

● 实验研究 ●

引用:张亮平,陈小梅,俞向梅,王志福,郑美凤. 电针环跳、阳陵泉穴对神经痛大鼠海马区 NAA、Glu 变化的影响[J]. 湖南中医杂志,2020,36(1):126-128.

电针环跳、阳陵泉穴 对神经痛大鼠海马区 NAA、Glu 变化的影响

张亮平¹,陈小梅²,俞向梅³,王志福³,郑美凤¹

(1. 福建中医药大学针灸学院,福建 福州,350122;

2. 福建中医药大学康复医学院,福建 福州,350122;

3. 福建中医药大学中西医结合学院,福建 福州,350122)

[摘要] 目的:从左侧海马区神经递质 N-乙酰天门冬氨酸(NAA)、谷氨酸(Glu)变化探讨电针环跳、阳陵泉穴对神经痛的中枢作用机制。方法:将 30 只实验大鼠随机分为假手术组、模型组、电针组,每组各 10 只,建立慢性限制性损伤(CCI)神经痛大鼠模型。模型组造模后不干预;电针组造模后第 7 天选取右侧环跳、阳陵泉穴行电针干预 1 周;假手术组正常饮食不干预。采用 Von-Frey 测定法检测大鼠右侧足底机械痛阈值变化;磁共振波谱技术检测左侧海马区神经递质 NAA、Glu 的变化。结果:与假手术组相比,模型组造模后右侧足底机械痛阈值显著降低($P < 0.01$);左侧海马区 Glu 显著升高,NAA 明显降低($P < 0.01$)。与模型组相比,电针组干预后右侧足底机械痛阈值显著提高($P < 0.05$),海马区 Glu 显著降低($P < 0.05$),而 NAA 明显升高($P < 0.05$)。结论:电针可缓解神经痛大鼠机械痛过敏,其作用机制可能与降低海马区 Glu、提高 NAA 有关。

[关键词] 神经痛;电针;神经递质;NAA;Glu;实验研究

[中图分类号]R245 **[文献标识码]**A **DOI:**10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2020.01.054

Effect of electroacupuncture at Huantiao and Yanglingquan acupoints on the changes in N-acetylaspartate and glutamic acid in the hippocampus of rats with neuralgia

ZHANG Liangping, CHEN Xiaomei, YU Xiangmei, WANG Zhifu, ZHENG Meifeng

(1. College of Acupuncture and Moxibustion, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122, China;

2. College of Rehabilitation, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122, China;

3. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122)

[Abstract] Objective: To investigate the central mechanism of action of electroacupuncture at Huantiao and Yanglingquan acupoints by observing the changes in the neurotransmitters N-acetylaspartate (NAA) and glutamic acid (Glu) in the left hippocampus. Methods: A total of 30 experimental rats were randomly divided into sham-operation group, model group, and electroacupuncture group, with 10 rats in each group, and a rat model of neuralgia due to chronic constriction injury was established. The rats in the model group were given no intervention after modeling, and those in the electroacupuncture group were given electroacupuncture (beginning on day 7 after modeling) at Huantiao and Yanglingquan acupoints on the right side for one week. The rats in the sham-operation group were given normal diet without intervention. The von Frey test was used to measure the change in the mechanical pain threshold of the right hind paw, and magnetic resonance spectroscopy was used to measure the changes in the neurotransmitters NAA and Glu in the left hippocampus. Results: Compared with the sham-operation group, the model group had a significant reduction in the mechanical pain threshold of the right hind paw after modeling ($P < 0.01$), as well as a significant increase in Glu and a significant reduction in NAA in the left hippocampus ($P < 0.01$). Compared with the

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81774385);福建省自然科学基金面上项目(2016J01665)

第一作者:张亮平,男,2017 级硕士研究生,研究方向:针刺效应临床与基础研究

通讯作者:郑美凤,女,教授,硕士研究生导师,研究方向:针刺效应临床与基础研究, E-mail: sissy62@163.com

model group, the electroacupuncture group had a significant increase in the mechanical pain threshold of the right hind paw after intervention ($P < 0.05$), as well as a significant reduction in Glu and a significant increase in NAA in the left hippocampus (both $P < 0.05$). Conclusion: Electroacupuncture can alleviate mechanical hyperalgesia in rats with neuralgia, possibly by reducing Glu and increasing NAA in the hippocampus.

[Key words] neuralgia; electroacupuncture; neurotransmitter; N-acetylaspartate; glutamic acid; experimental study

神经病理性疼痛(简称神经痛),是由神经系统原发性损害或功能障碍所诱发而引起的疼痛^[1]。在神经痛发生发展的过程中,海马区扮演着重要的角色^[2]。质子磁共振波谱(MRS)可以非侵入性地评估选定脑区神经元代谢物质的变化,包括神经元标志物 N-乙酰天冬氨酸(NAA)和谷氨酸(Glu)等^[3]。临床与基础研究表明,电针环跳、阳陵泉穴对神经痛镇痛效果明确,而其中枢神经递质的调节机制有待进一步探讨。本研究建立慢性限制性损伤(chronic constriction injury, CCI)神经痛实验模型,应用 MRS 扫描技术,观察电针后神经痛大鼠左侧海马区 NAA、Glu 含量的变化,探讨针刺治疗神经痛的中枢作用机制。

1 实验材料

1.1 动物 清洁级健康雄性 SD 大鼠 30 只,2~3 个月龄,体质量 180~200g,购自福建中医药大学实验动物中心,合格证号:SCXK(沪)2017-0005。饲养于 12h 光照、12h 黑暗的环境中,自由摄食和饮水。

1.2 主要试剂与仪器 7.0T 超导磁共振仪(德国 Bruker 公司);Von-Frey 针刺痛觉测试套件(上海软隆科技发展有限公司);华佗牌 0.25mm×25mm 针灸针(苏州医疗用品厂有限公司);华佗牌电子针疗仪 SDZ-V 型电针仪(苏州医疗用品厂有限公司)。

2 实验方法

2.1 造模方法 将 30 只大鼠随机分为假手术组、模型组、电针组,每组各 10 只。参照文献[4]建立 CCI 神经痛大鼠模型。方法:造模前将羊肠线浸泡在 0.9% 氯化钠注射液至少 1h。大鼠予戊巴比妥麻醉后俯卧置于手术台上,右后肢剔毛,消毒,切开腿部皮肤,逐层钝性分离皮下脂肪、浅筋膜,暴露坐骨神经主干,在坐骨神经中段用 4-0 铬制羊肠线松扎四道,结扎力度以不影响神经外膜的血液运输为宜,在结扎最后一道羊肠线时,轻拉至腿部肌肉出现跳动,然后逐层缝合,术后青霉素粉末预防感染。假手术组只暴露坐骨神经不结扎,其他手术操作相同。

2.2 干预方法 在造模成功后第 7 天,电针组采用 $\Phi 0.25\text{mm} \times 25\text{mm}$ (1 寸)华佗牌针灸针,参照《实验针灸学》^[5]取患侧(右侧)环跳、阳陵泉穴,常规刺入 15mm,华佗牌电子针疗仪 SDZ-V 型电针仪设定波形为连续波,频率为 2Hz,强度为 1mA,大鼠腿部肌肉微微抖动。通电刺激 30min,每天 1 次,连续干预 7d。模型组、假手术组同等条件抓取,无干预措施。

2.3 磁共振波谱扫描 各组大鼠分别在造模后第 7 天(干预前)、造模后第 14 天(干预后)进行磁共振波谱扫描。MRI 扫描于 7.0T MRI (Bruker PharmaScan, Bruker BioSpin, 德国)上进行。将动物麻醉并锚定在扫描床上的俯卧位,头部固定采用大鼠头部专用线圈。T2WI 序列扫描 (TR = 2500ms,

TE = 36ms, 采样矩阵 256 × 256, 切片厚度 0.8mm, 层间距 1mm, 共 15 层, 视野 3.5cm × 3.5cm), 在常规 T2WI 序列上选取感兴趣区 (VOI) 为左侧海马, 其立方区域为 3mm × 2mm × 2mm。磁共振波谱采用氢质子磁共振波谱 (1H-1 MRS) 方法, 检查采用点分辨表面线圈序列 (PRESS), 序列用于获得 1H 光谱 (光谱宽度: 1500Hz, 样品点 2048, TR = 2500ms, TE = 20ms)。

2.4 指标采集与检测

2.4.1 右侧足底机械痛行为检测 采用 Von-Frey 测定法检测, 用 up-down 法推算 50% 缩爪阈值 (PWT), 以此反应大鼠的机械痛敏情况^[6]。方法: 在安静环境中, 室温 (22 ± 2) °C, 将大鼠置于金属筛网上的有机玻璃箱 (22cm × 12cm × 22cm) 中, 待大鼠适应 20min 后, 用 Von Frey 纤维丝垂直刺激大鼠右侧 (患侧) 足底后肢足底中部, 持续时间 ≤ 3s, 大鼠出现抬足或舔足行为视为阳性反应, 否则为阴性反应。测定首先从 2g 刺激开始, 当该力度的刺激不能引起阳性反应, 则给予相邻大一级力度的刺激; 如出现阳性反应则给予相邻小一级力度的刺激。如此连续进行, 直至出现第一次阳性和阴性反应的骑跨, 再连续测定 4 次。最大力度为 15g, 大于此值时记为 15g。每次刺激间隔 30s。

2.4.2 左侧海马区 NAA、Glu 检测 采用 Bruker 7.0T 超导磁共振成像仪测定各大鼠海马的 1H-MRS 变化。采用 MRS 扫描仪系统预设软件完成基线校准、信号平均、代谢物识别, 且自动计算各种代谢物波峰曲线下面积。处理工作站自动生成以 Cr 为参照的各种代谢物信号强度的比值。记录每只大鼠的 NAA、Glu 与 Cr 做比的相对含量。Cr 在脑内含量较为稳定, 常用作内部参考组。其中 NAA/Cr 可以在一定程度上反应神经元活性和数量。Glu/Cr 可以反应兴奋性氨基酸的相对含量。

2.5 统计学方法 应用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理, 所有数据均用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠干预前后右侧足底刺激机械痛阈值比较 与假手术组相比, 干预前模型组与电针组大鼠机械痛阈值均显著降低; 与模型组相比, 电针组干预后大鼠机械痛阈值显著升高, 差异均有统计学意义。(见表 1)

表 1 各组大鼠干预前后右侧足底刺激机械痛阈值比较 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	只数	干预前	干预后
假手术组	10	10.48 ± 4.88	10.95 ± 3.46
模型组	10	4.04 ± 1.81 ^a	4.16 ± 2.64 ^a
电针组	10	3.46 ± 0.80 ^a	7.94 ± 2.29 ^b

注:与假手术组相比,^a $P < 0.01$;与模型组相比,^b $P < 0.01$ 。

3.2 各组大鼠干预前后左侧海马区 Glu/NAA 比较 磁共振波谱分析结果表明,与假手术组相比,干预前模型组、电针组大鼠左侧海马区 Glu 含量显著增多,而 NAA 含量显著降低,差异均有统计学意义;与模型组相比,电针组干预后大鼠左侧海马区 Glu 显著降低,NAA 显著增多,差异均有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组大鼠干预前后左侧海马区 Glu/NAA 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	干预前		干预后	
		Glu/Cr	NAA/Cr	Glu/Cr	NAA/Cr
假手术组	10	0.81 ± 0.06	1.63 ± 0.18	0.83 ± 0.08	1.55 ± 0.13
模型组	10	0.91 ± 0.07 ^a	1.36 ± 0.09 ^a	1.07 ± 0.08	1.40 ± 0.14
电针组	10	0.91 ± 0.09 ^a	1.37 ± 0.11 ^a	0.95 ± 0.14 ^b	1.52 ± 0.06 ^b

注:与假手术组相比,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

4 讨 论

神经痛属中医学“痛痹”范畴,多因风寒湿外邪侵袭、气血痹阻经脉所致。《天星秘诀》云:“冷风湿痹针何处,先针环跳次阳陵。”在经络腧穴中,环跳、阳陵泉穴为疏导下肢少阳、太阳经气之要穴,电针此二穴可显著缓解神经痛痛敏反应^[7-10]。

海马作为大脑结构的一部分,与许多慢性疼痛密切相关,并参与神经痛异常敏化的发生^[11-12],是负责调解情绪、传递伤害性疼痛信息和处理疼痛刺激的重要结构^[13]。研究发现,在神经痛发生的过程中,海马区神经递质 Glu 和 NAA 的含量发生显著变化^[14-15]。NAA 通常被认为是神经元和轴突的标志物,用质子磁共振波谱(1H-MRS)测量的 NAA 信号可反映疼痛脑区神经元密度和线粒体的完整性^[16-17]。已有大量研究证实,在各种疼痛发生过程中,背侧丘脑 NAA 含量显著下降,反应疼痛治疗的低效应^[18]。此外,研究发现,慢性疼痛人群中海马区 NAA 水平亦显著降低^[19]。Glu 是大脑兴奋性突触传递的主要介质,其异常活动与疼痛的病理生理发展有关^[15]。研究表明,保留性坐骨神经损伤(SNI)神经痛 12 周,海马区 Glu 兴奋性显著升高,MRS 扫描提示海马区 Glu 含量增多^[20]。

本实验研究发现,CCI 诱导神经痛发生时,海马区 Glu 含量显著升高,海马 Glu 能神经元异常兴奋,提示海马区中枢敏化可能参与神经痛的发生;海马区 NAA 含量降低,提示海马区部分神经元或轴突的丢失,不利于神经痛的恢复。研究结果提示,电针可调整上述海马区神经递质含量的变化,可能是电针抑制海马中枢敏化,减轻痛敏反应的有效机制之一,其具体机制有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] TORRANCE N, SMITH BH, BENNETT MI, et al. The epidemiology of chronic pain of predominantly neuropathic origin. Results from a general population survey[J]. Journal of Pain, 2006, 7(4): 281-289.

[2] MUTSO AA, RADZICKI D, BALKL MN, et al. Abnormalities in hippocampal functioning with persistent pain[J]. Journal of Neuroscience, 2012, 32(17): 5747-5756.

[3] CHANG L, MUNSAKA SM, KRAFT - TERRY S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to assess neuro inflammation and neuropathic pain[J]. Journal of neuroimmune pharmacology, 2013, 8

(3): 576-593.

[4] BENNETT GJ, XIE Y. An experimental peripheral neuropathy in rat that produces abnormal pain sensation [J]. Pain, 1987, 30(11): S346.

[5] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007.

[6] CHAPLAN SR, BACH FW, POGREL JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1): 55-63.

[7] 王志福, 俞向梅, 龚德贵, 等. 电针“阳陵泉”“环跳”对神经病理性疼痛大鼠脊髓 SOCS3 的影响[J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21(5): 335-340.

[8] 楼雪君. 电针治疗坐骨神经痛 60 例疗效观察[J]. 中国针灸, 2000, 20(S1): 165-166.

[9] 王志福, 杨意州, 刘建波, 等. 基于脊髓 NLRP1 - Caspase - 1 - IL - 1 β 通路探讨电针治疗神经病理性疼痛的作用机制[J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(9): 656-660.

[10] 马铁明. 针刺治疗坐骨神经痛取穴规律的文献研究[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(5): 1084-1086.

[11] MUTSO AA, RADZICKI D, BALIKI MN, et al. Abnormalities in hippocampal functioning with persistent pain[J]. Journal of Neuroscience, 2012, 32(17): 5747-5756.

[12] MUTSO AA, PETRE B, HUANG L, et al. Reorganization of hippocampal functional connectivity with transition to chronic back pain[J]. Journal of Neurophysiology, 2014, 111(5): 1065-1076.

[13] MCEWEN BS. Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load[J]. Annals of the new york academy of sciences, 2010, 933(1): 265-277.

[14] WANG X, ZHONG X, LI Z, et al. Differential roles of hippocampal glutamatergic receptors in neuropathic anxiety-like behavior after partial sciatic nerve ligation in rats[J]. BMC Neuroscience, 2015, 16(1): 1-12.

[15] SAFFARPOUR S, SHAABANI M, NAGHDI N, et al. In vivo evaluation of the hippocampal glutamate, GABA and the BDNF levels associated with spatial memory performance in a rodent model of neuropathic pain[J]. Physiology & Behavior, 2017(175): 97-103.

[16] PASLAKIS G, TR BER F, ROBERZ J, et al. N - acetyl - aspartate (NAA) as a correlate of pharmacological treatment in psychiatric disorders: a systematic review [J]. European Neuropsychopharmacology the Journal of the European College of Neuropsychopharmacology, 2014, 24(10): 1659-1675.

[17] JUN - ICHI T. Neurochemistry of hypomyelination investigated with MR spectroscopy[J]. Magnetic resonance in medical sciences, 2015, 14(2): 85-91.

[18] FUKUI S, MATSUNO M, INUBUSHI T, et al. N - acetylaspartate concentrations in the thalami of neuropathic pain patients and healthy comparison subjects measured with 1H - MRS [J]. Magnetic Resonance Imaging, 2006, 24(1): 75-79.

[19] ZIMMERMAN ME, PAN JW, HETHERINGTON HP, et al. Hippocampal correlates of pain in healthy elderly adults [J]. Alzheimers & Dementia, 2009, 5(4): 57-58.

[20] BILBAO A, FALFÁN - MEIGOZA C, LEIXNER S, et al. Longitudinal structural and functional brain network alterations in a mouse model of neuropathic pain[J]. Neuroscience, 2018; S2006765823.