DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.01.008

吗啡和电针对脊髓内P物质的影响及其与痛阈的关系

阮怀珍 李希成 黎海蒂 （第三军医大学训练部 生理教研室） 630038

提 要 腹腔注射吗啡（7.5mg/kg）或电针“夹脊”穴（3V，3Hz）均可使痛阈明显升高，脊髓内P物质样免疫活性物质（Ir-SP）含量及脊髓背角P物质样免疫反应物（SP-LI）显著增多（$P<0.05\sim0.01$）。腹腔注射吗啡加电针刺激，上述效应更为显著（$P<0.01$）。纳洛酮可阻断吗啡及电针所引起的痛阈升高和脊髓内Ir-SP含量增多的效应。结果提示：吗啡与电针的镇痛效应可能与经阿片受体为介导的脊髓内P物质增多有关。吗啡和电针对此具有协同作用。

关键词 吗啡；电针；脊髓；P物质；放射免疫；免疫组化；痛阈

据报道P物质（SP）是伤害性初级传入末稍释放的1种兴奋性递质[1]，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[2][3]，但是吗啡及针刺镇痛时，脊髓内SP含量和分布有何变化，它与镇痛效应有何关联等问题，尚需进一步探讨。本文观察了吗啡及电针对大鼠脊髓内Ir-SP含量、脊髓背角SP-LI的影响，及其与痛阈变化的关系。

1 实 验 方 法

实验用Wistar大鼠78只，体重150g～250g。

1.1 测痛和电针

实验时采用敞式装置固定清醒大鼠[4]，用单个方波脉冲刺激鼠尾，以出现嘶叫反应时的最小电压值为其相应的痛阈值。实验开始时先测定基础痛阈。注入吗啡后每隔15min测痛阈1次，共4次（历时60min），电针后每隔10min测痛阈1次，共4次（历时40min），取4次痛阈变化百分数的平均值作为注药或电针后痛阈变化的均值。

电针时由双侧“夹脊”穴（腰2—3）处进针，用57-6D型电针仪给予刺激，其频率为3Hz，强度为0.5V或3V，时间为40min。

1.2 放免测定法

实验毕，立即断头，取出脊髓，在冰盘上分离出脊髓腰段，放入沸生理盐水中煮5min，称重后将组织放入1ml 0.5mol冰醋酸中匀浆，再以1ml 0.5mol氢氧化钠中和酸，然后离心15min（5 000r/min），取上清液作放免测定[5]。实验中所用^{125}I-SP由本实验室按氯胺T法[6]制备，SP抗血清为第二军医大学生理教研室生产。

1.3 免疫组化法

大鼠用戊巴比妥钠麻醉后，以4%多聚甲醛液（pH7.4，4°C）进行灌注固定，取出脊髓腰段，再以灌注液作后固定。免疫组化染色按Sternberger[6]的PAP法进行。所用SP抗体（美国产）滴度为1:5000，羊抗兔免疫球蛋白与辣根过氧化物酶-抗辣根过氧化物酶的浓度分别为1:50与1:100。对照实验以正常兔血清代替SP抗体，同样进行固定染色。并经Leitz mPv-3型显微分光光度计作半定量分析，在单色光波下（最大吸收波长为455mm）检测100个单位面积（扫描范围15μm×15μm）内SP样免疫反应物的吸光度。

1.4 数据处理

实验数据皆用Apple Ⅱ型电子计算机经t检验统计处理，结果以均值±标准误（$M\pm s\bar{x}$）表示。

2 实 验 结 果

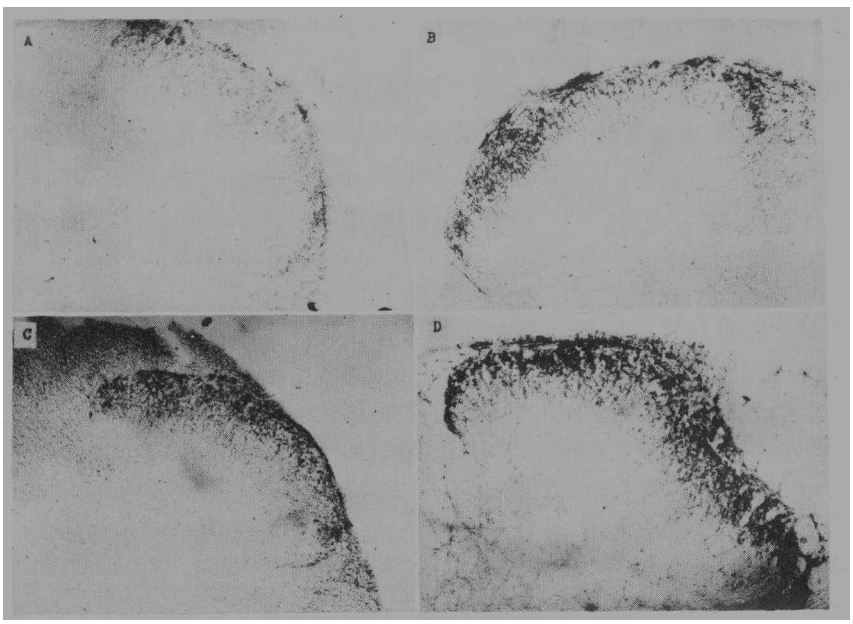
2.1 吗啡或电针对痛阈和脊髓内Ir-SP含量、脊髓背角SP-LI的影响

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

大鼠腹腔注射吗啡(7.5mg/kg) 后1h，与空白对照组的结果比较，痛阈升高了62.5%，脊髓内Ir-SP含量增加了24.6% ($P<0.05$—0.01)。免疫组化切片镜检，见脊髓背角SP-LI增多，吸光度由对照组的148.8±40.4增至188.8±45.4，差异显著 ($P<0.05$)。大鼠给予强度3V，频率3Hz的电针刺激40min，与空白对照组的结果比较，痛阈升高了56.6% ($P<0.01$)，脊髓内Ir-SP含量升高了33.9% ($P<0.05$)，脊髓背角SP-LI的吸光度增至197.2±48.9 ($P<0.05$)。而给予强度0.5V，频率3Hz的电针40min，痛阈及脊髓内Ir-SP含量仅轻度升高，无统计学意义 ($P>0.05$) (附表，附图)。

2.2 吗啡加电针对痛阈和脊髓内Ir-SP含量、脊髓背角SP-LI的影响

腹腔注射吗啡 (7.5mg/kg) 20min后，再电针 (3V，3Hz) 40min，可使痛阈和脊髓内Ir-SP含量大幅度提高，脊髓背角SP-LI的吸光度增至267.3±55.7，与单纯吗啡组或电针组 (3V，3Hz) 的结果比较，差异非常显著 ($P<0.01$) (附表，附图)。



附图 吗啡、电针对脊髓背角SP-LI的影响

Fig. Effect of morphine, electroacupuncture (EA) on SP-like immunoreactive fibers in spinal dorsal horn

A: control; B: morphine; C: EA; D: morphine+EA (×100)

2.3 纳洛酮对吗啡或电针所引起脊髓内Ir-SP含量的影响

腹腔注射纳洛酮 (2mg/kg) 5min后，再注射吗啡 (7.5mg/kg)，1h后测得脊髓内Ir-SP含量明显下降，与单纯吗啡组的结果比较，差异显著 ($P<0.05$)，此时痛阈与对照组接近，平均为102.8±4.2%，与单纯吗啡组相比较，下降极为显著 ($P<0.01$)。腹腔注射纳洛酮(2mg/kg) 20min后，再电针40min (3V，3Hz)，痛阈及脊髓内Ir-SP含量也明显降低，与单纯电针组的结果比较，差异显著 ($P<0.05$) (表)。

3 讨 论

本实验结果表明，吗啡及电针镇痛过程中，脊髓内Ir-SP含量及脊髓背角SP-LI显著升高。已知脊髓中来自脑干缝-脊神经元的投射纤维，其中的SP对痛觉有调制作用，而由脊髓神经节初级传入神经末梢所释放的SP，主要起痛觉传递作用[1-3]。据报道小鼠皮下注射吗

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

附表 吗啡、电针对痛阈、脊髓内Ir-SP含量的影响

Tab. Effect of morphine, electroacupuncture (EA) on pain threshold and Ir-SP content in spinal cord

Groups		Ir-SP content (pg/mg)	Changes of pain threshold (%)
Control	(11)	476.9±55.1	100
Morphine	(9)	594.3±90.6*	162.5±22.7**
Morphine + naloxone	(8)	489.3±67.6$^{\Delta}$	102.8±4.2$^{\Delta\Delta}$
EA (0.5V, 3Hz)	(8)	497.2±58.7	113.1±6.7
EA (3V, 3Hz)	(9)	638.7±131.5*	156.6±21.8**
EA(3V, 3Hz) + naloxone	(9)	546.1±77.6$^{\Delta}$	121.8±9.9
EA(3V, 3Hz) + morphine	(8)	887.8±110.3^{+}	241.1±30.8^{+}

The values represent $x\pm s_{\bar{x}}$. Numbers of animals in parentheses. $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ compared with control group. $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$, compared with morphine or EA (3V, 3Hz) group. $^{+}P<0.01$, compared with morphine or EA (3V, 3Hz) group.

啡可使脊髓内Ir-SP含量增加[7]；鞘内注射吗啡可抑制电刺激猫坐骨神经所引起的脊髓内SP含量的增多效应[8]。由此提示吗啡对脊髓内SP含量的影响可能是由于它激活了脑干缝-脊SP神经元，同时抑制了初级传入末梢SP的释放，从而导致痛觉传导减少的缘故。

业已证明，电针镇痛对脊髓内SP含量可增加[9]或减少[10]。在强度和频率均较高的电针(3V, 100Hz)刺激的条件下，脊髓内SP含量下降[10]。本文在强度较高、频率较低的电针(3V, 3Hz)刺激时，脊髓内Ir-SP含量和脊髓背角SP-LI均明显增多；但是，强度和频率均较低的电针(0.5V, 3Hz)刺激，对脊髓内SP并无影响。由此可见电针刺激的参数是个重要的因素。有资料指出，电针刺激的条件不同，中枢神经递质含量的变化也不一致[11]。

本室验还表明，阿片受体阻断剂纳洛酮在阻断吗啡或电针镇痛效应时，也同时阻断了由其所伴随的脊髓内Ir-SP含量增多的效应，由此提示吗啡和电针是通过阿片受体对脊髓内SP含量进行调节的。吗啡和电针经阿片受体产生镇痛效应早已有证明[10][11]。鉴于吗啡或电针的镇痛效应以及脊髓内SP含量的增多效应均以阿片受体为介导，因此本文所见吗啡合并使用电针，不仅使其镇痛效应大为提高，而且脊髓内Ir-SP含量和脊髓背角SP-LI也显著增多，其原因可能与中枢的阿片受体处于较大的激活状态有关。

参考文献

1. Otsuka M, Kornishi S, Takahashi T. Hypothalamic substance P as a candidate for transmitter of primary afferent neurone. Fed Proc 1975; 34: 1922

2. Matsumura H, Sakurada T, Hara A, et al. Characterization of the hyperalgesic effect induced by intrathecal injection of substance P. Neuropharmacology 1985; 24(5): 421

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

3. Yaksh TL, Farb DH, Leeman SE, et al. Intrathecal capsaicin depletes substance P in the rat spinal cord and produces prolonged thermal analgesia. Sci 1979;206:481
4. 张长城 李希成 刘盛田，等。应用敞式装置固定大白鼠的针刺镇痛模型。针刺研究 1980;5:226
5. Powell D,Leeman S, Tregear GW, et al. Radioimmunoassay for substance P. Nature New Biology 1973;241:252
6. Sternberger LA, Hardy PH, Jr Cuculis JJ. The unlabeled enzymemethod of immunohistochemistry: Preparation of antigen-antibody complex (peroxidase-antiperoxidase) in identification of spirochetes. Histochem Cytochem 1970;18:315
7. 祝元洋 任民铎。强啡肽对脊髓内P物质含量的影响及其与吗啡相互作用。第二军医大学学报 1985;6:359
8. Yaksh TL, Jessel TM, Gamse R, et al. Intrathecal morphine inhibits substance P release from mammalian spinal cord in vivo. Nature 1980;286:155
9. 艾民康 关新民 Vacca LL. 电针刺激对大鼠脊髓内P物质及脑啡肽影响的免疫细胞化学研究。解剖学通报 1982;5（增2）:40
10. 黎海蒂 李希成 阮怀珍，等。大鼠中枢P物质含量与针刺镇痛的关系。针刺研究 1989;14（3）:370
11. 韩济生 任民铎 汤健，等。中枢神经介质概论。第二版。科学出版社，438

（收稿：1990.03.06；修回：1990.12.25）

Effects of Morphine and Electroacupuncture on Substance P Level in Spinal Cord and Their Relation to Pain Threshold in Rats

Ruan Huaizheng, Li Xicheng, and Li Haiti (Department of Physiology, Third Military Medical College, Chongqing 630038)

Abstract Immunoreactive substance P (Ir-SP) level and substance P-like activity (SP-LI)in the spinal cord were determined with radioimmunoassay and immunohistochemistry in rats after they were given an intraperitoneal injection of morphine(7.5mg/kg)or electroacupunctured(3V and 3Hz)on the "Jiaji" point. It was found that pain threshold,Ir-SP content,and SP-LI activity in the dorsal horn of the spinal cord were significantly increased in the experimental group than in the control ($P<0.05\sim0.01$) . The above mentioned effects were more marked when morphine injection and electroacupuncture were used combinedly than either of them was used signly,and they could be prevented from occurring when naloxane was administered.

Our results suggest that there is a synergism between morphine and electroacupuncture and the analgesic effect of morphine and electroacupuncture is related to the increase of Ir-SP content of the spinal cord mediated through opiate receptors.

Key words morphine; electroacupuncture; spinal cord; substance P; radioimmunoassay; immunohistochemistry; pain threshold

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