DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.03.008

安定加强小鼠的促肾上腺皮质激素镇痛作用

黎海蒂 张问德（生理教研室）*

提 要 将安定、印防己毒素和异烟肼注入小鼠腹腔内，采用痛阈测定和荧光分光光度法测定脑区5-HT含量的方法观察安定在ACTH镇痛中的作用。安定能显著加强ACTH镇痛作用，而印防己毒素或异烟肼可显著削弱ACTH的作用及安定对ACTH镇痛作用的影响。安定加强ACTH镇痛作用也可被纳洛酮或阿托品所取消。安定使海马、下丘脑和中-桥脑5-HT含量增加，而安定+ACTH可使三脑区5-HT含量进一步增加，印防己毒素或异烟肼则可对抗安定+ACTH使三脑区5-HT含量升高的作用。结果提示，安定加强ACTH镇痛作用，可能与加强脑内GABA系统的功能及激活脑内5-HT系统有关。阿片受体和胆碱能M-受体在此作用中起着重要作用。

关键词 安定；合并用药；促肾上腺皮质激素；血清素；γ-氨基丁酸；印防己毒素；异烟肼；光谱测定法，荧光

γ-氨基丁酸（GABA）是脑内抑制性神经递质之一，参与多种镇痛作用调节[1]。这些镇痛调节作用可能与5-羟色胺(5-HT)等神经递质有关[2]。关于GABA在促肾上腺皮质激素（ACTH）镇痛中的作用则未见报导。我们曾观察到腹腔或脑室内注射ACTH可激活脑内5-HT能神经元而起镇痛作用[3]。本实验用腹腔注射干扰GABA代谢和影响其受体药物的方法，探讨GABA在ACTH镇痛中的作用并初步观察其可能的机理。

材料与方法

实验用体重30～50g左右雄性小鼠153只。

一、痛阈测定

将动物置入改良的特制的铁笼内[11][12]，以恒速增长的电流强度刺激鼠足跖部皮肤，测定引起嘶叫反应时的电压值作为痛阈值。给药前，每5 min测痛一次，连续测得3次较稳定的数值，取其均值作为基础痛阈。注药后，每隔10min测痛一次，共测3次或8次，各测定值均与基础痛阈比较，用变化百分数表示。统计处理时，以t值检验比较两组数据的差异显著性。

二、5-HT含量测定

实验在上午进行。在腹腔内注射（ip）安定后，间隔30min，或安定ip后，再ACTH ip，间隔1 h，立即分批断头，快速取出全脑，在冰盘上分离出海马、下丘脑和中-桥脑等脑区。称重后，按改良的Curzon法[4]抽提后，再在日立MPF-A型荧光分光光度计上测定三脑区5-HT含量。

三、药物和给药方式

所用药物均用生理盐水配制。ACTH ip（4u/ml，25u/kg），安定ip（2mg/ml，8 mg/kg）以上2药于注后10min始测痛[9]。印防己毒素（2 mg/ml，6 mg/kg）ip，30min后实验[8]，异烟肼（200 mg/ml，2%）皮下注射30～40 min后实验。阿托品ip（0.25mg/ml，2 mg/kg），纳洛酮（0.1mg/ml，0.2mg/kg）ip，上2药于注后10min始进一步实验。对照组动物注射生理盐水0.5ml。

结 果

一、安定对ACTH镇痛的影响

1. ACTH的镇痛作用：ACTH ip(25u/kg) 10min后始测痛，每10min测1次，共8次。将每次所测痛阈与对照组的比较，痛阈升高百分率在52±12～100.6±38%范围内，均有明显差异（$P<0.001$）。结果表明，ACTH ip可提高小鼠的痛阈，且这种作用，至少能维持80min（图1）。

2. 安定对ACTH镇痛的影响：安定（8mg/kg）ip后，动物活动减少，但痛阈无显著变化。10min后，进行ACTH镇痛实验。结果表明安定能显著加强ACTH镇痛作用，痛阈升高百分率为85.5

*八七一队李国红、余荣杰、郭建新、徐学军、吴 旋参加部份实验。

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

±19.3～203.4±65.1%，除第10 min（85.5±19.3%，P＞0.05）外，均有明显的统计学意义（P＜0.001）。（图1）

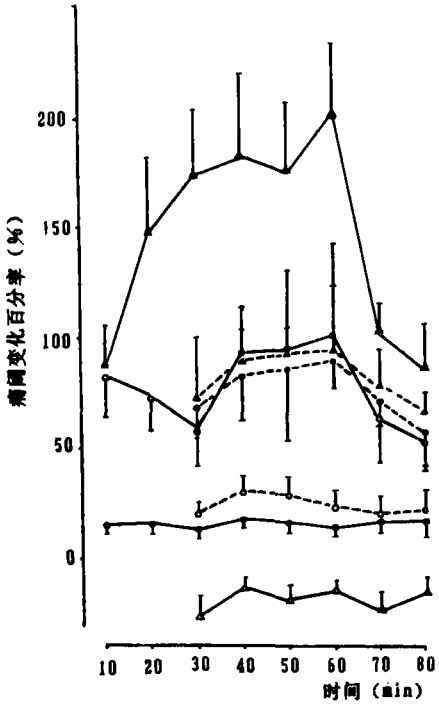


图1 安定、印防己毒素、异烟肼对ACTH镇痛的影响

•—• 盐水对照组 ◦—◦ ACTH组
▲—▲ 安定+ACTH组
Δ—Δ 异烟肼+ACTH组
•···• 印防己毒素+安定+ACTH组
◦···◦ 印防己毒素+ACTH组
▲···▲ 异烟肼+安定+ACTH组

二、印防己毒素或异烟肼对ACTH镇痛作用及安定加强ACTH镇痛作用的影响

1. 印防己毒素的影响：腹腔注射GABA受体拮抗剂印防己毒素（6 mg/kg）后，约有70%的动物出现惊厥，但5～6 min即停止，痛阈在15～20min内恢复到注射前水平（不恢复者摒弃不用）。印防己毒素ip30min后进行ACTH镇痛实验，结果观察到印防己毒素可削弱ACTH镇痛作用，与单纯ACTH镇痛组比较，各点痛阈值显著下降（P＜0.001）。另一组注射印防己毒素后30min（同样待惊厥停止后），注射安定，相隔30min后进行ACTH镇痛实验，观察到印防己毒素可对抗安定的作用，使镇痛效应恢复到ACTH组水平（图1）。

2. 异烟肼的影响：皮下注射GABA合成酶抑制剂异烟肼（200mg/kg），30～40 min后进行实验（惊厥处理同上组）。结果与印防己毒素组相似：异烟肼使ACTH镇痛效应下降（P＜0.001）且同样对抗安定的作用，使镇痛效应降到ACTH组水平（图1）。

三、ACTH镇痛中，安定、印防己毒素或异烟肼对小鼠脑区5－HT含量的影响（附表）

ACTH ip可使小鼠海马、下丘脑和中－桥脑等三脑区5－HT含量增加（P＜0.05～0.001）。而安定＋ACTH ip可使上述三脑区5－HT含量进一步增加，与ACTH组比较，有统计学意义（P＜0.05～0.01）。印防己毒素或异烟肼ip，则可对抗安定

附表 安定加强促肾上腺皮质激素（ACTH）镇痛中，小鼠脑区5-HT含量的变化

	5-HT含量（μg/kg）湿重组织		
	海 马	下丘脑	中－桥脑
对照组	0.74±0.073	2.95±0.74	1.79±0.32
腹腔注射ACTH组	2.87±0.43***	5.34±1.55**	2.86±0.44***
腹腔注射安定+ACTH组	4.32±0.75Δ	7.04±1.67Δ	3.70±0.42ΔΔ
腹腔注射印防己毒素+安定+ACTH组	3.03±0.87	4.39±0.94	2.52±0.57
腹腔注射异烟肼+安定+ACTH组	2.96±0.56	5.11±0.99	2.25±0.97

表中数字为均值±标准误。

腹腔注射ACTH组与对照组比较，** P＜0.01，*** P＜0.001。

腹腔注射安定+ACTH组与腹腔注射ACTH组比较，Δ P＜0.05，ΔΔ P＜0.01。

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

加强ACTH作用致三脑区5－HT含量降至ACTH组水平。结果提示，安定加强ACTH镇痛作用，似与脑区5－HT含量变化有关。

四、阿片受体或胆碱能M－受体与安定加强ACTH镇痛作用的关系

1．纳洛酮的影响：将小鼠随机分为两组：（1）纳洛酮（0.2mg/kg）＋安定＋ACTH组（纳洛酮ip后10min注射安定，10min后始进行ACTH镇痛实验）；（2）纳洛酮＋生理盐水＋ACTH组〔程序同（1）组〕。结果可见阿片受体阻断剂纳洛酮可分别阻断由ACTH引起的痛阈升高及安定增强ACTH镇痛作用（$P<0.001$）。（图2）

2．阿托品的影响：同上组将小鼠分成两组：（1）阿托品（2mg/kg）＋安定＋ACTH组和（2）阿托品＋生理盐水＋ACTH组（程序同纳洛酮组）。结果可见胆碱能M－受体阻断剂阿托品，可降低安定加强ACTH镇痛作用（$P<0.001$），但对由ACTH引起的痛阈升高作用无影响（$P>0.05$）。（图2）

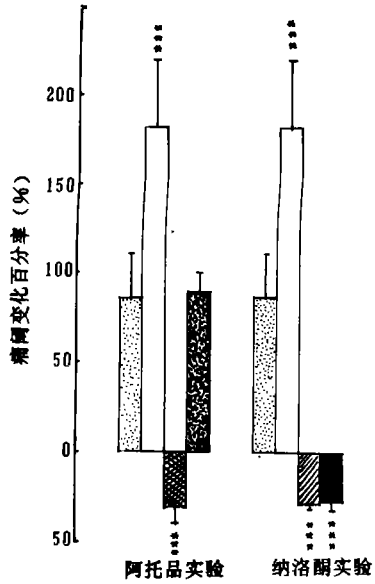


图2 纳洛酮、阿托品对安定加强ACTH镇痛的影响

- 腹腔注射ACTH组
- 腹腔注射安定＋ACTH组
- 腹腔注射阿托品＋安定＋ACTH组
- 腹腔注射阿托品＋盐水＋ACTH组
- 腹腔注射纳洛酮＋安定＋ACTH组
- 腹腔注射钠洛酮＋盐水＋ACTH组

***$P<0.001$

讨　论

实验结果表明，腹腔注射安定，能显著增强ACTH镇痛作用。安定（二苯氮䓬，diazepam）可增加脑内GABA受体对GABA的亲合力[6]，从而加强脑内GABA系统的功能。因此它可作为研究GABA功能活动的一种较有效的工具药。已证明安定本身并无镇痛作用[7]。本实验中，安定增强ACTH镇痛作用如确是通过GABA系统而实现，则该效应应该能被GABA受体拮抗剂印防己毒素和GABA合成酶抑制剂异烟肼所阻断。结果表明，印防己毒素和异烟肼不仅可以削弱ACTH镇痛作用，还可对抗安定增强ACTH镇痛作用。从而提示，安定增强ACTH镇痛作用可能是通过加强GABA系统的功能而实现的。

由于印防己毒素和异烟肼可降低脑内GABA能神经元的功能，因而有致惊作用。实验中约有60～70%左右的动物产生痉挛，但程度轻，时间短，10～15min内行为和痛阈即恢复到注射前水平（极个别例外），而且在无痉挛发生的情况下仍可削弱ACTH镇痛和对抗安定增强ACTH镇痛作用，表明印防己毒素和异烟肼的作用不是继发于动物的痉挛。

据报道，GABA能促进中脑中缝核^{3H}－5－HT的释放而参与调制痛觉[2]。曾有人用电生理[5]，生化和放射自显影[4]等方法证明，中脑中缝核群受GABA能通路的控制和GABA能中间神经元的影响。经证明，安定增强针刺镇痛作用可能与5－TH有关[7]。我们曾观察到腹腔或脑室注射ACTH可促进大鼠脑内5－HT含量升高[3]，从而提示安定加强ACTH作用可能与5－HT有关。鉴于海马、下丘脑等脑区参与痛的调制[8]，我们观察了小鼠海马、下丘脑和中－桥脑在安定加强ACTH镇痛作用中5－HT含量的变化。结果看出，安定＋ACTH ip使海马、下

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

丘脑和中－桥脑等脑区5－HT含量显著增加，与ACTH组比，有统计学意义。而印防己毒素和异烟肼均可对抗安定这一作用。提示安定通过加强脑内GABA系统增强ACTH镇痛作用可能与5－HT含量变化有关，是否还有其它递质的作用，尚需进一步研究。

中枢GABA镇痛调制作用与乙酰胆碱能系统和内源性脑啡肽有关[10]。安定加强ACTH镇痛作用可被预先腹腔注射纳洛酮或阿托品所阻断，表明安定加强ACTH镇痛作用，是通过兴奋阿片受体和胆碱能M－受体起作用的。此外，纳洛酮不仅有上述阻断作用，还可阻断ACTH镇痛效应，表明安定加强ACTH镇痛作用中，阿片受体有着更复杂的影响。

参考文献

1. 范少光、屈智超。脑内γ－氨基丁酸能神经及其功能。生理科学进展1984；15：14～45
2. Kerwie RW and Pycock CJ. The effect of some putative neurotransmitters on the release of 5-hydroxytryptamine and gamma aminobutyric acid from slices of the rat midbrain raphe area. Neuroscience 1979:4:1359～1365
3. 李希成、黎海蒂，等。腹腔和脑室注射促肾上腺皮质激素对大鼠不同脑区5－羟色胺含量的影响。生理学报1987；39(3)：227～234
4. Curzon G, et al. Rapid methold for the determination of 5-hydyoxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid small region of rat brain. Brit J Pharmacol 1970:39:653～655
5. Wang RY & Aghajanian GK Physiological evidence for habenula as major link between forebrain and midbrain raphe. Science 1977:197:89～91
6. Belin MF, et al. GABA-accumulating neurons in the nucleus raphe dorsalis and periaqueductal gray in the rat: a biochemical and radioautographic study. Brain Res 1979:170:279～297
7. 马丽华，等。舒乐安定作为针麻术前用药140例临床观察。针刺研究1982；7：115～120
8. Liu Zhozhou(刘祚周) and Liao Weihong (廖维宏). Nociceptive depressing neurons of hippocampal formation in cat and effect of acupuncture. Kexue Tongbao 1983:28:1260～1268
9. 范少光，等。安定对抗大鼠的电针和吗啡镇痛作用。北京医学院学报1982；14(3)：234～236
10. Zakusov VV, et al. GABA-Opiates interaction in the activity of analgesics. Arch Int Pharmacodyn. Ther 1983:265:61～75

(收稿：1988.9.7；修回：1989·3.23)

Potentiation Effect of Diazepam on ACTH Analgesia in the Mice

Li Halti and Zhang Wende (Department of Physiology. Third Military Medical College)

Experimental methods：intraperitoneal injection of diazepam, γ-aminobutyric acid (GABA) receptor antagonist (picrotoxin) and GABA synthesis inhibitor (isoniazid) ; the pain threshold and serotonin (5-HT) content in the brain are measured with spectrofluorometry·The effect of diazepam on ACTH analgesia (AA) is abstracted and the possible mechanisms of diazepam effect are studied. Results：

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

diazepam increases the effect of AA, picrotoxin and isoniazid reduce it and antagonize the analgesia effect of ACTH; diazepam increases the content of 5-HT in hipocampus, hypothalamus and midbrain; diazepam + ACTH increases, more than ACTH or diazepam singly, the level of5-HT in the 3 brain regions; picrotoxin and isoniazid reverse the effect of diazepam and ACTH on the content of 5-HT in the 3 brainsites; potentiation of diazepam on AA is antagonized by naloxone and atropine.

Key Words: Diazepam/PD; Drug combination; ACTH/PP; Serotonin; γ-aminobutyric acid; Picrotoxin; Isoniazid; Spectrometry, fluorescence;

(上接187页)

tion of lung homogenate, and scavenging of superoxide anion and hydroxyl radical effectively in proper doses. These results imply a close relationship between the efficacy of GS treatment for lung inhalation injury and its antioxidation.

Key Words: Ginseng/ZY; Lung/IN; Burns, inhalation/ES; Superoxide dismutase; Malondialdehyde

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