DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.01.007

P物质对慢痛引起的脊髓背角神经元电活动的影响*

阮怀珍 李希成 蔡文琴** (第三军医大学基础部生理学教研室) 重庆,630038

提 要 目的: 观察 P物质(SP)及其受体阻断剂 Spantide对 Wistar大鼠脊髓背角神经元自发放电和伤害性慢痛放电的影响。方法: 采用多管微电极细胞外记录和离子微电泳方法。结果:① 电泳 SP可使脊髓背角神经元单位放电增多,其效应可被 Spantide阻断。② 电泳 SP又可抑制福尔马林引起的神经元伤害性痛放电,此效应可被纳洛酮和 Spantide翻转。结论: 在痛觉调制过程中,脊髓内 SP起着传递痛觉信息和镇痛的双重作用。

关键词 P物质;脊髓背角;离子电泳;单位放电
中图法分类号 R971.9

P物质(Substance P, SP)在脊髓内分布不均,它集中在背角,其中又以无髓鞘的伤害性初级传入纤维的末梢为最多,由此表明, SP是伤害性初级传入末梢释放的一种兴奋性递质[1],据报道,在痛觉调制过程中,脊髓内 SP起着传递痛觉信息和镇痛的双重作用[1,2]。因此本实验以福尔马林诱发的脊髓背角慢痛放电为指标,利用微电泳方法,探讨了 SP在脊髓背角神经元活动中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及一般处理

实验用 30只体重 200 g~ 250 g Wistar大鼠,雌雄不拘。以 20% 氨基甲酸乙酯和 2% 氯醛糖混合液(3 ml/kg)腹腔内注射麻醉,气管插管,行椎板切除术,暴露脊髓腰膨大部分,将头部和脊柱固定于 SN-4 型立体定位仪(日本 Narishige)上。肛温维持在 37℃。

1.2 多管微电泳技术及脊髓背角神经元单位放电的记录

采用 7管玻璃微电极(用 GG17玻璃毛坯自行拉制),尖端直径 5μm~ 8μm,中心管电阻 4 MΩ~ 20 MΩ,侧管电阻 20 MΩ~ 60 MΩ。中心管充以含 2% 滂胺天蓝的 4 mol/L氯化钠溶液,以引导神经元电活动及电极定位标记。侧管按需要充生理盐水(平衡电流及对照); SP(7 mmol/L,溶于 20 mmol/L醋酸液内, pH5.5); Spantide(6 mmol/L,溶于 20 mmol/L醋酸液内, pH5.5);醋酸(HAc, 20 mmol/L, pH5.5作为对照);盐酸纳洛酮(Naloxone, Nx, 2%,溶于生理盐水)。将充灌好的多管微电极固定在 SN-4 型微电极推进器(日本 Narishige)上,微电泳各管通过插入其中的铂金丝与微电泳仪(BH-2, Med. Syst,美国)相连。电泳电流为 60 nA~ 120 nA,滞流电流为 6 nA~ 12 nA 在脊髓腰膨大处记录脊髓背角单个神经元放电。探查范围为 L: 0.3~ 1.5, H 0.1~ 1.5 实验结束时,用 20 nA阴极电流电泳滂胺天蓝标记尖端位置,作组织学鉴定。

1.3 实验程序

1.3.1 微电泳 SP及 Spantide对正常大鼠脊髓背角单位放电的影响 记录单位放电 30 s~ 40 s后,分别观察电泳 SP和 Spantide 30 s对脊髓背角单位放电频率的影响。观察 Spantide可否拮抗 SP的作用。

1.3.2 微电泳 SP, Spantide和 Nx对慢痛大鼠脊髓背角单位放电的影响 大鼠后足皮下注射 5% 福尔马林 150μl(模拟慢痛), 30 min至 2 h内进行实验。分别观察电泳 SP, Spantide和 Nx对脊髓背角单位放电频率的影响。观察 Spantide和 Nx可否拮抗 SP的作用时, Spantide或 Nx先于 SP 2 s电泳。电泳时间 30 s。

1.4 统计学处理

将磁带记录仪的信号输入 Apple-II 微机,作放电频率直方图。计数给药前 30 s和给药时 30 s的放电次数,计算出给药时放电频率变化率。给药时放电频率变化超过对照放电频率均值 30% 者为有反应。用 t 检验比较药物组和对照组、药物组和加拮抗剂组的放电频率变化率。

2 实验结果

2.1 微电泳 SP对脊髓背角神经元自发放电的影响

脊髓背角神经元微电泳 SP,在 30只大鼠记录的 81个自发放电神经元中,71人产生兴奋效应,表现为自发放电明显增加,放电频率由对照组的(9.78± 1.01)个/s变为(17.67± 2.13)个/s($P < 0.01$)见表 1,图 1。若在电泳 SP拮抗剂背景上电泳 SP,则被兴奋的神经元中有 69个被阻断,放电频率由同时微电泳醋酸和 SP(对照组)的(16.52± 1.98)个/s降至(6.25± 1.12)个/s($P < 0.01$),见图 1。

* 全军"八五"攻关项目
** 组织学与胚胎学教研室 重庆,630038

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　微电泳 SP对大鼠脊髓背角单位放电的影响

Tab 1　Effects of microiontophoretically applied (MIA) SP on the spinal dorsal horn units discharges of the rats

Drugs	No. of Neurons (%)	Excitatory (%)	Inhibitory (%)	Unaffected (%)
SP	81 (100)	71 (87.65)	4 (4.94)	6 (7.41)
HAc	81 (100)	0 (0.00)	0 (0.00)	81 (100.00)
Spantide	81 (100)	2 (2.47)	3 (3.70)	76 (93.83)



图 1　微电泳 SP对大鼠脊髓背角单位放电的影响　　放电脉冲-时间直方图

Fig 1　Histograms of the effects of MIA SP on discharges of units of spinal dorsal horn

(A) Showing the excitatory effect of SP; (B) The excitatory effect of SP was antagonized by Spantide. Vertical marker represents 64 spikes/s

2.2　微电泳 SP对伤害性慢痛放电的影响

在 43个具有伤害性反应的神经元 (后足皮下注射 5% 福尔马林 150μl, 2 h以内,模拟慢痛),电泳 SP后,26个 (60.47%)神经元的伤害性反应被抑制,放电频率由给药前的 (18.17± 1.12)个 /s变为 (10.2± 1.18)个 /s($P < 0.01$)见表 2 图 2 其中在电泳 SP后,伤害性反应被抑制的 15个神经元,若同时电泳纳洛酮和 SP, 9个抑制效应减弱,放电频率由同时微电泳生理盐水和 SP(对照组)的 (10.75± 1.31)个 /s升至 (20.19± 1.62)个 /s($P < 0.01$),见图 2 若同时电泳 Spantide和 SP, 10个抑制效应减弱. 放电频率由同时微电泳醋酸和 SP(对照组)的 (10.75± 1.24)个 /s升至 (21.23± 1.86)个 /s($P < 0.01$),见图 2

表 2　电泳 SP对脊髓背角伤害性反应神经元放电的影响

Tab 2　Effect of MIA SP on discharges of nociceptive units of spinal dorsal horn

Drugs	No. of Neurons (%)	Excitatory (%)	Inhibitory (%)	Unaffected (%)
SP	43 (100)	7 (16.28)	26 (60.47)	10 (23.25)
HAc	43 (100)	0 (0.00)	0 (0.00)	43 (100.00)
Nx	43 (100)	0 (0.00)	1 (2.33)	42 (97.67)
Spantide	43 (100)	1 (2.33)	1 (2.33)	41 (95.35)

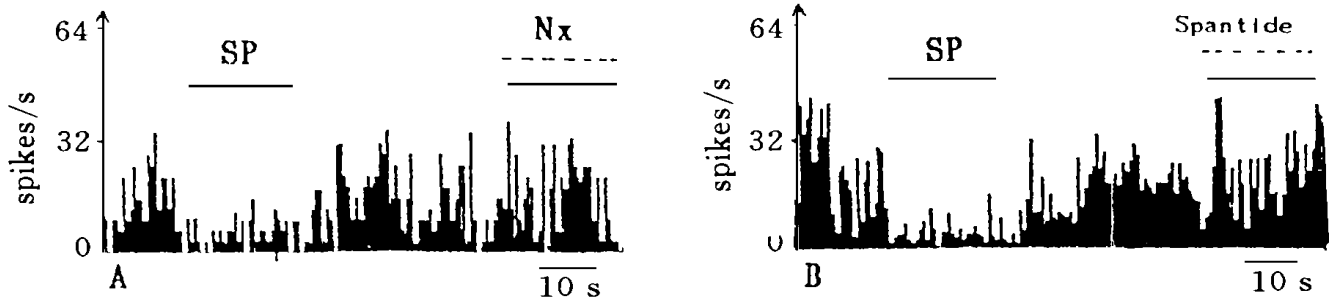


图 2　微电泳 SP对大鼠脊髓背角伤害性慢痛放电的影响　　放电脉冲-时间直方图

Fig 2　Histograms of the effects of MIA SP on discharges of nociceptive units of spinal dorsal horn

(A) SP inhibited the units which was antagonized by Nx; (B) SP inhibited the units which was antagonized by Spantid. Vertical marker represents 64 spikes/s

3　讨论

业已证明 SP在脊髓痛觉传递中起重要作用[1,3],为了研究 SP在背角神经元突触传递中的作用,一些作者[4]曾在猫的脊髓背角观察了微电泳导入 SP的效

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

应,见到 SP可兴奋背角多数的伤害性感受神经元,引起发生缓慢、持续较久的兴奋效应。本实验在大鼠脊髓背角微电泳导入 SP,得到类似的结果,同样可以兴奋背角神经元,使神经元单位放电增强,进一步支持了 SP是伤害性初级传入释放的递质,在痛觉传递中起重要的作用。

据报道 SP拮抗剂可拮抗 SP的外周和中枢[5]作用。本实验在导入 Spantide背景下,导入 SP,则 SP的兴奋效应被阻断。已知 SP受体有两个亚型 SP-E和 SP-P,由于它们的分布不同,SP拮抗剂作用于不同的亚型,所以产生的效应也不同。

脊髓内的 SP来源于伤害性初级传入末梢释放,脑干下行途径释放以有脊髓浅层固有的 SP神经元释放,后者的神经终末主要支配腹角运动神经元,参与对运动功能的调制,背角的 SP主要来源于前二者,参与痛觉传递与调制。因此,SP在脊髓不仅有致痛作用,还可激活脊髓上结构(缝 脊 SP终末)产生镇痛效应。如小剂量 SP(1.34 ng)在脊髓水平加强吗啡的镇痛作用,而本身对基础痛阈没有影响[6]。本实验在慢痛大鼠脊髓背角导入 SP后,多数伤害性反应神经元被抑制,说明在脊髓水平 SP不仅参与痛觉传递,而且还参与痛觉调制。

免疫组化研究证明,背根切断后,脊髓背角中的 SP浓度大为降低,阿片受体数目也显著减少,这表明在 SP的神经元上可能有阿片的结合位点,因此 SP的作用与阿片肽密切相关。如阿片肽可抑制大鼠和小鼠鞘内注射 SP引起的痛敏反应,这一效应可为纳洛酮所翻转[7]即是佐证,本实验微电泳导入纳洛酮可大部分阻断导入 SP的抑制伤害性放电的效应,可见脊髓水平导入 SP抑制慢性伤害性反应可能主要是通过脑啡肽实现的。

总之,伤害性初级传入释放的致痛物质 SP,参与痛觉传递过程,但与此同时它还可能激活脊髓上结构(缝 脊 SP终末)的下行调制系统而产生镇痛效应。

参考文献

1 Ruan H Z, Li X C, Cai W Q. Effect of 5-HT on pain modulation of substance P in spinal cord. 中国药理学报, 1995; 16(6): 512

2 Ruan H Z, Li X C, Li H T. Effects of morphine and electroacupuncture on substance P level in spinal cord and their relation to pain threshold in rats. J Med Coll PLA, 1993; 8(1): 79

3 阮怀珍,李希成,蔡文琴等. P物质参与伤害性刺激诱发的脊髓 c-fos表达. 科学通报, 1994; 39(13): 1237

4 Swett J E, Woolf C J. The somatotopic organization of primary afferent terminals in the superficial laminae of the dorsal horn of the rat spinal cord. J Comp Neurol, 1985; 231(1): 66

5 Hakanson R, Horig J, Leander S. The mechanism of action of a substance P antagonist (D-Pro^2, D-Trp^{7,9}) SP. Br J Pharmacol, 1982; 77(4): 697

6 Kream R M, Kato T, Shimonaka H *et al*. Substance P markedly potentiates the antinociceptive effects of morphine sulfate administered at the spinal level. Proc Natl Acad Sci U SA, 1993; 90(9): 3564

7 王晓京. 内源性阿片样物质的作用机理. 生理科学进展, 1990; 21(4): 333

(收稿: 1996-08-28;修回: 1997-01-02)

(编辑 汪勤俭)

Effects of substance P on slow pain induced electrical activity of neurons in the spinal dorsal horn

Ruan Huaizhen, Li Xicheng, Cai Wenqin (Department of Physiology, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To observe the effects of substance P (SP) and its receptor blocker, spantide, on the spontaneous discharge and injurious slow-pain discharge of the neurons in the spinal dorsal horn. Methods: Extracellular recording with multimicropipetes and iontophoresis were employed for the observation in Wistar rats. Results: (1) The unit discharge of the spinal dorsal horn was increased after the iontophoresis of SP, which could be blocked with spantide; (2) The formalin-induced injurious slow-pain discharge of the spinal dorsal horn could be inhibited by iontophoresis of SP and the inhilition could be reversed with naloxone and spantide. Conclusion: SP plays double roles of pain transmission and analgesia in pain modulation.

Key words substance P; iontophoresis; unit discharge; spinal dorsal horn

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net