

## 中缝背核内微量注射红藻氨酸对电针、吗啡和应激镇痛的影响

于烽生\* 龚珊 殷伟平 印其章 (苏州医学院电生理研究室, 苏州215007)

**提要** 大鼠中缝背核内微量注射红藻氨酸损毁其中的5-HT能神经元后, 大鼠电针和应激镇痛效应明显下降, 吗啡镇痛效应无明显改变。

**关键词** 红藻氨酸; 中缝背核; 5-羟色胺能神经元; 电针镇痛; 吗啡镇痛; 应激镇痛

中缝背核(DR)在电针镇痛中起着重要的作用<sup>(1)</sup>, 有关DR在吗啡镇痛中的作用目前资料还不一致<sup>(2-4)</sup>, 而DR与应激镇痛的关系尚未见明确的报道。本实验采用仅损毁局部神经元胞体而不累及传入神经末梢和路过纤维的神经毒性药物——红藻氨酸(kainic acid, KA)<sup>(5)</sup>, 作DR内微量注射, 观察对电针、吗啡和应激

镇痛效应的影响。并把形态结构、神经生化、荧光组化和动物行为改变结合起来, 进一步探讨DR内5-羟色胺(5-HT)能神经元在这三种镇痛中的作用。

### 实验方法

成年大鼠, 体重 $241 \pm (\text{SD}) 22 \text{ g}$ , 用电刺激鼠尾一嘶叫法测定痛阈。基础痛阈一般调节到 $0.2-0.3 \text{ mA}$ , 以镇痛指数(analgesic index, AI)来评定镇痛效应。

计算公式如下:

$$\text{AI} = \frac{\text{给予镇痛措施后的痛阈} - \text{基础痛阈}}{\text{规定的最高痛阈}(1.5 \text{ mA}) - \text{基础痛阈}}$$

电针镇痛为唇针电针30 min; 吗啡镇痛为ip盐酸吗啡 $10 \text{ mg/kg}$ ; 应激镇痛是将大鼠置于

1982年10月12日收稿 1983年1月18日修回

\* 现在广州医学院附属第一医院呼吸病研究所工作

有机玻璃盒内,通过盒底的金属栅施加不能躲避的间歇性脚底电刺激。这三种镇痛的具体方法详见前文<sup>(6)</sup>。

大鼠麻醉后固定于立体定位仪上,在DR中注入新鲜配制的KA溶液 $0.75\mu\text{g}/0.75\mu\text{l}$ (以pH 7.4, 0.15 M磷酸缓冲液配制,KA由日本武田药品工业株式会社提供)。注射时间4 min,注毕留针4 min。为防止远隔脑区的损伤,术后动物ip安定(江苏常熟制药厂)<sup>(7)</sup>。对照组大鼠DR内注入配药液 $0.75\mu\text{l}$ 。

按照荧光法<sup>(8)</sup>用岛津RF-510型荧光分光光度计(360/470 nm)测定大鼠端脑和间脑的5-HT和5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)的含量。

按荧光组织化学方法<sup>(9)</sup>,中脑组织块经骤冷,低温真空干燥,甲醛反应,真空透蜡包埋后切成 $8\mu\text{m}$ 厚的薄片在Zeiss荧光显微镜下观察DR中5-HT细胞的数量和荧光强度。

中脑经10%甲醛溶液固定后作连续冰冻切片和焦油紫染色。在光镜下观察DR内的细胞形态、损毁部位和范围。

整个实验的步骤为:将大鼠随机分成KA组(DR内注射KA溶液)和对照组(DR内注射配药液)。术前分别测定每鼠的三种镇痛效应。术后d 3, 4, 5对每鼠再次测定三种镇痛效应。为避免术前、术后测痛时程的先后所可能造成的误差,故以交叉平衡的程序进行三种镇痛试验。术后d 6将大鼠断头处死,端脑和间脑即进行生化测定,脑干部份作形态学检查。另取一批大鼠也随机分成KA组和对照组,于术后d 6取中脑作荧光组织化学检查。

## 实验结果

**大鼠行为改变** KA组大鼠在注完KA后,很快出现胡须震颤,眼球突出,流涎及抽搐,苏醒后活动明显增加,睡眠减少,凶猛和敏捷。对照组大鼠未出现上述行为异常。

**损毁部位光学显微镜检查** KA注入DR后d 6,注射区域内神经元明显减少,可见胶质细胞增生(图1. A, B),损伤范围约为 $0.4\times$

$0.6\text{ mm}$ 。对照组DR区细胞形态正常(图1. C, D)。

## 端脑和间脑5-HT和5-HIAA含量测定

KA组大鼠端脑和间脑的5-HT和5-HIAA含量均下降,5-HT含量与对照组相比分别下降20.0%和19.5%,5-HIAA分别下降18.8%和18.3%,差异显著(表1)。

**荧光组织化学检查结果** 对照组大鼠DR区可见密集的呈黄色荧光的5-HT细胞,KA组DR区内的5-HT细胞明显减少(图2)。

**三种镇痛效应的变化** KA组与对照组大鼠术前、术后的基础痛阈比较稳定。

电针后,对照组AI为 $0.60\pm 0.23$ ,而KA组AI仅为 $0.10\pm 0.07$ ( $p<0.01$ )。ip吗啡后,



Fig 1. Photomicrographs of kainic acid-lesioned nucleus raphe dorsalis showing a marked loss of neuronal perikarya with gliosis (A,B). Control rats after microinjection of phosphate buffer (C,D). A, C  $\times 80$ ; B, D  $\times 320$ .

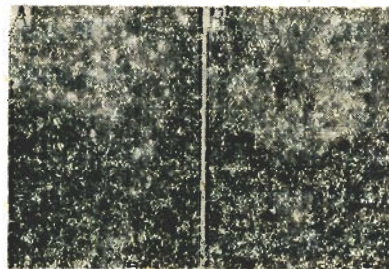


Fig 2. Changes in 5-HT-containing cells of nucleus raphe dorsalis in which kainic acid was injected, showing a marked diminution of the fluorescence (A). Heavy fluorescence in control rat (B).  $\times 150$ .

Tab 1. Effects of microinjections of kainic acid(KA) into nucleus raphe dorsalis on brain 5-HT, 5-HIAA contents and on different analgesia. n = 9 ( $\bar{x} \pm SD$ )

Group	5-HT ( $\mu\text{g/g}$ )		5-HIAA ( $\mu\text{g/g}$ )		Analgesic effect (AI)		
	Telenceph	Dienceph	Telenceph	Dienceph	After electro- acupuncture	After ip morphine	After stress
KA-treated	0.68 $\pm$ 0.12 <sup>***</sup>	0.74 $\pm$ 0.13 <sup>***</sup>	0.69 $\pm$ 0.16 <sup>**</sup>	0.67 $\pm$ 0.09 <sup>***</sup>	0.10 $\pm$ 0.07 <sup>***</sup>	0.69 $\pm$ 0.21	0.17 $\pm$ 0.11 <sup>***</sup>
Control	0.85 $\pm$ 0.06	0.92 $\pm$ 0.12	0.85 $\pm$ 0.05	0.82 $\pm$ 0.08	0.60 $\pm$ 0.23	0.77 $\pm$ 0.16	0.64 $\pm$ 0.22

\* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$ , compared with control group.

对照组和KA组AI分别为 $0.77 \pm 0.16$ 和 $0.69 \pm 0.21$  ( $p > 0.05$ )。应激后,对照组AI为 $0.64 \pm 0.22$ ,KA组AI为 $0.17 \pm 0.11$  ( $p < 0.01$ ) (表1)。

## 讨 论

用电解或核团内注射5,6-双羟色胺损毁DR都缺乏足够的择选性,给分析实验结果带来困难,我们采用仅损毁局部神经元胞体而不累及传入神经末梢和路过纤维的神经毒性药物——红藻氨酸作DR内微量注射。但KA损毁神经元胞体有无神经元类别的特异性还有争议<sup>(10,11)</sup>,KA注入DR能否损毁5-HT能神经元尚未见报告。DR是脑内5-HT能神经元胞体最为集中的核团之一,其纤维主要向上投射,本实验用KA注入DR后d6,端脑和间脑的5-HT和5-HIAA含量明显下降,说明DR内的5-HT能神经元能被KA所损毁;荧光组化检查的结果表明,DA区内的5-HT细胞也明显减少,这为KA可以损毁DR内5-HT能神经元提供了更为直观的证据;此外,DR内注入KA的大鼠睡眠减少,活动增加,并出现凶猛敏捷等行为改变,这与电毁DR也是一致的。

DR内5-HT能神经元被损毁后针刺镇痛效应明显下降,说明DR内5-HT能神经元在针刺镇痛中起着十分重要的作用。这与本实验室以往电解损毁DR的结果<sup>(1)</sup>相符。

DR与吗啡镇痛的关系目前看法还不一致,本实验用KA损毁DR内5-HT能神经元后吗啡镇痛效应无明显改变,说明两者并无明确的

关系。以往的报道之所以不一致可能与所采用的损毁方法及损毁范围不同等因素有关。

DR与应激镇痛的关系迄今未见明确的报道。应激镇痛的机理颇复杂,应激方法不同所引起的应激镇痛的机理也不同<sup>(12,13)</sup>。本实验中,大鼠DR内5-HT能神经元被KA损毁后,较长时间(30 min)的不能躲避的间歇性脚底电刺激所产生的应激镇痛效应明显下降,说明DR内5-HT能神经元参与这种应激镇痛。

**致谢** 荧光组化工作在中国科学院上海生理研究所二室完成,承蒙董新文老师热忱指教。本院药理教研室钱曾年老师协助脑内5-HT和5-HIAA测定。KA由日本武田药品工业株式会社岛本晖朗教授赠送。

## 参 考 文 献

- 1 俞光弟、刘世培、高爱莉、葛子山、印其章、钱曾年、江明华、王雅琴、贺炳荣、殷伟平、郭雅英、邓海珍。中华医学杂志 1979年9月; 59(9): 534
- 2 Samanin R, Gumulka W, Valzelli L. *Eur J Pharmacol* 1970; 10(3): 339
- 3 Samanin R. Valzelli L. *Ibid* 1971 Nov/Dec; 16(3): 298
- 4 Adler M, Kostowsky W, Recchia M, Samanin R. *Ibid* 1975 May; 32(1): 39
- 5 Coyle JT, Molliver ME, Kuhar MJ. *J Comp Neurol* 1978 Jul 15; 180(2): 301
- 6 郭试瑜、殷伟平、印其章。中国药理学报 1983年3月; 4(1): 14
- 7 Ben-Ari Y, Tremblay E, Otterson OP, Naquet R. *Brain Res* 1979 Apr 13; 165(2): 362
- 8 Curzon G, Green AR. *Br J Pharmacol* 1970 Jul; 39(3): 653
- 9 董新文、蒋芝华。生物化学和生物物理学报 1981年3月; 13(1): 117
- 10 Nadler JV, Perry BW, Cotman CW. *Preferen-*

- tial vulnerability of hippocampus to intraventricular kainic acid. In: McGeer EG, Olney JW, McGeer PL, eds. *Kainic acid as a tool in neurobiology*. NY: Raven Press, 1978; 219-37
- 11 Peterson GM, Moore RY. *Brain Res* 1980 Nov

- 24; 202 (1) : 165
- 12 Lewis JW, Canaan JT, Liebeskind JC. *Science* 1980 May 9; 208 (4444) : 623
- 13 Tricklebank MD, Hutson PH, Curzon G. *Neuropharmacology* 1982 Jan; 21 (1) : 51

*Acta Pharmacologica Sinica* 1983 Dec; 4 (4) : 232-235

## EFFECTS OF MICROINJECTION OF KAINIC ACID INTO NUCLEUS RAPHE DORSALIS ON ELECTRO-ACUPUNCTURE, MORPHINE AND STRESS ANALGESIA

YU Feng-sheng, GONG Shan, YIN Wei-ping, YIN Qi-zhang

(Laboratory of Electrophysiology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

**ABSTRACT** The purpose of this investigation was to observe the changes of electro-acupuncture, morphine and stress analgesia in the same rat after microinjection of kainic acid (KA) 0.75  $\mu$ l/0.75  $\mu$ g into nucleus raphe dorsalis (DR). The morphological structure, fluorescence histochemistry, neurobiochemistry were associated with the behavior of rats to clarify the role of the serotonergic neurons in DR on 3 different analgesia.

After the microinjection the rats became violent and restless. There was a significant reduction in the contents of 5-HT and 5-HIAA in telencephalon and diencephalon. A marked loss of neuronal perikarya together with gliosis was seen in the injected area of DR. The fluorescence of 5-HT-containing cells in DR significantly decreased. No marked change in the baseline pain thresholds was observed. But the

electro-acupuncture and stress analgesia were significantly diminished while the morphine analgesia was not.

These results show that 1) The serotonergic neurons in DR can be damaged by KA; 2) The serotonergic neurons in DR play an important role in electro-acupuncture and stress analgesia. The morphine analgesia has no close relationship with serotonergic neurons in DR.

**KFY WORDS** kainic acid; nucleus raphe dorsalis; serotonergic neurons; electro-acupuncture analgesia; morphine analgesia; stress analgesia

**ACKNOWLEDGMENT** The authors wish to thank Professor SHIMAMOTO Kiro (Takeda Chemical Industries, Ltd, Osaka, Japan) for providing kainic acid