

· 临床研究 ·

疼痛敏感性及阿片类镇痛药用量与多巴胺转运体基因多态性的相关性

柯雪茹 雷波 王明春 曹兴华

【摘要】目的 探讨多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)基因(DAT1)多态性对疼痛敏感性、阿片类镇痛药用量的影响。**方法** 选择择期上腹部手术的汉族患者 121 例,抽取患者外周静脉血通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 DAT1 可变串联重复(VNTR)多态性,利用便携式压力测试仪对患者试验性疼痛压力痛阈(PPT)和压力耐痛阈(PTO)进行检测,记录患者术后阿片类镇痛药用量,分析患者的生物社会学特征和 DAT1 VNTR 多态性与疼痛敏感性和术后阿片类镇痛药用量的关系。**结果** 121 例患者中,DAT1 VNTR 等位基因的分布频率分别为 9R (18.2%)、10R (81.8%),基因型分布频率分别为 9R/9R (7.4%)、9R/10R (21.5%)、10R/10R (71.1%)。不同 DAT1 VNTR 等位基因型患者 PPT 和 PTO 差异无统计学意义,术后 24 h 和 48 h 阿片类药物用量差异无统计学意义。不同 DAT1 VNTR 等位基因型患者中,40 岁以下患者的 PTO 明显高于 65 岁以上的患者($P < 0.05$),阿片类镇痛药用量明显多于 65 岁以上患者($P < 0.05$)。**结论** DAT1 VNTR 多态性可能与疼痛敏感性、术后阿片类镇痛药用量无关。

【关键词】 多巴胺转运体;基因多态性;术后疼痛;阿片类

Association of single nucleotide polymorphisms of DAT1 with pain sensitivity and postoperative opioids dose

KE Xueru, LEI Bo, WANG Mingchun, CAO Xinghua. Operative Anesthesiology Department, Xinjiang Uygur Autonomous Region Traditional Chinese Medicine Hospital, Urumqi 830001, China

Corresponding author: CAO Xinghua, Email: sweetwords2001@163.com

【Abstract】Objective To explore the influence of dopamine transporter (DAT1) polymorphisms on pain sensitivity and postoperative opioids requirements in postoperative pain patients. **Methods** We enrolled 121 Chinese Han population patients scheduled to undergo upper abdominal surgery, and then the pressure pain threshold (PPT) and the pain tolerance domain (PTO) of patients were detected by stress stimulation. The DAT1 gene polymorphism was detected by collecting venous blood and polymerase chain reaction with restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The postoperative analgesic requirement of opioids was recorded after operation. The characteristics of patients and DAT1 gene polymorphism were analyzed to investigate whether these factors contributed to the variability of experimental pain sensitivity and postoperative opioids dose. **Results** In 121 patients, the distribution frequency of DAT1 VNTR allele was 9R (18.2%), 10R (81.8%), and the distribution frequency of genotype patients was 9R/9R (7.4%), 9R/10R (21.5%), and 10R/10R (71.1%). There was no association between DAT1 VNTR gene polymorphism, PPT, PTO and opioids dose. Patients had different DAT1 VNTR gene polymorphism, patients under 40 years old had significantly higher PTO compared to those over or at the age of 65 years ($P < 0.05$), patients under 40 years old needed higher opioids dose compared with those over or at the age of 65 years ($P < 0.05$). **Conclusion** The DAT1 VNTR polymorphism may be not associated with PPT, PTO and opioids dose.

【Key words】 Dopamine transporter; Gene polymorphism; Postoperative pain; Opioids

麻醉方法、手术类型、年龄、性别及心理状态等均可能影响术后疼痛^[1],但是这些已知的因素仍然不能够很好地反映术后疼痛差异和指导疼痛治疗。因此,寻找可靠稳定的实验室指标来预测个体术后

疼痛程度和镇痛反应尤为重要^[2]。近年来,许多临床研究也表明基因多态性可以显著影响健康人群和急慢性疼痛患者的疼痛敏感性以及对镇痛药物的反应,基因多态性的表达对个体疼痛和镇痛有着重要影响^[3-4]。多巴胺能通路是临床急性疼痛中启动的生理应激系统^[5],但目前关于多巴胺能通路基因多态性对疼痛敏感性的研究较少。本研究探讨多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)基因

DOI: 10.12089/jca.2019.12.002

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2017D01C171)

作者单位:830001 乌鲁木齐市,新疆维吾尔自治区中医医院手术麻醉科

通信作者:曹兴华,Email:sweetwords2001@163.com

(DAT1)3'端 40 bp 可变串联重复(variable number of tandem repeats, VNTR)多态性与疼痛敏感性的关系,为术后镇痛个体化用药提供参考。

资料与方法

一般资料 本研究已通过医院伦理委员会批准(XJMU-20180006),所有患者或其家属均已签署知情同意书。2018 年 3—9 月在新疆维吾尔自治区中医医院择期上腹部手术的汉族患者,性别不限,年龄 20~70 岁,ASA I 或 II 级,术前肝肾功能正常,无精神系统疾病史和家族精神疾病史,自愿选择 PCA。排除标准:慢性疼痛,有长期服用镇痛药及皮质醇类药物史,经反复讲解后仍不理解研究过程,无法正常沟通交流,严重肝肾功能障碍,严重心肺功能障碍,抑郁症,其他精神神经功能障碍,手术后因并发症 3 个月内再次手术,腹腔镜等微创手术。

麻醉与镇痛方法 麻醉诱导依次静脉注射咪达唑仑 0.05 mg/kg、芬太尼 5 μg/kg 和丙泊酚 1~2 mg/kg,患者意识消失后静脉注射顺式阿曲库铵 0.2 mg/kg,气管插管后行机械通气。麻醉维持:丙泊酚、瑞芬太尼经微量泵持续泵入,同时吸入七氟醚,根据术中血流动力学变化及时调整泵入速度和吸入浓度,必要时追加顺式阿曲库铵。术后将患者送入麻醉恢复室。术后患者均行 PCA,镇痛药配方:舒芬太尼 100 μg 和昂丹司琼 8 mg 溶于 250 ml 生理盐水中,负荷量 25 ml,PCA 剂量 4 ml,背景输注速度 4 ml/h,锁定时间 15 min。若 VAS 评分>3 分则静脉注射舒芬太尼 20 μg,可重复使用,直至 VAS 评分≤3 分。

VNTR 多态性检测方法 仪器与试剂:核酸纯化试剂盒,PCR 仪和台式高速离心机,Taq DNA 聚合酶。患者入手术室完成静脉置管后采集静脉血 8 ml 加入 EDTA 抗凝的无菌真空管,标记编号后储存于-20℃冰箱保存,用于外周血基因组 DNA 及进行 SNP 分析。DAT1 在 3'端非转录区有一个包含 40 bp 3~13 倍拷贝的 VNTR,采用聚合酶链式反应

(PCR)分析 DAT1 VNTR 多态性。上游引物序列:5'-TGTGGTGTAGGGAACGGCCTGAG-3',下游引物序列:5'-CTTCCTGGAGGTCACGGCTCAAGG-3'。

术前试验性疼痛评估 手术前 1 d 采用便携式压力测试仪测定压力痛域(pressure pain threshold, PPT)和压力耐痛域(pressure pain tolerance, PTO)。测试区域为患者右前臂内侧腕横纹上 2 cm 处,通过压力测试仪逐渐以 1 kg/s 匀速递增的压力刺激 1 cm² 固定测试区域。根据患者表述,记录患者首次感觉到疼痛压迫时的压力数值,记为 PPT,以及患者感觉到疼痛无法耐受时的压力数值为 PTO。重复 3 次,每次间隔 30 min,计算并记录均值。

统计分析 采用 SPSS 20.0 软件包对数据进行统计分析。各组基因型和等位基因频率差异采用χ² 检验,用 Hardy-Weinberg 平衡检验样本群体代表性。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析;计数资料以例(%)表示,采用χ² 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

本研究共纳入 121 例患者,其中男 65 例(53.7%),年龄(49.6±6.7)岁,体重(60.2±7.9)kg。VNTR 多态性中 9R、10R 等位基因的分布频率分别为 81.8%、18.2%,121 例患者中 9R/9R 基因型患者 9 例(7.4%),9R/10R 基因型患者 26 例(21.5%),10R/10R 基因型患者 86 例(71.1%),所选人群具有一定代表性,处于 Hardy-Weinberg 平衡状态样本分布符合遗传平衡法则。DAT1 VNTR 不同基因型患者性别、年龄、手术时间和切口长度等差异无统计学意义(表 1)。

不同 DAT1 VNTR 基因型患者的 PPT 和 PTO 差异均无统计学意义(表 2)。

不同 DAT1 VNTR 基因型患者中,40 岁以下患者的 PPT 和 PTO 均明显高于 65 岁以上的患者($P <$

表 1 DAT1 不同基因型患者人口学资料和临床特征的比较

基因型	例数	男/女 (例)	年龄 (岁)	手术时间 (min)	切口长度 (cm)	手术种类[例(%)]			
						胃癌根治术	乙状结肠癌根治术	右半结肠切除术	直肠癌根治术
9R/9R	9	4/5	48.6±7.9	175.6±52.3	14.6±1.6	5(55.6)	1(11.1)	1(11.1)	2(22.2)
9R/10R	26	14/12	49.5±8.2	177.2±53.1	15.1±1.5	12(46.2)	3(11.5)	2(7.7)	9(34.6)
10R/10R	86	47/39	49.7±8.7	178.8±51.7	14.7±1.7	42(48.8)	9(10.5)	7(8.1)	28(32.6)

0.05), 而同年龄不同基因型的患者 PPT 和 PTO 差异无统计学意义(表 3)。

表 2 DAT1 不同基因型患者 PPT 和 PTO 的比较 (kg/cm², $\bar{x} \pm s$)

基因型	例数	PPT	PTO
9R/9R	9	3.4±1.1	5.6±1.6
9R/10R	26	3.2±1.0	5.9±1.1
10R/10R	86	3.4±1.1	5.7±1.3

表 3 DAT1 VNTR 多态性不同年龄患者 PPT 和 PTO 的比较 (kg/cm², $\bar{x} \pm s$)

基因型	年龄(岁)	例数	PPT	PTO
	<40	3	3.8±1.0	6.6±1.1
9R/9R	40~65	2	3.4±1.2	5.7±1.7
	>65	4	3.2±1.1 ^a	4.7±1.6 ^a
	<40	8	3.7±1.2	6.6±1.0
9R/10R	40~65	10	3.4±1.3	5.4±1.5
	>65	8	3.1±1.2 ^a	4.8±1.3 ^a
	<40	23	3.7±1.1	6.7±1.3
10R/10R	40~65	24	3.6±1.1	5.7±1.5
	>65	39	3.1±1.0 ^a	4.8±1.5 ^a

注:与<40岁比较,^a P<0.05

DAT1 不同基因型患者术后 24 h 和 48 h 阿片类镇痛药用量差异无统计学意义(表 4)。

表 4 DAT1 不同基因型患者术后阿片类镇痛药用量的比较 (μg/kg, $\bar{x} \pm s$)

基因型	例数	24 h	48 h
9R/9R	9	11.3±4.7	22.3±8.1
9R/10R	26	11.8±4.4	21.4±9.6
10R/10R	86	12.2±4.3	23.7±10.2

不同 DAT1 VNTR 基因型患者中, 术后 24 h 及 48 h 内, 40 岁以下患者的阿片类镇痛药用量明显多于 65 岁以上的患者 (P<0.05), 而同年龄不同基因型患者镇痛药用量差异无统计学意义(表 5)。

讨 论

多巴胺能系统在人体发挥作用主要是通过多巴胺受体和 DAT 实现。多巴胺受体可影响疼痛信号

表 5 DAT1 VNTR 多态性不同年龄患者术后阿片类镇痛药用量的比较 (μg/kg, $\bar{x} \pm s$)

基因型	年龄(岁)	例数	24 h	48 h
	<40	3	14.3±4.6	27.7±7.8
9R/9R	40~65	2	14.6±7.2	23.5±9.7
	>65	4	9.9±5.1 ^a	15.5±8.9 ^a
	<40	8	14.4±4.7	26.9±8.5
9R/10R	40~65	10	14.1±6.6	24.1±10.1
	>65	8	10.1±4.9 ^a	15.2±8.1 ^a
	<40	23	14.0±4.1	27.3±7.8
10R/10R	40~65	24	14.5±7.2	23.2±11.1
	>65	39	10.0±4.5 ^a	14.9±8.6 ^a

注:与<40岁比较,^a P<0.05

的处理和阿片类药物的作用, 该作用可由多巴胺通过激活中枢不同部位的受体而产生, 而 DAT1 编码钠依赖的 DAT, 此转运体能够通过再摄取突触前神经递质而调节细胞外的多巴胺浓度^[6]。动物实验和临床研究发现, 边缘系统的多巴胺可经奖赏环路参与阿片类药物的镇痛、成瘾和依赖, 通过内源性疼痛调制系统, 中脑多巴胺则可对疼痛感知、传导及调控产生影响^[5,7]。

DAT1 又称为溶质载体家族 6 的 3 号基因 (SLC6A3), DAT1 在 3' 端非转录区有一个包含 40 bp 3~13 倍拷贝的 VNTR 多态性, 以往关于 DAT1 的研究较多关注的是与精神类疾病、抑郁和注意缺陷多动障碍^[8]等的关系上, 而 DAT1 VNTR 多态性与术后疼痛的相关研究较少。常培叶等^[9]报道 52 例成年人 DAT1 VNTR 各基因型的分布频率为 10% (9R/9R 基因型)、17% (9R/10R 基因型) 和 73% (10R/10R 基因型), 9R、10R 等位基因的分布频率分别为 19%、81%。本研究结果显示, 121 例患者中 9R、10R 等位基因的分布频率分别为 18.2% 和 81.8%, 各基因型的分布频率为 7.4% (9R/9R 基因型)、21.5% (9R/10R 基因型)、71.1% (10R/10R 基因型)。不同研究中受试者性别、地域和样本数量不同, 所以与文献比较时, 相关基因型的分布频率会存在一定差异。通过检测患者术前试验性疼痛敏感性, 分析不同基因型患者疼痛敏感性与基因型之间的关系, 可发现不同基因型患者基因型表达差异对 PPT 和 PTO 无明显影响。在本研究使用阿片类药物镇痛的 121 例患者中, 不同基因型患者阿片类药物镇痛剂量差异无统计学意义, 说明 DAT1

VNTR 多态性与患者疼痛敏感性及术后镇痛无明显关联。过往研究表明, DAT1 基因上的 VNTR 序列处于转录调控区域, 对基因表达有调控作用, 可能会影响相应基因的 mRNA 转录, 从而调节特定细胞内转运体浓度^[10]。DAT1 多态性已经被证实与健康人的急性实验性疼痛的严重程度有关, 能够预测实验性疼痛的严重程度。Treister 等^[11] 在健康人群实验性疼痛模型中, 研究了阿朴吗啡对实验性疼痛的影响, 同时探索了 3' 非翻译区 40 bp VNTR 多态性与 DAT1 的关系, 结果表明 10R/10R 基因型患者疼痛耐受能力强于 9R/10R 基因型, DAT1 VNTR 多态性可以增强阿朴吗啡提高疼痛耐受的作用。然而, 在另一项有关多巴胺基因与内源疼痛调节的研究中^[12], 结果显示疼痛调节主要与 5-羟色胺转运体基因多态性有关, 与 DAT1 VNTR 多态性无关, 该结果与本研究 VNTR 未能显示等位基因或基因型与疼痛敏感性及术后镇痛相关联的结果一致。对上述研究进行分析, 可能是遗传背景或种族差异造成了结果不一致, 也可能是样本量太小造成。

除 DAT1 VNTR 多态性之外, 患者自身的特征如年龄、性别、体重等均可能影响疼痛感知和镇痛需求。不同年龄患者, PPT 和 PTO 结果不同, 表明患者自身特征中, 年龄可能成为影响疼痛耐受阈的主要因素, 40 岁以下患者疼痛耐受阈显著高于 65 岁以上患者, 体重对患者疼痛耐受阈没有影响。此外, 年龄还可能是影响术后阿片类镇痛药用量的重要因素。研究结果显示, 年龄大于 65 岁的患者术后 24 h 和 48 h 的阿片类药物用量明显低于 40 岁以下患者。在一项关于吗啡的镇痛研究中也有类似结果^[13], 老年人对阿片类药物需求较年轻人明显降低, 可能与老年人出现肾功能减退、肝血流减少且部分酶活性降低有关, 因为术后镇痛药物主要通过肝脏代谢, 再经肾脏排泄清除, 药物在老年人体内半衰期可能会延长。

综上所述, DAT1 VNTR 多态性与疼痛敏感性 & 阿片类镇痛用量无明显相关性, 但不同 DAT1 VNTR 多态性患者年龄可能影响疼痛感知和镇痛需求。DAT1 也可能存在其他多态性位点与疼痛和阿片类镇痛药用量有关, 有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Al-Hashimi M, Scott S, Griffin-Teall N. Influence of ethnicity on the perception and treatment of early post-operative pain. *Br J Pain*, 2015, 9(3): 167-172.
- [2] Babazade R, Turan A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of sublingual sufentanil in the treatment of post-operative pain. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2016, 12(2): 217-224.
- [3] Pettini E, Micaqlio M, Bitossi U, et al. Influence of OPRM1 polymorphism on postoperative pain after intrathecal morphine administration in Italian patients undergoing elective cesarean section. *Clin J Pain*, 2018, 34(2): 178-181.
- [4] Persson AKM, Pettersson FD, Akeson J. Single nucleotide polymorphisms associated with pain sensitivity after laparoscopic cholecystectomy. *Pain Med*, 2018, 19(6): 1271-1279.
- [5] Taylor AM, Becker S, Schweinhardt P, et al. Mesolimbic dopamine signaling in acute and chronic pain: implications for motivation, analgesia, and addiction. *Pain*, 2016, 157(6): 1194-1198.
- [6] Butler B, Saha K, Rana T, et al. Dopamine transporter activity is modulated by α -synuclein. *J Biol Chem*, 2015, 290(49): 29542-29554.
- [7] Darvish-Ghane S, Yamanaka M, Zhuo M. Dopaminergic modulation of excitatory transmission in the anterior cingulate cortex of adult mice. *Mol Pain*, 2016, 12: 1-14.
- [8] Hsiao MC, Lin KJ, Liu CY, et al. The interaction between dopamine transporter function, gender differences, and possible laterality in depression. *Psychiatry Res*, 2013, 211(1): 72-77.
- [9] 常培叶, 赵平, 王雪梅, 等. 多巴胺转运体基因多态性与帕金森病的易感性及 PET/CT 显像. *中国老年学杂志*, 2018, 38(21): 5244-5246.
- [10] Haddley K, Vasiliou AS, Ali FR, et al. Molecular genetics of monoamine transporters: relevance to brain disorders. *Neurochem Res*, 2008, 33: 652-667.
- [11] Treister R, Pud D, Ebstein RP, et al. Dopamine transporter genotype dependent effects of Apomorphine on cold pain tolerance in healthy volunteers. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63808.
- [12] Treister R, Pud D, Ebstein RP, et al. Association between polymorphisms in serotonin and dopamine-related genes and endogenous pain modulation. *J Pain*, 2011, 12(8): 875-883.
- [13] Keïta H, Tubach F, Maalouli J, et al. Age-adapted morphine titration produces equivalent analgesia and adverse effects in younger and older patients. *Eur J Anaesthesiol*, 2008, 25(5): 352-356.

(收稿日期: 2019-03-10)