丘脑钙、镁含量与电针镇痛的关系*

张祖暄　　陈荣三
（南京大学生物系针麻组）　（南京大学络合物化学研究所）

过去的工作发现，脑钙离子（Ca^{2+}）水平降低能提高电针镇痛效果，脑 Ca^{2+} 水平增高则对抗电针镇痛；给动物腹腔注射镁离子（Mg^{2+}）无镇痛作用，也不影响电针镇痛[1]. 为进一步查明脑 Ca^{2+} 在电针镇痛中的作用，本文在研究脑 Ca^{2+} 的同时，也观察了脑 Mg^{2+} 含量的变化及 Mg^{2+}、Ca^{2+} 比值与电针镇痛的关系.

方　　法

试验动物是体重 17—25 克小鼠，性别不拘，随机取用. 按过去采用的电针[2]和测 Ca^{2+} 程序进行处理. 测 Mg^{2+} 时加氨缓冲液，用 NaOH 溶液调节脑提液至 pH 10，然后以 EDTA 络合滴定法测定. 镇痛效果以反应时（秒）表示，反应时超过 30 秒时，则只取 30 秒（截止值）. 离子试剂按 Lockett[3] 等的方法稍加改进作脑池内注射：动物不麻醉，固定在颈夹台上. 将 26 号皮内注射针于离针尖 4 毫米处弯成 20° 角. 一手持注射器，一手将动物头部向下轻按，使头微向前曲. 针头沿背部中线穿过皮肤、肌肉、韧带插入枕部与寰椎之间，然后轻轻上提，使针尖弯曲部分贴近枕部内上缘向前推进，直至全长，注入药液. 经用 1% 伊文思兰鉴定，以此法注射后立即投入液氮固定的动物，脑基底部、第三、四脑室都有染料着色，85% 的动物在侧脑室染有颜色，有少数甚至扩展到大脑半球表面.

试剂均系分析纯，离子试剂为氯化物，试验前用双蒸水（电阻 0.85 兆欧）配制成所需浓度，于正常测痛或电针后一次脑池内注射，每次 0.02 毫升. 注射后每隔 10 分钟测痛一次，共六次. 对照组注射等体积双蒸水. 本试验所用的剂量均根据毒性试验选取.

结　　果

1. 脑池内注射各种离子对小鼠脑 Ca^{2+}、Mg^{2+} 含量和痛阈的影响

根据我们过去的工作，$[EDTA]^{2-}$ 提高电针镇痛效果似乎主要是使脑 Ca^{2+} 浓度降低所致[1]. 为查明脑 Ca^{2+} 与电针镇痛的关系，本组实验给动物单独使用对 Ca^{2+} 螯合能力较强，对 Mg^{2+} 螯合能力极弱的螯合剂 $[EGTA]^{2-}$（乙二醇乙醚二胺四乙酸），观察在排除 Mg^{2+} 对 Ca^{2+} 干扰后动物痛阈和丘脑 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值的变化. 同时还试验了有较强镇痛作用的镧离子（La^{3+}）和无镇痛作用的铈离子（Ce^{3+}）对动物痛及应阈和 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值的影响，以资比较.

从表 1 可以看出，脑池内注射 0.002 μM/kg La^{3+} 后，反应时由正常的平均 3.2±0.13 秒延长到 18.0±3.03 秒，痛阈明显提高；这时丘脑的 Mg^{2+} 水平升高，Ca^{2+} 水平降低，Mg^{2+}/Ca^{2+} 比

本文 1978 年 3 月 3 日收到.

* 江苏南通地区肿瘤医院李正彪同志参加部分实验工作.

表 1　脑池内注射各种离子对小鼠丘脑 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 含量及痛阈的影响

组　　别	痛　阈　（秒）		离子含量（mg/100g 鲜脑重）		Mg^{2+}/Ca^{2+}
	注　射　前	注　射　后	Mg^{2+}	Ca^{2+}	
双蒸水 0.02 ml (20)	3.8±0.10*	3.7±0.13**	6.76±0.42	5.25±0.24	1.0
La^{3+} 0.002μM/kg (20)	3.2±0.13	18.0±3.03	11.42±1.32	1.22±0.12	9.4
Ce^{3+} 0.005μM/kg (20)	3.0±0.18	4.5±0.54**	4.13±0.19	5.73±0.21***	0.7
$[EDTA]^{2-}$ 15μM/kg (20)	4.0±0.09	13.6±1.94	4.70±0.46	2.38±0.15	2.0
$[EGTA]^{2-}$ 4μM/kg (17)	3.6±0.12	14.5±1.76	6.28±1.06***	2.25±0.15	2.8

注：括号内为动物数．　＊ 均值±标准误．
表内除与注射前相应的对照组比较的"＊＊"及与双蒸水对照组比较的"＊＊＊" $P>0.05$ 外，余均 $P<0.05$．

值较正常高 9 倍多．

Ce^{3+} 无镇痛作用，此时脑 Mg^{2+} 含量降低，脑 Ca^{2+} 含量增高，Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值仅 0.7 左右．

脑池内注射 15 μM/kg $[EDTA]^{2-}$ 有明显的镇痛作用，脑 Ca^{2+} 含量降低，实验结果与腹腔注射相符[1]，脑 Mg^{2+} 含量也降低（$P<0.05$），表明在活体内 $[EDTA]^{2-}$ 螯合 Mg^{2+} 的能力亦较强；Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值为正常比值的 2 倍左右．

$[EGTA]^{2-}$ 的镇痛作用更明显；脑 Ca^{2+} 含量大幅度下降，但脑 Mg^{2+} 含量没有变化（$P<0.05$），Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值稍高于 $[EDTA]^{2-}$ 处理组．

2. 脑池内注射 $[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 对小鼠电针镇痛和丘脑 Mg^{2+}、Ca^{2+} 含量的影响

表 2 是在电针无效基础上分别脑池内注射 $[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 后测得的实验结果．从表中可见，电针镇痛有效时，脑 Mg^{2+} 含量增高，脑 Ca^{2+} 含量降低；Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值达 7.2．与此相反，电针镇痛无效时，脑 Mg^{2+} 含量降低，脑 Ca^{2+} 含量增高，Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值仅 0.4，低于正常比值．

在电针无效基础上脑池内注射 15 μM/kg $[EDTA]^{2-}$ 并继续电针时，反应时显著延长，由注射前的 5.2±0.21 秒增至 28.8±3.31 秒；与此同时，脑 Mg^{2+} 含量增高，脑 Ca^{2+} 含量降低，Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值为 3.8．

表 2　在无效电针基础上脑池内注射 $[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 后小鼠痛阈和丘脑 Mg^{2+}、Ca^{2+} 含量的变化

组　　别	痛　阈　（秒）			离子含量(mg/100g 鲜脑重)		Mg^{2+}/Ca^{2+}
	电　针　前	电　针　后	加螯合剂	Mg^{2+}	Ca^{2+}	
双蒸水 0.02 ml (20)	3.8±0.10*	3.7±0.13**		6.76±0.42	5.25±0.24	1.0
电针(有针效)(20)	3.8±0.08	21.8±2.15		21.41±2.04	2.99±0.20	7.2
电针(无针效) (20)	3.8±0.07	5.4±0.20**		3.98±0.52	10.59±1.34	0.4
电针(无针效)+ $[EDTA]^{2-}$ 15μM/kg(20)	4.0±0.04	5.2±0.21**	28.8±3.31	10.79±0.58	2.82±0.73	3.8
电针(无针效)+ $[EGTA]^{2-}$ 4μM/kg(20)	4.1±0.08	5.1±0.14**	30.0(截止值)	14.61±1.80	2.57±033	5.7

注：括号内为动物数．　＊ 均值±标准误．
表内除与电针前相应对照组比较的"＊＊" $P>0.05$，余均 $P<0.01$．

$[EGTA]^{2-}$ 与电针镇痛的协同作用更明显，反应时延长到 30 秒以上（这里只取 30 秒，截

止值)，Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值亦高于 $[EDTA]^{2-}$ 处理组，但 $[EGTA]^{2-}$ 的剂量浓度只有 $[EDTA]^{2-}$ 的四分之一左右，说明 $[EGTA]^{2-}$ 对电针镇痛的作用更强.

3. $[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 与不同浓度 Mg^{2+} 同时脑池内注射时小鼠痛阈的变化

上述两部分实验结果表明，单独脑池内注射各种离子和电针，或电针加螯合剂后，脑 Ca^{2+} 水平的改变较有规律，亦即镇痛效果好时脑 Ca^{2+} 含量降低；镇痛效果差时脑 Ca^{2+} 含量升高. 脑 Mg^{2+} 水平的改变不如脑 Ca^{2+} 规律，因为单独注射螯合剂 $[EDTA]^{2-}$ 后脑 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 含量均降低，而单独注射 $[EGTA]^{2-}$ 时脑 Ca^{2+} 含量降低，脑 Mg^{2+} 含量没有变化，但这两组动物的痛反应时都明显延长. Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值也较正常比值高. 为进一步确定 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值与痛阈变化的关系，我们根据 $[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 螯合 Ca^{2+} 的能力(稳定常数)，按比例计算出不同浓度的 Mg^{2+} 与上述剂量的 $[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 同时脑池内注射，人为地改变脑内 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值，使之大致相当于正常比值的 2、4、8、10 和 15 倍，观察动物痛反应时的变化情况. 实验结果见表 3.

表 3　$[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 与不同浓度 Mg^{2+} 同时脑池内注射后小鼠痛阈的变化

剂量		痛阈 (秒) 注射前	痛阈 (秒) 注射后	差异显著性
$[EDTA]^{2-}$ 15μM/kg + Mg^{2+}	12.5 mg/kg	4.1±0.08*	11.4±2.06	$P<0.01$
	37.5 mg/kg	4.2±0.09	10.0±3.38	$P<0.01$
	62.5 mg/kg	4.2±0.11	14.0±3.11	$P<0.01$
	87.5 mg/kg	4.1±0.10	19.6±3.52	$P<0.01$
	175 mg/kg	4.3±0.09	6.6±0.54	$P>0.05$
$[EGTA]^{2-}$ 4μM/kg + Mg^{2+}	12.5 mg/kg	4.0±0.11	14.2±3.48	$P<0.01$
	37.5 mg/kg	4.2±0.18	21.9±3.17	$P<0.01$
	62.5 mg/kg	4.0±0.09	16.1±2.73	$P<0.01$
	87.5 mg/kg	4.1±0.15	18.8±3.80	$P<0.01$
	175 mg/kg	4.3±0.07	6.7±0.47	$P>0.05$

注：表内每一剂量均用 20 只动物.　　* 均值±标准误.

从表 3 可以看出，提高脑 Mg^{2+} 浓度，增加脑 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值似确能延长痛反应时. 但不是 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值越大镇痛效果越好；当脑 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值超过正常比值 15 倍(175 mg/kg)时，痛阈并未提高，但脑 Ca^{2+} 水平依然降低；两组结果基本一致.

本组实验结果说明，中枢神经系统中的 Ca^{2+} 在镇痛中起着重要作用，但脑 Ca^{2+} 水平的降低好象还不是提高痛阈的决定因素，必须同时伴有脑 Mg^{2+} 水平增高. 因此，痛阈的变化似与脑内适当的 Mg^{2+}/Ca^{2+} 比值有关.

讨　论

动物中的 Mg^{2+} 的作用尚未十分了解，Mg^{2+} 的存在对 Ca^{2+} 的吸收有密切联系，缺 Mg^{2+} 明显影响 Ca^{2+} 的代谢. 离体实验证明，Mg^{2+} 对 Ca^{2+} 有对抗作用，不少神经递质的释放和贮存需要 Ca^{2+}，但被 Mg^{2+} 阻断，尤其当细胞内 Mg^{2+} 浓度增高时这种抑制作用更明显[4]. 另一方面，也有研究者发现 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 能刺激胆碱乙酰基移位酶的活性，高浓度时则抑制乙酰胆碱合成[5]. 这说明在活体内 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 之间既对抗又协同，它们的联系是十分密切的. 从表 1

和表 2 结果看，$[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 都使脑 Ca^{2+} 水平降低，而前者螯合脑 Mg^{2+} 的能力较强，后者螯合脑 Mg^{2+} 极弱，这与两种螯合剂本身的化学性质相符，但两组试验动物的痛阈都有所提高．我们以前的工作曾发现，腹腔注射 Mg^{2+} 无镇痛作用，也不影响电针镇痛．因此，乍看起来 Mg^{2+} 似与镇痛无关，但从本文其它组试验结果看，脑 Ca^{2+} 对脑 Mg^{2+} 有明显的依存性，无论电针镇痛或各种离子镇痛，当痛阈提高时，在脑 Ca^{2+} 含量降低的同时都伴有脑 Mg^{2+} 含量增高，反之亦然．提示在电针镇痛过程中，脑 Ca^{2+} 浓度的降低不是提高电针镇痛的决定因素，似乎还与 Mg^{2+} 含量的适度变化有关．从 $[EDTA]^{2-}$ 的螯合性质推测，电针镇痛时除脑 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 外，显然还有其它多种离子参与．再者，这些离子的增加和减少的来龙去脉尚不清楚，有待配合同位素追踪作进一步观察．

值得注意的是，脑池内注射 La^{3+} 有较强的镇痛作用．最近证明，La^{3+} 能抑制钙泵，抑制部位在细胞膜外表面[6]．Ca^{2+} 对抗吗啡镇痛已基本肯定，据我们最近获得的初步试验结果，La^{3+}、盐酸吗啡、欧产乌头碱和电针镇痛都能被 Ca^{2+} 对抗，电针镇痛与药物镇痛似有共同的离子基础．关于镧系元素在电针镇痛中的作用，值得深入研究．

小　　结

用螯合剂 EDTA 和 EGTA，观察了丘脑 Ca^{2+}、Mg^{2+} 水平与电针镇痛的关系，发现针效的提高与脑 Mg^{2+}、Ca^{2+} 浓度的适当改变有关，就镇痛而言，多种离子的相互作用似比单个离子更为重要．

$[EDTA]^{2-}$ 和 $[EGTA]^{2-}$ 不但本身有明显的镇痛作用，而且提高电针镇痛．脑池注射 La^{3+} 有较强的镇痛作用，与 La^{3+} 原子半径和电荷密度相近的 Ce^{3+} 无镇痛作用．

致谢：本文承邹冈、金国章两同志审阅并提出宝贵意见，特此致谢．

参　考　文　献

[1] 张祖暄、胡卫东、陈荣三，科学通报，22(1977)，10:454.
[2] 南京大学生物系针麻研究组、南京妇幼保健院，江苏医药，1975，6:6.
[3] Lockett, M. F. & Davis, M. M., *J. Pharma. Pharmacol.*, 1958, 10: 80.
[4] Hodkin, A. L. & Keynes, R. D., *J. Physiol.*, **138**(1957), 253.
[5] Tolwar, G. P. & Singh, U. B., *J. Neurochem.*, **13**(1966), 333.
[6] Sarkadi, B., Szasz, I., Gerloczy, A. & Gardos, G., *Biochimica et Biophysica Acta*, **464**(1977), 93.