

消退素 D1 抗三叉神经痛的研究

王玉妹¹, 李欢²

1. 天津生物工程职业技术学院, 天津 300462

2. 齐齐哈尔大学, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

摘要: **目的** 探讨消退素 D1 的抗三叉神经痛作用。**方法** 健康 SD 大鼠按体质量随机分为模型组、消退素 D1 (30、90、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 组和苯妥英钠阳性对照组, 采用脑内注射青霉素 G 钾致大鼠三叉神经痛模型, 考察消退素 D1 抗三叉神经痛作用。健康 SD 大鼠按体质量随机分为假手术组、模型组、消退素 D1 (30、90、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 组和苯妥英钠阳性对照组, 采用慢性压迫性损伤眶下神经致大鼠三叉神经痛模型, 考察消退素 D1 抗三叉神经痛作用。**结果** 消退素 D1 (30、90、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 能够显著延长大鼠出现疼痛反应 (发生尖叫、甩头和后肢抓挠面部) 的潜伏期, 减少大鼠 60 min 内的疼痛反应时间; 能够显著升高慢性压迫性损伤大鼠眶下神经致三叉神经痛模型大鼠的疼痛反应阈值。**结论** 消退素 D1 具有抗三叉神经痛作用。

关键词: 消退素 D1; 三叉神经痛; 青霉素 G 钾; 压迫性损伤; 眶下神经

中图分类号: R964; R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)05-0677-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.05.005

Effect of resolvin D1 against trigeminal neuralgia

WANG Yu-shu¹, LI Huan²

1. Tianjin Biological Engineering Career Technical College, Tianjin 300462, China

2. Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

Abstract: Objective To observe the effect of resolvin D1 on trigeminal neuralgia. **Methods** Healthy SD rats were randomly divided into model group, resolvin D1 (30, 90, and 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) groups, and phenytoin positive control group. Using the model of trigeminal neuralgia in rats induced by the intracerebral injection of penicillin G potassium, the effects of resolvin D1 against trigeminal neuralgia were investigated. Healthy SD rats were randomly divided into Sham operation group, model group, resolvin D1 (30, 90, and 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) groups, and phenytoin positive control group. Using the model of trigeminal neuralgia in rats induced by chronic constriction injury of the infraorbital nerve, the effects of resolvin D1 against the trigeminal neuralgia were investigated. **Results** Resolvin D1 (30, 90, and 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) could significantly prolong the latency of the pain response in rats (the animal screamed, shaked and his hindlimb scratched the face), reduce the pain time of rats within 60 min, and significantly increase the pain threshold induced by chronic constriction injury of the infraorbital nerve. **Conclusion** Resolvin D1 has the function against trigeminal neuralgia.

Key words: resolvin D1; trigeminal neuralgia; penicillin G potassium; compression injury; infraorbital nerve

消退素 D1 的化学名为 7S,8R,17S,-三羟基-4Z,9E,11E,13Z,15E,19Z-二十二碳六烯酸。已有文献报道,消退素 D1 可通过抑制人白三烯 B4 诱导的中性粒细胞肌动蛋白聚集和黏附因子表达而限制中性粒细胞的黏附和浸润;还可显著促进人巨噬细胞对凋亡中性粒细胞的吞噬,在促进巨噬细胞吞噬凋亡中性粒细胞的同时还下调巨噬细胞中的促炎因子

IFN- γ 、IL-6 的表达,增强了对炎症的限制效应;消退素 D1 具有减轻炎症性疼痛的效应,可以降低角叉菜胶诱发的疼痛和炎症,降低其诱发的热痛觉过敏,但不改变基本的痛觉阈,是一种新型促炎症消退介质^[1]。本实验采用脑内注射青霉素 G 钾致大鼠三叉神经痛模型和慢性压迫性损伤眶下神经致大鼠三叉神经痛模型,考察消退素 D1 抗三叉神经痛作

收稿日期: 2013-04-29

作者简介: 王玉妹 (1981—), 女, 天津宝坻人, 讲师, 硕士, 研究方向为药理学、药剂学。Tel: (022) 66339105 E-mail: wys522@163.com

*通信作者 李欢 (1980—), 女, 黑龙江省齐齐哈尔市人, 博士在读, 研究方向为天然药物药理研究。E-mail: sophie.lee.lh@hotmail.com

用, 为其应用于临床提供实验依据。

1 仪器与材料

微量进样器 (上海佳安分析仪器厂); YZ20—T6 同光路手术显微镜 (苏州医疗器械总厂); Von Frey Filament 感觉测试器 (Stoelting Wood Dale, IL 公司); 显微外科器械 (上海医用器械设备厂); 5~0 可吸收铬肠线 (美国强生公司)。

消退素 D1 (购自 Cayman 公司, 规格: 50 μg , 质量分数 $\geq 95\%$); 注射用苯妥英钠 (上海科鉴生物科技有限公司, 批号 100210-201002); 5%葡萄糖注射液 (石家庄四药有限公司, 批号 100805401); 青霉素 G 钾对照品 (中国食品药品检定研究院, 分析纯); 戊巴比妥钠 (Solarbio 公司, 批号 412A031); 硫化钠 (湖南长沙坪塘化学试剂厂, 批号 951226); 碘伏 (上海利康消毒高科技股份有限公司, 批号 20060601); 乙醚 (广州化学试剂厂, 批号 20071024)。

SD 大鼠 (200~220 g, 雄性), 清洁级, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号 SCXK (京) 2006-0009。

2 方法

2.1 对青霉素 G 钾致三叉神经痛模型大鼠的影响

2.1.1 动物分组 采用健康 SD 大鼠 50 只, 雄性, 体质量 200~220 g, 按体质量随机分为 5 组, 即模型组 (同体积 5%葡萄糖注射液), 消退素 D1 低、中、高剂量 (30、90、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 组, 阳性对照苯妥英钠 (30 mg/kg) 组, 每组 10 只。给药组药物临用前均用 5%葡萄糖注射液稀释。各组大鼠每日尾 iv 给药 1 次, 连续给药 7 d。

2.1.2 模型建立标准 参照曲晓璐等^[2]的方法建立大鼠三叉神经痛模型。大鼠发生尖叫、甩头、左后肢快速抓同侧面部, 可以发生其中 1 项、2 项或 3 项同时发生, 30 min 内累计次数达 10 次为模型建立。从给药完毕到出现第 1 次反应的时间为潜伏期; 尖叫、甩头、左后肢抓同侧面部等反应发作的次数之和为总发作次数, 2 项、3 项同时出现或连续发作, 均记为 1 次; 自发反应持续时间以第 1 次出现反应为开始, 连续 3 min 无反应为终止, 自发反应终止后, 以玻璃棒轻触左侧面部, 引出上述反应者为诱发反应阳性, 维持时间为诱发反应阳性时间。

2.1.3 实验操作 末次给药后 60 min, 大鼠用乙醚浅麻醉, 腹位固定, 切开头颈部皮肤, 分离肌肉, 暴露枕骨及第一颈椎间的硬脑膜, 用微量进样器取

新鲜配制的青霉素 G 钾 3 μL (剂量为 3 000 U/kg), 在第一颈椎棘突左上方约 1 mm 处进针, 待有落空感即将青霉素 G 钾缓慢推入, 缝合创口, 置笼内观察。对潜伏期、自发反应总发作次数、自发反应持续时间、诱发反应阳性时间、反应程度进行观察记录。

2.2 对慢性压迫性损伤大鼠眶下神经致三叉神经痛模型大鼠的影响

2.2.1 动物分组 选择健康成年雄性 SD 大鼠 36 只, 体质量 200~220 g。将 36 只大鼠按体质量随机分为 6 组: 假手术组 (同体积 5%葡萄糖注射液), 模型组 (同体积 5%葡萄糖注射液), 消退素 D1 低、中、高剂量 (30、90、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 组和阳性对照苯妥英钠 (30 mg/kg) 组, 每组 6 只。给药组药物临用前均用 5%葡萄糖注射液稀释。

2.2.2 实验操作 参考张亮^[3]所提供的方法建立类似人类的原发性三叉神经痛大鼠模型。假手术组只暴露不结扎, 模型组和各给药组大鼠均行眶内结扎大鼠眶下神经。大鼠 ip 2%戊巴比妥钠进行麻醉, 给药剂量为 40 mg/kg 。将大鼠置于俯卧位, 用 6%硫化钠溶液头顶脱毛后, 用 3%碘伏消毒, 铺上无菌巾。在同光路手术显微镜视野下实施手术。头顶部中线直切, 依次暴露额骨、鼻骨和眼眶, 对眼眶周围进行仔细剥离, 将眶内容物用棉签轻轻拨开, 即可见到位于眶底部内侧的眶下神经, 粗约 1.5 mm。在眶内从近端仔细分离眶下神经直至远端的眶下孔, 用两根铬肠线力度适中地结扎在眶下神经上, 间距约 2 mm, 压迫力度的标准: 在不阻断神经外膜的血液循环的前提下, 在显微镜下可见结扎线使神经的直径略微变细。切口用铬肠线缝合。假手术组大鼠采用同样方法暴露眶下神经, 但不结扎^[4]。各组大鼠于手术后第 1 天给药, 每日尾 iv 给药 1 次, 连续给药 42 d。

2.2.3 行为测试 将各组大鼠分别于手术前 1 d, 术后 14、28、42 d 进行机械刺激反应阈值测试。机械刺激反应阈值用感觉测试器来测定, 刺激部位为眶下神经在面部感觉支配的区域围绕鼻区中央的触须部位及周围有毛的皮肤。手持刺激棒缓慢接近大鼠, 先在手术的对侧刺激 3 下, 刺激的力度为细丝弯曲, 再在手术侧刺激 3 下, 每一强度的细丝共刺激 6 次。细丝的强度由低到高依次递增, 重复上述操作, 观察动物的反应。动物的阳性反应包括: (1) 躲避行为。大鼠受到刺激即出现快速后退, 为避免面部进

一步被刺激而倦缩身子靠拢到笼壁，或将其头面部埋于身下，以躲避刺激物。(2) 攻击行为。大鼠也可表现出快速地抓取刺激物，做出攻击动作。(3) 非对称性的面部搔抓。大鼠搔抓面部刺激区域连续 3 次以上，通常伴随有后退动作。若出现以上 3 种反应中的任意 1 种或 1 种以上，即认为是刺激实验阳性，使大鼠产生阳性反应的细丝强度的最小值即为疼痛反应阈值。观察各组大鼠手术前后对于不同强度的细丝刺激产生痛觉反应阈值的变化，与假手术组比较，进行统计学分析。

2.3 统计分析

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间数据比较采用组间 *t* 检验。

3 结果

3.1 对青霉素 G 钾致三叉神经痛模型大鼠的影响

与模型组比较，消退素 D1 低、中、高剂量均能够显著延长大鼠出现疼痛反应（发生尖叫、甩头和后肢抓挠面部）的潜伏期，减少大鼠 60 min 内发生尖叫、甩头和后肢抓挠面部的疼痛时间 ($P < 0.05$)，见表 1。

表 1 消退素 D1 对青霉素 G 钾致三叉神经痛模型大鼠的影响

Table 1 Effect of resolvin D1 on trigeminal neuralgia in rats induced by penicillin G potassium

组别	剂量	潜伏期/min	总发作次数/次	自发反应持续时间/min	诱发反应阳性时间/min
模型		2.12 ± 2.73	450 ± 214	79.28 ± 19.37	22.36 ± 16.85
消退素D1	30 μg·kg ⁻¹	3.46 ± 1.67*	339 ± 125*	68.16 ± 18.68*	17.58 ± 6.38*
	90 μg·kg ⁻¹	4.52 ± 2.58**	205 ± 93**	32.83 ± 12.34**	5.82 ± 4.66**
	270 μg·kg ⁻¹	6.37 ± 3.64**	169 ± 102**	27.66 ± 10.85**	5.47 ± 3.78**
苯妥英钠	30 mg·kg ⁻¹	4.76 ± 3.21**	238 ± 121**	35.47 ± 14.78**	7.68 ± 5.24**

与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

3.2 对慢性压迫性损伤大鼠眶下神经致三叉神经痛模型大鼠的影响

与假手术组比较，模型组大鼠在手术后 14、28、42 d，疼痛反应阈值显著降低，提示造模成

功。与模型组比较，消退素 D1 低、中、高剂量均能够显著升高慢性压迫性损伤大鼠眶下神经致三叉神经痛模型大鼠的疼痛反应阈值 ($P < 0.01$)，见表 2。

表 2 消退素 D1 对慢性压迫性损伤大鼠眶下神经致三叉神经痛模型大鼠的影响

Table 2 Effect of resolvin D1 on trigeminal neuralgia in rats induced by chronic constriction injury of infraorbital nerve

组别	剂量	疼痛反应阈值/g			
		手术前	术后14 d	术后28 d	术后42 d
假手术	—	13.85 ± 0.62	13.75 ± 0.62	13.82 ± 0.59	13.80 ± 0.65
模型	—	13.78 ± 0.54	1.05 ± 0.44 ^{△△}	1.18 ± 0.52 ^{△△}	1.02 ± 0.36 ^{△△}
消退素D1	30 μg·kg ⁻¹	13.93 ± 0.44	1.43 ± 1.68	8.63 ± 1.73**	10.43 ± 1.84**
	90 μg·kg ⁻¹	14.02 ± 0.64	9.02 ± 1.24**	12.14 ± 2.43**	13.68 ± 2.64**
	270 μg·kg ⁻¹	13.86 ± 0.65	12.86 ± 2.35**	13.42 ± 2.49**	13.86 ± 2.56**
苯妥英钠	30 mg·kg ⁻¹	14.05 ± 0.78	10.05 ± 2.78**	12.05 ± 3.58**	13.85 ± 1.75**

与假手术组比较：^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较：** $P < 0.01$

^{△△} $P < 0.01$ vs Sham group; ** $P < 0.01$ vs model group

4 讨论

目前国内建立三叉神经痛的动物模型常见有 3 种方法，第一种方法：脑下蛛网膜下腔注射微量青霉素 G 钾诱发大鼠三叉神经痛；第二种方法：猫去牙髓模型；第三种方法：慢性压迫性损伤大鼠眶

下神经模型。本实验选用了第一、三种方法制造三叉神经痛大鼠模型。

第一种方法利用化学物质青霉素 G 钾刺激建立三叉神经痛大鼠模型，目前认为第一颈椎棘突左上方约 1 mm 处是头部痛（温）觉低级中枢所在，青

霉素是传统致癫剂, 通过在此区域注射, 可使脑中抑制性神经递质 γ -氨基丁酸 (GABA) 含量改变, 导致 GABA 介导的突触抑制减弱, 使脑的兴奋和抑制过程失衡而致痛^[5]。第二种方法压迫性损伤神经制造三叉神经痛大鼠模型, 目前大多数国内外学者已认为三叉神经根的脱髓鞘改变是三叉神经痛的病理基础。髓鞘的完整性起到绝缘作用, 脱髓鞘使轴突裸露, 传入传出纤维间产生短路, 这种短路冲动累积到一定总和即发生阵发性剧痛^[6]。

实验结果证实, 消退素 D1 对青霉素 G 钾致三叉神经痛模型大鼠具有显著保护作用, 对慢性压迫性损伤大鼠眶下神经致三叉神经痛模型大鼠具有显著性保护作用。而后一种方法与普遍公认的三叉神经痛的发病机制——血管压迫学说类似, 从而模拟了人类疾病。消退素 D1 对三叉神经痛模型大鼠的保护作用为其应用于临床提供了依据。

有文献报道, 消退素 D1 可抑制炎症反应中的白细胞浸润^[7], 促进凋亡细胞清除^[1,8], 减轻炎性疼痛反应^[9-10], 新型促炎症消退介质消退素 D1 对三叉神经痛的保护作用机制尚待进一步研究证实。

参考文献

[1] 袁红梅, 万敬员, 张 力. 促炎症消退新介质: 消退素与保护素 [J]. 生命科学, 2012, 24(1): 54-57.

- [2] 曲晓璐, 田 园, 王湘林, 等. 三叉宁对大鼠三叉神经痛的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 1995, 15(5): 291-292.
- [3] 张 亮, 游 洋, 苗宏生. 大鼠三叉神经痛模型的建立 [J]. 东南大学学报: 医学版, 2007, 26(5): 349-352.
- [4] Vos B P, Strassman A M, Maciewicz R J. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve [J]. *J Neurosci*, 1994, 14(5 Pt 1): 2708-2723.
- [5] 李 丽, 李家伟, 张引成. 大鼠三叉神经痛样反应模型的改进研究 [J]. 延安大学学报: 医学科学版, 2007, 5(2): 1-2.
- [6] 王忠诚. 神经外科学 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1999: 851-857.
- [7] Krishnamoorthy S, Recchiuti A, Chiang N, *et al.* Resolvin D1 binds human phagocytes with evidence for proresolving receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4): 1660-1665.
- [8] 张 力. 促炎症消退介质脂氧素与炎症性疾病 [J]. 生命的化学, 2008, 28(6): 752-754.
- [9] Xu Z Z, Zhang L, Liu T, *et al.* Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions [J]. *Nat Med*, 2010, 16(5): 592-597.
- [10] Huang L, Wang C F, Serhan C N, *et al.* Enduring prevention and transient reduction of postoperative pain by intrathecal resolvin D1 [J]. *Pain*, 2011, 152(3): 557-565.