

these inhibitor and a CXC chemokine receptor - 4 antagonist on tumor growth and metastasis in a xenotransplanted mouse model of adenoid cystic carcinoma of the oral floor [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(3):737 - 745

8 Cunningham HD, Shannon LA, Calloway PA, *et al.* Expression of the C - C chemokine receptor 7 mediates metastasis of breast cancer to the lymph nodes in mice [J]. *Transl Oncol*, 2010, 3(6):354 - 361

9 Zheng J, Yang M, Shao J, *et al.* Chemokine receptor CX3CR1 con-

tributes to macrophage survival in tumor metastasis [J]. *Mol Cancer*, 2013, 12(1):141

10 Sharma B, Nawandar DM, Nannuru KC, *et al.* Targeting CXCR2 enhances chemotherapeutic response, inhibits mammary tumor growth, angiogenesis, and lung metastasis [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(5):799 - 808

(收稿日期:2014 - 04 - 22)

(修回日期:2014 - 04 - 25)

# SD 大鼠三叉神经痛样模型的建立与痛阈测定

秦泗佳 王 福

**摘要** 目的 建立原发性三叉神经痛样的 SD 大鼠动物模型,研究其对机械刺激的行为反应和疼痛阈值变化。方法 选取雄性 SD 大鼠 30 只,随机分为手术组、假手术组和空白对照组。手术组经口内切口行右侧三叉神经的眶下神经(ION)结扎术;假手术组只分离暴露右侧眶下神经不予以结扎;空白对照组未接受手术干预。记录大鼠术前及术后 1 ~ 12 周的行为反应和疼痛阈值。**结果** 手术组于术后 2 周出现痛觉超敏反应,一直持续到术后 6 周才逐渐恢复,术后 10 ~ 12 周左右才恢复到术前水平。**结论** 大鼠眶下神经的慢性压迫性损伤(CCI - ION)可建立三叉神经痛样的动物模型,该法具有操作简单、存活率高等特点。

**关键词** 三叉神经痛 动物模型 疼痛阈值

[中图分类号] R74 [文献标识码] A

**Changes of Pain Threshold in a SD Rat Model of Trigeminal Neuralgia.** Qin Sijia, Wang Fu. Department of Anatomy, College of Stomatology, Shaanxi Medical University, Shaanxi 710021, China

**Abstract Objective** To study the changes of the pain - related behaviours and pain threshold in Sprague Dauley rat model of trigeminal neuralgia - like. **Methods** Thirty male SD rats were randomly divided into 3 groups (operative groups, sham - operative groups and control groups). In the operative group, a chronic constriction injury (CCI) was produced by placing loose chronic gut ligatures around the right infraorbital nerve (ION). In the sham - operative group, the right infraorbital nerve was only exposed using the same procedure without ligation. The control group was not subject to any treatment. The behavioral reactions and the pain threshold of the 3 groups were recorded at different time after operation. **Results** An allodynia to mechanical stimulation in the territory of ligated ION was found from the 2nd week after operation. The thresholds started to increase gradually from the 6th week and reached the original level on 10 - 12th week after operation. **Conclusion** A trigeminal neuralgia - like animal model in SD rat is successfully established using CCI - ION method with features of simple operation and higher survival.

**Key words** Trigeminal neuralgia; Animal model; Pain threshold

三叉神经痛或称痛性痉挛(抽搐),是指三叉神经所支配的区域发生的强烈的阵发性疼痛。发生率约 8/10 万<sup>[1]</sup>,多见于中老年人,平均发病年龄 62.7 ± 15.8 岁<sup>[2]</sup>。随着人口老龄化,其发生率亦有增高趋势。尽管研究人员业已进行了大量的临床和动物模型的研究,相继提出了许多新的观点和治疗手段,其发病机制尚不清楚<sup>[3]</sup>。因此,建立一种操作简单

且稳定可靠的动物模型来探究其发病机制就显得十分必要。本实验通过结扎 SD 大鼠眶下神经建立三叉神经痛模型,观察大鼠的行为反应和疼痛阈值在不同时间点的变化,对进一步探究三叉神经痛的病因机制具有一定的指导意义。

## 材料与方法

1. 实验材料及分组:选择健康成年清洁级雄性 SD 大鼠 30 只,体质量 180 ± 20g。随机各选取 10 只作为手术组、假手术组和空白对照组。手术组采用经口内右侧眶下神经慢性压迫性缩窄环技术(chronic constriction injury to the infraorbital nerve, CCI - ION)建立三叉神经痛样动物模型,假手术组行右侧眶下神经假手术,手术同前,但只分离暴露右侧眶下神经不

基金项目:辽宁省自然科学基金计划资助项目(2013023014)

作者单位:710021 西安医学院口腔医学系口腔解剖生理学教研室(秦泗佳);116044 大连医科大学口腔医学院(秦泗佳、王福)

通讯作者:王福,电子邮箱:dywangfu@gmail.com

予以结扎;空白对照组只麻醉、固定和消毒,既不暴露眶下神经也不予以结扎。

2. 建立模型:10%水合氯醛(0.4ml/100g)腹腔内注射麻醉,取仰卧位,固定头和四肢,将舌牵出并拉向一侧,在大鼠口内第一磨牙水平沿右侧颧颊边缘纵向切开约1cm,逐层钝性分离周围组织,暴露眶下神经,在眶下神经近、远心端分别用4-0铬肠线疏松结扎,两线之间的距离约为2mm,结扎要松紧适度,要求在手术显微镜下见仅减少神经的直径,但仍然保持神经表层血循环的通畅,且不阻断神经冲动传导,4-0尼龙线缝合手术创口,具体操作步骤见图1。假手术组除不结扎眶下神经外,其余的操作均与手术组一样。空白对照组只进行麻醉、固定和消毒。所有手术操作都在无菌条件下展开,术前及术后未用抗生素。动物清醒后给予一般饲养。

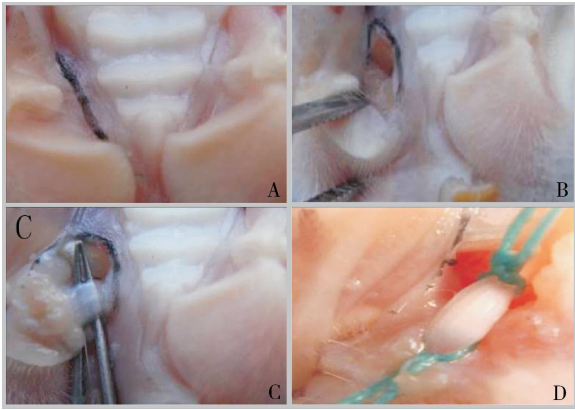


图1 建立大鼠三叉神经痛模型的过程

3. 痛阈测定及阳性反应标准:术前及术后1~12周每周观察记录大鼠疼痛阈值及行为反应。机械刺激反应阈值由美国 North Coast 公司生产的 Von Frey Filament 感觉测试器来测定。首先,要保持室内的安静,在室温条件下让大鼠适应实验的环境,用刺激物轻敲笼壁,使大鼠由害怕、警觉、抖动和逃避到适应刺激而相对安静状态,然后进行感觉测试。刺激的位置是眶下神经在面部的支配区(触须垫)。采用自制的大鼠固定笼固定大鼠,让大鼠适应一段时间,然后手持测试器(刺激强度分别为0.008、0.02、0.04、0.07、0.16、0.4、0.6、1.0、1.4、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、15.0、26.0、60.0、100、180、300g)缓慢接近大鼠,先在左侧刺激3次,再刺激右侧3次,两次之间间隔10s,测试过程中要使细丝弯曲,每一个强度共刺激6次,刺激的过程中要保证测试器的强度由低到高依次增大。

动物的阳性反应主要有:①不对称性搔抓面部,至少连续3次搔抓刺激区;②攻击行为,表现为快速爪咬测试器;③快速的后退、躲避动作,将身体蜷缩靠向笼壁、头面部藏于身下或将头转向对侧以避开刺激。出现上述的任意1项或多项即可判为阳性,当3次刺激中有2次或以上为阳性时,此时所对应的细丝强度(克数)即为大鼠面部机械痛阈值,若此强度 $\geq 26g$ ,将26g作为该次测定的阈值。记录各组大鼠术前术后机械疼痛阈值,将手术侧与对侧和对照组结果进行比较和统计

学分析。

4. 统计学方法:采用SPSS 13.0统计软件的重复测量资料的方差分析和t检验对所得实验数据进行统计学分析。计量资料的实验数据都用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 空白对照组与假手术组的疼痛阈值及比较:术前及术后各时间点刺激大鼠左、右侧眶下神经在面部的感觉支配区域后大鼠反应正常,两组大鼠两侧疼痛阈值无明显变化。空白对照组右侧疼痛阈值波动在(11.81 $\pm$ 0.76)~(13.69 $\pm$ 2.32)(表1)之间,左侧疼痛阈值波动在(11.96 $\pm$ 1.10)~(13.85 $\pm$ 1.15)之间;假手术组右侧疼痛阈值波动在(11.78 $\pm$ 0.60)~(13.33 $\pm$ 1.77)之间,左侧疼痛阈值波动在(11.48 $\pm$ 0.93)~(14.14 $\pm$ 2.44)之间,经统计分析,同组及两组大鼠之间各时间点左右两侧比较,差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。

2. 手术组左右侧的疼痛阈值及比较:术后1周刺激大鼠右侧眶下神经在面部的感觉支配区域后,出现低反应期,疼痛阈值明显增高,大鼠反应迟钝。术后2周,阈值急剧下降为0.75 $\pm$ 0.04g(表1),大鼠易激惹,表现为即使受极低强度的刺激,即可出现上述阳性反应,持续至术后6周,然后阈值缓慢增高,大约在术后10~12周左右恢复到手术前的水平(图2)。左侧疼痛阈值变化趋势与手术侧相似,术后1周亦出现短暂的高阈值反应迟钝期,但不如右侧明显。术后2周阈值最低,为1.00 $\pm$ 0.05g(表1),低阈值持续至第5周,然后缓慢升高至正常水平(图2)。经统计学t检验分析表明:在术前、术后1周和10~12周,左右两侧相比,差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ );在术后2~9周,左右两侧疼痛阈值相比,差异有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。

3. 各组大鼠右侧疼痛阈值变化比较:术后1周手术组右侧疼痛阈值明显高于另两组,而术后2~9周疼痛阈值明显低于另两组。术后1~9周手术组右侧的疼痛阈值与另两组右侧的疼痛阈值相比。差异有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。术前及术后10~12周,手术组右侧与假手术组、空白对照组右侧相比,差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。

## 讨 论

1. 建立CCI-ION动物模型的理论基础:目前三叉神经痛的临床治疗方法有很多种,如药物治疗、手术治疗、放射治疗、中医中药、免疫疗法等,但临床

表 1 各组大鼠不同时间点的疼痛阈值(g)

时间	手术组		假手术组		空白对照组	
	右侧	左侧	右侧	左侧	右侧	左侧
术前	12.62 ± 0.92	12.61 ± 0.61	12.53 ± 0.84	12.64 ± 0.42	12.93 ± 0.98	12.18 ± 0.38
1周	20.38 ± 1.08	19.43 ± 0.83	12.33 ± 0.47	12.26 ± 0.46	12.38 ± 0.61	12.24 ± 0.48
2周	0.75 ± 0.04	1.00 ± 0.05	12.63 ± 0.28	12.67 ± 0.55	12.54 ± 0.41	12.59 ± 0.38
3周	0.81 ± 0.06	1.09 ± 0.04	11.84 ± 0.70	12.01 ± 0.56	12.26 ± 0.78	12.51 ± 0.65
4周	0.93 ± 0.05	1.18 ± 0.08	12.47 ± 0.40	12.79 ± 0.42	12.40 ± 0.95	12.45 ± 0.67
5周	1.04 ± 0.08	1.14 ± 0.09	12.33 ± 0.53	12.44 ± 0.74	13.27 ± 0.88	13.53 ± 0.90
6周	1.20 ± 0.11	3.06 ± 0.23	11.78 ± 0.60	12.35 ± 0.66	12.62 ± 0.73	12.63 ± 0.71
7周	3.63 ± 0.31	6.61 ± 0.31	11.97 ± 0.53	12.21 ± 0.83	13.66 ± 1.56	13.85 ± 1.15
8周	3.82 ± 0.53	7.02 ± 0.69	12.47 ± 0.65	12.27 ± 0.65	12.34 ± 0.50	12.57 ± 1.19
9周	8.17 ± 0.35	9.11 ± 0.18	12.00 ± 0.89	12.82 ± 1.03	12.68 ± 0.75	12.78 ± 1.04
10周	11.07 ± 1.03	11.50 ± 0.82	12.39 ± 0.61	11.48 ± 0.93	11.81 ± 0.76	11.96 ± 1.10
11周	11.64 ± 1.61	12.36 ± 1.32	12.36 ± 1.16	14.14 ± 2.44	13.69 ± 2.32	13.56 ± 2.42
12周	13.00 ± 3.52	12.39 ± 2.33	13.33 ± 1.77	12.78 ± 2.32	13.06 ± 2.08	12.78 ± 1.95

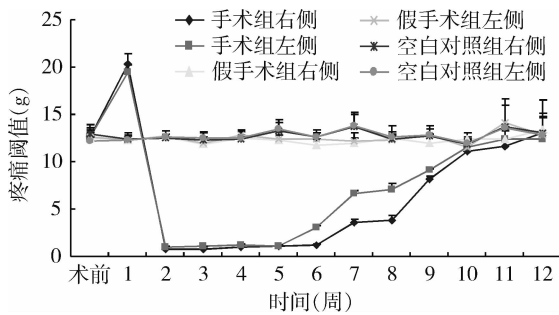


图 2 各组大鼠术前术后左右侧疼痛阈值的变化比较

效果并非理想,究其原因是对三叉神经痛的发病原因和机制尚不明确。目前提出的有关三叉神经痛发病机制的学说主要可分为中枢病因学说和周围病因学说两大类。中枢学说认为是大脑皮层与丘脑过多的神经电活动导致的癫痫样发作或三叉神经脊束核与感觉核控制异常痛觉传入信号的能力下降而产生疼痛。主要的解释是闸门学说。周围学说则认为三叉神经根、节受到压迫导致的三叉神经脱髓鞘是三叉神经痛的主要病因和病理改变,其后众多学者都证实了这一观点。目前提出的主要解释有串扰学说和点燃学说。造成神经压迫的原因可以归结为血管压迫和硬膜鞘、带和骨性压迫。此后众多的学者先后建立了许多相关的动物模型:慢性缩窄环模型<sup>[4]</sup>、三叉神经末梢致痛模型<sup>[5]</sup>、牙髓灌注模型<sup>[6]</sup>、三叉神经根埋植模型<sup>[7]</sup>、经颞下窝暴露三叉神经节模型<sup>[8]</sup>、经枕骨下暴露三叉神经根和颞下暴露三叉神经节模型<sup>[9]</sup>。

2. 各种三叉神经痛动物模型的优缺点比较:(1)慢性缩窄环模型也是基于周围病因学说,其优点是模拟临床因压迫导致的三叉神经痛,术式简单,贴近临床,缺点仅为结扎时的松紧度不易掌握。本实验为克

服该缺点采用了手术显微镜,在镜下操作能够掌握结扎的松紧度。(2)三叉神经末梢致痛模型是基于周围病因学说,其优点是操作简单,缺点是只能模拟非特异性验证感染造成的三叉神经痛。(3)牙髓灌注模型也是基于周围病因学说,其优点是操作简单,给药方便,不易产生感染且不破坏脑组织,缺点是给药途径易破坏,限制应用,主要模拟下颌支痛。(4)三叉神经根埋植模型是基于中枢病因学说,其优点是能模拟炎性感染在三叉神经痛中所起的作用,缺点是手术路径复杂,易损伤脑膜和脑组织,动物存活率低。(5)经颞下窝暴露三叉神经节模型也是基于中枢病因学说,其优点是能够选择性的破坏三叉神经的各个分支,缺点是若操作不当极易引起大出血而致动物死亡。(6)经枕骨下入路暴露三叉神经根模型也是基于中枢病因学说,其优点是操作简便,不易造成出血,缺点是操作复杂,需切除部分小脑,动物可能出现共济失调,甚至死亡。(7)经颞下入路暴露三叉神经根模型也是基于中枢病因学说,其优点是比经颞下窝暴露三叉神经节模型操作简单,比三叉神经根埋植模型更能模拟炎性感染在三叉神经痛中的作用,缺点是易损伤眼支的动脉而引发大出血,要破坏脑膜及脑组织,动物存活率低。

3. CCI-ION 动物模型的意义:本次实验建立大鼠三叉神经痛样动物模型所采用的眶下神经慢性压迫性缩窄环技术具有以下意义:(1)模拟和进一步验证了三叉神经痛的血管压迫学说。对神经造成压迫观察术前术后大鼠的行为反应和疼痛阈值变化。本研究结果显示,术后1周出现一个短暂的迟钝反应期,可能的原因是结扎后阻碍了神经信号传入通路的

通畅。术后2周大鼠处于超敏反应期,对较低的非疼痛性刺激即可产生疼痛反应和自发性痛,类似于三叉神经患者触碰到“扳机点”时的反应。低痛阈一直持续到第6周才开始逐渐增高,到10~12周时才接近术前水平,可能是神经受压后需要4~8周左右的时间进行修复。对于手术组左侧在术后2周也出现了三叉神经痛样反应的机制尚不清楚,有研究者认为是由于“交叉兴奋”的原因而引起的<sup>[10]</sup>,也有研究者认为与三叉神经中枢核团中的P物质和磷酸化丝裂原活化蛋白激酶的活性增强有关<sup>[11,12]</sup>,还有研究者认为是慢性压迫所导致的神经干病变引起高位神经中枢的病变<sup>[13]</sup>,也有可能是动物模型的条件反射,到底是什么机制还有待于进一步研究。(2)该方法能够有效的模拟临床上的三叉神经痛的表现,具有操作简单、重复性好、贴近临床和成功率高等优点,通过该模型的建立可更进一步深入探究三叉神经痛的病因机制及治疗方法。Savernini等<sup>[14]</sup>通过CCI-ION建立大鼠三叉神经痛模型,观察了脉冲治疗性超声的疗效,发现脉冲治疗性超声在该病的治疗中有一定作用。(3)通过观察和记录模型大鼠的行为反应和疼痛阈值的变化,可以与组织病理学和神经递质的变化联系起来,对比研究两者或多者之间的关系。(4)通过此方法建立的模型可以从周围神经和神经中枢层面研究其神经电生理的变化,以此研制各种镇痛药<sup>[15]</sup>。

参考文献

- 1 Spatz AL, Zakrzewska JM, Kay EJ. Decision analysis of medical and surgical treatments for trigeminal neuralgia: how patient evaluations of benefits and risks affect the utility of treatment decisions[J]. *Pain*, 2007, 131(3):302-310
- 2 Tölle T, Dukes E, Ssdosky A. Patient burden of trigeminal neuralgia: results from a cross-sectional survey of health state impairment and treatment patterns in six European countries[J]. *Pain Pract*, 2006, 6(3):153-160

- 3 Obermann M, Katsarava Z. Update on trigeminal neuralgia[J]. *Expert Rev Neurother*, 2009, 9(3):323-329
- 4 张桂萍, 曹晓岚. 建立三叉神经痛慢性缩窄环术大鼠模型的体会[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2012, 10(8):973-974
- 5 Nq CH, Onq WY. Increased expression of aminobutyric acid transporters GAT-1 and GAT-3 in the spinal trigeminal nucleus after facial carrageenan injections[J]. *Pain*, 2001, 92(1-2):29-40
- 6 Foong FW, Satoh M, Takagi H. A newly devised reliable method for evaluating analgesic potencies of drugs on trigeminal pain[J]. *J Pharmacological Methods*, 1982, 7(4):271-278
- 7 Luo DS, Zhang T, Zuo CX. *et al.* An animal model for trigeminal neuralgia by compression of the trigeminal nerve root[J]. *Pain Physician*, 2012, 15(2):187-196
- 8 Liu W, Moller M. Experimental microneurosurgery of the trigeminal ganglion and ophthalmic-maxillary nerve in the rat: subtemporal fossa approach[J]. *J Neurosci Methods*, 2000, 102(2):91-94
- 9 Sakas DE, Whittaker K, Abbasi KH, Zervas NT. Experimental microneurosurgery of the trigeminal nerve: surgical technique for ganglionectomy and rhizotomy in the cat[J]. *J Neurosci Methods*, 1996, 65(2):137-141
- 10 Chaudhary P, Baumann TK. Expression of VPAC2 receptor and PAC1 receptor splice variants in the trigeminal ganglion of the adult rat[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2002, 15, 104(2):137-142
- 11 韩杰, 刘亦青, 任妍妍, 等. 三叉神经痛大鼠脑内P物质及β-内啡肽的变化[J]. *山东大学学报:医学版*, 2013, 51(8):45-48
- 12 Jeon HJ, Han SR, Park MK, *et al.* A novel trigeminal neuropathic pain model: compression of the trigeminal nerve root produces prolonged nociception in rats[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2012, 38(2):149-158
- 13 Benoist JM, Gautron M, Guilbaud G. Experimental model of trigeminal pain in the rat by constriction of one infraorbital nerve: changes in neuronal activities in the somatosensory cortices corresponding to the infraorbital nerve[J]. *Exp Brain Res*, 1999, 126(3):383-398
- 14 Savernini á, Savernini N, de Amaral FA, *et al.* Assay of therapeutic ultrasound induced-antinociception in experimental trigeminal neuropathic pain[J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90(8):1639-1645
- 15 An JX, He Y, Qian XY, *et al.* A new animal model of trigeminal neuralgia produced by administration of cobra venom to the infraorbital nerve in the rat[J]. *Anesth Analg*, 2011, 113(3):652-656

(收稿日期:2014-04-14)

(修回日期:2014-04-30)

(上接第9页)

- 16 Qiu Z, Zhang W, Fan F, *et al.* Rosuvastatin-attenuated heart failure in aged spontaneously hypertensive rats via PKC alpha/beta 2 signal pathway[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2012, 16(12):3052-3061
- 17 Ferreira JCB, Mochly-Rosen D, Boutjdir M. Regulation of cardiac excitability by protein kinase C isozymes[J]. *Frontiers in Bioscience: Scholar edition*, 2012, 4:532-546
- 18 Liu T, Qin M, Hu H, *et al.* Activating protein kinase C enhances ventricular action potential duration restitution and increase arrhythmia susceptibility in Langendorff-perfused rabbit hearts[J]. *Chinese Journal of Cardiology*, 2012, 40(9):780-785
- 19 Sun HJ, Zhang LL, Fan ZD, *et al.* Superoxide anions involved in sympathoexcitation and pressor effects of salusin-beta in paraventricular nucleus in hypertensive rats[J]. *Acta Physiologica*, 2014, 210

- (3):534-545
- 20 Si D, He Y, Yang C, *et al.* The effects of amlodipine and S(-)-amlodipine on vascular endothelial function in patients with hypertension[J]. *American Journal of Hypertension*, 2014, 27(1):27-31
- 21 Novokhatska T, Tishkin S, Dosenko V, *et al.* Correction of vascular hypercontractility in spontaneously hypertensive rats using shRNAs-induced delta protein kinase C gene silencing[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2013, 718(1-3):401-407
- 22 Webster BR, Osmond JM, Paredes DA, *et al.* Phosphoinositide-dependent kinase-1 and protein kinase C delta contribute to endothelin-1 constriction and elevated blood pressure in intermittent hypoxia[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2013, 344(1):68-76

(收稿日期:2014-03-11)

(修回日期:2014-03-23)