

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00113

## 孕期注射地塞米松对子代大鼠发育过程中疼痛敏感性的影响

### Modulation of pain sensitivity by prenatal exposure to glucocorticoids during development of filial generation

林宜硕<sup>1△</sup>, 姜伊昆<sup>1△</sup>, 樊娟<sup>1</sup>, 徐明娟<sup>2</sup>, 倪鑫<sup>1</sup>, 马蓓<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学基础部生理学教研室, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院妇产科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 研究母鼠怀孕中后期地塞米松(DEX)暴露对子代大鼠发育过程中痛觉敏感性的影响。**方法** 以母鼠孕期中后半程(9~12 d)注射 DEX(每天 100 μg/kg)和注射生理盐水后出生的大鼠为样本,通过足底部痛阈测定,观察子代大鼠出生后 3 d 及 1、2、3、4、5、6、7、8 周时机械痛阈和热痛阈的变化。**结果** 两组子代大鼠的外周机械痛阈和热痛阈均随着年龄的增长逐渐增加。出生后 3 d 和 1 周时,DEX 组机械痛阈显著低于对照组( $P<0.05$ ),而 2 周和 3 周时,DEX 组机械痛阈明显显著高于对照组( $P<0.05$ ),4 周以后两组间无显著差别。对于热痛阈,大鼠出生后 3 d DEX 组显著低于对照组( $P<0.05$ ),而出生后 1 周及以后的时期两组间无显著差异。**结论** 母体孕中后期注射 DEX 可以增强子代大鼠发育早期的痛觉敏感性,而这种影响可能是短暂性的。

**[关键词]** 地塞米松;痛阈;机械痛;热痛

**[中图分类号]** R 339.1

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 0258-879X(2010)01-0113-03

生理学研究表明新生儿和早产儿能够感受疼痛<sup>[1]</sup>。早期疼痛经验尤其是接受大量致痛性操作,对新生儿可造成一系列的近期和远期不良影响<sup>[2]</sup>,其中包括痛觉敏感性的改变<sup>[3]</sup>。许多学者认为,经历致痛操作的新生儿应该得到临床重视,并给予相应的措施,如适量的镇痛药物以减轻疼痛,因而研究新生儿疼痛及其影响因素具有重要的临床意义。

糖皮质激素(GC)是产科的常用药物,一方面可控制早产儿慢性肺部疾患的持续恶化<sup>[4]</sup>,短期治疗可促进早产胎儿的肺成熟<sup>[5-6]</sup>,长期应用可以治疗胎儿先天性肾上腺增生<sup>[7]</sup>;另一方面,孕期注射较高剂量的 GC 又可以导致胎儿宫内发育迟缓,先天畸形或出生后行为异常<sup>[8-9]</sup>。由于孕期接触 GC 对子代多种组织器官的生理功能具有不同的作用,因而与胎儿及新生儿的生长发育密切相关。已有的研究表明,GC 在炎症、应激和组织损伤时分泌明显增加,对于外周伤害性感受起到抑制作用。而在新生儿期给予 GC 后其疼痛敏感性明显降低<sup>[10]</sup>。这些结果提示孕期接触 GC 对子代发育过程中痛觉的形成可能也会产生影响。

我们拟以母体孕期中后半程(9~12 d)注射地塞米松(DEX)后出生的大鼠为样本,观察其不同发育阶段机械痛阈和热痛阈的变化,从而探讨孕期接触 GC 对子代发育过程中痛觉敏感性的影响。

### 1 材料和方法

**1.1 动物分组** 将成年雌性 SD 大鼠与雄性大鼠交配,7 d 后开始观察是否受孕(根据怀孕大鼠腹部隆起的情况),对确认怀孕的大鼠在孕 9~12 d 时,背部皮下注射 DEX(每天 100

μg/kg,溶于生理盐水),对照组注射生理盐水直至分娩。分娩后,计数子代个数。DEX 组共得子代大鼠 52 只,对照组共得子代大鼠 49 只,共计 101 只。在大鼠出生 3 d 及 1、2、3、4、5、6、7、8 周时分别进行痛觉行为学测试。

#### 1.2 痛觉行为学测试

**1.2.1 弗莱毛(Von Frey Hair)测痛法<sup>[11]</sup>** 测定大鼠机械痛阈 将测试大鼠置于特制笼中,熟悉环境 20 min 后,以弗莱毛刺激大鼠后足部,以大鼠抬起后肢为反应阳性。弗莱毛的力量分别为 1(0.011 5 g),2(0.022 9 g),3(0.035 8 g),4(0.052 g),5(0.1 g),6(0.404 g),7(0.634 g),8(1.19 g),9(2.05 g),10(4.01 g),11(6 g),12(8.08 g),13(10.8 g),14(12.2 g)。从细到粗,逐个进行左右足部刺激,每个力量的弗莱毛刺激左足和右足各 10 次,当左右肢每次测试反应均为阳性时的弗莱毛强度,即为 100%缩腿阈值(100% PWT)。**1.2.2 用红外热痛刺激仪测定大鼠热痛阈** 将测试大鼠置于特制笼中,熟悉环境 20 min 后,以光照刺激大鼠后足部,以大鼠抬起后肢为反应阳性。逐个进行左右足部刺激并记录光照开始至大鼠抬足的时间,该时间即为缩足反射潜伏期(s)。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS 11.0 软件进行统计学分析。采用方差分析分别比较出生后时间和药物(DEX)对机械刺激缩腿阈值和热刺激缩足反射潜伏期的影响,然后用 LSD-*t* 检验)比较两两间的差别, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 子代大鼠机械痛阈的比较** 结果表明,3 d 和 1 周时

**[收稿日期]** 2009-05-06 **[接受日期]** 2009-08-26

**[作者简介]** 林宜硕,第二军医大学临床医学专业八年制 2005 级学员。E-mail: a\_yun@hotmail.com;姜伊昆,第二军医大学临床医学专业八年制 2005 级学员。E-mail: jiang544542199@163.com

△共同第一作者(Co-first authors)。

\* 通讯作者(Corresponding author)。Tel:021-81870979, E-mail: mabei08@yahoo.com.cn

DEX 组明显低于对照组 ( $P < 0.05$ ); 2 周和 3 周时 DEX 组显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 两组在 4~8 周无统计学差异 ( $P > 0.05$ , 图 1)。

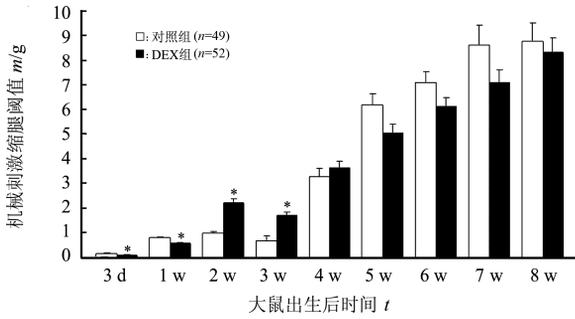


图 1 DEX 组和对照组子代大鼠机械痛阈的比较  
\*  $P < 0.05$  与对照组比较,  $\bar{x} \pm s$

2.2 子代大鼠热痛阈的比较 结果表明, 出生后 3 d DEX 组的热痛阈显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 1~8 周并未见统计学差异 ( $P > 0.05$ , 图 2)。

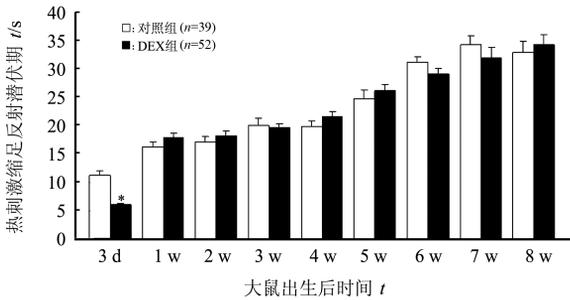


图 2 DEX 组和对照组子代大鼠热痛阈的比较  
\*  $P < 0.05$  与对照组比较,  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

有报道认为, 生后早期为新生儿中枢神经系统发育的关键时期, 对包括疼痛在内的一系列急性应激产生各种适应性反应。一旦适应性反应失代偿或代偿过度, 则导致机体与环境间的动态平衡紊乱, 从而造成一系列不良影响<sup>[12]</sup>。神经解剖学研究发现, 胎儿伤害感受系统中的皮质和丘脑的最终连接发生在怀孕期的第 24~28 周<sup>[13-14]</sup>, 说明胎儿可能在妊娠晚期就可以感受疼痛, 而且胎儿和新生儿对疼痛刺激反应强烈, 持续时间长。这些结果意味着母体孕期接受不良刺激可能会导致胎儿出生后中枢神经系统对各种刺激的反应发生紊乱。

以往的动物实验研究认为, 大鼠出生后 15 d 才能站立和行走, 所以痛觉行为测试要在出生 15 d 以后进行<sup>[15]</sup>, 但有报道给予子代大鼠躯体刺激引起的反射最早在母体受孕 15 d 时就产生了, 可以同步检测到相应的运动。大鼠在刚出生时已有能力表现出痛觉行为, 有报道出生 1 d 的新生鼠就能对足底注射甲醛表现出痛行为<sup>[16-17]</sup>。对于热刺激和机械刺激的基础痛阈在出生后 1 d 最低, 然后逐渐增高, 直到 7 d 时不再变化<sup>[16, 18]</sup>。与成年大鼠不同的是, 能引起反应的刺激形

式是触或压而不是伤害性的<sup>[16, 19]</sup>, 即在出生早期(1 周之内)痛觉敏感性是增加的。

目前对于新生大鼠痛反应的评价方法包括: 热刺激缩足反射潜伏期(PWTL)、机械刺激缩足反射阈值(PWMT)或自发缩足反射次数评价自发痛强度<sup>[20]</sup>, 我们的实验中采用了前两种方法来评价痛敏感性。结果发现, 两组子代大鼠出生后早期(1 周之内)痛觉敏感性均较高, 与文献<sup>[20]</sup>报道类似。其原因可能是由于新生大鼠脊髓疼痛调节系统发育不完善, 尚难以对外周伤害性信息进行辨别和调控, 一种刺激往往可以引起全身非特异性反应, 表现为痛觉敏感性高于成年<sup>[12]</sup>。曾有报道成年和新生鼠皮肤机械刺激的初级传入纤维的阈值相同, 也提示这些出生早期的差别可能是由于中枢突的改变引起的<sup>[20-21]</sup>。

DEX 属于脂溶性甾体激素, 可以通过血脑屏障。已有的研究表明, 早产新生儿使用 DEX 和日后脑瘫的发生之间存在联系<sup>[4]</sup>。使用 DEX 的婴儿中, 1 岁时颅内产生异常以及神经运动功能障碍的比例高, 在 2 岁男孩中易出现减缓发育<sup>[22]</sup>。提示新生儿期 DEX 对其神经系统的发育起到不良影响。另外, 研究还发现新生儿使用 DEX 可以使阿片样受体表达增加, 可能影响痛觉敏感性<sup>[10]</sup>。本实验发现, 母鼠孕中后期注射 DEX 后, 其子代大鼠在出生后 3 d 和 1 周时机械痛阈显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 在出生 3 d 时热痛阈亦显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 提示母体孕期注射 DEX 进一步提高了子代发育早期的痛觉敏感性。

曾有研究表明, 新生鼠海马损毁时, 热板和足部压力实验反应降低, 而甩尾实验不受影响, 说明前两种痛觉行为为主要受到脊髓以上的高级中枢调节, 而后者的调节主要在脊髓水平完成<sup>[23]</sup>。本实验通过给予大鼠足底热刺激和压力刺激测试行为学变化, 与对照组相比, 子代大鼠出生后早期(1 周之内)地塞米松组痛阈显著降低 ( $P < 0.05$ ), 提示母体孕期注射 DEX 对于子代发育早期痛觉敏感性的影响可能与中枢神经系统的改变有关。

我们前期的研究结果表明<sup>[13]</sup>, 母体孕中后期注射 DEX, 子代大鼠在出生后 1d 和 1 周时背根神经节及脊髓中 P2X<sub>3</sub> 受体 mRNA 水平降低, 提示孕期接触 GC 可能通过抑制外周神经系统中 P2X<sub>3</sub> 受体的表达而对痛觉产生影响<sup>[24-25]</sup>。但在本次的痛觉行为学测试中, DEX 组子代大鼠出生后早期(1 周之内)痛觉敏感性显著增加, 但在 2~3 周时, 机械痛阈显著提高, 与我们前期实验并不一致, 提示母体孕期接触 DEX 除了对背根神经节和脊髓中 P2X<sub>3</sub> 受体进行调节外, 可能还对痛觉相关的中枢神经产生影响, 或者改变其他痛相关的神经递质和受体, 从而表现为外周痛觉敏感性改变, 其机制尚需深入研究。

综上所述, 本实验提示母体孕期注射 DEX 显著提高子代大鼠出生后早期的基础痛阈, 可能是 DEX 通过影响新生儿的中枢神经系统来完成。

### [参考文献]

[1] Shah V, Ohlsson A. Pain in the newborn[M]. Evidence-based pediatrics and child health. 2nd ed. London: BMJ Books, 2004;

- 509-522.
- [2] Chiswick M L. Assessment of pain in neonates[J]. *Lancet*, 2000,355:6-8.
- [3] Simons S H, Tibboel D. Pain perception development and maturation[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2006, 11:227-231.
- [4] Neal C R, Van der Beek B L, Vazquez D M, Watson S J. Dexamethasone exposure during the neonatal period alters ORL1 mRNA expression in the hypothalamic paraventricular nucleus and hippocampus of the adult rat[J]. *Devel Brain Res*, 2003, 146:15-24.
- [5] Kapoor A, Dunn E, Kostaki A, Andrews M H, Matthews S G. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids[J]. *J Physiol*, 2006, 572:31-44.
- [6] Crowther C A, Haslam R R, Hiller J E, Doyle L W, Robinson J S. Neonatal respiratory distress syndrome after repeat exposure to antenatal corticosteroids: a randomized controlled trial[J]. *Lancet*, 2006, 367:1913-1919.
- [7] Lanteri C J, Willet K E, Kano S, Jobe A H, Ikegami M, Polk D H, et al. Time course of changes in lung mechanics following fetal steroid treatment[J]. *Am J Respir Crit Care*, 1994, 150:759-765.
- [8] Rubaltelli F F, Chiti G, Dani C. Adverse effects of prenatal glucocorticoid treatment in the preterm infant[J]. *Acta Biomed Ateneo Parmense*, 1997, 68 (Suppl 1):35-38.
- [9] Finer N N, Craft A, Vaucher Y E, Clark R H, Sola A. Postnatal steroids: short-term gain, long-term pain[J]. *J Pediatr*, 2000, 137:9-13.
- [10] Neal C R, VanderBeek B L, Vázquez D M, Watson S J. Dexamethasone exposure during the neonatal period alters ORL1 mRNA expression in the hypothalamic paraventricular nucleus and hippocampus of the adult rat[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2003, 146(1-2):15-24.
- [11] Lambert G A, Mallos G, Zagami A S. Von Frey's hairs—a review of their technology and use—a novel automated von Frey device for improved testing for hyperalgesia[J]. *J Neurosci Methods*, 2009, 177:420-426.
- [12] Anand K J S. Neurophysiological and neurobiological correlates of supraspinal pain processing: measurement techniques[M]. // Finley G A, McGrath P J. *Measurement of pain in infants and children, progress in pain research and management*, Vol. 10. Seattle: IASP Press, 1998:21-57.
- [13] Wang H, Zhou M, Cong B, He P, Xu M, Ni X, et al. Transient changes in P2X3 but not TRPV1 mRNA expression in rat after prenatal exposure to glucocorticoids[J]. *Auto Neurosci, Basic Clin*, 2008, 141:112-116.
- [14] Mellor D J, Diesch T J, Gunn A J, Bennet L. The importance of 'awareness' for understanding fetal pain[J]. *Brain Res Rev*, 2005, 49:455-471.
- [15] Narayanan C H, Fox M W, Hamburger V. Prenatal development of spontaneous and evoked activity in the rat (*Rattus norvegicus albinus*) [J]. *Behaviour*, 1971, 40:100-134.
- [16] De Vries A, Holmes M C, Heijnis A, Seier J V, Heerden J, Louw J, et al. Prenatal dexamethasone exposure induces changes in nonhuman primate offspring cardiometabolic and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117:1058-1067.
- [17] Abbott F V, Guy E R. Effects of morphine, pentobarbital and amphetamine on formalin-induced behaviours in infant rats: sedation versus specific suppression of pain[J]. *Pain*, 1995, 62:303-312.
- [18] Tseng S H. Suppression of autotomy by N-methyl-D-aspartate receptor antagonist (MK-801) in the rat[J]. *Neurosci Lett*, 1998, 240:17-20.
- [19] Fitzgerald M. Prenatal growth of fine-diameter primary afferents into the rat spinal cord: a transganglionic tracer study[J]. *J Comp Neurol*, 1987, 261:98-104.
- [20] Holmes M C, Abrahamsen C T, French K L, Paterson J M, Mullins J J, Seckl J R. The mother or the fetus? 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 null mice provide evidence for direct fetal programming of behavior by endogenous glucocorticoids[J]. *J Neurosci*, 2006, 26:3840-3844.
- [21] Fitzgerald M, Jennings E. The postnatal development of spinal sensory processing[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96:7719-7722.
- [22] Grunau R E, Oberlander T F, Whitfield M F, Fitzgerald C, Lee S K. Demographic and therapeutic determinants of pain reactivity in very low birth weight neonates at 32 weeks' postconceptional age[J]. *Pediatrics*, 2001, 107:105-112.
- [23] Al Amin, Atweh S F, Jabbur S, Saade N E. Effects of ventral hippocampal lesion on thermal and mechanical nociception in neonates and adult rats[J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 20:3027-3034.
- [24] Liu M, Huang W, Wu D, Priestley J V. TRPV1, but not P2X, requires cholesterol for its function and membrane expression in rat nociceptors[J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24:1-6.
- [25] Samtani M N, Pyszczyński N A, Dubois D C, Almon R R, Jusko W J. Modeling glucocorticoid-mediated fetal lung maturation: I. Temporal patterns of corticosteroids in rat pregnancy[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 317:117-126.