

辣椒辣素对大鼠急性切割痛的作用

刘丽娜 董英伟[△] 陈荣权 闫全章 张宁宁

(哈尔滨医科大学附属第一医院麻醉科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:研究辣椒辣素对足底切开大鼠疼痛相关行为的影响。方法:32只Wister雄性大鼠随机分为四组:生理盐水组、0.05%辣椒辣素组(C0.05)、0.1%辣椒辣素组(C0.1)、赋形剂组(吐温80),各200微升。切开前一天足底给药,分别测定给药前的基础值,给药后24小时、术后2小时及1、2、3天对热刺激的反应,并记录累积疼痛得分,术后三天进行组织病理学评估。结果:预先给予的辣椒辣素能够减弱热痛觉过敏和降低累积疼痛得分。组织病理学检查证实:与生理盐水比较辣椒辣素影响切口的恢复。结论:辣椒辣素预处理具有预防术后痛的作用。对切口组织学的影响可能与药物抑制疼痛行为有关,而不一定是药物的局部作用。

关键词 辣椒辣素;足底切口;术后疼痛

中图分类号:Q95-33 R441.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)27-5244-04

The Effect of Capsaicin on Acute Cutting Pain in Rats

LIU Li-na, DONG Ying-wei[△], CHEN Rong-quan, YAN Quan-zhang, ZHANG Ning-ning

(Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of capsaicin on pain-related behavior after plantar incision in rats. **Methods:** 32 Wister male rats were randomly divided into four groups: the saline group, 0.05% capsaicin (C0.05) group, 0.1% capsaicin (C0.1) group, excipient (Tween 80) group, 200 μ L respectively. Administered the day before the plantar incision, determined the response to thermal stimulation at before administration and 24 hours after administration, postoperative 2 h and 1, 2, 3 days, respectively. Recorded the cumulative pain score and evaluated histopathology after three days. **Results:** Capsaicin pre-given can reduce thermal hyperalgesia and reduced the cumulative pain score. Histopathological examination confirmed that Capsaicin affect the recovery of the incision compared with saline. **Conclusion:** Capsaicin had postoperative analgesia after plantar incision, the effect on histological was likely related to its inhibitory effects on pain behaviors and was not necessarily a local effect of the drug.

Key words: Capsaicin; Plantar incision; Post-operative pain

Chinese Library Classification(CLC): Q95-33, R441.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)27-5244-04

前言

辣椒辣素(capsaicin)可用于治疗各种慢性疼痛,如带状疱疹后遗神经痛^[1,2],也能够降低角叉菜胶或弗氏完全佐剂致炎大鼠的炎性疼痛^[3],但是在术后急性疼痛方面的研究较少。神经病理性痛或是炎性痛的疼痛机制和疼痛过程不同于这种术后急性疼痛,Brennan等建立了一种新的切口痛模型来模拟病人术后疼痛状态^[4]。本实验在此基础上探讨辣椒辣素对大鼠切口急性痛的作用,及其对伤口愈合的影响。

1 材料与方法

1.1 切口痛模型的制备

健康的Wistar雄性大鼠32只,体重180-220g,由哈尔滨医科大学第一临床医学院实验动物中心提供。腹腔注射10%水合氯醛3ml/kg,将大鼠仰卧位后碘伏消毒右后爪,然后按Bren-

nan法^[4]从足底向趾部作1.0cm长度的切口,切口深度至肌肉层,但不损伤肌肉两头的附着点。4-0缝线缝合切口。再以碘伏消毒伤口并涂抹红霉素,腹腔注射头孢匹胺钠0.05g,完成切口痛模型的制备。

1.2 动物分组

将符合要求的大鼠32只随机分为4组,每组8只,采用双盲的方法在足底注射生理盐水、0.05%辣椒辣素、0.1%辣椒辣素、赋形剂(吐温80、无水酒精和生理盐水按1:1:8配制),分别在给药前、给药后及术后2h、1、2、3d测定热痛阈,累积疼痛得分。

1.3 痛阈测定和观察项目

1.3.1 热痛阈 采用46℃水浴锅测定热痛阈,记录从浸入到缩足离开的时间,测定3次,每次间隔十分钟^[5-7]。为防止烫伤,最长时<15s。

1.3.2 累积疼痛得分 采用此方法评定疼痛强度,将大鼠置于带有网眼的塑料板上,上面罩一个透明的盒子。在术后2h、1、2、3d观察大鼠后爪着地及负重情况,每个时间点观察一个小时,一次1min,以1min内最常采取的姿势为标准,间隔5min,共十二次,记录总分为0-24分^[8-10]。(得分的标准:2分是后爪不着地不负重;1分是后爪着地但不负重;0分是后爪着地负重被压迫发白)。

作者简介 刘丽娜(1985-),女,硕士研究生,主要研究方向:辣椒辣素镇痛机制及临床应用, E-mail: liulinadream@126.com, Tel: 15246776399

△通讯作者 董英伟,电话: 13946199308,

E-mail: dongyingwei666@163.com

(收稿日期: 2012-03-21 接受日期: 2012-04-16)

1.3.3 组织学检查 三天后取各组实验动物的脚底组织进行组织病理学评估 ,福尔马林液固定组织 ,切片 ,HE 染色 ,评价玻片的外观 ,及进行组织学分级(0= 没有坏死 ,1= 轻微表皮坏死和炎症 ,2= 中等的表皮坏死和炎症 ,3= 严重的表皮坏死和炎症)^[8,11]。

1.4 统计学方法

计量资料以均数± 标准差表示 ,组间比较采用单因素方差分析和组内比较采用配对 t 检验 ,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 四组大鼠的热缩足潜伏期阈值的比较

四组大鼠基础值差别无统计学意义(P>0.05),各组组长给药后与给药前相比差别无统计学意义(P>0.05)。在手术后的各个时间点 C0.05 组 ,C0.1 组的缩足潜伏阈值高于赋形剂组

(P<0.05),也高于同时时间点的生理盐水组(P<0.05)。生理盐水组和赋形剂组相比差别无统计学意义(P>0.05) ,(见表 1)。

2.2 四组大鼠的累积疼痛得分的比较

四组大鼠给药前基础值和给药后的值差别无统计学意义(P>0.05)。在手术后的各个时间点 C0.05 组和 C0.1 组的累积疼痛得分低于赋形剂组(P<0.05) ,也低于生理盐水组(P<0.05)。生理盐水和赋形剂组比较无统计学意义(P>0.05) ,(见表 2)。

2.3 四组大鼠的脚底组织的病理组织学结果

两辣椒辣素组组织学分级为 2 级(见图 1;图 2)有细胞的空泡变 ,局灶性的出血坏死灶 ,肉芽组织形成 ,大量的炎性细胞浸润。赋形剂组组织学分级为 2 级(见图 3)有细胞的空泡变 ,有出血坏死灶 ,及大量炎性细胞浸润。生理盐水组组织学分级为 0 级(见图 4)无出血坏死可见上皮向真皮层生长 ,间质内弥漫性的炎细胞浸润。

表 1 不同时间点四组大鼠的热缩足潜伏期数据(s)($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 1 The data of thermal withdrawal latency of the four groups of rats at different time(s) ($\bar{x} \pm s$, n=8)

Group	Base value	Administratin 24h	Postoperative 2h	1Day after surgery	2Day after surgery	3Day after surgery
C0.05 group	12.43± 2.92	10.05± 1.77	8.40± 2.37 ^{ab}	9.42± 2.83 ^{ab}	6.61± 0.31 ^{ab}	7.44± 1.43 ^{ab}
C0.1 group	12.36± 2.87	12.33± 2.25	9.64± 2.16 ^{ab}	10.06± 2.45 ^{ab}	9.72± 2.31 ^{ab}	10.47± 2.12 ^{ab}
Excipient group	12.31± 2.87	11.66± 2.91	5.45± 0.70	5.67± 1.82	5.35± 0.63	6.08± 0.69
Saline group	12.23± 2.26	10.44± 2.64	5.01± 0.55	5.11± 1.01	5.31± 0.88	5.36± 0.87

Note: ^ap <0.05 The capsaicin group compared with the excipient group; ^bp <0.05 capsaicin prime group compared with the saline group.

表 2 不同时间点各组大鼠累积疼痛得分($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 2 The accumulated pain score of rats at different time ($\bar{x} \pm s$, n=8)

Group	Base value	Administratin 24h	Postoperative 2h	1Day after surgery	2Day after surgery	3Day after surgery
C0.05group	0.00± 0.00	0.63± 0.74	7.00± 1.85 ^{ab}	5.13± 0.99 ^{ab}	4.25± 1.04 ^{ab}	1.75± 0.89 ^{ab}
C0.1 group	0.00± 0.00	0.75± 0.71	4.50± 1.41 ^{ab}	4.00± 0.76 ^{ab}	4.50± 0.93 ^{ab}	1.25± 0.71 ^{ab}
Excipient group	0.00± 0.00	0.00± 0.00	19.50± 3.34	15.50± 2.07	7.75± 2.19	4.13± 1.46
Saline group	0.00± 0.00	0.00± 0.00	19.63± 2.67	15.50± 1.60	8.12± 2.10	3.75± 1.49

Note: ^ap <0.05 The two capsaicin compared with the excipient group; ^bp<0.05 two capsaicin group compared with the saline group.

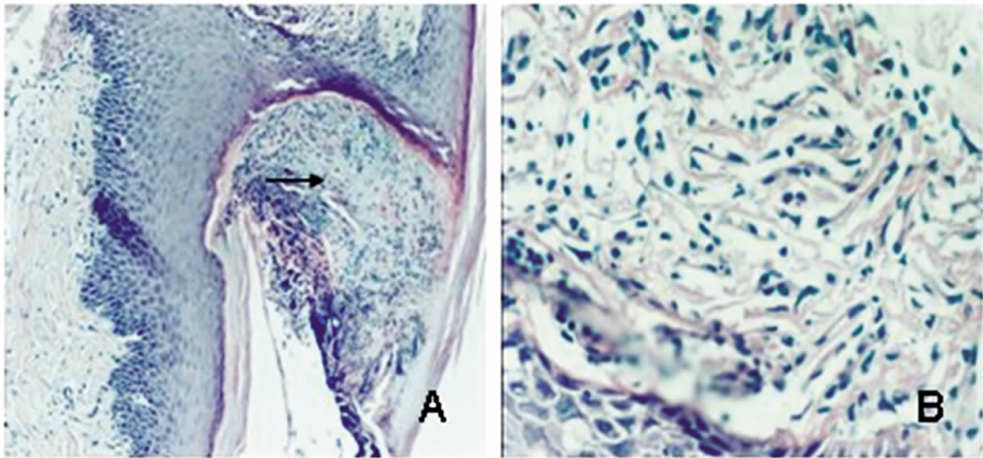


图 1 C0.1 组上皮角化层有局灶性的坏死灶 ,基底细胞缺损变性坏死 ,间质较多的炎性细胞浸润 ,肉芽组织形成 :A :10 倍 B :40 倍

Fig.1 C0.1 Groups of epithelial keratosis layer focal necrosis ,basal cell defect degeneration and necrosis ,more interstitial inflammatory cell infiltration ,granulation tissue formation:A:10× ;B:40×

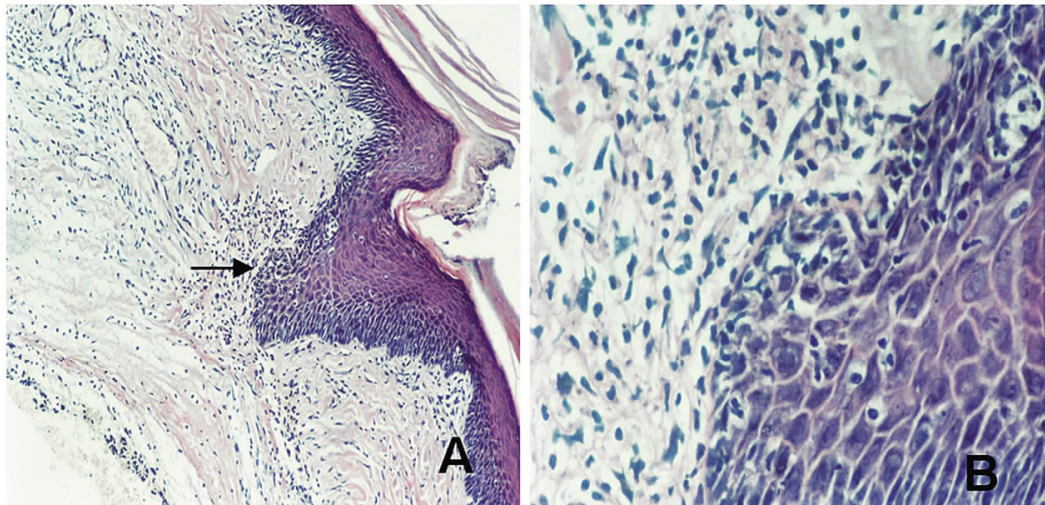


图 2 C0.05 组上皮变薄 4 棘细胞层细胞减少 基底细胞增生 局灶状的基底细胞缺如 炎细胞浸润 真皮层炎细胞浸润 有肉芽组织形成 有局灶状出血 A:10 倍;B:40 倍

Fig.2 C0.05 epithelial thinning of the prickle cell layer cells decreased, basal cell hyperplasia, focal basal cell-like absence of inflammatory cell infiltration, infiltration of the dermis layer of inflammatory cells, granulation tissue formation,The focal-like bleeding. A:10× ;B:40×

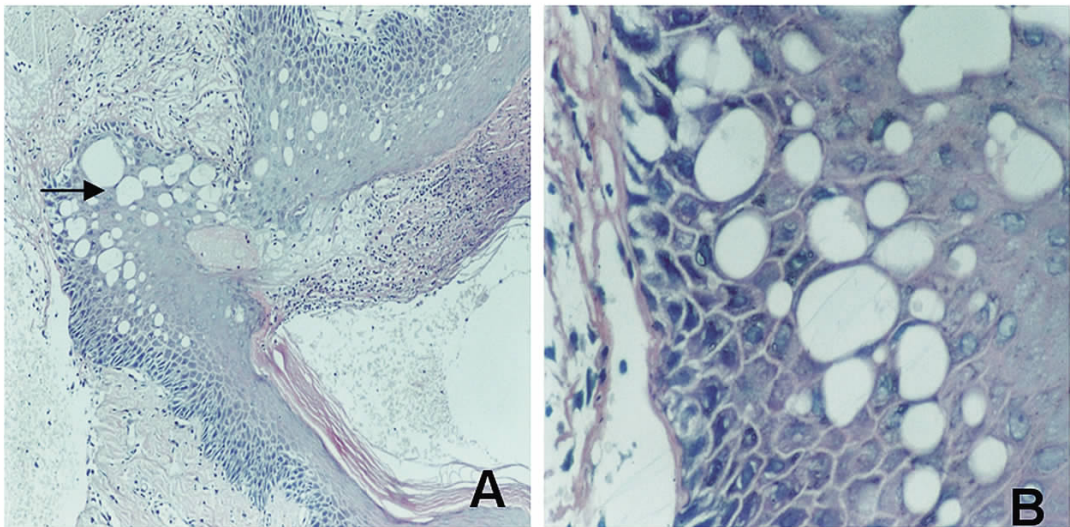


图 3 赋形剂组上皮凹陷部位有坏死成分。相对应的棘细胞空泡变 基底细胞层缺损 真皮层间质炎细胞浸润 A:10 倍;B:40 倍

Fig. 3 Excipient group epithelial have necrosis ingredients. Corresponding to the prickle cell vacuolation, basal cell layer defect, interstitial inflammation cell nfiltration in the dermis layer. :A:10× ;B:40×

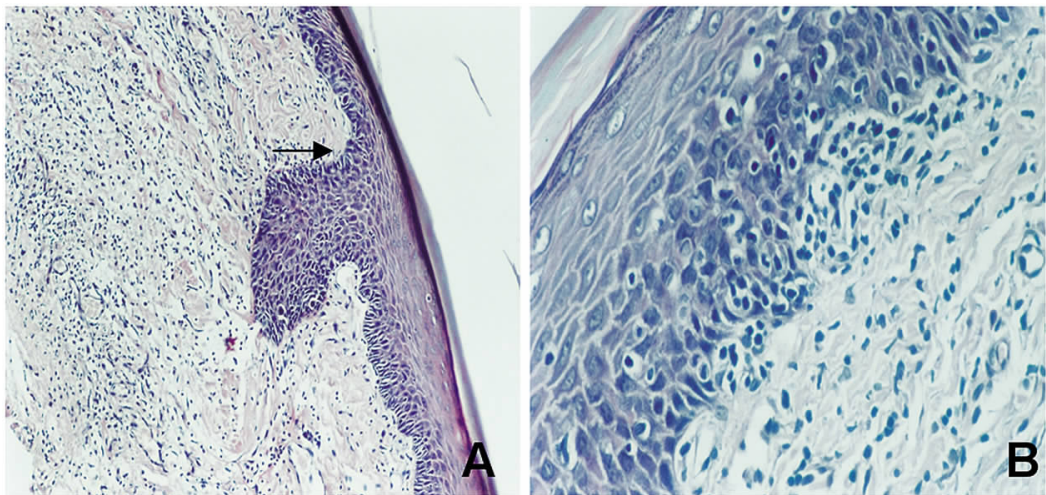


图 4 生理盐水组 局灶性上皮有舌状向真皮层生长 真皮间质弥漫性炎细胞浸润。A :10 倍 B :40 倍

Fig.4 Saline group focal epithelial tongue to the growth of the dermal layer, dermal interstitial diffuse inflammation cell infiltration. :A:10× ;B:40×

3 讨论

实验结果显示经辣椒辣素预处理后可以阻断切口引起的热痛觉过敏和降低累积疼痛得分。实验组和生理盐水组的伤口组织修复结果不同。这可能是因为辣椒辣素阻断了疼痛感觉的传导,从而动物感觉不到疼痛而持续用爪子承载重量有关,同时赋形剂组的病理组织学结果和辣椒辣素组类似,所以这种伤口的不良反应是不是由赋形剂引起的,还需要进一步研究。

本实验研究的是辣椒辣素作超前镇痛药,而之前的研究是在啮齿类和人类身上观察它引起的痛觉过敏的行为^[12]。发现高浓度的辣椒辣素可以阻断机械刺激长达 22 小时,在大鼠,0.1%和 0.3%的浓度可以阻断热刺激和机械刺激长达 4 小时^[13-15]。Pospisilova 等人单次给予高浓度辣椒素(1.5%)作超前镇痛,能减弱对热和机械刺激的反应,但是没有观察高浓度的辣椒辣素对伤口愈合有影响,它可能影响的是非 TRPV1 疼痛感受器的表达或者是非神经结构^[16]。而本实验用 0.05%和 0.1%的低浓度的辣椒辣素,此浓度远低于在啮齿类和人类身上引起痛觉过敏的浓度,同时对伤口愈合进行了观察。也有研究,坐骨神经和隐神经周注射树胶脂毒素,观察热痛觉过敏,机械痛觉过敏,负重及承受压力等研究,也得出相同的结果^[17]。因树胶脂毒素为辣椒辣素的类似物。

有人研究 P 物质和降钙基因相关肽可以促进伤口愈合,而辣椒辣素能使神经肽耗竭,那么辣椒辣素会不会因为神经递质的耗竭而改变伤口愈合^[18]。其中一些研究显示有不良的伤口愈合^[19],而另有一些研究否定了该观点^[20]。于是本实验对伤口外观及愈合情况进行了评估,认为大鼠是没有护卫手术侧肢体而持续负重引起的,因此,在足底切开模型,因为辣椒辣素的镇痛作用抑制了护卫行为,对伤口愈合的评估显得很混乱。

近年有人报道在男性腹股沟疝修补术时,术中在刀口单次滴注辣椒辣素后,在术后三天的累积疼痛得分明显的低于对照组,无显著的包括伤口愈合在内的不良事件发生^[21]。这种人体研究显示辣椒辣素对大鼠切口模型伤口愈合的影响还是因为它的镇痛作用导致的护卫行为的减少引起的。

4 结论

辣椒辣素预处理后,进行足底切开,可以阻断热痛觉过敏和降低累积疼痛得分,即辣椒辣素预处理具有预防术后痛的作用并能持续到术后三天。并且认为辣椒辣素对伤口愈合的影响是它的疼痛阻断作用减少了大鼠的护卫行为引起,也不能排除是赋形剂的副作用。

参 考 文 献(References)

[1] 阎雪梅. 辣椒素研究概况[J]. 国外医药植物药分册, 1997, 12 (2): 61-64
Yan Xue-mei. Capsaicin profile[J]. Volumes of foreign pharmaceutical herbal, 1997, 12(2): 61-64

[2] 李春霖. 痛性糖尿病神经病变的辣椒辣素治疗[J]. 国外医学内分泌学分册 1995, 15 (1): 28-30
Li Chun-lin. Painful diabetic neuropathy, capsaicin treatment [J]. Foreign Medical Endocrinology and Metabolism, 1995, 15 (1): 28-30

[3] Menendez L, Lastra A, Hidalgo A, et al. The analgesic effect induced by capsaicin is enhanced in inflammatory states [J]. Life Sciences, 2004, 74: 3235-3244

[4] Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain[J]. Pain, 1996, 64: 493-501

[5] Holden Ko MC, Tuchman JE, Johnson MD, et al. Local administration of mu or kappa opioid agonists attenuates capsaicin-induced thermal hyperalgesia via peripheral opioid receptors in rats[J]. Psychopharmacology, 2000, 148(2): 180-185

[6] Ko MC, Butelman ER, Woods JH. Activation of peripheral kappa opioid receptors inhibits capsaicin-induced thermal nociception in rhesus monkeys[J]. J Pharmacol Exp Ther 1999, 289: 378-385

[7] Zahn PK, Brennan TJ. Primary and secondary hyperalgesia in a rat model for human postoperative pain[J]. Anesthesiology, 1999, 90: 863-872

[8] Xu J, Brennan TJ. Guarding Pain and Spontaneous Activity of Nociceptors after Skin versus Skin Plus Deep Tissue Incision [J]. Anesthesiology, 2010, 112(1): 153-164

[9] Xu J, Brennan TJ. Comparison of skin incision versus skin plus deep tissue incision on ongoing pain and spontaneous activity in dorsal horn neurons[J]. Pain, 2009, 144(3): 329-339

[10] Zahn PK, Gysbers D, Brennan TJ. Effect of systemic and intrathecal morphine in a rat model of postoperative pain [J]. Anesthesiology, 1999, 90: 1066-1077

[11] Hamalainen MM, Subieta A, Arpey C, et al. Differential effect of capsaicin treatment on pain related behaviors after plantar incision [J]. J Pain, 2009, 10: 637-645

[12] Gilchrist HD, Allard BL, Simone DA. Enhanced withdrawal responses to heat and mechanical stimuli following intraplantar injection of capsaicin in rats[J]. Pain, 1996, 67: 179-188

[13] LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, et al. Neurogenic hyperalgesia: Psychophysical studies of underlying mechanisms[J]. Neurophysiol, 1991, 66: 190-211

[14] Simone DA, Baumann TK, LaMotte RH. Dose-dependent pain and mechanical hyperalgesia in humans after intradermal injection of capsaicin[J]. Pain, 1989, 38: 99-107

[15] Simone DA, Ngeow JY, Putterman GJ, et al. Hyperalgesia to heat after intradermal injection of capsaicin [J]. Brain Res, 1987, 418: 201-203

[16] Pospisilova E, Palecek J. Post-operative pain behavior in rats is reduced after single high concentration capsaicin application[J]. Pain, 2006, 125: 233-243

[17] Kissin I, Davison N, Bradley EL Jr. Perineural resiniferatoxin prevents hyperalgesia in a rat model of postoperative pain[J]. Anesth Analg, 2005, 100: 774-780

[18] Brain SD. Sensory neuropeptides: Their role in inflammation and wound healing[J]. Immunopharmacology, 1997, 37: 133-152

[19] Khalil Z, Helme R. Sensory peptides as neuromodulators of wound healing in aged rats [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 1996, 51: B354-361

[20] Wallengren J, Chen D, Sundler F. Neuropeptide-containing c-fibres and wound healing in rat skin. Neither capsaicin nor peripheral neurotomy affect the rate of healing[J]. Br J Dermatol, 1999, 140: 400-408

[21] Aasvang EK, Hansen JB, Malmstrom J, et al. The effect of wound instillation of a novel purified capsaicin formulation on postherniotomy pain: A double-blind, randomized, placebo-controlled study[J]. Anesth Analg, 2008, 107: 282-291