

Zakład Farmakodynamiki. Instytut Patologii Klinicznej. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Romuald Langwiński

Alicja KRUSZEWSKA, Romuald LANGWIŃSKI

Wpływ rezerpiny na objawy abstynencji morfinowej u myszy *

Влияние резерпина на симптомы морфинной абстиненции у мышей

The Effect of Reserpine on the Morphine Abstinence Syndrome in Mice

Rozwój tolerancji i fizycznej zależności po wielokrotnym podaniu oraz zjawisko abstynencji w przypadku odstawienia charakteryzują analgetyki narkotyczne. W pracach doświadczalnych modelami do badania fizycznej zależności od opiatów są myszy i szczury. Te zwierzęce modele są dobre, ponieważ klasyczne efekty morfinowe, tj. analgezja, tolerancja i fizyczna zależność mogą być łatwo wykazywane u obu gatunków zwierząt doświadczalnych.

Objawy abstynencji u myszy i szczurów zależnych od morfiny obserwuje się bądź po nagłym odstawieniu analgetyków narkotycznych (1, 7, 8), bądź po podaniu antagonistów narkotycznych leków przeciwbólowych (7, 18, 21).

U myszy abstynencja charakteryzuje się nasiloną defekacją, zwiększonym oddawaniem moczu, zwiększeniem aktywności motorycznej, drżeniami, niekiedy drgawkami; najbardziej charakterystycznym objawem jest stereotypowe skakanie — „jumping” (16) i utrata ciężaru ciała (15, 16). Stereotypowe skakanie i inne objawy abstynencji są bardziej nasilone w przypadku podania antagonisty analgetyków narkotycznych — naloksonu niż w przypadku abstynencji wywołanej nagłym odstawieniem narkotyku (18).

Po podaniu naloksonu szczurom zależnym od morfiny obserwuje się: biegunkę, nienormalną postawę ciała, zblednięcie uszu, ptozę, szczekanie zębami, próby ucieczki, otrząpywanie, ruchy języka jak przy połykaniu. Z wymienionych objawów abstynencji należy wyróżnić dwa najbardziej uchwytne, najbardziej charakterystyczne i najłatwiejsze do pomiaru próby ucieczki — „escape attempts” i epizody otrząpywania — „wet shakes” (20).

Mechanizm powstawania fizycznej zależności od analgetyków narkotycznych aktualnie nie jest znany. Wielu autorów sugeruje, że aminy biogenne występujące w ośrodkowym układzie nerwowym odgrywają rolę w powstawaniu fizycznej zależności oraz w zjawisku abstynencji. Materiał dowodowy sugeruje, że serotoninina i dopamina, a w mniejszym stopniu noradrenalina mają znaczenie w powstawaniu fizycznej zależności od narkotycznych analgetyków oraz w wyrażaniu objawów abstynencji (5, 18). Dotychczas nie wiadomo, czy zmiany w stężeniu i obrocie amin biogennych w mózgu zależnych zwierząt zapoczątkowują biochemiczne zmiany, które

* Praca subsydiowana w ramach problemu węzłowego PAN 10.4.

prowadzą do fizycznej zależności, czy też te zmiany są skutkiem zależności wywołanej przez narkotyki (11).

Korelacja pomiędzy dopaminą, noradrenaliną i serotoniną a farmakologicznymi efektami wywołanymi przez przewlekłe stosowanie morfiny była badana przez wielu autorów (2, 3, 5, 7, 9, 13, 14, 15, 17). Autorzy ci sugerowali możliwość pewnego znaczenia tych monoamin w rozwoju fizycznej zależności od morfiny i powstawaniu zjawiska abstynencji. Mechanizm powstawania abstynencji po zaprzestaniu przewlekłego stosowania analgetyków narkotycznych nie jest jednak poznany.

Rezerpina należy do środków o znanym wpływie na gospodarkę dopaminy, noradrenaliny i serotoniny w mózgu (4). Z uwagi na to wpływ rezerpiny na objawy abstynencji morfinowej może świadczyć o mechanizmie powstawania zjawiska abstynencji.

Celem niniejszej pracy było przebadanie wpływu rezerpiny na objawy abstynencji morfinowej u myszy.

METODYKA

I. CZĘŚĆ OGÓLNA

1. **Materiały.** Doświadczenia przeprowadzono na białych myszach szczepu Swiss, samcach o ciężarze ciała $22\text{ g} \pm 2\text{ g}$. Peletki z zawartością morfiny wykonano zgodnie z przepisem podanym przez W a y a i wsp. (18). Stosowane peletki zawierały morfinę (zasadę) — 75 mg, mikrokrystaliczną celulozę — 75 mg, żel krzemionkowy — 0,75 mg i stearynian magnezu — 1,5 mg. Ze względu na wymagane wolne uwalnianie morfiny otrzymaną mieszaninę wyżej wymienionych substancji mocno sprasowywano w tabletkarce. Otrzymane w ten sposób peletki posiadały średnicę 7 mm, a wysokość 2 mm. Ponadto stosowano rezerpinę (Serpasil — Ciba, amp.), 5-hydroksytryptofan (5-HTP) (Reanal), L-dwuhydroksyfenyloalaninę (L-DOPA) (Reanal) oraz chlorowodorek naloksonu (Narcan-Endo). Substancje te stosowano dootrzewnowo pod postaciami roztworów wodnych lub zawiesin w 0,5% roztworze tylozy.

2. **Technika implantacji peletek.** Peletki implantowano u myszy w lekkiej eterowej narkozie. Skórę w okolicy grzbietowej, 1 cm do tyłu od linii łączącej oba płatki uszne nacinano poprzecznie na długości około 7 mm. W otrzymane nacięcie wprowadzono peletkę, którą przesuwano pod skórą około 1 cm w stronę głowy, następnie cięcie skórne zamykano klamrą chirurgiczną.

3. **Ocena fizycznej zależności.** Myszy uzależniano od morfiny przez implantację morfinowych peletek, 72 h po implantacji wywoływano zespół odstawienia („withdrawal syndrome”) przez podanie naloksonu (5 mg/kg). Ocenę abstynencji przeprowadzano metodą S a e l e n s a i wsp. (12), biorąc za podstawę liczbę podskoków występujących u myszy w trakcie zespołu odstawienia („withdrawal jumping”). Po podaniu naloksonu myszy umieszczano pojedynczo w szklanych cylindrach (wysokość — 35 cm, średnica — 25 cm), następnie przez 10 min. oceniano liczbę podskoków (za podskok przyjmowano oderwanie czterech łap zwierzęcia od dna cylindra).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu testu *t* Studenta. Przyjęto 5-procentowe ryzyko błędu wnioskowania.

II. CZĘŚĆ SZCZEGÓŁOWA

Wpływ badanych związków na intensywność objawów abstynencji przebadano u myszy z wytworzoną zależnością od morfiny. Objawy abstynencji wywoływano wstrzyknięciem naloksonu.

1. Wpływ rezerpiny. Grupy myszy z zaimplantowanymi peletkami morfinowymi (6 zwierząt w grupie) otrzymywały rezerpinę w dawkach 1,5; 3,0 mg/kg lub 0,9% roztwór NaCl 56 h po implantacji peletek, a 16 h przed podaniem naloksonu.

2. Wpływ rezerpiny i L-DOPA. Peletki morfinowe implantowano 18 myszom (3 grupy po 6 zwierząt). Pierwsza grupa otrzymała rezerpinę w dawce 3 mg/kg oraz 0,5% roztwór tylozy odpowiednio 56 i 71,5 h po implantacji peletek. Druga grupa otrzymała rezerpinę w dawce 3 mg/kg oraz L-DOPA w dawce 300 mg/kg w tych samych odstępach czasowych. Natomiast grupa trzecia (kontrolna) otrzymała 0,9% roztwór NaCl oraz 0,5% roztwór tylozy. Po 72 h od implantacji wszystkie grupy otrzymały nalokson w celu wywołania objawów abstynencji.

3. Wpływ rezerpiny i 5-HTP. Peletki morfinowe implantowano 18 myszom (3 grupy po 6 zwierząt). Pierwsza grupa otrzymała rezerpinę w dawce 3 mg/kg oraz 0,5% roztwór tylozy odpowiednio 56 i 71,5 h po implantacji peletek. Druga grupa otrzymała rezerpinę w dawce 3 mg/kg oraz 5-HTP w dawce 200 mg/kg w tych samych odstępach czasowych. Natomiast trzecia grupa (kontrolna) otrzymała 0,9% roztwór NaCl oraz 0,5% roztwór tylozy w tych samych odstępach czasowych. Po 72 h od implantacji wszystkie grupy otrzymały nalokson w celu wywołania objawów abstynencji.

WYNIKI

Rezerpina podana w dawce 1,5 mg/kg praktycznie nie wpływała na objawy abstynencji wywołane podaniem naloksonu u zależnych od morfiny myszy. Podanie rezerpiny w dawce 3 mg/kg powodowało wyraźne i statystycznie istotne zmniejszenie objawów abstynencji, wyrażające się zmniejszeniem liczby podskoków występujących po podaniu naloksonu w dawce 5 mg/kg (tab. 1, 2 i 3).

L-DOPA w dawce 300 mg/kg znosiła hamujący wpływ rezerpiny zastosowanej w dawce 3 mg/kg na podskoki wywołane zastosowaniem naloksonu w dawce 5 mg/kg (tab. 2).

Podanie 5-HTP w dawce 200 mg/kg po uprzednim podaniu rezerpiny w dawce 3 mg/kg jeszcze bardziej hamowało „withdrawal jumping” występujący po podaniu naloksonu w dawce 5 mg/kg (tab. 3).

DYSKUSJA

Doniesienia wielu autorów (2, 9, 11, 16) sugerują pewną rolę dopaminy w wyrażaniu objawów abstynencji u zależnych od morfiny zwierząt.

Maruyama i wsp. (11) stosowali u zależnych od morfiny myszy substancje zmieniające stężenie mózgowych katecholamin i stwierdzili, że do pełnego wyrażenia objawów abstynencji u tych zwierząt konieczna jest całość ośrodkowych magazynów katecholaminowych. Autorzy ci

Tab. 1. Wpływ rezerpiny na „withdrawal jumping” wywołany naloksonem u zależnych od morfiny myszy

Effect of reserpine on naloxone-induced withdrawal jumping in morphine-dependent mice

Podawane związki	Średnia liczba podskoków w ciągu 10 min. ± błąd standardowy	P
0,9% NaCl 16 h przed naloksonem	50,0 ± 8,15	—
Rezerpina 1,5 mg/kg 16 h przed naloksonem	37,0 ± 7,74	>0,2
0,9% NaCl 16 h przed naloksonem	82,0 ± 21,86	—
Rezerpina 3 mg/kg 16 h przed naloksonem	19,0 ± 12,69	<0,05

Tab. 2. Wpływ rezerpiny i L-DOPA na „withdrawal jumping” wywołany naloksonem u zależnych od morfiny myszy

Effect of reserpine and L-DOPA on naloxone-induced withdrawal jumping in morphine-dependent mice

Podawane związki	Średnia liczba podskoków w ciągu 10 min. ± błąd standardowy	P
I. 0,9% NaCl + 0,5% tyloza 16 i 0,5 h przed naloksonem	122,0 ± 38,08	—
II. Rezerpina 3 mg/kg + 0,5% tyloza 16 i 0,5 h przed naloksonem	0,2 ± 0,20	<0,02*
III. Rezerpina 3 mg/kg + L-DOPA 300 mg/kg 16 i 0,5 h przed naloksonem	72,0 ± 21,81	<0,05**

* Porównywano grupę I i II.

** Porównywano grupę II i III.

* Group I and II was compared.

** Group II and III was compared.

sugerują, że dopamina spełnia ważniejszą rolę w obrazie „withdrawal jumping”, ponieważ zwiększenie stężenia dopaminy podnosi liczbę podskoków, natomiast zwiększenie stężenia noradrenaliny nie powoduje tego.

W a y i wsp. (16), aby określić rolę amin biogennych w stereotypowych podskokach, wywoływanych przez nalokson u zależnych od mor-

Tab. 3. Wpływ rezerpiny i 5-HTP na „withdrawal jumping” wywołany naloksonem u zależnych od morfiny myszy

Effect of reserpine and 5-HTP on naloxone-induced withdrawal jumping in morphine-dependent mice

Podawane substancje	Średnia liczba podskoków w ciągu 10 min. ± błąd standardowy	P
I. 0,9% NaCl+0,5% tyloza 16 i 0,5 h przed naloksonem	45,0 ± 8,70	—
II. Rezerpina 3 mg/kg + 0,5% tyloza 16 i 0,5 h przed naloksonem	4,5 ± 1,71	<0,01*
III. Rezerpina 3 mg/kg + 5-HTP 200 mg/kg 16 i 0,5 h przed naloksonem	1,7 ± 1,44	>0,2**

* Porównywano grupę I i II.

** Porównywano grupę II i III.

* Group I and II was compared.

** Group II and III was compared.

finy myszy, oznaczali stężenie dopaminy, noradrenaliny i serotoniny w różnych częściach mózgu. Autorzy ci stwierdzili zwiększone stężenie dopaminy po podaniu naloksonu, podczas gdy stężenie noradrenaliny i serotoniny było bez zmian. U szczurów obserwowano podobne zjawisko, a mianowicie wyraźny wzrost dopaminy w striatum po podaniu naloksonu. Autorzy ci stosując D-tubokurarynę wykluczyli również możliwość zwiększenia stężenia dopaminy na skutek samego zjawiska skakania.

Clouet i Ratner (3) twierdzą, że szczególnie interesującą aminą w powstawaniu zależności morfinowej u szczurów jest dopamina, której obrót zwiększa się po jednorazowym podaniu morfiny, ale rozwija się tolerancja na ten efekt po powtarzających się podaniach morfiny.

Maruyama i wsp. (10) stosowali rezerpinę dwukrotnie w dawce 5 mg/kg przed i w czasie implantacji morfinowych peletek u myszy. Pomimo zastosowania dużych dawek rezerpiny przez tych autorów oraz stosowania rezerpiny w różnym czasie przed wywoływaniem objawów abstynencji (1–48 h) nie stwierdzili oni zahamowania objawów abstynencji wywołanych naloksonem. Nieznaczne zmniejszenie uzyskali jednak, ale wówczas, kiedy „jumping” był nasilony przez uprzednie podanie pargiliny.

Otrzymane w niniejszej pracy wyniki wskazują, że zastosowanie rezerpiny w dawce 3 mg/kg 16 h wcześniej hamuje objawy abstynencji u myszy. Ponieważ rezerpina obniża zawartość amin katecholowych i seroto-

niny w ośrodkowym układzie nerwowym (4), można przypuszczać, że działanie to spowodowane jest tym efektem rezerpiny. Zastosowanie prekursora amin katecholowych — L-DOPA — znosiło hamujący wpływ rezerpiny. Na tej podstawie można więc przyjąć, że obniżenie zawartości amin katecholowych wywołane rezerpiną hamuje objawy abstynencji morfinowej u myszy. Doświadczenie z użyciem rezerpiny i 5-HTP, jak się wydaje, świadczy o tym, że serotonina w mniejszym stopniu wpływa na wyrażanie objawów abstynencji u myszy, aczkolwiek układ serotoninowy odgrywa pewną rolę w powstawaniu zależności morfinowej, o czym świadczy wiele opublikowanych na ten temat prac (5, 6, 7, 13, 14, 15, 17, 19, 22).

PIŚMIENNICTWO

1. Aker A. T., Brody T. M.: *Biochem. Pharmacol.* **17**, 675—688, 1968.
2. Bläsing J., Gramsch C., Laschka E., Herz A.: *Arzneim.-Forsch.* **26**, 19—21, 1976.
3. Clouet D. H., Ratner M.: *Science* **168**, 854—856, 1970.
4. Hillarp N. A., Fuxe K., Dahlstrom A.: *Pharmacol. Rev.* **18**, 727—741, 1966.
5. Ho J. K., Loh H. H., Way E. L.: *Europ. J. Pharmacol.* **21**, 331—336, 1973.
6. Ho I. K., Loh H. H., Way E. L.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **185**, 336—346, 1973.
7. Ho I. K., Lu S. E., Stolman S., Loh H. H., Way E. L.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **182**, 155—165, 1972.
8. Hosoya E.: *Pharmacologist* **1**, 77—82, 1959.
9. Lal H.: *Life Sci.* **17**, 483—496, 1976.
10. Maruyama Y., Hayashi G., Smits S. E., Takemori A. E.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **178**, 20—29, 1971.
11. Maruyama Y., Takemori A. E.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **185**, 602—608, 1973.
12. Saelens J. K., Granat F. R., Sawyer W. K.: *Arch. Int. Pharmacodyn.* **190**, 213—218, 1971.
13. Shen F. H., Loh H. H., Way E. L.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **175**, 427—434, 1970.
14. Theiss P., Papeschi R., Herz A.: *Europ. J. Pharmacol.* **34**, 263—271, 1975.
15. Way E. L., Ho I. K., Loh H. H. [w:] *Serotonin: New Vistas, Histochemistry and Pharmacology*, editors: Costa E., Gessa G. L., Sandler M., Raven Press, New York 1974.
16. Way E. L., Loh H. H., Ho I. K., Iwamoto E. T., Wei E. [w:] *Narcotic Antagonists*, editors: Braude M. C., Harris L. S., May E. L., Smith J. P., Villarreal J. E., Raven Press, New York 1974.
17. Way E. L., Loh H. H., Shen F. H.: *Science* **162**, 1290—1292, 1968.
18. Way E. L., Loh H. H., Shen F. H.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **167**, 1—8, 1969.
19. Way E. L., Shen F. H. [w:] *Narcotic Drugs. Biochemical Pharmacology*. Editor Clouet D. H., Plenum Press, New York 1971.

20. Wei E., Loh H. H., Way E. L.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **184**, 398—403, 1973.
21. Wei E., Loh H. H., Way E. L.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **185**, 108—115, 1973.
22. Yarbrough G. G., Buxbam D. M., Sanders-Bush E.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **185**, 328—335, 1973.

Otrzymano 3 VIII 1978.

РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние резепина, который понижает уровень катехоламинов и серотонина на морфинную абстиненцию у мышей. Образовано морфинную зависимость через 72 h подкожную имплантацию таблеток, а потом образовано абстиненцию налоксаном. Резерпин понижает скакание, которое вызывает налоксон у морфино-зависимых мышей. Это понижение связано с понижением катехал-аминов, а не серотонина потому, что применение „L-DOPA” отвращает понижение скакания образованного налоксаном, а „5-HTP” не влияет на это пониженное резерпином скакание у морфино-зависимых мышей.

SUMMARY

The effect of reserpine, which is known to deplete catecholamines and serotonin was investigated in mice rendered morphine-dependent by pellet implantation for 72 h and in which abstinence was induced by naloxone. Reserpine decreased naloxone-induced withdrawal jumping in morphine-dependent mice. The decreased incidence of withdrawal jumping observed after reserpine is related to catecholamines decreased, but not serotonin, since an enhanced jumping response in reserpine treated morphine-dependent mice after L-DOPA was observed. Administration of 5-HTP in reserpine treated morphine-dependent mice failed to alter incidence of withdrawal jumping.

