

电针对兔中脑导水管周围灰质吗啡和5-羟色胺敏感神经元活动的影响

程介士 欧淑培 何晓平 (上海第一医学院针麻原理研究室, 上海 200032)

提要 用微电泳方法观察 40 兔中脑导水管周围灰质(PAG)的 106 个神经元自发放电, 以及吗啡、埃托啡或 5-HT 对它的影响。见到 PAG 背侧和外侧区神经元放电频率较低, 其中吗啡类药物引起抑制反应的较多, 腹侧区神经元放电频率较高, 其中 5-HT 引起兴奋反应的较多。

电针可引起中脑 PAG 吗啡类抑制神经元及多数 5-HT 抑制神经元自发放电减少, 而引起 5-HT 及吗啡兴奋神经元自发放电增加。微电泳阿片受体阻断剂——纳络酮可颞颥电针对 PAG 神经元放电的抑制效应, 但不影响兴奋效应。

关键词 电针; 导水管周围灰质; 吗啡; 5-羟色胺; 神经元放电; 纳络酮; 埃托啡; 微电泳

中脑导水管周围灰质(PAG)是阿片受体密集, 并为吗啡发挥镇痛作用和脑内电刺激镇痛最有效部位之一^(1,2)。我们研究室工作中发现, 损毁兔中脑导水管周围灰质, 可消除或显著地减弱针刺镇痛作用⁽³⁾, 针刺镇痛时中央灰质推挽灌流液中内啡肽含量增加⁽⁴⁾, PAG 内微量注射纳络酮或对氯苯丙胺(PCA)可部分翻转 iv 吗啡或电针的镇痛作用⁽⁵⁾。可以设想, PAG,

特别是其中的内啡肽系统和 5-HT 系统, 可能为实现针刺镇痛效应的脑内重要结构之一。本工作试图以多管微电极离子微电泳法, 进一步观察 PAG 内吗啡敏感神经元及 5-HT 敏感神经元与针刺效应的关系。

材料与方 法

白色家兔 40 只, 体重 2.5-3.3 kg, ♀♂ 兼用。

盐酸吗啡系青海制药厂出品。埃托啡(etorphine-HCl), 本院药物化学教研组合成。纳络酮(naloxone-HCl), 本院药物化学教研组合成。5-羟色胺硫酸肌酐系瑞士出品, (生物实验用纯度, 简称 5-HT)。以上药物均溶于 NaCl 165 mM 溶液内, pH 5-6。

兔 iv 氯醛糖 50 mg/kg 和乌拉坦 500 mg/kg 麻醉。自制 7 (或 5) 管玻管微电极, 尖端总直径约 3-5 μm , 中心管充以 NaCl 4 M 或

KCl 2 M 溶液, 直流电阻约 8-15 M, 用以引导 PAG 神经元自发放电, 探查区域参考 Sawyer 图谱在 P_{8-10} , $RL_{0-1.5}$, $H_{-2.2-1}$ 范围内。其他 6 个侧管分别充灌: 盐酸吗啡 0.05 M, 埃托啡 0.05 M, 5-HT 0.1 M, 纳络酮 0.05 M 及 NaCl 2 M 溶液。滞留电流为 5-10 nA, 微电泳电流为 25-100 nA, 通电时间为 50-100 s。在少数实验中, 对自发放电频率极低的单位, 则电泳 DL-homocysteic acid (0.1 M, pH 8.5) 激活之(微电泳电流 5 nA, 负电流持续给药)。电针施于一侧“合谷”(前爪第 1 骨间隙中点)及“内关”穴(前肢掌侧面上 5/6 与下 1/6 交界处中点), 采用电子刺激器方波脉冲, 频率 1 Hz, 宽度 0.5 ms, 经 1:1 刺激隔离器输出, 峰值电流 5-10 mA。神经元放电则经场效应管源极跟随器及前置放大器等放大, 显示于 SR-12 示波器荧光屏上。实验结果通过 TQ_{10A} 医用数据处理机作序列密度处理, 并描记频率直方图于函数记录仪上。微电极尖端位置之确定方法如下: 微电极中心管或某一侧管中充以 0.1 M 铁氰化钾, 需要定位时经此管通直流电流 (3-10 μ A, 10-15 min)。实验结束时, 以 0.1 M 硫酸亚铁经颈总动脉进行脑灌注, 取脑固定于福尔马林液中, 5-7 d 后做 25 μ m 厚连续冰冻切片, 微电极电泳部位呈滕氏兰反应。

实验结果

PAG 神经元自发放电活动及其分布特点

在 40 只兔中脑部位共记录到 123 个神经元放电, 其中 106 个神经元在导水管周围灰质内, 17 个单位则位于 PAG 外的腹侧邻近区域, 123 个神经元自发放电频率为 0.5-70 次/s。每个神经元的放电频率相当均匀, 很少见到簇状放电。在 PAG 内放电频率 <20 c/s 的神经元约占 67% (71/106), 21 c/s 以上的占 33% (35/106)。从其分布来看, 在 PAG 背侧(H_0 以上)和外侧区(H_{-1-0} , $RL_{0.5-1.5}$) 多数神经元 (40/52) 放电频率较低; 而放电频率较高的神经元大多 (23/35) 位于腹侧区 ($H_{-2.2-1.1}$) 在 PAG

外(中脑腹侧, $H_{-2.3}$ 以下) 放电频率较高的神经元, 占 70% (12/17)。

微电泳吗啡类药及 5-HT 对 PAG 神经元自发放电的影响

在对神经元自发放电进行一段记录以确定其频率波动范围后, 即开始给予微电泳药物, 观察放电频率。在 PAG 106 个神经元中, 对吗啡类药及 5-HT 敏感者共 74 个。对其中部分神经元, 上述药物的作用相同, 均引起同一神经元的放电增加或使之抑制; 对另一些神经元, 则仅其中 1 种药物有效, 或 2 种药物引起截然相反的放电效应, 图 1 中可见, 埃托啡引起放电显著的抑制, 而 5-HT 则引起放电增加。兹将神经元自发放电对各种药物的反应分述如下: 在微电泳吗啡的 83 个神经元中, 发生反应的有 42 个神经元 (占 50%), 32/42 为放电抑制, 10/42 为放电兴奋; 电泳埃托啡的 43 个神经元中, 发生反应的有 23 个 (占 54%), 全部为放电抑制; 电泳 5-HT 的 92 个神经元中, 发生反应的有 52 个 (占 57%), 31/52 为放电兴奋, 21/52 为放电抑制。各类神经元在中央灰质内的分布有以下特点 (图 2, 表 1); 吗啡类药物在背侧区引起的反应均为放电抑制, 在外侧区发生抑制反应的神经元仍占半数 (18/33, 即 54%), 而在腹侧区, 发生抑制反应的神经元所占比例减少 (19/56, 即 34%), 多数神经元无反应, 少数则对吗啡发生兴奋反应 (7/56, 即 12%)。微电泳 5-HT 在背侧区引起抑制反应的神经元亦较兴奋反应的神经元为多, 但在外侧及腹侧区, 则主要为对 5-HT

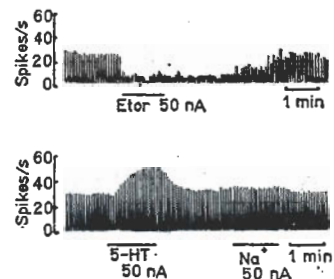


Fig 1. Neuronal spontaneous discharge of periaqueductal gray (PAG) after micro-iontophoresis of etorphine and 5-HT

Table 1. Spatial distribution of opiates and 5-HT-sensitive neurons in PAG. \uparrow = Activation; \downarrow = Inhibition; O = No effect

	Number of neurons					
	Effect of opiates			Effect of 5-HT		
	\uparrow	\downarrow	O	\uparrow	\downarrow	O
Dorsal region (upper H ₀)	0	11	7	3	6	7
Lateral region (H ₋₁₋₀)	3	18	12	9	5	12
Ventral region (H _{-2,2--1})	7	19	30	19	10	21
External region of PAG (H _{-3,6--2,3})	1	1	14	6	0	11

兴奋反应的神经元。在中央灰质范围外记录的 17 个神经元中(均在中脑腹侧面), 仅有个别对吗啡类药物发生反应, 但仍有 1/3 左右的神经元对 5-HT 发生反应, 且均为放电兴奋。

电针对 PAG 神经元自发放电的作用 在前述 106 个神经元中, 有 84 个于记录自发放电的同时, 施行电针刺激, 可见到大部分神经元经 5 s-6 min 潜伏期后, 其放电频率有改变, 停针后, 放电的变化仍持续 30 s-10 min 才恢复至原来水平或有恢复倾向(图 3, 表 2)。如表 2 所示, 在 84 个神经元中对电针发生反应的有 55 个(占 65%); 在此 55 个神经元中, 对吗啡类药物敏感或对 5-HT 敏感的共有 54 个(占 96%)。而在电针无效应的 29 个神经元中, 吗

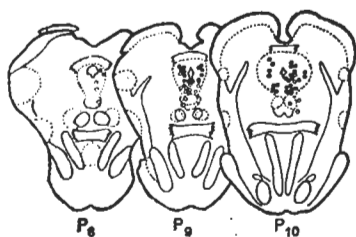


Fig 2. Spatial distribution of tested opiates and 5-HT sensitive neurons in PAG (62 neurons in 29 rabbits). Sensitive to morphine (•) or 5-HT (○)

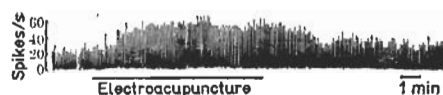


Fig 3. Activation effect of electroacupuncture on neuronal discharge (neuron #52) of PAG

啡类药物及 5-HT 仅对其中 2 个有作用, 其余 27 个(占 93%) 均为对吗啡类或 5-HT 不敏感者。并且, 电针抑制的 31 个神经元几乎均为对吗啡类药物或 5-HT 发生抑制反应的, 仅有 1 个出现了吗啡兴奋反应。而电针激活的 24 个神经元中, 17 个为 5-HT 激活的(占 71%), 没有一个神经元对 5-HT 发生抑制反应。

从放电频率与电针效应的关系进行分析, 可见到在放电频率 < 20 c/s 的神经元中, 对电针发生反应的占大多数(41/58), 且放电抑制的较多(27/58); 而在放电频率 > 21 c/s 的神经元中, 对电针发生抑制反应的较少(4/26), 发生放电兴奋的较多(10/26)。

纳络酮对抗吗啡类药物及电针对 PAG 神经元自发放电的作用 部份实验中观察了电泳纳络酮对吗啡及电针的颞颞效应。如图 4 所示, 在电泳吗啡引起放电抑制后, 电泳纳络酮可使放电恢复, 如在电泳吗啡之前 2 min 先电泳纳络酮, 并使之保持到与电泳吗啡同时结束。可以看到, 吗啡已不再引起放电抑制。在 20 个被试的吗啡类药物敏感的神经元中, 有 16 个神经元的吗啡抑制效应可被纳络酮所颞颞, 有 2 个神经元的抑制效应未被逆转(此 2 神经元亦同时系 5-HT 抑制神经元), 另外 2 个系对吗啡发生兴奋反应的神经元, 纳络酮对之亦无颞颞作用。

同样, 对 13 个电针有效神经元亦进行了电泳纳络酮的观察。在电泳纳络酮后, 7 个电针抑制神经元中即有 6 个神经元的电针抑制效应不再出现或显著减弱(图 4), 仅有 1 个未见明显影响(此同时亦为 5-HT 抑制神经元)。而在电针引起放电激活的 6 个神经元中, 恰恰相反, 有 5 个均未能显示纳络酮的颞颞作用, 仅 1 个神经元的反应发生改变。

Table 2. Influence of electroacupuncture on neuronal discharge of PAG and its relation to micro-iontophoretic chemicals.

Effect of needling	Number of neurons	Effect of chemicals		Morphine			Etorphine			5-HT		
		Effective	Ineffective	↑	↓	O	↑	↓	O	↑	↓	O
↑	24	23	1	7	3	10	0	5	6	17	0	3
↓	31	31	0	1	21	3	0	12	3	7	15	8
0	29	2	27	1	1	23	0	1	9	2	0	26
Total	84	56	28	9	25	36	0	18	18	26	15	37

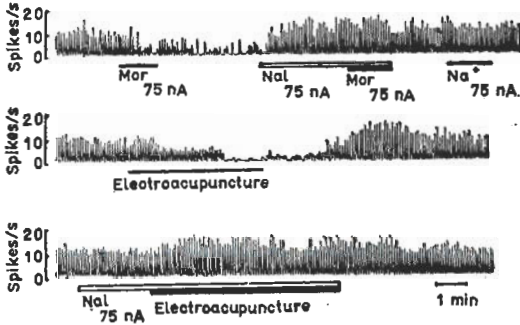


Fig 4. Inhibitory action of morphine and electroacupuncture upon the neuronal spontaneous discharge (neuron #48) and its reversed effect by naloxone

讨 论

关于针刺镇痛和 PAG 的关系的研究, 已有一些报道^(6,7)。我们曾用大脑皮层牙髓诱发电位作为“痛”反应指标, 发现 iv 纳络酮可颞颥针刺对该诱发电位的抑制作用⁽⁸⁾, 而损毁 PAG 某些部位, 可完全或部分消除针刺穴位的镇痛效应⁽³⁾, 这提示脑内阿片样物质系统, 特别是阿片受体密集的 PAG 在针刺镇痛作用中具有一定地位。本工作阐明, 微电泳吗啡类药物或 5-HT 及电针穴位所引起的神经元放电变化与这些神经元在中央灰质内的分布及原有自发放电的频率等似有一定关系。实验表明: 在背侧及外侧区, 放电频率较低 (20 次/s 以下) 的神经元较多, 其中多数对吗啡类药物发生抑制反应。而于腹侧区, 在放电频率较高的神经元中, 很少对吗啡敏感。与此同时, 5-HT 兴奋神经元在腹侧区比背侧区相对较多, 观察电针

对神经元放电的作用, 则可发现, 放电频率较低的神经元易对电针发生反应, 且主要引起放电抑制; 而放电频率较高的神经元中, 发生反应的多数神经元表现为放电兴奋。从吗啡类药物及 5-HT 敏感神经元对电针作用的反应来看, 其中绝大多数 (吗啡类敏感神经元 40/42, 5-HT 敏感神经元 39/41) 对电针都发生抑制或兴奋的反应。而且, 对电针产生抑制效应的大多数亦为吗啡抑制神经元, 电针引起兴奋效应的则大多为 5-HT 兴奋神经元。上述结果提示, 针刺可以作用于 PAG 内的吗啡敏感神经元及 5-HT 敏感神经元, 且针刺对前者主要呈现抑制作用。用阿片受体阻断剂——纳络酮进行微电泳, 可阻断微电泳吗啡及电针对神经元的抑制作用, 而电针的兴奋效应则不能被阻断。这进一步提示了电针对中央灰质神经元的抑制效应是通过内源性吗啡样物质对该神经元的阿片受体的作用而实现的。

针刺对 PAG 内的吗啡类药物敏感神经元的效应大多为放电抑制, 这样又如何解释通过这些神经元的作用而发动下行抑制系统呢? 有人设想⁽⁹⁾ 这种吗啡敏感神经元是一种中间神经元, 它对次级神经元起紧张性抑制作用, 当其在阿片样物质作用下产生抑制时, 则次级神经元不再受到紧张性抑制作用的影响而兴奋起来 (解除抑制), 从而发出下行性和上行性的抑制信号。本工作所见, 针刺引起多数吗啡敏感神经元的自发放电减少或停止, 而对 5-HT 敏感神经元 (特别在 PAG 腹侧区) 则主要引起放电增加, 这似乎也可用前述设想来解释, 即可能

这些对针刺起抑制反应的神经元,大多是前述中间神经元;而那些被针刺激活的5-HT敏感神经元,多数位于PAG腹侧区,比较靠近中缝核,可能起着与中缝核神经元类似的作用,可以设想,针刺信号进入中枢神经系统后,一方面兴奋5-HT系统,一方面促进内啡肽的释放,后者又可通过某种方式进一步兴奋5-HT系统,从而发挥镇痛效应。本实验结果提示,中脑PAG可能即系实现这种作用的部位之一。

致谢 中山医学院生理教研组姚愈忠同志参加部分实验,上海第一医学院生理教研组徐丰彦教授和张镜如教授对本文进行审阅

参 考 文 献

- 1 Simantov R, Kuhar MJ, Pasternak GW, Snyder SH. *Brain Res* 1976 Apr 16; 106(1):189
- 2 Akil H, Liebeskind JC. *Ibid* 1975 Sep 5; 94

(3):279

- 3 程介士、何晓平、欧淑培. 待发表
- 4 张安中、曾大允、张玲妹、王德岭、朱根根、蒋正英、钟高江、李燕茹. 科学通报 1979年5月15日; 24(9):425
- 5 孙凤艳、许美芬、许绍芬. 家兔中央灰质内微量注射纳洛酮及对-氯苯丙胺对针刺镇痛作用的影响. 全国针灸针麻学术讨论会会议学术处编. 全国针灸针麻学讨论会论文摘要(二). 北京: 全国针灸针麻学讨论会会议学术处印, 1979年:139页
- 6 赵建础. 中枢5-羟色胺能神经元——背中缝核及其周围灰质区在针刺镇痛中的作用. 同上101页
- 7 卢光启、周予谦、聂思槐、林乃立. 电针对刺激内脏神经诱发猫中脑中央灰质电位的影响及纳洛酮的对抗作用. 同上63页
- 8 程介士、叶志均、欧淑培. 中华医学杂志 1979 May; 59(5):257
- 9 Frederickson RCA, Norris FH. Enkephalins as inhibitory neurotransmitters modulating nociception. In: Ryall RW, ed. *Iontophoresis and transmitter mechanisms in the mammalian central nervous system*. 1st ed. NY: Elsevier, 1978:320

Acta Pharmacologica Sinica 1982 Sep; 3 (3) : 154—159

EFFECT OF ELECTRO-ACUPUNCTURE ON NEURONS OF MIDBRAIN PERIAQUEDUCTAL GRAY SENSITIVE TO MORPHINE AND 5-HT IN RABBITS

CHENG Jie-shi, OU Shu-pei, HE Xiao-pin

(Research Department of Acupuncture Analgesia, Shanghai First Medical College, Shanghai 200032)

ABSTRACT The spontaneous discharges of midbrain periaqueductal gray (PAG) neurons sensitive to morphine, etorphine and 5-HT were recorded by 7-barrel glass microelectrodes and examined by micro-iontophoresis in 106 units of 40 anesthetized rabbits. Morphine depressed 32/83 and excited 10/83 units, 5-HT depressed 21/92 and excited 31/92 units, whereas etorphine depressed 23/43 units but had no excitatory effects.

Electro-acupuncture was made on 84 out of these 106 units. Among the 84 units

24 were activated by electro-acupuncture, 31 depressed and 29 not significantly affected. Most neurons sensitive to morphine, etorphine or 5-HT responded to electro-acupuncture with an increase or decrease in the frequency of spontaneous discharges.

Most units in dorsal part of the PAG fired slowly with a frequency < 20/s. The majority of them were depressed by morphine or etorphine, and were inhibited by electro-acupuncture. Most units fired with a frequency of > 21/s were located in

ventral region of the PAG. Among them the majority of the neurons sensitive to 5-HT were excited by micro-iontophoresis of 5-HT and were activated by electroacupuncture.

The inhibitory effect of electroacupuncture upon the spontaneous discharges of the units in PAG was markedly reversed by naloxone in 6/7 units. But the activation effects of then eedling were not reversed by naloxone.

These results indicate that the inhi-

bitory action of electro-acupuncture upon the neurons in the mesencephalic central gray is closely related to the activity of opiate receptors and the opioid substances. But the activation effect by needling may likely occur through other transmitters such as 5-HT.

KEY WORDS electro-acupuncture; periaqueductal gray; morphine; 5-HT; neuronal discharge; naloxone; etorphine; micro-iontophoresis