

·基础研究·

氯胺酮和可乐定联合应用对大鼠慢性神经病理性痛的影响*

白洁¹ 冷玉芳^{1,2} 高翊博¹

摘要

目的:观察腹腔联合应用氯胺酮和可乐定对大鼠慢性神经病理性疼痛的影响。

方法:雄性SD大鼠80只,体重180—220g,随机分为假手术组(S组)、对照组(C组)、氯胺酮组(K组)、可乐定组(CL组)和联合组(KC组),每组16只。S组大鼠仅分离坐骨神经但不结扎,其余组建立坐骨神经慢性压迫性损伤(CCI)模型,K、CL、KC组分别于术后3d开始至取材点每天腹腔注射氯胺酮10mg/kg、可乐定1mg/kg和氯胺酮5mg/kg+可乐定0.5mg/kg。S组和C组注射相同体积的生理盐水。各组大鼠取4只分别于术前1天,术后第3天、第7天、第14天、第21天测定大鼠机械性缩足痛阈(MWT)和热缩爪潜伏期(TWL)。

结果:与术前及S组比较,C组、K组、CL组、KC组术后3d开始TWL及MWT显著降低($P<0.05$);与C组比较,K组、CL组、KC组第7天,第14天,第21天TWL及MWT显著升高($P<0.05$);与K组和CL组比较,KC组的TWL及MWT显著升高($P<0.05$)。

结论:氯胺酮及可乐定均具有明显的镇痛效应,联合用药可对抗神经病理性痛大鼠的痛觉过敏反应,对防治中枢神经敏感化的形成和发展有一定作用,具有临床应用潜能。

关键词 氯胺酮;可乐定;神经痛;机械性缩足痛阈;热缩爪潜伏期

中图分类号:R741 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2010)-09-0838-04

Effect of combined injection of ketamine and clonidine on the chronic neuropathic pain in rats/BAI Jie, LENG Yufang, GAO Yibo//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(9): 838—841

Abstract

Objective: To observe the effect of combined intraperitoneal injection of ketamine and clonidine for chronic neuropathic pain in chronic constriction injury(CCI) rats.

Method: Eighty male SD rats weighing 180—220g were randomly divided into 5 groups as follows (n=16 each): sham operation group (S), CCI group (C), ketamine group (K), clonidine group (CL) and combined group (KC). In group S, the right sciatic nerves were exposed but not ligated, and in other groups four ligatures were placed around the right sciatic nerve according to Bennett's method. From the 3rd d after operation, 10 mg/kg ketamine, 1 mg/kg clonidine and 5 mg/kg ketamine + 0.5mg/kg clonidine were injected intraperitoneally into group K, CL and KC daily and respectively and the same volume normal saline was injected into group S and C. Mechanical and thermal pain threshold were measured by paw withdrawal latencies to von Frey hair and radiant heat stimulation at 1d before operation and at the end of the 3rd, 7th, 14th, 21th d after operation.

Result: Thermal withdrawal latency (TWL) and mechanical withdrawal threshold (MWT) of group C, K, CL and KC markedly reduced at the end of the 3rd d after operation compared with those before operation and with group S ($P>0.05$). TWL shortened most significantly at the end of the 3rd d; However, MWT dropped most significantly at

DOI10.3969/j.issn.1001-1242.2010.09.005

* 基金项目:兰州大学医学科研基金资助项目(LZUYX200714)

1 兰州大学第一医院麻醉科,甘肃兰州,730000; 2 通讯作者

作者简介:白洁,女,硕士研究生; 收稿日期:2009-09-13

the end of the 7th d after operation($P<0.05$). TWL and MWT of group K, CL, KC at the end of the 7th, 14th, 21th d after operation increased compared with that of group C ($P<0.05$), and the most remarkable effect appeared at the 21st d after operation. TWL and MWT of group KC was significantly higher than that of group K and CL ($P<0.05$).

Conclusion: Ketamine and clonidine all showed evident analgesic effects. The combined injection of ketamine and clonidine can reduce hyperalgesia and the administration in combination may provide better effect.

Author's address Department of Anesthesiology, The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, 730000

Key words ketamine; clonidine; neuralgia; mechanical withdrawal threshold; thermal withdrawal latency

神经病理性疼痛是一种严重的难治性痛症,目前应用的各类镇痛药及抗炎药均有不同程度的毒副作用,且不宜长期应用。N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartate,NMDA)受体的活化在神经病理性疼痛的发生和维持过程中起重要作用,NMDA受体拮抗剂氯胺酮可有效缓解疼痛^[1-2],但用量大时会出现血压升高,心率加快,长期应用还会出现神经毒性作用。可乐定是一种 α_2 -肾上腺素能受体激动剂,已有研究表明,可乐定与NMDA受体拮抗剂MK801在治疗神经源性痛中具有协同镇痛作用,并可减少MK801的毒副作用^[3]。本实验拟通过联合应用氯胺酮和可乐定对坐骨神经慢性压迫性损伤(chronic constriction injury,CCI)模型大鼠痛行为的影响,旨在为治疗神经源性疼痛提供理论依据和适宜的治疗方法。

1 材料与方法

1.1 CCI模型的建立及分组

雄性SD大鼠(甘肃中医学院实验动物中心提供)80只,体重180—220g,随机分为假手术组(S组)、对照组(C组)、氯胺酮组(K组)、可乐定组(CL组)和联合组(KC组),每组16只。S组大鼠仅分离坐骨神经但不结扎,其余组参照Bennett法^[4]建立坐骨神经CCI模型:10%水合氯醛400mg/kg腹腔注射后,切开右下肢股骨中段皮肤,分离肌肉,暴露坐骨神经,以4—0丝线松扎4道,间隔约1mm,以不完全阻断血管为度,打结时可见肢体轻微抽动。术毕肌注0.2ml庆大霉素(10mg/ml)预防感染。K、CL、KC组分别于术后3d开始至取材点每天腹腔注射盐酸氯胺酮注射液(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:KH060804)10mg/kg、盐酸可乐定(江苏云阳集团有限公司,批号:20080101)1mg/kg和氯胺酮5mg/kg+可乐定0.5mg/kg(2ml)。S组和C组注射相同体

积的生理盐水。每组取4只分别于术前1d、术后第3天、7天、14天、21天测定大鼠机械性缩足痛阈(mechanical withdrawal threshold,MWT)和热缩爪潜伏期(thermal withdrawal latency,TWL)。

1.2 痛阈测定

按Chaplan等^[5]报道方法测定MWT:将大鼠置于透明有机玻璃箱中,底部为1cm×1cm的铁丝网,采用von Frey纤维丝刺激大鼠右后肢足底中部,缓慢用力,出现抬足、躲避或舔脚动作为阳性反应,纤维丝弯曲90°无抬足反应为阴性。使用von Frey纤维丝的压力值为0.41、0.52、0.87、1.16、2.05、3.61、5.50、8.28、10.33和16.73g,每次至少间隔30s。初始刺激强度2.05g,若出现阴性反应,则选择高一级强度3.61g;若出现阳性反应,则选择低一级强度1.16g,依此类推,直至出现可诱发阳性或阴性反应相邻的2个刺激强度后,继续依序测定4次,采用内推法计算每只大鼠的50%机械缩足痛阈作为机械痛阈,公式为:

50%机械缩足痛阈= $10^{\log X + \kappa \delta}$,X为最后一次刺激强度; κ 为不同刺激方式的系数,在内推法的表格中查找; δ 为各刺激强度取对数后间距的平均值, $\delta=0.179$ 。

按Hargreaves等^[6]法测定热缩足TWL:采用PL-200热刺激仪(成都泰盟科技有限公司),将大鼠置于玻璃板上,使用热辐射照射其后趾相应部位,记录从照射到缩爪反应的时间,即缩爪潜伏期。单次照射时间不超过20s。同一部位刺激的间隔时间为5min,连续测定3次,取其平均值。

1.3 统计学分析

所有数据均采用均数值±标准差表示,采用SPSS统计学软件(10.0版本)进行数据处理,组间比较采用重复测量方差分析,组内比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

CCI 后大鼠均出现跛行,足呈轻度外翻状,且有时出现如舔舐、悬空等后肢保护现象。

各组大鼠在术前 1d 的热痛阈及机械痛阈比较无显著性差异($P>0.05$)。与术前相比,S 组术后热痛阈及机械痛阈差异无显著性意义($P>0.05$);与术前及

S 组比较,C 组、K 组、CL 组、KC 组术后第 3 天开始热痛阈及机械痛阈显著降低($P<0.05$);与 C 组比较,K 组、CL 组、KC 组第 7 天,第 14 天,第 21 天热痛阈及机械痛阈有显著升高($P<0.05$);与 K 组和 CL 组比较,KC 组的热痛阈及机械痛阈升高更明显,有显著性差异($P<0.05$)(表 1)。

表 1 5 组大鼠不同时间点机械痛阈、辐射热痛阈的比较 (n=4, $\bar{x}\pm s$)

行为学指标/组别	术前	术后			
		第 3 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
MWT(g)					
假手术组	22.45±2.82	23.55±3.37	21.51±3.70	21.91±2.42	22.12±1.91
对照组	24.03±3.83	11.98±3.14 ^{①④}	6.71±2.07 ^{①④}	9.36±1.64 ^{①④}	10.61±1.57 ^{①④}
氯胺酮组	22.66±2.38	13.32±2.42 ^{①④}	14.55±2.76 ^{①②④}	15.27±2.45 ^{①②④}	16.26±2.78 ^{①②④}
可乐定组	22.67±2.25	12.12±3.12 ^{①④}	13.05±3.08 ^{①②④}	15.03±2.59 ^{①②④}	16.45±1.98 ^{①②④}
联合组	22.39±1.79	15.06±1.99 ^{①④}	16.51±2.25 ^{①②③④}	17.67±2.53 ^{①②③④}	19.19±2.60 ^{①②③④}
TWL(s)					
假手术组	11.25±0.92	11.33±0.44	11.44±0.79	11.59±0.65	11.19±0.38
对照组	11.41±0.30	7.48±1.10 ^{①④}	8.03±0.83 ^{①④}	8.07±0.79 ^{①④}	8.13±0.61 ^{①④}
氯胺酮组	11.14±0.56	7.95±0.47 ^{①④}	8.23±0.41 ^{①②④}	9.35±0.90 ^{①②④}	9.41±0.91 ^{①②④}
可乐定组	11.38±0.50	7.90±0.54 ^{①④}	8.23±0.20 ^{①②④}	8.76±1.09 ^{①②④}	9.55±1.05 ^{①②④}
联合组	11.47±0.51	7.92±0.85 ^{①④}	9.75±1.50 ^{①②③④}	10.12±1.12 ^{①②③④}	10.13±0.73 ^{①②③④}

①与 S 组相比 $P<0.05$;②与 C 组比较 $P<0.05$;③与 K 组、CL 组比较 $P<0.05$;④组内比较 $P<0.05$

3 讨论

实验中大鼠 CCI 后出现跛行,足轻度外翻且出现舔舐、悬空等后肢保护现象,机械痛阈和热痛阈均明显降低,说明 CCI 致神经病理性疼痛模型制备成功。考虑到氯胺酮的脊髓毒性,选择腹腔给药的方式。

CCI 模型是通过适度结扎坐骨神经,选择性损伤有髓鞘的粗纤维,保留大部分传递痛觉的 C 类纤维以研究神经病理性疼痛的常用模型^[7]。组织损伤后的炎症及神经损伤后的异位放电,经 C 类纤维传入,引起脊髓兴奋性氨基酸受体(主要是 NMDA 受体)及随后胞内一系列级联反应的持续和过度活化,触发脊髓神经元产生长时程的兴奋性增强效应即中枢敏化,表现为该神经元对外周刺激过度反应,出现痛觉过敏。反过来,中枢敏化的长期存在也可增加兴奋性神经递质(excitatory amino-acid system,EAAAs)的释放。有研究显示,CCI 导致的痛觉过敏与脊髓背角 EAAAs 浓度增加,激活 NMDA 受体,从而使细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,上传至脊髓的疼痛信号增多有关^[8],而 NMDA 受体拮抗剂可减轻神经病理性疼痛^[9-10],另外,NMDA 受体还可通过直接激活蛋白激酶 C 而增加钙离子的浓度^[11]。NMDA 受体拮抗剂

氯胺酮能产生一定的镇痛效果,但作用时间短暂,副作用较大。可乐定可减轻氯胺酮引起的交感兴奋现象,防止长期应用 NMDA 受体拮抗剂引起的神经元损伤^[12]。

为了进一步了解氯胺酮和可乐定对神经病理性疼痛的治疗作用,本实验建立了 CCI 模型,采用连续腹腔注射的给药方式观察药物对大鼠机械痛阈和热痛阈的影响。本研究结果表明 CCI 可明显降低大鼠机械痛阈和热痛阈,腹腔注射氯胺酮或可乐定可显著缓解 CCI 导致的神经病理性疼痛。小剂量氯胺酮单独应用虽有镇痛作用,但是由于其作用时间较短,故不宜单独给药。腹腔联合应用氯胺酮和可乐定的抗伤害作用好于单独应用氯胺酮或可乐定,不仅降低了药物的需要量,而且随用药次数增加,镇痛效果无下降趋势。氯胺酮与可乐定联合应用的镇痛作用机制尚不清楚,两者之间可能发生了协同作用、相加作用或超相加作用。联合用药的镇痛作用可能是氯胺酮加可乐定阻断了由伤害性刺激引起的 EAAAs 对 NMDA 受体的过度兴奋作用,抑制 Ca^{2+} 离子通道开放, Ca^{2+} 内流减少,阻断了过多的上传至脊髓的疼痛信号。Obata 等^[13]报道,只有中枢存在 α_2 受体时,氯胺酮才能发挥镇痛作用,因此两药联用的镇痛作用



可能是通过 α_2 受体和 NMDA 受体之间的相互作用实现的, 可乐定可能通过抑制脊髓某些通路中 EAA 的释放, 对 NMDA 受体过度兴奋作用减弱, 从而抑制疼痛信号的传导, 使得神经病理性疼痛得到缓解。

综上所述, 氯胺酮及可乐定均具有明显的镇痛效应, 联合用药不仅可减少两者的剂量, 又具有良好的镇痛作用, 这为其进一步应用于临床治疗奠定了基础, 也为神经病理性疼痛的治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] Fisher K,Coderre TJ, Hagen NA. Targeting the N-methyl-D-aspartate receptor for chronic pain management: Preclinical animal studies, recent clinical experience and future research directions[J]. J Pain Symptom Manage, 2000, 20 (5): 358—373.
- [2] Hewitt DJ. The use of NMDA-receptor antagonists in the treatment of chronic pain [J]. Clin J Pain, 2000, 16 (2 Suppl): S73—S79.
- [3] Malyskin AA, Medvedev IO, Danysz W, et al. Anti-allodynic interactions between NMDA receptor channel blockers and morphine or clonidine in neuropathic rats [J]. Eur J Pharmacol, 2005, 519 (1-2): 80—85.
- [4] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man[J]. Pain, 1988, 33 (1): 87—107.
- [5] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. J Neurosci Methods, 1994, 53 (1): 55—63.
- [6] Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia[J]. Pain, 1988, 32 (1): 77—88.
- [7] 于翠萍,王琦,何明伟,等. 双氯芬酸钠对大鼠神经病理性疼痛的疗效及机制[J]. 中国康复医学杂志,2009,24(10):872—875.
- [8] Kawamata M, Omote K. Involvement of increased excitatory amino acids and intracellular Ca^{2+} concentration in the spinal dorsal horn in an animal model of neuropathic pain [J]. Pain, 1996, 68(1): 85—96.
- [9] Chaplan SR, Malmberg AB, Yaksh TL. Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1997, 280(2): 829—838.
- [10] Kim YI, Na HS, Yoon YW, et al. NMDA receptors are important for both mechanical and thermal allodynia from peripheral nerve injury in rats[J]. Neuroreport, 1997, 8(9—10): 2149—2153.
- [11] Hua XY, Chen P, Yaksh TL. Inhibition of spinal protein kinase C reduces nerve injury-induced tactile allodynia in neuropathic rats[J]. Neurosci Lett, 1999, 276 (2): 99—102.
- [12] Akbas M, Akbas H, Yegin A, et al. Comparison of the effects of clonidine and ketamine added to ropivacaine on stress hormone levels and the duration of caudal analgesia [J]. Paediatr Anaesth, 2005, 15 (7): 580—585.
- [13] Obata H, Li X, Eisenach JC. Alpha2-adrenoceptor activation by clonidine enhances stimulation-evoked acetylcholine release from spinal cord tissue after nerve ligation in rats [J]. Anesthesiology, 2005, 102 (3): 657—662.

第十四届世界临床疼痛大会暨第一届亚洲疼痛大会 第四届中国临床疼痛学术会议通知

第十四届世界临床疼痛大会暨第一届亚洲疼痛大会和第四届中国临床疼痛学术会议将于2010年10月29日至11月1日在北京国家会议中心隆重召开。

主办单位:世界疼痛医师协会、世界疼痛医师协会中国分会、中华医学会麻醉学分会、中国医师协会麻醉学医师分会、中国医师协会康复学医师分会疼痛专业委员会、中华中医药学会疼痛学分会。

大会语言:国际论坛——英文(配中文字幕)、国内论坛——中文(配英文字幕)。

征文要求:会议面向疼痛科、麻醉科、骨科、康复科、神经内外科、肿瘤科和放射介入科等相关科室医师。内容包括:①疼痛基础研究;②疼痛临床研究;③疼痛微创介入治疗;④急性疼痛及术后镇痛;⑤癌性疼痛及姑息医学;⑥无痛技术(无痛分娩、无痛人流、无痛胃肠镜);⑦疼痛学科建设;⑧疼痛护理;⑨中医药和针灸镇痛;⑩其他与疼痛相关的基础研究。专题报告和综述要求:3000字、并附中英文摘要,论文摘要应包括:①论文题目;②作者姓名;③单位和通讯地址;④E-mail地址;⑤摘要正文(1500字以内)。用电子邮件投稿,投稿截止至2010年9月30日,不论投稿与否,均可报名参加会议。请作者自行分类,并在摘要首页右上角注明,以便审稿、编辑和组织交流。

会议投稿及相关信息请登陆:<http://www.ccwspc.org>

注册方式:①2010年9月1日,为提前注册截止日期;2010年10月29日,为报到和现场注册日期;②将注册表填写后,以电子邮件、邮寄、传真等不同方式传送到组委会,还可以登陆网站进行在线注册(www.ccwspc.org);③注册费包括代表证、论文汇编,如果需要学分请在回执中注明;④往返路费及住宿费用由代表本人工作单位负担。

联系人:马骏:010-83153105,13811031060;纪娜:010-83198161,13810350120;Email:xwpaincenter@gmail.com;传真:010-83153105

组委会联系人:董抒羽:电话:010-59046396;传真:010-59046368;Email:wspc@mediawelcome.com