

5-羟色胺耐受及其在电针耐受和吗啡耐受中的作用

李思嘉 汤 健 韩济生 (北京医学院生理教研组, 北京 100083)

提要 给大鼠 icv 5-HT 引起体温降低 $1.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 多次 ip 5-HTP 后, 5-HT 的降体温作用减弱, 与此同时电针的镇痛作用也减弱. 当给大鼠多次电针引起电针耐受时, 外源性注射 5-HT 的降体温作用也减弱. 结果说明, 反复电针引起内源性 5-HT 大量释放, 使机体产生 5-HT 耐受, 可能是电针耐受的重要原因之一.

关键词 5-羟色胺; 电针镇痛; 吗啡镇痛; 吗啡耐受; 交叉耐受性

反复电针可引起大鼠对电针耐受^(1,2). 电针与吗啡的镇痛作用之间存在交叉耐受现象⁽¹⁾. 如果给电针耐受大鼠注射 5-羟色胺(5-HT)的前体 5-羟色氨酸(5-HTP), 提高脑内 5-HT 含量, 可以部份翻转电针耐受及吗啡耐受⁽³⁾. 关于 5-HTP 翻转电针耐受的机制目前并不十分清楚. 在电针耐受时, 中枢 5-HT 含量并不降低, 其更新十分活跃, 5-HT 受体亲和力也无明显改变⁽³⁾. 曾有报告反复使用 5-HTP⁽⁴⁾ 或 5-HT⁽⁵⁾ 可以产生 5-HT 耐受. 那么反复电针引起脑内释放大量 5-HT 是否会引机体对自身的 5-HT 发生耐受, 从而降低电针镇痛效应呢? 本工作所获得的资料提示, 机体对内源性释放的 5-HT 发生耐受, 很可能是电针耐受的一个重要原因.

方 法

电针镇痛实验⁽⁶⁾ 将大鼠置于固定器内, 在两后肢相当于足三里和三阴交穴位处进针, 以国产 57-6D 型电针仪发出的疏密式(2-15 Hz)双向电脉冲进行刺激. 刺激电压由 1 V 开始, 每 10 min 递增 1 V 直至 3 V, 共刺激 30 min.

以辐射热甩尾法测定甩尾阈作为痛阈. 电针期间每 10 min 停电针测痛 1 次, 共测定 3 次. 每次测得的痛阈与电针前的基础痛阈比较, 以变化%表示. 3 次测痛痛阈增长%的平均值称为“平均针效”.

电针耐受实验 依上法电针 30 min 观察痛阈变化, 称为一轮电针. 休息 30 min 后再行下一轮电针. 如此反复电针, 直至产生耐受.

吗啡镇痛实验 大鼠测定基础痛阈后 sc 盐酸吗啡 4 mg/kg. 给药后每 10 min 测痛 1 次, 共测定 5 次, 以 5 次测定痛阈增长%的平均值表示吗啡镇痛效应.

吗啡耐受实验 大鼠 sc 递增剂量的盐酸吗啡 t.i.d. × 8 d. 每次剂量由第 1 d 的 5 mg/kg, 逐日递增至 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 mg/kg, 以产生吗啡耐受。

脑室注射 切开头皮, 在前囟后 1 mm, 距中线 2 mm 处双侧颅骨钻孔, 插入长 4 mm 的特制针头, 以微量注射器分别向左右侧脑室注入(icv)药液各 10 μl. 每侧在 0.5 min 内注毕。

结 果

icv 5-HT 的降体温效应 24 只大鼠均分为 6 组, 分别 icv 20 μl 生理盐水或不同剂量 (6.25, 12.5, 25, 50, 100 μg) 的 5-HT, 用半导体温度计测定肛温, 每 15 min 一次, 连续测定 6 次, 结果见表 1. 12.5 μg 以上的 5-HT 均有明显的降体温作用, 并且存在剂量效应关系。一般在给药后 15-30 min, 降体温作用较为明显。12.5 μg 组, 30 min 时, 肛温平均降低 $1.5 \pm (\text{SD}) 0.5^\circ\text{C}$ 。而盐水组体温仅下降 $0.3 \pm 0.8^\circ\text{C}$, ($P < 0.01$) (表 1)。在以后的实验中, 我们选用 5-HT 12.5 μg 在 icv 30 min 时的降体温效应作为观察 5-HT 耐受的指标。

5-HT 耐受的形 22 只大鼠均分为 2 组 icv 5-HT 12.5 μg, 30 min 时体温分别降低 $1.6 \pm 0.8^\circ\text{C}$ 和 $1.8 \pm 0.8^\circ\text{C}$ 。以后 1 组大鼠 ip 5-HTP 25 mg/kg, qh × 6; 另 1 组注射 6 次生理盐水。最后 1 次注射后 2 h, 再 icv 5-HT 12.5 μg, 观察体温变化。此时, 5-HTP 组大鼠体温仅降低 $0.6 \pm 0.8^\circ\text{C}$ (由 38.8 ± 0.8 降到

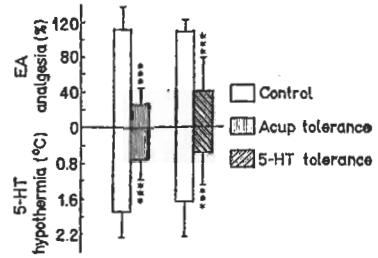


Fig 1. Relationship between 5-HT tolerance and electroacupuncture tolerance. Left, Rats were given 8 sessions of electroacupuncture (EA) to induce electroacupuncture tolerance (EAT). The effect of EA analgesia was measured in the 1st and 8th sessions and indicated as the % increase of the tail flick latency. The hypothermic effect of icv 5-HT was determined before and after the EA sessions. Right, Rats were given ip 5-HTP 25 mg/kg, qh × 6, to induce 5-HT tolerance. The hypothermic effect of icv 5-HT and the effect of EA analgesia were measured before and after ip 5-HTP. The predrug session was taken as the control. *** $P < 0.01$, as compared to the control group.

$38.2 \pm 1.2^\circ\text{C}$), 而盐水组大鼠体温仍降低 $1.9 \pm 0.4^\circ\text{C}$ (38.4 ± 0.4 降到 $36.5 \pm 0.4^\circ\text{C}$), 两组差异具有显著性 ($P < 0.01$)。以上结果表明, 反复注射 5-HT 的前体 5-HTP 可以引起机体对 5-HT 发生耐受。

5-HT 耐受时电针的镇痛作用 18 只大鼠分为 2 组。实验前分别电针一轮, 平均针效为 $110 \pm 29\%$ 和 $110 \pm 42\%$ 。以后, 10 只大鼠依前法 ip 5-HTP 以引起 5-HT 耐受, 另外 8 只大鼠 ip 生理盐水作为对照。耐受后分别电针一轮以检验电针镇痛效应: 5-HTP 组大鼠基

Table 1. The hypothermic effect of icv injection of 5-HT in rats, $n = 4$

5-HT (μg)	Change in rectal temperature ($^\circ\text{C}$)					
	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
0	-0.4 ± 0.3	-0.3 ± 0.8	-0.1 ± 0.5	-0.1 ± 0.5	$+0.1 \pm 0.8$	$+0.1 \pm 0.8$
6.25	$-1.1 \pm 0.5^*$	$-0.7 \pm 0.6^*$	$-0.4 \pm 0.6^*$	$-0.1 \pm 0.7^*$	$+0.1 \pm 0.5^*$	$+0.1 \pm 0.3^*$
12.5	$-1.5 \pm 0.7^{**}$	$-1.5 \pm 0.5^{**}$	$-0.8 \pm 1.1^{**}$	$-0.9 \pm 1.2^*$	$-0.6 \pm 1.1^*$	$-0.5 \pm 1.0^*$
25	$-1.6 \pm 0.4^{***}$	$-1.1 \pm 0.6^*$	$-1.0 \pm 0.9^*$	$-0.6 \pm 1.2^*$	$-0.4 \pm 0.9^*$	$-0.2 \pm 0.6^*$
50	$-2.0 \pm 0.7^{***}$	$-1.8 \pm 0.6^{**}$	$-1.8 \pm 0.3^{***}$	$-0.6 \pm 0.6^*$	$-0.6 \pm 0.6^*$	$-0.4 \pm 0.5^*$
100	$-2.2 \pm 0.6^{***}$	$-1.8 \pm 0.3^{**}$	$-2.0 \pm 0.2^{***}$	$-1.3 \pm 0.4^{***}$	$-1.4 \pm 0.5^{**}$	$-0.9 \pm 0.5^*$

* $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ as compared to the control group.

础痛阈为 6.3 ± 1.6 s, 平均针效仅有 $41 \pm 13\%$, 对照组基础痛阈为 5.3 ± 0.5 s, 针效可达 $105 \pm 31\%$ ($P < 0.01$), 说明在反复注射 5-HTP 后, 不仅 5-HT 的降体温作用发生耐受, 电针镇痛效应也产生了交叉耐受(图 1)。

我们过去证明, icv 5-HTP 可以部分翻转电针耐受⁽⁵⁾, 在本工作中我们又观察了由于 5-HT 耐受而引起的电针交叉耐受是否能被 5-HTP 所翻转。

15 只 5-HT 耐受的大鼠分为 2 组, 各进行一轮电针。5 只大鼠电针的平均针效为 $41 \pm 7\%$, icv 生理盐水 $20 \mu\text{l}$, 20 min 后再进行一轮电针, 针效为 $-2 \pm 22\%$ 。10 只大鼠按上法引起 5-HT 耐受后的平均针效为 $41 \pm 41\%$, icv $200 \mu\text{g}$ 5-HTP, 20 min 后再进行一轮电针, 针效可恢复到 $79 \pm 57\%$, 显著高于盐水对照组 ($P < 0.01$)。说明提供 5-HT 的前体 5-HTP 可以部分翻转由于 5-HT 耐受而引起的电针交叉耐受。

电针耐受时 5-HT 的降体温效应 12 只大鼠 icv 5-HT 使体温降低 $1.9 \pm 0.6^\circ\text{C}$, 连续电针 8 轮, 电针镇痛效应由最初的 $110 \pm 52\%$ 降到 $25 \pm 38\%$, 产生了电针耐受。这时再 icv 5-HT, 体温仅下降 $0.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 与耐受前相比差异非常显著 ($P < 0.001$)。而 6 只放置笼中未予电针的对照鼠, 在同一时间内前后 2 次检验 5-HT 的降体温效应分别为 $1.9 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 和 $1.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$, 差异并不显著 ($P > 0.05$)。说明电针耐受时, 5-HT 的降体温效应也发生了交叉耐受(图 1)。

5-HT 耐受与吗啡耐受的关 系 首先观察吗啡耐受时 5-HT 的降体温作用。取 20 只吗啡耐受大鼠 icv 5-HT $12.5 \mu\text{g}$, 30 min 时体温降低 $0.8 \pm 0.7^\circ\text{C}$ 。而 12 只正常鼠 icv 同量 5-HT 后体温降低 $1.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 二者差异非常显著 ($P < 0.01$)。说明吗啡耐受的大鼠, 对 5-HT 的敏感性也降低。

其次观察 5-HT 耐受对吗啡镇痛的影响, 取 24 只大鼠均分为 2 组, 均 sc 盐酸吗啡 $4\text{mg}/$

kg, 其平均镇痛效应分别为 $72 \pm 42\%$ 。一组依前法重复注射 5-HTP 以引起 5-HT 耐受, 另一组注射等量生理盐水作为对照。然后分别检验吗啡的镇痛效应。5-HT 耐受组和对照组的痛阈分别升高 $54 \pm 45\%$ 和 $60 \pm 35\%$, 统计学处理两组的差异无显著性, 说明大鼠对 5-HT 发生急性耐受并不显著降低吗啡的镇痛效应。

综上所述, 当机体对 5-HT 耐受时, 电针镇痛效果降低, 反之, 当发生电针耐受时, 5-HT 的作用也减弱。因此机体对 5-HT 发生耐受, 可能是电针耐受的机理之一。在吗啡耐受机制中, 5-HT 耐受可能也起一定的作用。

讨 论

许多工作已经证明, 中枢内源性鸦片样物质(OLS)与 5-HT 是参与和促进针刺镇痛的 2 种重要的神经介质或调质⁽⁶⁾。在电针耐受时, 电针的镇痛作用明显减弱甚至消失, 推测其机理也可能与这两种神经化学物质的动态变化有关。已知 OLS 的镇痛作用可以产生耐受并与吗啡存在交叉耐受⁽⁷⁾, 电针镇痛与吗啡镇痛之间又存在双向性交叉耐受⁽¹⁾。因此 OLS 耐受作为电针耐受的机理之一是不难理解的。但中枢 5-HT 系统在电针耐受中的作用, 至今尚不了解。

Hosobuchi 等⁽⁸⁾曾报告给猫 ip 5-HT 的前体 5-HTP 可以部份翻转 β -内啡肽的耐受。我们给大鼠 icv 5-HTP, 发现不仅可以部份翻转电针耐受及吗啡交叉耐受, 也可以部份翻转吗啡耐受和电针交叉耐受⁽³⁾, 提示在电针耐受时可能存在中枢 5-HT 系统机能不足, 导致镇痛作用降低。但是在更进一步的研究中, 我们发现在电针耐受时脑内 5-HT 含量并未下降, 其更新率显著高于正常大鼠, 测定 5-HT 受体亲和力和也无明显改变⁽³⁾, 都推翻了上述设想, 使我们不得不从另外的角度来研究 5-HT 在电针耐受中的作用。

药物耐受是一个普遍存在的现象, 但是关于内源性释放的神经介质特别是 5-HT 引起耐

受的报告则较少。Carter 等⁽⁴⁾曾报告给大鼠 ip 5-HT 的前体 5-HTP 50 mg/kg, 连续注射 9 d, 可使某些行为效应发生耐受, 并认为这种变化是由于中枢神经对 5-HT 耐受所致。最近 Pablo⁽⁵⁾报告在离体豚鼠回肠标本上观察到 5-HT 具有自身阻断(auto-blockade)和消退(contraction-fade)现象。在持续使用 5-HT 以后, 豚鼠回肠对 5-HT 加强收缩的反应性降低以至完全消失。在本工作中我们 icv 5-HT 引起体温降低作为 5-HT 中枢效应的一个指标, 发现反复 ip 5-HTP 可以使 icv 5-HT 的降体温作用减弱。表明产生了 5-HT 耐受。这时电针(引起内源性 5-HT 释放)镇痛作用也减弱。反之, 当多次电针引起针效减弱时, 外源性注射 5-HT 的降体温作用也减弱。由于多次电针而引起的电针耐受, 以及由于反复注射 5-HT 前体引起的 5-HT 耐受时发生的电针交叉耐受, 都可被 icv 较大剂量的 5-HTP 所翻转。这些事实使我们得出这样的工作假设: 不论是长期重复电针引起内源性 5-HT 的大量释放, 或是外源性提供的 5-HT, 都可使机体产生 5-HT 耐受。这时, 一般剂量的 5-HT 或电针时释放的 5-HT 量已不足以引起镇痛作用, 必须提供更多的前体, 使机体合成并释放出远较正常情

况更多的 5-HT, 才能引起一定的镇痛效应。

我们也对吗啡耐受进行了初步观察, 发现总的趋势与电针耐受相似, 但有量的差别。在吗啡耐受时, 5-HT 的降体温作用也减弱(-46%, $P < 0.01$), 但不如电针耐受时明显(-61%, $P < 0.001$)。同时在 5-HT 耐受时, 吗啡的镇痛作用并未显著减弱。提示 5-HT 在吗啡镇痛中的重要性似不如在针刺镇痛中明显。

参 考 文 献

- 1 Han JS, Li SJ, Tang J. *Neuropharmacology* 1981 Jun; 20 (6):593
- 2 汤 健、梁熙南、张万琴、韩济生. 北京医学 1979 年 5 月; 1 (1):34
- 3 李思嘉、汤 健、韩济生. 中国科学 1982 年 3 月; (3):256
- 4 Carter RB, Appel JB. *Eur J Pharmacol* 1978 Jul 15; 50 (2):145
- 5 Pablo JH. *ibid* 1980 Feb 22; 61 (4):335
- 6 韩济生、汤 健、任民峰、范少光、周仲福. 中枢神经介质概论. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1980: 463
- 7 Tseng LF, Loh HH, Li CH. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976 Nov; 73 (11):4187
- 8 Hosobuchi Y, Meylio M, Adams JE, Li CH. *ibid* 1977 Sep; 74 (9):4017
- 9 任民峰、韩济生. 生理学报 1978 Oct; 30(2):204

Acta Pharmacologica Sinica 1982 Sep; 3 (3) : 159—163

TOLERANCE TO 5-HT AND ITS IMPLICATION IN ELECTRO-ACUPUNCTURE TOLERANCE AND MORPHINE TOLERANCE

LI Si-jia, TANG Jian, HAN Ji-sheng

(Department of Physiology, Beijing Medical College, Beijing 100083)

ABSTRACT Previously we reported that electro-acupuncture tolerance (AT) or morphine tolerance (MT) were partially reversed by intra-cerebroventricular injection (icv) of 5-hydroxytryptophan (5-HTP), the precursor of 5-HT. In this study the development of tolerance to 5-HT during AT and MT was evaluated.

Overload of 5-HT receptors was

achieved by ip 5-HTP 25 mg/kg/h x 6 h and the response of CNS to 5-HT was monitored by icv 5-HT 12.5 μ g. The hypothermic effect of 5-HT was markedly reduced in 5-HTP loaded rats ($0.6 \pm 0.8^\circ\text{C}$), in AT rats ($0.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$) and in MT rats ($0.8 \pm 0.7^\circ\text{C}$) as compared to the control rats ($1.9 \pm 0.4^\circ\text{C}$, $1.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$ and $1.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, respectively). On the other hand, there

was a reduction in the effectiveness of electro-acupuncture analgesia in 5-HTP loaded rats. The increase of tail flick latency after electro-acupuncture was only $14 \pm 41\%$ in 5-HTP loaded rats as compared to $110 \pm 29\%$ in the control rats.

The results suggest that tolerance to

endogenous 5-HT may serve as one of the possible mechanisms underlying the development of AT and MT.

KEY WORDS 5-HT; electro-acupuncture analgesia; morphine analgesia; morphine tolerance; cross tolerance

* * * * *