

2005 年中华医学会全国麻醉学术年会

知识更新讲座

Annual Refresher Course Lectures
Chinese Society Of Anesthesiology(CSA)

2005/9/2-5 中国·广州



主办单位：中华医学会
中华医学会麻醉学分会
承办单位：广东医学会
广东省麻醉学分会

目 录

2005 年中华医学会麻醉学分会工作总结

李树人

基础研究

慢性疼痛的基因治疗	田玉科 安柯(1)
细胞因子在疼痛脊髓传导中的作用	史琳 王云 F CAMU(6)
钠通道和局部麻醉的分子药理学(英)	王志中(7)
全身麻醉剂的神经毒性作用	彭书峻 王寿平(17)
麻醉与认知功能的研究	岳 云(19)
疼痛机制与治疗进展	黄宇光(25)
局麻药周围神经毒性研究现状的评价与临床意义	徐世元(31)
疼痛的中枢机制	于布为(32)
MAPK 信号转导通路与疼痛敏化调控研究进展	项红兵 招伟贤 董航(37)
神经病理性疼痛分子生物学研究进展	刘国凯 罗爱伦 黄宇光(41)
阿片受体研究进展	彭章龙(51)
胆碱能性抗炎通路的研究进展	柳垂亮 黄文起 招伟贤(56)
神经病理性疼痛动物模型	刘国凯 黄宇光 罗爱伦(61)
受体附件蛋白参与糖皮质激素受体激活的研究概况	汪福洲 景亮(63)
吸入麻醉药研究进展	戴体俊(69)
细胞因子和围术期应激反应	林丽娟 张利萍(75)
肺表面活性物质和前列腺素 E1 对盐酸所致急性肺损伤的影响	岳子勇 崔晓光 李文志(79)
病理性神经疼痛机制基础研究进展	刘先国

临床麻醉

我国恶性高热发病概况、实验室诊断方法的建立及临床应用	郭向阳 罗爱伦(81)
加强术后中长期管理,改善和提高我国肝移植受者的长期生存质量	陈规划(86)
可逆性肺高压在行原位心脏移植术中的危险性分析	姜桢 曾真 罗红(90)
椎管内麻醉后外周神经损伤及对策	王俊科(93)
喉罩临床应用的几个问题	李士通(99)
麻醉失误的防范和麻醉的安全	熊利泽(102)
临床麻醉的观念碰撞(上)	于布为(107)
血液保护工作的回顾与展望	邓硕曾 刘进(110)
对困难气道的回顾与新认识	朱也森(113)
神经外科麻醉进展	王保国 彭宇明(117)
β 阻滞剂围术期心脏并发症的治疗价值与风险	黄文起 叶健鸿(121)
心脏麻醉监测进展	薛玉良(126)
麻醉中控制呼吸的参数选择(英)	Barry Baker(134)
美国产科麻醉临床指南的新进展	夏 云(137)
心脏瓣膜病患者的麻醉(英)	John Moyers(141)

挥发性麻醉剂的心脏保护作用(英)	Wolfgang Schlack(145)
心脏病人围术期管理的若干问题	李立环(148)
液体治疗	姚尚龙(153)
麻醉机应用的模拟训练(英)	Lampotang S Qian Y Zhang RV(158)
连续蛛网膜下腔阻滞	郭曲练(160)
声门上气道管理的进展	欧阳葆怡(164)
TCI 管理(英)	Albrechts Sven Albrecht(169)
瑞芬太尼(英)	Michael G Irwin(172)
肥胖病人的麻醉(英)	刘前进(173)
双频指数监测的认识与发展(英)	John P Williams(174)
喉罩置管通气及其管理	刘继云 余守章(180)
非体外循环冠状动脉搭桥术的麻醉处理及其与体外循环下冠脉搭桥术的临床结果比较(英)	田穗荣(188)
喉罩的临床应用进展	左明章 华震(190)
抗凝/抗血小板药物与麻醉选择	朱斌 叶铁虎 华宝来(197)
老年人心血管手术后认知功能障碍的研究进展	纪方(201)
镁在麻醉中的应用进展	胡兴国 张云翔(204)
去甲肾上腺素在肝移植麻醉中的应用	王天龙 杨拔贤(208)
全麻苏醒期躁动的研究进展	靳三庆 庞婷(214)
围术期哮喘的诊疗进展	王志刚(218)
小儿单肺隔离技术的研究进展	张传汉(221)
小儿应用氯胺酮进展	陈锡明 尤新民(227)
再次心血管手术麻醉的现状与对策	卢家凯 卿恩明(230)
终末期心脏病患者的麻醉	王伟鹏 陈雷 张毅 伍丽明 张晶 李立环(234)
加强输血、血制品相关并发症的防治	屠伟峰(240)
器官移植术后非移植器官手术的麻醉	肖金仿(247)
产科麻醉与镇痛	姚尚龙(251)
非体外循环下冠状动脉搭桥术麻醉的研究进展	赵丽云 卿恩明(261)
吸入麻醉再认识(英)	Edmond I Eger II

疼痛诊疗

医用臭氧在疼痛临床中的应用	宋文阁 赵学军 赵序利(268)
阿片类药物在疼痛治疗中的应用	徐建国(272)
Gabapentin 在疼痛治疗中的应用(英)	莫世涅(276)
神经痛的药物治疗(英)	Tsai yu - Chuan(278)
手术后急性疼痛的处理(英)	符铁波(279)
联合疼痛治疗促进术后恢复(英)	Narinder Rawal(280)
急性疼痛治疗	余守章(282)
分娩镇痛	赵国栋(291)
儿科镇静进展	张铮 王英伟 尤新民(300)
腰脊神经根阻滞疗法的临床应用研究进展	严相默(302)

危重病医学

围术期深静脉血栓形成的诊断、治疗和预防	袁训芝 吴新民(307)
呼吸支持治疗 ARDS 研究新进展	杭燕南 洪涛(312)
危重病人转运期间的危险因素及防范	古妙宁(315)
对最新脓毒症治疗指南的理解	李泉 俞卫锋(320)
心脏舒张期功能不全(英)	Homen Youg(325)
如何改善危重病人的预后	Alex Evers(326)
ICU 综合征的产生原因及护理进展	赵志荣 陈苑平 王瑞婷 林海洁(327)
机械通气牵拉导致的细胞因子释放与相关肺损伤	马武华(331)
临时心脏起搏器的应用	鲁开智 陶国才(335)
输血相关性急性肺损伤	廖志婕 古妙宁(344)

学科建设

21 世纪初期我国麻醉学人才培养模式与学科建设	曾因明(351)
台湾麻醉医学界的现况与展望	陈大梁(354)
建立中国住院医师规范化培训制度	刘 进(355)
麻醉工作中的临床思维	薛张纲(361)
建构以病人安全及医疗品质为中心之麻醉环境	吴世铨(371)
医学论文的有关规范要求	彭云水(375)
核心学术期刊及其评价功能	李敬远 曾因明(380)
麻醉信息管理系统的现在与未来	许幸 吴新民(383)
美国麻醉医师协会索赔终审项目中得到的教训	邓小明 杨涛(387)
新加坡麻醉科医师的培训	Chan Yew Weng

临床监测与新技术

食管超声心动图在心脏麻醉中的应用及在美国的发展近况(英)	邵燕夫(393)
慢性疼痛的治疗及在美国的发展近况(英)	冯鸿辉(396)
喉罩在美国的应用与进展(英)	孙健中(399)
静脉麻醉药与技术进展	叶铁虎(400)
麻醉深度监测	邓小明 万小健(402)
围术期肝功能动态监测进展 - ICG 及临床应用	陈秉学(406)
体外膜式氧合器氧合(ECMO)	龙 村(411)
肝移植的麻醉	田 鸣(414)
Proseal 喉罩通气的应用进展(英)	Joe Brimacombe(420)
输血与血液保护研究进展	招伟贤(421)
单肺通气技术	许梅曦(428)
肝移植围术期凝血紊乱的诊治	俞卫锋(438)
肝移植围术期凝血异常的监测和治疗	田 鸣(445)
围术期脑电监测系统的研究新进展	贾宝森 张宏 米卫东(448)

● 基础研究 ●

慢性疼痛的基因治疗

田玉科 安珂

华中科技大学同济医学院附属同济医院麻醉学教研室

慢性疼痛被广泛地定义为急性组织损伤修复后疼痛持续超过 1 个月、疼痛持续或反复发作超过 3 个月以上或与组织损伤有关的疼痛预计持续存在或加重。其中神经性痛、炎症性痛以及癌痛均可引发慢性疼痛。剧烈或长期的疼痛会使机体各器官系统功能发生紊乱而影响生活、学习和工作。目前慢性疼痛的治疗主要是靠给麻醉性镇痛剂和非甾体类抗炎药等,但往往带来耐药、成瘾,并涉及许多器官、系统的其他副作用。因此寻找一种安全有效、作用持久、经济方便、副作用小的镇痛方法已成为人们感兴趣的课题。

随着细胞分子生物学的发展和基因工程技术的日臻完善,基因治疗作为一项新的生物干预手段,已被广泛应用于多种疾病的治疗与研究。正是基于对慢性疼痛的分子生物学机制有了更加深入的了解,人们才有可能在基因水平上探讨其治疗,为疼痛治疗开辟了一条新的途径,目前疼痛的基因治疗途径有两种,现就此方面的研究现状作一简要介绍。

1、间接体内疗法(Ex vivo Gene Therapy)

该疗法也称作细胞移植疗法,是早期疼痛基因治疗最常用的,被认为是一种接近于生理的、有效的镇痛方法。它是基因治疗与移植技术相结合的方法,其要点是选择合适的基因、靶细胞及最有效的基因转移方法。

1.1 机理

基于疼痛时内源性抑制信息的不足,包括 5-羟色胺、去甲肾上腺素、 γ -氨基丁酸(GABA)、内源性阿片肽如 β -内啡肽、脑啡肽、强啡肽以及内源性甘丙肽和神经营养因子如脑源性神经营养因子(BDNF)等。该方法是将体外培养的某些细胞株移植入体内,这些类似于“生物微泵”的移植细胞在中枢神经系统(脊髓)持续分泌、缓释多种抗痛蛋白分子、抗痛蛋白调控因子、酶类或信号转导因子,从而增强局部抗痛蛋白的表达,降低疼痛敏感性,产生良好的镇痛效果,避免了全身给药带来的副作用,目前研究最多和最深入的是嗜铬细胞移植和基因工程细胞移植。

1.2 嗜铬细胞移植

动物实验和临床研究显示,将同种或异种嗜铬细胞移植于机体的特定部位,可提高宿主对疼痛的耐受性,产生镇痛效应。1986 年^[1]Sagen 首先将牛肾上腺髓质嗜铬细胞移植到大鼠蛛网膜下腔,通过移植细胞不断分泌 5-TH 和去甲肾上腺素以及脑啡肽等镇痛物质发挥抗痛作用;1993 年 Winnie 等^[2]将此技术应用于临床,他将人肾上腺嗜铬细胞植入顽固性疼痛病人的脊髓蛛网膜下腔,使 70%~80% 病人的疼痛得到明显缓解,减少或停止使用止痛药,从此开创了细胞镇痛研究的先河。

1.3 基因工程细胞移植

由于嗜铬细胞来源有限、原代培养时间短、难以达到满意的细胞浓度和数量以及镇痛

效应不稳定等问题限制了该技术的广泛应用。因此,随着细胞分子生物学和基因工程技术的日臻完善,转基因细胞移植镇痛将有望取代嗜铬细胞成为治疗神经性疼痛的有效方法。该技术是将本身不表达或低表达抗痛因子的细胞株通过体外导入治疗基因,筛选可以表达外源基因的细胞,再将这些带有治疗基因的细胞株(也称作基因工程细胞株)移植入体内,发挥镇痛作用(详见表 1)。

表 1 用于疼痛治疗的细胞株

疼痛类型	动物	细胞/分泌的物质	参考文献
急性痛	大鼠	大鼠和牛肾上腺髓质	Sagen et al,1986
神经痛	大鼠	大鼠嗜铬细胞	Sagen ,1992 Hama and Sagen ,1994
急性痛	大鼠	微囊化牛嗜铬细胞	Sagen et al, 1993
炎性痛	大鼠	大鼠肾上腺髓质	Sagen et al, 1992
炎性痛	大鼠	大鼠肾上腺髓质	Siegan and Sagen , 1997
神经痛	大鼠	大鼠肾上腺髓质	Brewer and Yeziarski,1998
神经痛	大鼠	永生嗜铬细胞	Eaton et al,1999
癌痛	人	微囊化牛嗜铬细胞	Buchser et al,1996
癌痛	人	人肾上腺髓质	Bes et al,1998
急性痛	大鼠	AtT-20/hENK cells / β -内啡肽 和 甲啡肽	Wu et al,1994
急性痛	大鼠	Neuro2A/POMC cells / β -内啡肽	Saitoh et al,1995
神经痛	大鼠	RN46A-B14 细胞/ 5-HT/BDNF	Eaton et al,1997
神经痛	大鼠	33GAD 细胞 / GABA	Eaton et al,1999
神经痛	大鼠	33GAL 细胞/ 甘丙肽	Eaton et al,1999
炎性痛	大鼠	P19/ hENK cells / β -内啡肽	Ishii et al, 2000
神经痛	大鼠	33BDNF 细胞/ BDNF	Cejas et al,2000
神经痛	大鼠	永生/去永生嗜铬细胞	Eaton et al,2002
炎性痛	大鼠	嗜铬细胞 / hENK cells / 阿片肽	Duplan et al, 2004
神经痛	大鼠	IAST/GAL/ 甘丙肽	Tian YK et al,2005
神经痛	大鼠	IAST/hPPE/ 脑啡肽	Tian YK et al,2005

1.4 存在的问题

虽然移植细胞可以分泌各种纯天然的肽类神经递质,比人工合成的肽类物质半衰期长,但这种方法也存在着若干缺陷,如①机体对移植细胞的免疫排斥反应;②移植细胞致

瘤性的危险;③转基因表达的不稳定性;④缺乏组织和细胞的特异性;⑤非特异性瘢痕形成;⑥需要复杂的手术操作等问题。

2、直接体内疗法(In vivo Gene Therapy)

该方法是将治疗基因导入体内,改变与修复机体的遗传物质,以此特异性地干预疼痛的生物学行为,达到治疗目的。该方法主要有两个治疗方向,即上调抗痛基因的表达(up-regulation antinociception)和下调致痛基因的表达(knockdown nociception)。目前对其研究日益增多,可能将成为疼痛基因治疗最有前途的方法。

2.1 上调抗痛基因表达

利用基因重组技术将一些抗痛基因、调控因子基因或受体基因等外源基因插入载体基因组,加上启动子,导入神经细胞,促进抗痛基因的表达。一般认为初级传入神经细胞和脊髓背角的神经细胞是较为安全和可行的治疗靶点。

2.1.1 载体的选择

目前用作基因治疗的载体主要有非病毒载体和病毒载体,前者包括裸 DNA、脂质体、多聚物以及分子耦联体。非病毒载体具有以下优点①安全,无传染性;②不限制载体容量;③可大量制备;④无免疫原性;⑤无 DNA 重组。但非病毒载体也存在不足之处如①导入效率低;②表达水平低且短暂;③无特异靶细胞;④体内易被降解。由于携带目的基因的靶向高效表达是基因治疗成功的关键,所以目前广泛采用病毒载体作为转基因的手段。病毒载体主要来源于鼠和人类的 DNA、RNA 病毒,最常用的以腺病毒(Adenovirus)、腺相关病毒(Adeno-associated virus)、逆转录病毒(Retrovirus)和单纯疱疹病毒(Herpes simplex virus)为多,这几种经过改造的病毒载体的主要特性见表 2。

表 2 常用病毒载体的主要特性

载体特征	腺病毒	腺相关病毒	逆转录病毒	单纯疱疹病毒
病毒基因组	双链 DNA	单链 DNA	单链 RNA	双链 DNA
基因组大小	30—36kb	4.7—6kb	8—11kb	152kb
是否整合	否	是	是	否
插入外源基因大小	<7.5kb	<4.7kb	<5kb	<35kb
是否感染非分裂期细胞	是	是	否	是
病毒蛋白表达	是	否	否	潜在
外源基因表达	短暂(days—weeks)	长久(month)	长久(month—years)	短暂(days—weeks)

2.1.2 应用

上调抗痛基因表达在疼痛研究中的应用详见表 3。

表 3 上调抗痛基因表达在慢性疼痛的治疗

外源基因	载体类型	疼痛类型	参考文献
β -endorphin	腺病毒	炎性痛	Finegold et al,1999
POMC	基因枪	炎性痛	Lu et al,2002
POMC	裸质粒	神经痛	Lin et al ,2002
Interleukin-2	裸质粒	神经痛	Yao et al, 2002
Interleukin-10	腺病毒	炎性痛	Milligan et al, 2002
BDNF	腺相关病毒	神经痛	Eaton et al, 2002
NT-3	腺相关病毒	神经痛	Chattopadhyay et al,2002
pEnkA	单纯疱疹病毒	神经痛	Hao et al, 2003
MOR	腺相关病毒	炎性痛	Xu et al ,2003
NGF	腺相关病毒	神经痛	Chattopadhyay et al,2003
POMC	电穿孔	神经痛	Wu et al ,2004
GDNF	腺相关病毒	神经痛	Hao et al, 2004
hPPE	腺相关病毒	神经痛	Tian YK,et al,2005

注:POMC=阿片黑皮质素原; pEnkA=脑啡肽原 A; BDNF=脑源性神经营养因子;

GDNF=胶质细胞源性神经营养因子;MOR= μ -阿片受体; NT-3=神经营养因子-3; NGF=神经生长因子

2.2 下调致痛基因的表达

降低神经系统内源性致痛分子的表达同样可以达到镇痛的目的。目前基因治疗中常用的技术有反义寡核苷酸技术(antisense oligonucleotides, ASO)和 RNA 干扰技术(RNA interference, RNAi)。

2.2.1 反义寡核苷酸技术

反义寡核苷酸技术是将与靶基因序列互补的小分子寡核苷酸 DNA(约 18—20 个核苷酸)导入细胞,与 mRNA 结合,通过 ①核酸酶 H 降解(RNase H degradation);②阻断翻译(translational blockade)和③剪切捕获(splicing arrest)。后两种机制通常又称为空间抑制(steric inhibition)。

反义寡核苷酸技术具有①与传统的药物治疗相比,ASO 具有高度的特异性;②而且寡核苷酸分子的设计和合成也较为容易。③另外与病毒颗粒相比,ASO 鞘内给药可以不受边缘胶质细胞的限制而容易弥散至脊髓实质;④ASO 具有较小的免疫原性;⑤不会产生潜在毒性的病毒蛋白;⑥对非分裂细胞亦有效;⑦ASO 不会整合至宿主细胞基因组 DNA 中,消除了导致基因组变异的可能性。虽然 ASO 抑制靶 DNA 的方法看似简单,但是

ASO 的游离和应用的实现比预想的要困难得多,这些困难主要包括①合适活性寡聚体的游离较难;②存在寡核苷酸的特异性与差异性;③ASO 结合胞内目标 mRNAs 的途径复杂;④未知非反义效应的发生;⑤毒性反应(包括免疫刺激引起的淋巴组织增生、脾肿大、多器官单核细胞浸润以及补体激活;血小板减少症导致的凝血时间延长;肝转氨酶升高等)。

2.2.2 RNA 干扰技术

RNAi 是近几年才发展起来的技术,是将小片段双链 RNA(siRNA)导入细胞,siRNA 结合一个核酶复合物从而形成 RNA 诱导沉默复合物(RISC),激活的 RISC 通过碱基配对定位到 mRNA 转录本上,并在距离 siRNA 3'端 12 个碱基的位置上切割 mRNA,介导同源序列 mRNA 的特异性降解,从而导致基因沉默现象。因 RNAi 所致的基因沉默发生在转录水平,所以又被称为转录后基因沉默(PTGS)。

RNAi 具有以下显著特征:①高特异性;②高效性;③长度限制性;④可传播性;⑤ ATP 依赖性。由于 RNA 干扰技术具有操作简单、效率高、基因关闭效果出现快等特点,使之成为基因治疗研究的重要工具。2004 年 Dorn^[25] 和 2005 年 Tan^[26] 等利用 RNAi 技术分别针对疼痛信号传递通路中 P2X₃ 嘌呤受体和 NMDA 受体 2B 亚基作了探索性的动物实验研究,结果证实 RNAi 比 ASO 的镇痛作用更加有效。

但 RNA 干扰技术尚存在一些问题,如①一些基因或组织可能存在具有抵抗 RNA 干扰的能力;②dsRNA 序列选择不同可能导致不同的抑制效果,并且只能在外显子序列中选择;③在哺乳动物中诱导 RNA 干扰必须是 21 个碱基左右的 siRNA,而且其抑制效果不如在低等生物中;④RNA 干扰对稳定、丰富表达的靶基因抑制效率不高;⑤寡聚核酸合成困难,易被降解以及细胞摄取效率低等。

2.2.3 应用

目前将 ASO 和 RNAi 技术用于疼痛研究的报道不多,现总结于表 4。

表 4. ASO 和 RNAi 在疼痛基因治疗中的应用

ASO/RNAi	目的基因	疼痛类型	动物	References
ASO	c-fos	炎性痛	大鼠	Hou et al,1997
ASO	神经激肽 1 受体	炎性痛	大鼠	Hua et al,1998
ASO	NMDA 受体 NR1、NR2C、NR2D 亚基	炎性痛	大鼠	Garry et al,2000
ASO	神经营养因子-3	神经痛	大鼠	White DM,2000
ASO	P2X ₃ 嘌呤受体	炎性痛 神经痛	大鼠	Honore ,et al,2002 Barclay et al,2002
ASO	河豚毒不敏感性钠通道 Nav1.8	神经痛	大鼠	Lai et al,2002
ASO	代谢型谷氨酸受体	炎性痛 神经痛	大鼠	Fundytus et al2002 Sharif et al, 2002
ASO	β -Arrestin	神经痛	大鼠	Przewlocka et al, 2002
ASO	蛋白激酶 Cy	神经痛	大鼠	Luo AL, et al,2005

RNAi	P2X ₃ 嘌呤受体	神经痛	大鼠	Dorn G et al, 2004
RNAi	NMDA 受体 NR2B 亚基	炎性痛	大鼠	Tan PH et al, 2005
RNAi	香草受体-1	神经痛	大鼠	Christoph T et al, unpublished data

3、结语

慢性疼痛的基因治疗是近几年提出的概念,现在尚处于实验室研究阶段,如何解决好目的基因的靶向性、可诱导性以及安全性是这一研究领域的关键问题,但随着人们在分子和细胞水平、神经递质及离子通道等多方面对疼痛发生机制认识的不断深入,可以相信在不久的将来疼痛治疗必将进入个体化、靶向性强、高效性且安全的新时代,为疼痛的治疗提供美好的前景。

细胞因子在疼痛脊髓传导中的作用

史琳 王云 F CAMU

目前,疼痛领域存在着严重的“分裂”:一方面,对疼痛信号的分子和细胞机制的研究在过去的十余年里取得了令人兴奋的进展。另一方面,临床上的疼痛治疗仅有部分是有效的,且常伴随严重的副作用或药物滥用。为了衔接疼痛神经生物学的巨大进展和临床疼痛治疗的严重滞后之间的“缺口”,临床疼痛的治疗方法已经开始从经验性疼痛管理模式转换到先识别疼痛患者的疼痛机制然后给予针对性治疗上来。外周和中枢神经系统内的多重分子和细胞机制产生不同形式的疼痛。这些机制的阐明将使疼痛治疗由治标(症状)走向标本兼治,给疼痛的诊断和管理带来革命。

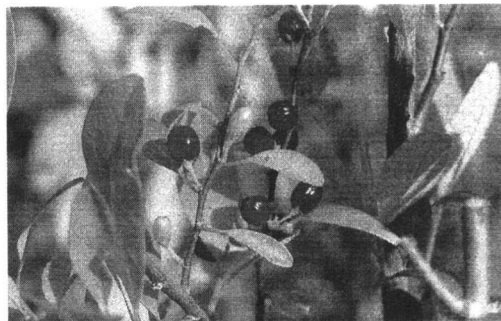
多年来,疼痛一直被视为一种纯神经现象,如阻滞感觉神经的药物对减轻急性疼痛效果很好。然而,但存在局部炎症时,阻滞局部的感觉神经仅能部分缓解疼痛。动物实验显示,完全阻断炎症区的传入神经并不能抑制脊髓 COX-2 的表达。这表明非神经性因素参与了伤害性刺激的传入和疼痛的中枢敏化过程。细胞因子在伤害性刺激的传入和疼痛传导中到底扮演什么角色,对于临床疼痛治疗有无指导意义,这些问题吸引了越来越多学者们的目光。

IL-1 β 和 TNF α 是强力的炎性细胞因子。在外周炎症组织释放后,两者均可敏化伤害性刺激的传入,并可影响对感觉刺激的行为反应,导致痛觉过敏和感觉异常。降低脑脊液中 IL-1 β 的含量可以减少痛觉过敏,但是降低血液中的 IL-1 β 水平并无明显的抗痛觉过敏效应。这表明中枢而不是外周的 IL-1 β 参与痛觉过敏和感觉异常的过程。我们将重点介绍有关 IL-1 β 在中枢疼痛传导中的基础及临床研究的方法及进展。如鞘内 IL-1 β 对脊髓谷氨酸和前列腺素 E2 释放的影响(经脊髓微透析法),COX-2 阻断剂在神经性及非神经性疼痛治疗中的作用等。

Molecular Pharmacology of Sodium Channels and Local Anesthetics

Prof. Jhi-Joung Wang, MD, PhD
Chi-Mei Medical Center, Tainan, Taiwan

(Cocaine)



Cocaine

- 1860 Purification and naming by Niemann (Germany)
- 1884 First clinical use, topical, by Koller (Germany)
- First clinical use, nerve block, by Halsted (USA)

Procaine

- 1904 Synthesis by Einhorn (Germany)
- 1905 Clinical introduction by Braun (Germany)

Amethocaine (Pontocaine, Tetracaine)

- 1928 Synthesis by Eisleb
- 1932 Clinical introduction

Lignocaine (Lidocaine)

- 1943 Synthesis by Löfgren and Lundqvist
- 1947 Clinical introduction (Gordh)

Mepivacaine

- 1956 Synthesis by Ekenstam and Egner
- 1957 Clinical introduction (Dhunér)

Bupivacaine

- 1957 Synthesis by Ekenstam
- 1963 Clinical introduction by Widman and Telivuo

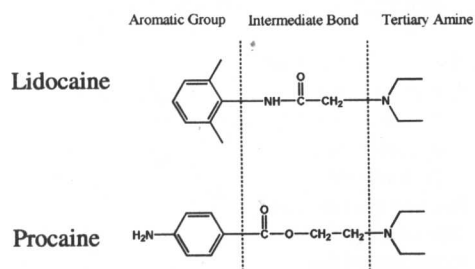
Etidocaine

- 1971 Synthesis by Takman
- 1972 Clinical introduction by Lund

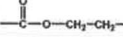
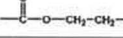
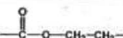
Ropivacaine

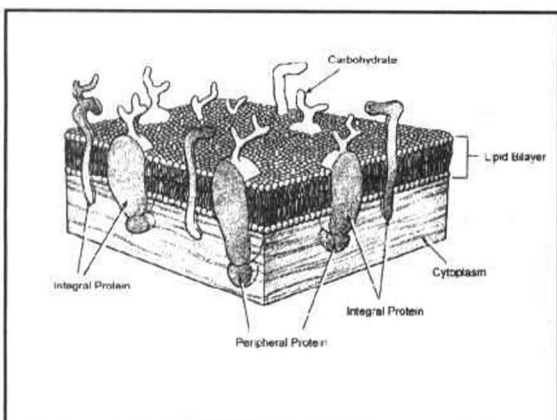
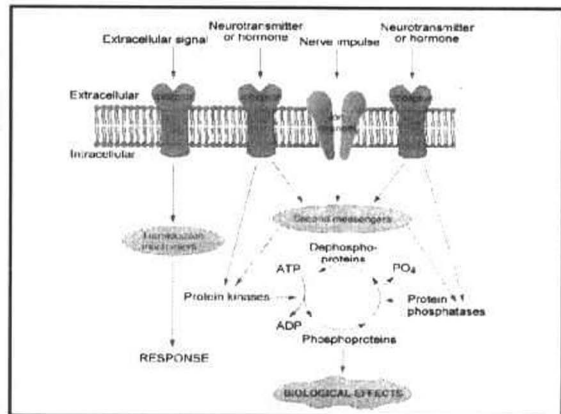
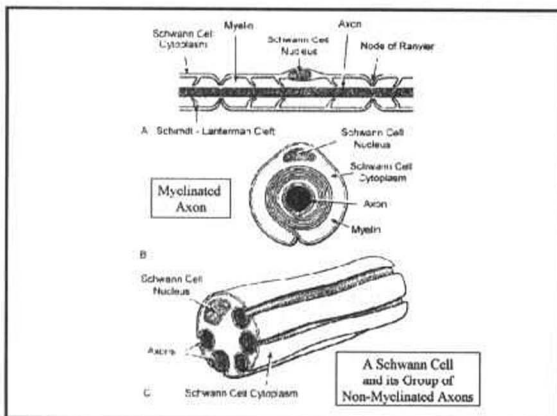
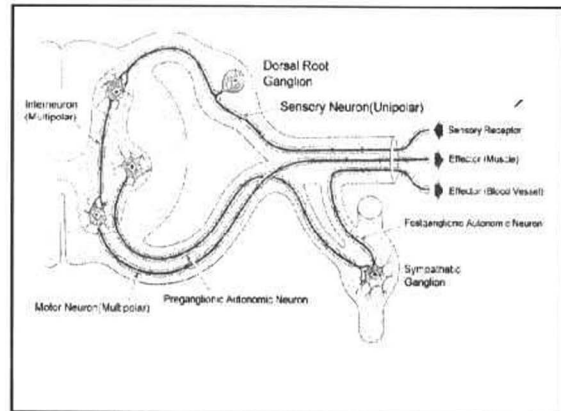
- 1957 Synthesis by Ekenstam
- 1997 Clinical introduction

Chemical Structures of Local Anesthetics



Amides	Aromatic group (lipophilic)	Intermediate chain	Amine group (hydrophilic)
Lidocaine		$\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$
Prilocaine		$\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{CH}_3)-$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$
Mepivacaine		$\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$
Ropivacaine		$\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$
Bupivacaine		$\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$
Etidocaine		$\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$

Esters	Aromatic group (lipophilic)	Intermediate chain	Amine group (hydrophilic)
Cocaine			
Procaine			
2-Chloroprocaine			
Tetracaine			
Benzocaine			—



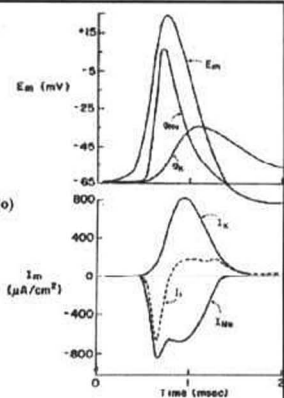
Physiology of Nerve Conduction

- Na-K ATPase pumps
- Nernst equation
- Positive feedback of depolarizing phase
- Refractory phase

$$E_m \approx E_K = \frac{-RT}{F} \ln \left(\frac{[K^+]_i}{[K^+]_o} \right)$$

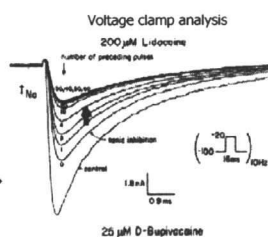
$$- E_K = -85.7 \text{ mV}$$

$$- E_{Na} = +60 \text{ mV}$$

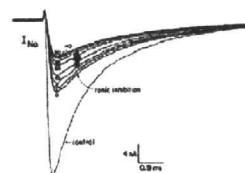


Actions of Local Anesthetics electrophysiology

- Tonic inhibition
 - Dose dependent
 - 40 mM (1%) lidocaine → totally abolished



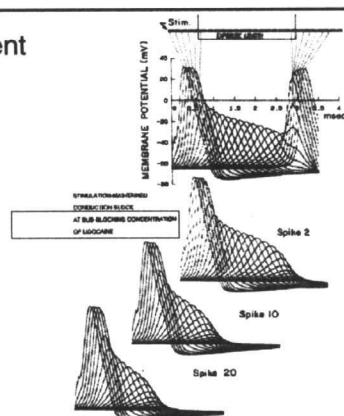
- Phasic inhibition
 - Use dependent block
 - Subclinical dose
 - During the onset & recovery period



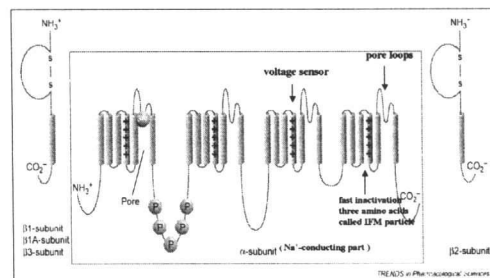
Use-dependent Block

In Vitro

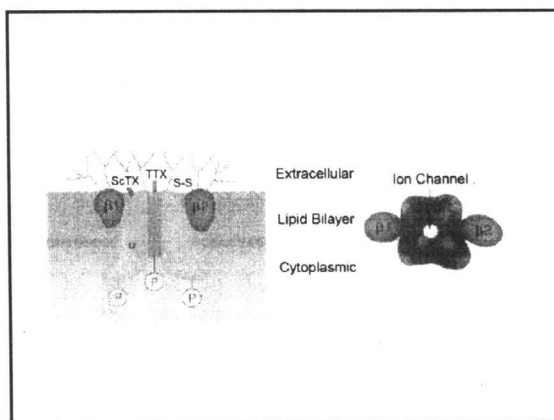
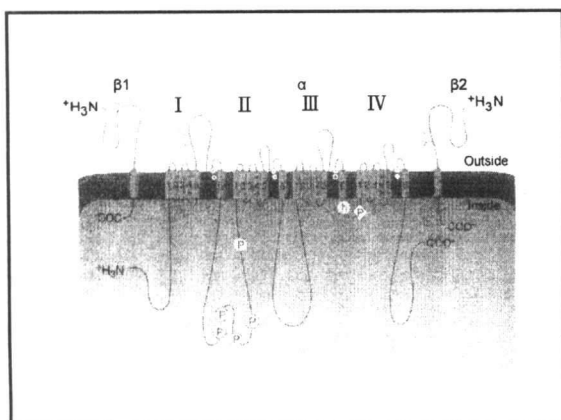
Phasic Inhibition



Sodium Channel



(Baker and Wood, Trends Pharmacol Sci 22: 27-31, 2001)



Structure of Na⁺ channels (α -subunit)

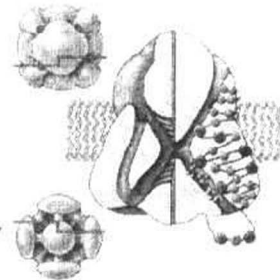


(Scholz A. Br J Anaesth 89: 52-61, 2002)

Structure of Na⁺ channels

top view

bottom view



(Scholz A. Br J Anaesth 89: 52-61, 2002)

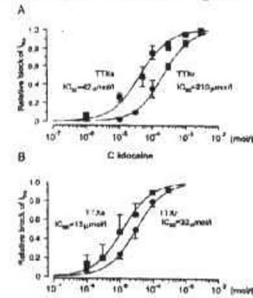
Table 1. Voltage-gated Na⁺ channel α -subunits of sensory neurones*

Channel	Previous name	Gene symbol	Chromosome (human)	Pharmacology
Na _v 1.1	Type I	SCN1A	2q24	TTX-s
Na _v 1.2	Type II	SCN2A	2q23-24	TTX-s
Na _v 1.3	Type III	SCN3A	2q24	TTX-s
Na _v 1.4	SkM	SCN4A	17q23-25	TTX-s
Na _v 1.5	Cardiac	SCN5A	3q21	TTX-r
Na _v 1.6	NaCh6	SCN8A	12q13	TTX-s
Na _v 1.7	PN1	SCN9A	2q24	TTX-s
Na _v 1.8	SNS/PN3	SCN10A	3q21-24	TTX-r
Na _v 1.9	NaN	SCN11A	3q21-24	TTX-r
Na _v	NaG	SCN6A/SCN7A	2q21-23	?

*Abbreviations: DRG, dorsal root ganglia; KO, gene knockout; TTX-s, tetrodotoxin-sensitive; TTX-r, tetrodotoxin-resistant

(Baker and Wood, Trends Pharmacol Sci 22: 27-31, 2001)

The blocking concentration of TTX-R Na⁺ channels was 2-5 times higher than blocking TTX-S ones



(Scholz et al., J Neurophysiol 79: 1746-1754, 1998)

Subtypes of VGSC

Nomenclature	Tissue localization	Inactivation rate	Putative function/null phenotype
Na _v 1.1	Predominantly in the CNS; Fast also found in DRG and motor neurons	Fast	Brain type sodium channel; primary afferent and motor neuron conductivity; mutations segregate with generalized epilepsy with febrile seizures in humans
Na _v 1.2	Predominantly in the CNS	Fast	Brain type sodium channel; null mutation is lethal
Na _v 1.3	Embryonic nervous system; adult CNS; injured DRG	Fast	Brain type sodium channel; upregulation may contribute to ectopic discharge in axotomized peripheral nerve

Subtypes of VGSC

Nomenclature	Tissue localization	Inactivation rate	Putative function/null phenotype
Na _v 1.4	Skeletal muscle	Fast	Skeletal muscle contractility
Na _v 1.5	Heart; embryonic DRG	Slow	Cardiac function
Na _v 1.6	DRG and motor neurons; also found in CNS	Fast	Mutation in mice results in phenotype that exhibits multiple neurological and neuromuscular dysfunction
Na _v 1.7	Predominantly in DRG; also found in CNS	Fast	Peripheral sodium channel subtype

Subtypes of VGSC

Nomenclature	Tissue localization	Inactivation rate	Putative function/null phenotype
Na _v 1.8	DRG (80% small diameter, 20% large diameter)	Slow	Contributes to action potential electroporation but not to setting nociceptive sensory thresholds (moderate hypoalgesia in null mutant may be due to Na _v 1.7 upregulation); redistribution along intact axons after
Na _v 1.9	DRG (small diameter), also found in hippocampus	Slow	May modulate resting potential of DRG and response to subthreshold stimuli

TTX Resistance Na Channel

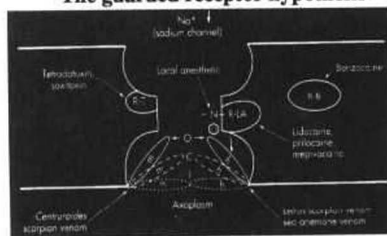
Na_v 1.8 v.s. neuropathic pain

- Na_v 1.8 null mutant mice
 - Moderate hypoalgesia to noxious thermal & mechanical stimuli
- L5/L6 spinal nerve, sciatic nerve ligation injury
 - Down-regulated Na_v 1.8 channel protein in injured L5 DRG cell bodies, normal expression in L4 DRG cell bodies
 - Upregulation in sciatic nerve 2 days after injury
- Antisense oligonucleotides
 - 'Knock-down' of Na_v 1.8 channel protein
 - Effectively reverses neuropathic pain in rat model
 - Unique coding sequence → do not alter the expression of Na_v 1.6, Na_v 1.7

tetrodotoxin	河豚毒素
saxitoxin	石房蛤毒素
μ-conotoxin	μ-芋螺毒素
d-conotoxin	d-芋螺毒素
batrachotoxin	南美毒蛙毒素
aconitine	烏頭鹼
grayanotoxin	QIN木毒素

α-scorpion toxins	α-蠍子毒素
β-scorpion toxins	β-蠍子毒素
sea anemone II toxin	海葵毒素 II
goniopora coral toxin	角孔珊瑚毒素
DDT	殺蟲劑
N-alkylamides	殺蟲劑
pyrethroids	殺蟲劑
dihydropyrazoles	殺蟲劑

The guarded receptor hypothesis



1. receptor is protected in the pore
2. drug molecules have to pass through the lipid membrane
3. channel needs to be open before it can be blocked
4. charged form acts on the receptor

Osherson, S. F., HANDBOOK OF LOCAL ANESTHETICS, 4th, P12, 1997

Neurotoxin and Insecticide Binding Sites on the Voltage-Gated Sodium Channels

site	neurotoxin	physiological effect
1	tetrodotoxin(TTX, 2) saxitoxin(STX, 3) μ-CONOTOXIN	inhibition of transport
2	batrachotoxin(BTX, 4) veratridine(6) aconitine(8) grayanotoxin(7) N-alkylamides	persistent activation

Neurotoxin and Insecticide Binding Sites on the Voltage-Gated Sodium Channels

site	neurotoxin	physiological effect
3	α -scorpion toxins	inhibition of activation
	sea anemone II toxin (ATX II)	enhancement of persistent activation
	d-atracotoxins	slow sodium current inactivation
4	β -scorpion toxins	shifting of voltage dependence
5	brevetoxins(9)	repetitive firing
	ciguatoxins(10)	shifting of voltage dependence

Neurotoxin and Insecticide Binding Sites on the Voltage-Gated Sodium Channels

site	neurotoxin	physiological effect
6	d-conotoxins(d-TxVIA)	inhibition of activation
7	DDT and analogues pyrethroids	inhibition of activation shifting of voltage dependence
8	goniopora coral toxin conus stratus toxin	inhibition of activation
9	local anesthetics anticonvulsants	inhibition of ion transport
	dihydropyrazoles	

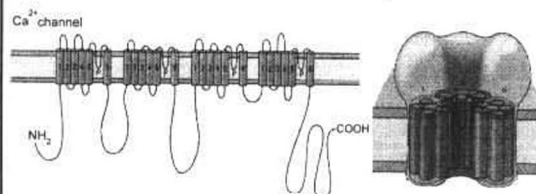
Actions of Local Anesthetics other targets

• Calcium channels

- Synaptic transmission, muscle contraction (E-C coupling)
- L-type > N-, T-type
- Potency
 - dibucaine > tetracaine > bupivacaine >> procaine = lidocaine
- IC_{50} : 5-15X of Na channel
- Interactions
 - Ca channel agonist reduced duration & potency of bupivacaine
 - Nifedipine, nicardipine increased effects of bupivacaine

Voltage-dependent Ca^{2+} channel

1. Structure : (Kandel et al., 2000)



Voltage-dependent Ca^{2+} channel

2. Currents Types :

high-voltage-activated Ca^{2+} currents (L-, N-, Q- and P-types)
low-voltage-activated Ca^{2+} current (T-type)

3. Location (human peripheral nerves) : (Quasthoff et al., 1995)

central ends of the fibres in the dorsal horn
some thin (mainly C) fibres

4. Function :

synaptic transmission and muscle cells

Actions of Local Anesthetics other targets

• Potassium channels

- Voltage-gated
 - 4-6X lower for bupivacaine, 10-80X lower for lidocaine
 - Broadening of the action potential
- Voltage-independent
 - Thin myelinated fibres of frog sciatic nerve
- ATP-sensitive K channel, heart muscle cell
- Ca-activated large conductance K channel (BK_{Ca}) activated at 20-80 mM ethanol
 - Reduce action potential duration, firing rate

