

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.07.006

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190327.1054.047.html(2019-03-28)

## 针刺太冲穴对海洛因成瘾模型大鼠脑功能和神经内分泌因子的影响\*

杨雪<sup>1</sup>,王玫玲<sup>1△</sup>,张尧<sup>2</sup>

(1.武汉市精神卫生中心精神科 430022;2.武汉市卫生健康委员会 430033)

**[摘要]** **目的** 观察针刺太冲穴对海洛因成瘾模型大鼠焦虑症状的作用,并探讨对大鼠脑功能、神经内分泌因子的影响。**方法** 90 只大鼠分为正常对照组(A组),海洛因复吸模型组(B组)、针刺治疗组(C组)。建立海洛因成瘾动物模型,观察戒断大鼠焦虑程度及针刺的抗焦虑作用。检测大鼠全脑中单胺神经递质、血清中神经内分泌因子水平,探讨可能的作用机制。**结果** B、C组扭体、湿狗样颤抖、跳跃、站立、齿颤、上睑下垂等戒断症状评分均高于A组( $P<0.05$ );B、C组之间上述戒断症状评分比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。B、C组进入开臂次数百分率、开臂滞留时间百分率低于A组( $P<0.05$ ),C组进入开臂次数百分率、开臂滞留时间百分率高于B组( $P<0.05$ )。B、C组脑干去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)水平高于A组( $P<0.05$ ),B组NE、DA、5-HT水平高于C组( $P<0.05$ )。B、C组血清N端脑钠肽前体(NT-proBNP)、血浆血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)及醛固酮(ALD)水平高于A组( $P<0.05$ ),B组NT-proBNP、AngⅡ、ALD水平高于C组( $P<0.05$ )。**结论** 针刺太冲穴可明显改善海洛因成瘾戒断大鼠焦虑症状,可能通过减少全脑中单胺神经递质水平,降低血清中神经内分泌因子水平来实现。

**[关键词]** 针刺;太冲穴;海洛因依赖;神经内分泌因子;单胺神经递质**[中图分类号]** R749.05 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)07-1103-04

## Effects of acupuncture at Taichong point on brain function and neuroendocrine factors of rat models of heroin addiction\*

YANG Xue<sup>1</sup>,WANG Meiling<sup>1△</sup>,ZHANG Yao<sup>2</sup>

(1. Department of Psychiatry, Wuhan Mental Health Center, Wuhan, Hubei 430022, China;

2. Wuhan Municipal Health and Family Planning Commission, Wuhan, Hubei 430033, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of acupuncture at Taichong point on anxiety symptoms in rat models of heroin addiction, and explore its effects on brain function and neuroendocrine factors. **Methods** A total of 90 rats were divided into the normal control group (group A), the heroin re-addiction model group (group B) and the acupuncture treatment group (group C). The animal models of heroin addiction were established, and the anxiety degree of withdrawal rats and the anxiolytic effect of acupuncture were observed. The levels of monoamine neurotransmitters in the whole brain of rats and serum neuroendocrine factors were detected, and the possible mechanism was explored. **Results** The withdrawal symptoms scores of body torsion, wet-dog shakes, jumping, standing, teeth chattering and ptosis in group B and group C were significantly higher than those in group A ( $P<0.05$ ), and there was no significant difference in the above withdrawal symptoms scores between group B and group C ( $P>0.05$ ). The percentage of open-arms entries and open-arms retention time in group B and group C were significantly lower than those in group A ( $P<0.05$ ), and the percentage of open-arms entries and open-arms retention time in group C were significantly higher than those in group B ( $P<0.05$ ). The brainstem levels of norepinephrine (NE), dopamine (DA) and serotonin (5-HT) in group B and group C were significantly higher than those in group A ( $P<0.05$ ), and the levels in group B were significantly higher than those in group C ( $P<0.05$ ). The levels of serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), plasma angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ) and aldosterone (ALD) in group B and group C were significantly higher than those in group A ( $P<0.05$ ), and the levels in group B were significantly higher than those in group C ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Acupuncture at Taichong point significantly alleviate anxiety symptoms in withdrawal rats of heroin addiction, which may be achieved by reducing the levels of mono-

\* 基金项目:2014年湖北省自然科学基金项目(2014CFB398)。 作者简介:杨雪(1982-),主治医师,本科,主要从事精神瘾癖方面研究。

△ 通信作者,E-mail:qxc201804@163.com。

amine neurotransmitters in whole brain and the levels of neuroendocrine factors in serum.

**[Key words]** acupuncture; Taichong point; heroin dependence; neuroendocrine factors; monoamine neurotransmitters

毒品滥用为目前世界范围内最严重的公共卫生问题之一,多数吸毒者经脱毒治疗后会再次吸毒<sup>[1]</sup>,以海洛因滥用最为常见<sup>[2]</sup>。海洛因成瘾过程是由偶尔的用药过渡至强迫性用药的过程,患者多表现为用药后欣快状态,撤药后戒断反应伴随沮丧、焦虑等严重的精神症状<sup>[3-4]</sup>,使成瘾者易复吸,为脱毒治疗亟待解决的问题。研究显示,阿片类药物成瘾可使大鼠脑海马、中脑腹侧被盖区(VTA)等部位出现明显的内质网扩张、线粒体肿胀,以及细胞核周围固缩等神经超微结构变化,改善由成瘾物质导致的脑神经元损伤为临床研究的热点问题之一<sup>[5-6]</sup>。针灸为祖国传统医学疗法,针刺可通过抗细胞凋亡、促进神经细胞修复发挥神经保护作用<sup>[7-8]</sup>,但在海洛因成瘾中的应用尚不多见。本研究通过建立海洛因成瘾大鼠模型,观察针刺太冲穴对大鼠脑功能、神经内分泌因子的影响,探讨针刺太冲穴治疗海洛因成瘾的机制,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** 雌性 SD 健康大白鼠 90 只,体质量 200~250 g,购自湖北省实验动物研究中心,合格证号:SCXX(鄂)2008-0005。按简单随机抽样法将 90 只大鼠分为正常对照组(A 组),海洛因复吸模型组(B 组)、针刺治疗组(C 组),每组 30 只大鼠。

## 1.2 方法

**1.2.1 海洛因成瘾大鼠模型建立** 给予大鼠肌内注射递增剂量海洛因,建立海洛因成瘾模型。染毒阶段:第 1 天剂量  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,自第 2 天开始,每天剂量增加  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,至第 8 天剂量为  $2.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。第 4~8 天,每天注射 2 次,分别于早 7:00,晚 7:00 注射。脱毒阶段:停止注射海洛因 5 d,自然戒断。

**1.2.2 各组大鼠处理方法** A 组根据建立海洛因成瘾大鼠模型的实验周期,成瘾阶段给予大鼠肌内注射 0.9%氯化钠(NaCl)溶液,剂量为每天 0.2 mL;大鼠脱毒实验阶段不给予任何治疗措施,实验第 13 天处死大鼠,心脏取血待检。同时将大鼠断头处死,迅速剥取全脑,洗净血液,除去脑膜后,放液氮冷冻保存。B 组根据建立海洛因复吸大鼠模型的实验周期,成瘾阶段给予大鼠持续递增剂量的海洛因,肌内注射;脱毒实验阶段不给予任何治疗措施,实验第 13 天,同法留全脑及血液待检。C 组根据建立的海洛因复吸大鼠模型的实验周期,在成瘾阶段,给予持续递增量肌内注射海洛因;脱毒实验阶段,给予针刺太冲穴治疗,按《大鼠穴位图谱》<sup>[9-10]</sup>所示选择太冲穴,以 25 mm 的针灸针对太冲穴施以斜刺,进入皮下 12 mm,留针 30

min,每天 1 次,总共治疗 5 d。在实验第 13 天,同法留全脑及血液待检。

**1.3 观察指标** (1)海洛因成瘾强度评价:采用纳洛酮激发实验,第 8 天 3 组各抽取 10 只大鼠,每只大鼠腹腔注射 0.8 mg 纳洛酮催瘾,根据 MALDONADO 等<sup>[11]</sup>戒断症状评分评定大鼠的海洛因成瘾强度,包括:扭体、湿狗样颤抖、站立、跳跃、齿颤、上睑下垂等。观察时间为腹腔注射纳洛酮后开始计时,持续观察 20 min。(2)行为学指标:将实验大鼠置于实验室适应 20 min 后,大鼠面朝开臂方向放置于十字迷宫中心,记录大鼠 5 min 内在开臂、闭臂停留时间,进入开臂、闭臂的次数(以两前爪进入臂内判定为进臂 1 次)。开臂停留时间的百分比,进入开臂次数的百分比作为焦虑程度的检测指标。(3)脑功能指标:腹腔注射 10%的水合氯醛麻醉大鼠,快速断头处死,迅速在冰盘上剥离脑干组织(脑干界定:尾端为枕骨大孔,头端腹侧为间脑下缘,头端背侧为上丘上缘),取脑干组织称重,置于预冷酸性丁醇溶液中匀浆,转移匀浆液至离心管内,补足正丁醇至 10 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 1.5 mL 测定去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)水平。以荧光分光光度计检测,发射光/激发光分别为 NE 480 nm/385 nm,DA 375 nm/325 nm,5-HT 480 nm/365 nm。(4)神经内分泌因子:以放射免疫法(RIAS)检测血清 N 端脑钠肽前体(NT-proBNP)、血浆血管紧张素 II(Ang II)及醛固酮(ALD)水平。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 海洛因成瘾强度评定** B、C 组大鼠扭体、湿狗样颤抖、跳跃、站立、齿颤、上睑下垂等戒断症状评分均高于 A 组( $P < 0.05$ );B、C 组大鼠之间上述戒断症状评分比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。海洛因成瘾模型成功。

**2.2 行为学指标比较** B、C 组大鼠进入开臂次数百分率、开臂停留时间百分率低于 A 组( $P < 0.05$ );C 组大鼠进入开臂次数百分率、开臂停留时间百分率高于 B 组( $P < 0.05$ ),见表 2。

**2.3 脑功能比较** B、C 组大鼠脑干中(湿重脑干组织)NE、DA、5-HT 水平高于 A 组( $P < 0.05$ ),B 组大鼠脑干中 NE、DA、5-HT 水平高于 C 组( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 1 3 组大鼠戒断症状评分比较 (n=30,  $\bar{x}\pm s$ , 分)

组别	扭体	湿狗样颤抖	跳跃	站立	齿颤	上睑下垂
A 组	0	0	0.40±0.12	4.42±1.27	4.10±1.06	0.62±0.11
B 组	7.72±2.16*	9.92±3.86*	3.48±0.86*	9.69±0.98*	12.25±2.16*	5.08±0.75*
C 组	7.75±2.18*	9.91±3.82*	3.52±0.87*	9.72±0.98*	12.28±2.17*	5.10±0.78*
F	190.58	100.00	190.84	237.13	190.51	506.71
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

\*: P<0.05, 与 A 组比较

表 2 3 组大鼠行为学指标比较 (n=30,  $\bar{x}\pm s$ , %)

组别	开臂停留时间百分率	进入开臂次数百分率
A 组	34.82±4.75	27.51±3.47
B 组	20.18±3.64*	16.43±2.84*
C 组	27.49±4.21*#	22.71±3.18*#
F	90.08	91.95
P	<0.05	<0.05

\*: P<0.05, 与 A 组比较; #: P<0.05, 与 B 组比较

表 3 3 组大鼠脑神经递质水平比较 (n=30,  $\bar{x}\pm s$ , ng/g)

组别	NE	DA	5-HT
A 组	473.25±10.18	446.32±11.59	390.82±9.65
B 组	7 700.58±50.62*	1 240.65±19.87*	680.47±15.52*
C 组	1 080.85±18.74*#	605.84±13.76*#	426.33±12.61*#
F	479 372.42	22 117.25	4 556.10
P	<0.05	<0.05	<0.05

\*: P<0.05, 与 A 组比较; #: P<0.05, 与 B 组比较

**2.4 神经内分泌因子水平比较** B、C 组大鼠血清 NT-proBNP、Ang II、ALD 水平高于 A 组, B 组大鼠 NT-proBNP、Ang II、ALD 水平高于 C 组 (P<0.05), 见表 4。

表 4 3 组大鼠神经内分泌因子水平比较 (n=30,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	NT-proBNP(pg/mL)	AngII(pg/mL)	ALD(ng/mL)
A 组	102.65±10.25	110.52±13.58	320.27±36.81
B 组	172.84±20.38*	205.86±21.64*	638.45±70.12*
C 组	132.58±15.42*#	165.37±17.51*#	430.22±46.25*#
F	147.26	214.81	279.44
P	<0.05	<0.05	<0.05

\*: P<0.05, 与 A 组比较; #: P<0.05, 与 B 组比较

### 3 讨 论

海洛因成瘾患者中普遍存在情绪异常, 其中以焦虑、抑郁症状最为常见, 也是毒瘾戒除的重要心理因素<sup>[12]</sup>。针刺对海洛因成瘾者情绪异常的影响及其作用机制为目前针刺戒毒研究的热点问题。高架十字迷宫实验为药理学实验中常用评价动物焦虑程度与药物抗焦虑效果的可靠实验方法<sup>[13]</sup>。利用动物进入新奇环境的探究特性, 以及对高悬敞开臂的恐惧心理, 形成动物的矛盾行为, 以动物进入开臂的次数占

总进入次数的百分率, 进入开臂时间占总时间的百分率反映动物的焦虑状态。本组研究中, 海洛因成瘾大鼠进入开臂次数百分率、在开臂停留时间百分率均明显下降, 提示海洛因成瘾大鼠表现出明显的焦虑症状。经针刺治疗后, 海洛因成瘾大鼠进入开臂次数百分率、开臂停留时间百分率较 B 组海洛因成瘾模型大鼠明显升高, 但仍低于正常水平, 提示针刺治疗可减少海洛因成瘾大鼠的焦虑症状。

海洛因成瘾过程中, 单胺神经递质与大鼠脑功能、焦虑、神经组织受损程度等密切相关, 主要包括 DA、NE、5-HT 3 种<sup>[14]</sup>。DA 主要分布于黑质-纹状体通路、中脑边缘多巴胺系统、结节-漏斗部等。其中中脑边缘多巴胺系统为脑内奖赏中枢, 与药物的奖赏效应、药物依赖性密切相关<sup>[15]</sup>。NE 主要分布于脑干, 尤其是脑干网状结构、蓝斑等, 在药物奖赏效应及药物依赖中也具有明显作用, 可通过重新摄入神经细胞或抑制中枢单胺氧化酶的活性, 提高情绪、引发快感<sup>[16]</sup>。5-HT 主要分布于脑干的中缝核内, 可作用于额前皮质、边缘系统、垂体活性系统, 通过调节 DA 系统, 活化 5-HT 受体, 促进神经递质释放, 调节脑内涉及动机的奖赏环路, 从而引起海洛因成瘾<sup>[17]</sup>。本组研究中, B 组海洛因成瘾模型大鼠较 A 组正常对照大鼠 DA、NE、5-HT 水平均明显升高, 提示海洛因成瘾中单胺神经递质大量释放。经针刺治疗后, DA、NE、5-HT 水平较 B 组海洛因成瘾模型大鼠下降, 提示针刺治疗可改善脑内受损神经元, 改善内源性阿片肽系统及其他神经体液调节系统的功能, 改善成瘾大鼠脑功能。分析针刺影响神经递质的机制为: 针刺太冲穴可通过非哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 依赖途径调节脑内多巴胺能神经元的自噬通路, 恢复受损的自噬水平, 清除  $\alpha$ -突触核蛋白在脑内积累<sup>[18]</sup>。也可显著上调小鼠脑内多巴胺能神经元的溶酶体膜蛋白表达, 修复受阻断的自噬-溶酶体通路。自噬水平恢复后, 小鼠多巴胺能神经元损伤改善, 多巴胺能神经元活力、运动能力显著提升。

临床报道显示, 神经内分泌因子过度激活, 可引起血管内膜增厚, 冠状动脉血管结构功能损伤<sup>[19]</sup>。与药物成瘾密切相关的神经内分泌因子包括 NT-proBNP、Ang II、ALD 等。其中 NT-proBNP 为脑钠肽 (BNP) 激素原分裂后产生的无活性的 N 端片段, 在心

肌细胞收到的容量负荷、压力负荷增高时由左心室分泌,为评价心力衰竭的常用指标。Ang II 主要存在于神经元细胞体、轴突、神经末梢上,对中枢、外周系统有着多重调节作用,可调节细胞生长、性行为、血管收缩、压力感受反射、情感、记忆巩固等,可通过与 ATR1 结合在中枢系统中发挥调节内分泌、交感、应激系统的作用。ALD 为类固醇类激素,主要作用于肾脏,为增强肾脏对离子、水分再吸收的激素,也是肾素-血管紧张素系统的一部分,可调节肾素经肾静脉进入血液系统,启动链式反应,生成血管紧张素 I (Ang I)、Ang II 等<sup>[20-21]</sup>。本组研究中,对大鼠神经内分泌因子的观察结果表明,B 组海洛因成瘾模型大鼠血清神经内分泌因子 NT-proBNP、Ang II、ALD 水平均较 A 组正常对照大鼠升高,提示海洛因成瘾模型大鼠神经内分泌因子被激活,证实海洛因成瘾模型大鼠中存在血管内皮功能障碍、微血管结构及内皮功能损伤等。经针刺治疗后,上述指标明显改善,提示针刺治疗可通过调节神经内分泌因子水平,发挥治疗海洛因成瘾的作用。

综上所述,针刺太冲穴可明显改善海洛因成瘾戒断大鼠焦虑症状,可能通过减少全脑中单胺神经递质水平,减轻血清中神经内分泌因子水平来实现。

## 参考文献

- [1] 戴冰,修翠珍,李秀芳,等.青少年合成毒品滥用危险性行为特征与抑郁情况的相关分析[J].中国艾滋病性病,2017,23(8):742-744,775.
- [2] 彭艳秋,王超,赵建伟,等.成都市成华区新型毒品滥用影响因素的定性分析[J].现代预防医学,2017,44(2):336-339.
- [3] GHANBARI R, SUMNER S. Using metabolomics to investigate biomarkers of drug addiction[J]. Trends Mol Med, 2018, 24(2): 197-205.
- [4] KALINICHENKO L S, GULBINS E, KORNHUBER J, et al. The role of sphingolipids in psychoactive drug use and addiction[J]. J Neural Transm, 2018, 125(4): 651-672.
- [5] 余会平.吗啡依赖及戒断大鼠相关脑区 BDNF、Bcl-2 的表达及超微结构改变[D].重庆:重庆医科大学,2004.
- [6] CICEK E, DEMIREL B, CICEK I E, et al. Increased neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios in male heroin addicts: a prospective controlled study[J]. Clin Psychopharmacol Neurosci, 2018, 16(2): 190-196.
- [7] 孙红梅,吴海霞,许红,等.针刺督脉穴对帕金森病小鼠多巴胺能神经元保护及超微结构的影响[J].北京中医药大学学报,2010,33(4):257-261,289.
- [8] 姜伟,杨敏,余茜.针刺对脑梗死大鼠脑组织形态、能量代谢及神经保护因子表达的干预效应[J].中国临床康复,2006,10(47):115-117.
- [9] 华兴邦,周浩良.大鼠穴位图谱的研制[J].实验动物与动物实验,1991,3(1):1-5.
- [10] PAXINOS G, WATSON C. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 诸葛启钊,译.北京:人民卫生出版社,2005:95-104.
- [11] MALDONADO R, NEGUS S, KOOB G F. Precipitation of morphine withdrawal syndrome in rats by administration of mu-, delta- and kappa-selective opioid antagonists[J]. Neuropharmacology, 1992, 31(12): 1231-1241.
- [12] MORABBI M J, RAZAGHI E, MOAZEN-ZADEH E, et al. Pexacerfont as a CRF1 antagonist for the treatment of withdrawal symptoms in men with heroin/methamphetamine dependence: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. Int Clin Psychopharmacol, 2018, 33(2): 111-119.
- [13] CAROBREZ A P, BERTOGLIO L J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2005, 29(8): 1193-1205.
- [14] BLUM K, LIU Y, WANG W, et al. rsfMRI effects of KB220Z<sup>TM</sup> on neural pathways in reward circuitry of abstinent genotyped heroin addicts[J]. Postgrad Med, 2015, 127(2): 232-241.
- [15] KÄMMERER N, LEMENAGER T, GROSSHANS M, et al. Pregabalin for the reduction of opiate withdrawal symptoms[J]. Psychiatr Prax, 2012, 39(7): 351-352.
- [16] MILLER D K, BOWIRRAT A, MANKA M, et al. Acute intravenous synaptamine complex variant KB220TM "normalizes" neurological dysregulation in patients during protracted abstinence from alcohol and opiates as observed using quantitative electroencephalographic and genetic analysis for reward polymorphisms: part 1, pilot study with 2 case reports[J]. Postgrad Med, 2010, 122(6): 188-213.
- [17] PENG X Q, XI Z X, LI X, et al. Is slow-onset long-acting monoamine transport blockade to cocaine as methadone is to heroin? Implication for anti-addiction medications[J]. Neuropsychopharmacology, 2010, 35(13): 2564-2578.
- [18] JIA Y, ZHANG X, YU J, et al. Acupuncture for patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a randomized controlled trial[J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 556.
- [19] YANG J, LI J, XU G, et al. Elevated hair cortisol levels among heroin addicts on current methadone maintenance compared to controls[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150729.
- [20] PICETTI R, SCHLUSSMAN S D, ZHOU Y, et al. Addictions and stress: clues for cocaine pharmacotherapies[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(40): 7065-7080.
- [21] GERBER H, BORGWARDT S J, SCHMID O, et al. The impact of diacetylmorphine on hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and heroin craving in heroin dependence[J]. Eur Addict Res, 2012, 18(3): 116-123.