渐加重,部分猴出现咬骨头、躺卧、咬栏、立毛、激惹,得分为 6.4 ± 1.9 ;注射海洛因 30d 时,进行第 3 次催促实验,除以上症状加重外,部分猴出现翻滚、行为异常、争斗,得分为 8.2 ± 2.0 ;注射海洛因 40d 时,进行第四次催促实验,前述所有症状均为严重或极重,呼吸急促,有的出现倒立,得分为 11.2 ± 3.8 。

从以上两组猴催促实验结果可看出,随着注射海洛因或吗啡时间的延长,猴的戒断症状逐渐加重。

2.2 自然戒断实验

海洛因组:注射海洛因 10 周后,停用海洛因,进行自然戒断实验。当停用海洛因后 14h 猴开始出现戒断症状:啼鸣、食欲减退、流涎、流涕、颜面潮红、意向性震颤、厌食、恶心、抱腹、无力、躺卧、奇异姿势、精神萎靡、激惹、呼吸急促等。

吗啡组:注射吗啡 10 周后,停用吗啡,进行自然戒断实验。当停用吗啡 14h 后猴开始出现戒断症状:烦躁不安、啼鸣、恶心、意向性震颤、抱腹、躺卧、呕吐、激惹、面色苍白、精神萎靡、渴求、攻击行为、奇异姿势、厌食、颜面潮红、立毛、食欲减退、哈欠、闭目侧卧等。

两组猴戒断症状出现频率和严重程度在停用海洛因后 72h 达到高峰,第 6 天后逐渐减轻(表 2)。

表 2 猴自然戒断日平均分值得表($\bar{X} \pm s$)

| 时间/d | 海洛因组 | 吗啡组 |
|------|----------------|---------------|
| 1 | 7.7 ± 3.8 | 5.5 ± 2.3 |
| 2 | 11.0 ± 2.7 | 6.5 ± 2.5 |
| 3 | 12.4 ± 2.3 | 6.7 ± 1.1 |
| 4 | 7.6 ± 2.7 | 3.9 ± 1.0 |
| 5 | 7.0 ± 2.7 | 3.7 ± 0.8 |
| 6 | 4.9 ± 3.0 | 2.5 ± 0.3 |
| 7 | 2.1 ± 1.1 | 1.2 ± 0.2 |

3 讨论

3.1 猴是最接近人的高等动物,用猴做实验得出的结果对临床用药的指导意义最大。我所近年来,一直进行恒河猴海洛因依赖动物模型的研究工作,并对恒河猴海洛因依赖形成的时间、累计剂量、催促实验戒断反应的量-效、时-效变化及自然戒断反应出现的时-效关系进行了研究。认为海洛因组与吗啡组相比,在依赖形成初期,海洛因具有形成依赖时间短、用药量少、戒断反应程度严重、戒断症状稍有不同、有兴奋表现等特点^[2]。本实验在文献^[2]的基础上,在海洛因的用量、戒

癮时间、催癮方法、评分方法上进行了改进。具有以下优点：①海洛因用量减少，猴在成瘾过程中状况良好，活动自如，未出现深睡等情况。②成瘾时间缩短，既节约了海洛因用量，又缩短了整个实验周期。③催促实验方法把纳洛酮静脉注射法改为皮下注射法，既不影响实验效果，又降低了实验难度。④在评分方法上采用三人独立记分，科学性、严谨性及可信度均较高。

3.2 与吗啡模型相比，从实验结果可看出：①二者均随着注射海洛因或吗啡时间的延长，依赖的程度逐渐加重，但海洛因组重于吗啡组。②二者均表现为在停止注射海洛因或吗啡后出现各种戒断症状，且戒断症状的出现频率和严重程度在停用海洛因或吗啡后 72h 达到高峰，6d 后逐渐减轻、消失，与临床实际是相符的。③与吗啡组相比，海洛因组具有形成依赖时间短、用药

量少、戒断反应程度严重(表 2)、戒断症状不完全相同的特点。

综上所述，本实验可使猴在 10 周内形成海洛因依赖动物模型，具有成瘾过程平稳、海洛因用量少、成瘾时间缩短等优点。

参考文献

- 1 陆苏南,张有才,王大鹏,等.吗啡依赖猴脱毒药效学实验方法在评价脱毒药疗效中的应用.中国药物依赖性通报,1995,4(4):205.
- 2 郭晓红,张晓冬,徐贵丽,等.海洛因和吗啡对猴的致依赖性比较.中国药物依赖性通报,1997,6(1):13.

收稿日期:1998-08-10