

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00353

去性腺大鼠外周痛阈的改变

樊娟¹△, 韩红¹△, 余立华¹, 徐明娟², 马蓓^{1*}, 倪鑫¹

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:**探讨性激素对外周痛觉的调节作用。**方法:**制备去卵巢、去睾丸大鼠模型,采用甩尾热痛仪和弗莱毛测痛法观察去性腺后雌性和雄性大鼠外周痛阈,并与各自假手术组作对比。**结果:**雌性大鼠去卵巢后体质量明显增加,子宫质量明显减轻($P<0.01$);雄性大鼠去睾丸后体质量无明显变化。雌性大鼠去卵巢后后肢足底皮肤对机械性刺激的100%缩腿阈值明显降低($P<0.01$),而热痛阈无明显改变。雄性大鼠去睾丸后后肢足底皮肤对机械性刺激的100%缩腿阈值和热刺激甩尾潜伏期均无明显改变。**结论:**雄激素水平的改变对大鼠外周痛阈无明显影响,而卵巢激素可能抑制大鼠外周机械性痛敏的形成,但对热痛阈无明显影响。

[关键词] 性腺激素;痛阈;甩尾热痛仪;弗莱毛测痛法

[中图分类号] R 339.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)04-0353-04

Changes of physiological pain threshold in gonadectomized rats

FAN Juan¹△, HAN Hong¹△, YU Li-hua¹, XU Ming-juan², MA Bei^{1*}, NI Xin¹

1. Department of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Obstetrics and Gynecology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the modulatory effect of gonadal hormone on peripheral pain. **Methods:** Orchiectomized and ovariectomized rats models were established. Radio heater and Von-Frey hair were used to determine the peripheral mechanical and thermal pain threshold in gonadectomized rats and their corresponding sham-controls. **Results:** The body weight was increased and the uterus weight was decreased after ovariectomy in female rats ($P<0.01$). There was no significant change in the body weight of male rats after orchiectomization. The 100% hind paw withdrawal threshold to Von-Frey hair stimulation was decreased significantly after ovariectomization in female rats, with no significant change in the thermal pain threshold. There was no significant changes in the 100% hind paw withdrawal threshold after Von-Frey hair stimulation or thermal pain threshold after orchidectomy in male rats. **Conclusion:** These results suggest that changes in androgen level of male rats have no influence on the peripheral basal pain threshold, and female gonadal hormone may inhibit the peripheral pain signaling and has no effect on thermal pain threshold.

[KEY WORDS] gonadal hormones; pain threshold; radio heater; Von-Frey hairs

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(4): 353-356]

女性的痛觉在月经周期中有波动,黄体期比卵泡期痛觉加重,而在月经期更加重^[1]。怀孕时,增高的雌激素和孕激素水平也同样能对抗伤害反应^[2-3]。这些现象提示,雌激素对痛觉的转导或传递起抑制作用。而Kim等^[4]却发现女性比男性更容易患肠激惹综合征、间质性膀胱炎等疾病^[4],又提示雌激素

对痛觉的转导或传递有正向的调制作用。Aloisi^[5]研究发现,啮齿类动物对伤害性刺激的反应也有显著的性别差异,雌性比雄性的反应更强烈。国外研究^[6-8]发现,动物在动情前期,扩张结直肠引起的内脏运动反射的阈值最低,子宫和阴道初级传入纤维的激活阈值也最低。另一方面,雌激素水平升高后

[收稿日期] 2007-07-12 **[接受日期]** 2007-12-27

[基金项目] 国家自然科学基金(30570597);上海市青年教师后备人才基金(04YQHB099)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30570597) and Shanghai Young Teacher Foundation(04YQHB099)。

[作者简介] 樊娟,硕士生。E-mail: fan_beau@tom.com; 韩红,实验师。E-mail: hanhong0601@hotmail.com。

△Co-author

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel:021-25074321, E-mail: mabei2004@yahoo.com.cn

可以提高皮肤刺激的阈值^[9],减少阴道腔内刺激或尿道结石引起的逃避反应^[10]。这些看似矛盾的结果提示性腺激素对于外周痛觉的作用机制复杂,可能与激素的不同浓度及其在不同器官和组织的作用特异性均有关。近来的研究^[11-13]发现,大鼠去卵巢雌二醇替代后,甲醛引起的炎性痛受到抑制,提示雌激素在炎性痛的形成过程中起到抑制作用。但目前缺乏对外周痛阈的相关研究。

为观察性腺激素对外周痛阈的可能作用及其对不同来源刺激所致痛觉的影响,本研究观察了去性腺大鼠外周机械性痛阈和热痛阈的改变,进一步探讨雌激素对大鼠外周痛觉的调节作用和机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂 甩尾热痛仪购自成都泰盟科技有限公司;弗莱毛(Von-Frey hair)来自英国伦敦大学自主神经科学研究所。

1.2 动物分组及处理 Sprague-Dawley(SD)大鼠购自上海西普尔-必凯公司,成年雌性大鼠随机分为2组($n=10$),去卵巢组(OVX):乙醚麻醉,仰卧位,电动剃毛刀剃毛,打开腹腔,沿下腹部中央侧脂肪分别向上寻找卵巢,找到后分别在上下侧结扎、剪离卵巢,缝合腹腔及皮肤。正常饲养,6周后用于实验。假手术雌性组打开腹腔,沿下腹部中央侧脂肪剪掉一小块,搅动肠道,缝合腹腔及皮肤。

SD成年雄性大鼠随机分为2组($n=10$),去睾丸组(GDX):乙醚麻醉,仰卧位,电动剃毛刀剃毛,切开皮肤,找到睾丸,结扎剪离后缝合皮肤,正常饲养6周后用于实验。假手术雄性组切开睾丸处皮肤后直接缝合皮肤。观察各组大鼠体质量、一般活动及痛阈的变化。因个别大鼠一般状况较差,每组挑选

8只进行行为学实验。

1.3 大鼠外周痛阈的测定

1.3.1 甩尾热痛仪测痛 大鼠熟悉环境20 min后,开启加热仪,以热光源刺激鼠尾,以大鼠甩尾(tail flick)为反应阳性,自加热至大鼠甩尾时间为潜伏期。

1.3.2 弗莱毛测痛 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4(0.079 4 g)、5(0.132 g)、6(0.219 g)、8(0.603 g)、10(1.66 g)、11(2.75 g)、12(4.57 g)、13(7.58 g)、14(12.6 g)、15(20.9 g)、16(34.7 g)、17(57.5 g)、18(95.5 g)、19(159 g)、20(263 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脚和右脚各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)。

1.4 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据分析和作图使用SPSS 11.0软件,参数分析采用 t 检验(Student-Newman-Keuls test)进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量的变化 雌性大鼠处死前称质量,断头致死后取子宫称质量,结果发现,去卵巢大鼠体质量明显高于假手术雌性组 $[(275 \pm 2.8) \text{ g vs } (320 \pm 40) \text{ g}, P < 0.01, \text{图 1A}]$;去卵巢大鼠子宫质量明显低于假手术雌性组 $[(0.49 \pm 0.03) \text{ g vs } (0.15 \pm 0.03) \text{ g}, P < 0.01, \text{图 1B}]$ 。而假手术雄性组及去睾丸大鼠间体质量无统计学差异 $[(222 \pm 9) \text{ g vs } (206 \pm 8) \text{ g}, P > 0.05, \text{图 1C}]$ 。

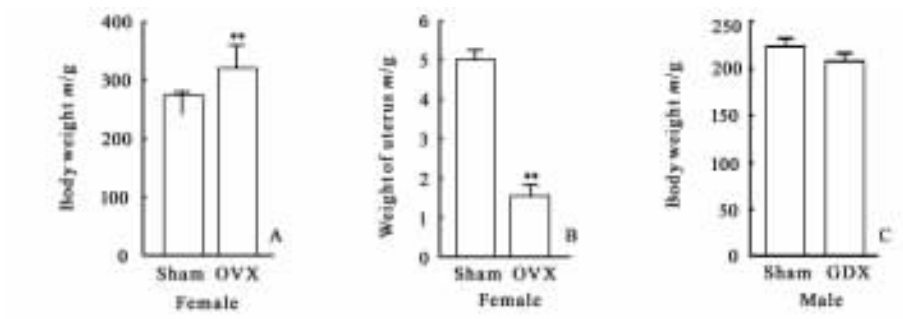


图1 去卵巢大鼠体质量(A)及子宫质量(B)及去睾丸大鼠体质量(C)的变化
Fig 1 Changes in rat body (A) and uterus (B) weights from OVX and GDX rats

OVX;Ovariectomized; GDX;Gonadectomized. ** $P < 0.01$ vs sham; $n=10, \bar{x} \pm s$

2.2 各组大鼠对热刺激痛阈比较 甩尾热痛仪测痛结果显示,假手术雌性组大鼠甩尾潜伏期为 (13.4 ± 3.6) s,去卵巢组延长为 (14.7 ± 4.8) s,但两组间无统计学差异($P > 0.05, n = 8$,图2A);假手术雄性组大鼠甩尾潜伏期为 (14.8 ± 6.2) s,去睾丸组为 (13.0 ± 6.6) s,两组间无统计学差异($P > 0.05, n = 8$,图2B)。

2.3 各组大鼠对机械性刺激痛阈比较 弗莱毛测试结果显示,去卵巢组大鼠对弗莱毛刺激引起的缩腿反应明显增强,其100%PWT仅为 (34.1 ± 11.7) g,而假手术雌性组为 (103.9 ± 71.6) g,两者有统计学差异($P < 0.01, n = 8$)。而假手术雄性组与去睾丸大鼠对弗莱毛刺激的100%PWT无统计学差异($P > 0.05, n = 6$)。雌性去卵巢组大鼠机械性痛阈的反应曲线明显左移(图3A),而雄性去睾丸大鼠机

械性痛阈的反应曲线无明显偏移(图3B)。结果提示去卵巢组雌性大鼠对机械刺激的痛阈降低,即当卵巢激素浓度降低时,机械性痛敏增强;雄激素水平改变对机械性痛阈无明显影响。

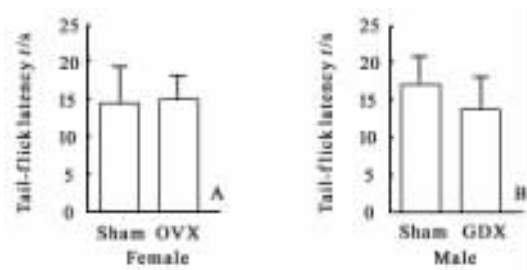


图2 去卵巢大鼠(A)及去睾丸大鼠(B)热刺激后甩尾潜伏期的变化

Fig 2 Changes of tail-flick latencies after thermal stimulation in OVX rats(A) and GDX rats(B)
 $n = 10, \bar{x} \pm s$

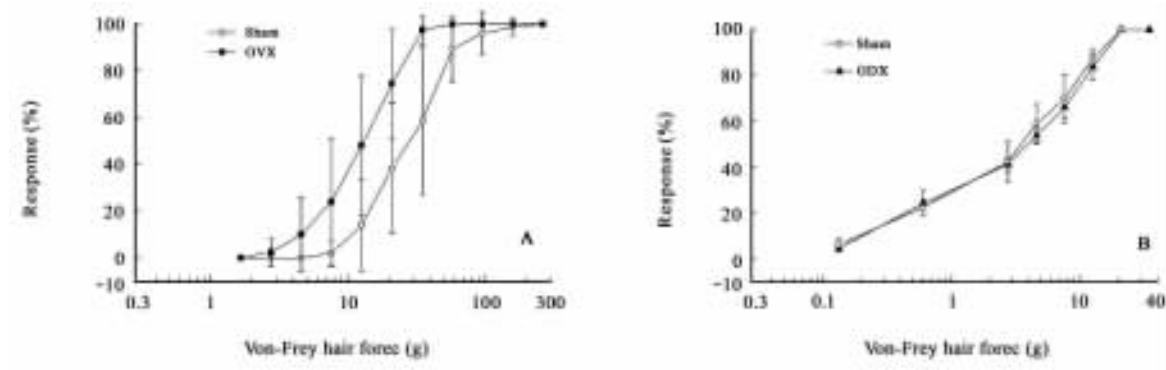


图3 去卵巢大鼠(A)和去睾丸大鼠(B)弗莱毛刺激反应曲线

Fig 3 Von-Frey hair force-response curves of OVX rats(A) and GDX rats(B)
 $n = 8, \bar{x} \pm s$

3 讨论

Stoffel等^[14]研究发现男性与女性在痛阈和慢性疼痛患病率上有明显差别,而且疼痛敏感性随体内性激素水平的变化而变化。但不同研究的结果有较大差别,这可能与不同实验室所用的痛阈测定方法不同有关,也可能与去性腺的时间、激素替代方式、实验动物不同等有关。本研究将大鼠随机分成了假手术组和去性腺组进行比较,结果发现大鼠去卵巢6周后,子宫质量明显减轻,体质量明显增加,与Chakraborty等^[15]结果类似。虽然未能直接测出各组大鼠血浆中雌激素的浓度,但去卵巢组和假手术组大鼠子宫质量和体质量的明显差异均说明所建立的大鼠去卵巢模型是成功的。

本研究分别进行了机械性痛阈和热痛阈的测

试,结果发现大鼠去卵巢后机械痛阈明显降低,提示大鼠体内卵巢激素水平对维持皮肤机械痛阈有重要作用。Sanoja等^[16]研究发现,小鼠去卵巢后腹部、后肢(不包括前肢)及远端尾部出现了显著的机械性痛觉增敏和内脏感觉增敏,雌激素替代后痛觉增敏消失,且这种痛觉增敏只局限于腹部和下肢。此结果提示雌激素的调节作用可能局限在腰骶段脊髓或抵达该区域的初级传入神经元或其末梢。而当大鼠去卵巢后,随着体内雌激素量逐渐降低^[17],这些部位的雌激素受体迅速上调^[18],雌激素替代后又恢复,提示雌激素的作用可能与雌激素受体有关,但具体机制尚不清楚。

本研究结果还发现,雌激素对热痛阈调制与机械性痛阈调制不同,大鼠去卵巢后热痛阈无明显变化。Sanoja等^[16]研究亦发现去卵巢后小鼠后肢和

尾部热痛阈没有明显变化,提示卵巢中不同激素可能对热痛阈的作用不同。Ji等^[19]认为在脊髓水平雌孕激素对痛觉的调节就是对抗的。国外研究^[20-21]表明,去卵巢动物单独用雌激素替代和雌孕激素同时替代后,痛阈都有明显变化,但单独孕激素替代则无明显变化。此结果提示痛阈改变主要与雌激素的浓度变化有关,但具体机制仍需进一步研究。本研究结果还发现,雄性大鼠去睾丸后未见热痛阈和机械痛阈的明显变化,提示雄激素对于痛阈可能没有明显的影响,与国外研究结果^[2-3,5]类似。

综上所述,本研究结果进一步证实了卵巢激素主要对机械性痛觉起抑制作用,但对热痛觉可能无明显影响,而睾丸激素(主要为雄激素)对机械性痛觉和热痛觉可能均无明显影响。

[参考文献]

- [1] Riley J L 3rd, Robinson M E, Wise E A, Price D D. A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle[J]. *Pain*, 1999, 81: 225-235.
- [2] Gintzler A R, Bohan M C. Pain thresholds are elevated during pseudopregnancy[J]. *Brain Res*, 1990, 507: 312-316.
- [3] Dawson-Basoa M, Gintzler A R. Nociceptin (Orphanin FQ) abolishes gestational and ovarian sex steroid-induced antinociception and induces hyperalgesia[J]. *Brain Res*, 1997, 750(1-2): 48-52.
- [4] Kim N N, Min K, Pessina M A, Munarriz R, Goldstein I, Traish A M. Effects of ovariectomy and steroid hormones on vaginal smooth muscle contractility[J]. *Int J Impot Res*, 2004, 16: 43-50.
- [5] Aloisi A M. Gonadal hormones and sex differences in pain reactivity [J]. *Clin J Pain*, 2003, 19: 168-174.
- [6] Robbins A, Berkley K J, Sato Y. Estrous cycle variation of afferent fibers supplying reproductive organs in the female rat [J]. *Brain Res*, 1992, 596(1-2): 353-356.
- [7] Sapsed-Byrne S, Ma D, Ridout D, Holderoft A. Estrous cycle phase variations in visceromotor and cardiovascular responses to colonic distension in the anesthetized rat [J]. *Brain Res*, 1996, 742(1-2): 10-16.
- [8] Holderoft A, Sapsed-Byrne S, Ma D, Hammal D, Forsling M L. Sex and oestrous cycle differences in visceromotor responses and vasopressin release in response to colonic distension in male and female rats anaesthetized with halothane[J]. *Br J Anaesth*, 2000, 85: 907-910.
- [9] Martínez-Gómez M, Cruz Y, Salas M, Hudson R, Pacheco P. Assessing pain threshold in the rat: changes with estrus and time of day[J]. *Physiol Behav*, 1994, 55: 651-657.
- [10] Bradshaw H B, Temple J L, Wood E, Berkley K J. Estrous variations in behavioral responses to vaginal and uterine distention in the rat[J]. *Pain*, 1999, 82: 187-197.
- [11] Mannino C A, South S M, Quinones-Jenab V, Inturrisi C E. Estradiol replacement in ovariectomized rats is antihyperalgesic in the formalin test[J]. *J Pain*, 2007, 8: 334-342.
- [12] Kuba T, Wu H B, Nazarian A, Festa E D, Barr G A, Jenab S, et al. Estradiol and progesterone differentially regulate formalin-induced nociception in ovariectomized female rats[J]. *Horm Behav*, 2006, 49: 441-449.
- [13] Gaumont I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormones on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive responses[J]. *Brain Res*, 2005, 1052: 105-111.
- [14] Stoffel E C, Ulibarri C M, Craft R M. Gonadal steroid hormone modulation of nociception, morphine antinociception and reproductive indices in male and female rats [J]. *Pain*, 2003, 103: 285-302.
- [15] Chakraborty P K, Brown J L, Ruff C B, Nelson M F, Mitchell A S. Effects of long-term treatment with estradiol or clomiphene citrate on bone maintenance, and pituitary and uterine weights in ovariectomized rats[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1991, 40(4-6): 725-729.
- [16] Sanoja R, Cervero F. Estrogen-dependent abdominal hyperalgesia induced by ovariectomy in adult mice: a model of functional abdominal pain[J]. *Pain*, 2005, 118(1-2): 243-253.
- [17] Bartok R E, Craft R M. Sex differences in opioid antinociception [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 282: 769-778.
- [18] Craft R M, Bernal S A. Sex differences in opioid antinociception: kappa and 'mixed action' agonists[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2001, 63: 215-228.
- [19] Ji Y, Tang B, Traub R J. Modulatory effects of estrogen and progesterone on colorectal hyperalgesia in the rat [J]. *Pain*, 2005, 117: 433-442.
- [20] Chakraborty T R, Gore A C. Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors, and neuroendocrine function[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2004, 229: 977-987.
- [21] Mohamed M K, Abdel-Rahman A A. Effect of long-term ovariectomy and estrogen replacement on the expression of estrogen receptor gene in female rats [J]. *Eur J Endocrinol*, 2000, 142: 307-314.

[本文编辑] 贾泽军