

补肝健腰方对腰椎间盘突出大鼠血清代谢组学的影响研究

尹晨东¹ 仇湘中^{2△}

[摘要] **目的:**探讨补肝健腰方对腰椎间盘突出大鼠模型血清代谢组学的影响。**方法:**将 60 只大鼠按随机数字表法,分为正常组 12 只、假手术组 12 只、造模组 36 只。造模组 36 只大鼠进行自身尾椎椎间盘移植法腰椎间盘突出模型(L_{5/6})造模处理,假手术组只暴露 L₅ 神经根,不给予自体尾椎椎间盘移植。对造模后进行神经功能评分及观察其行为学改变,造模成功后,将造模组分为模型组、中剂量组、高剂量组,每组 12 只,并进行中药干预。其中中、高剂量组分别给予补肝健腰方中、高剂量汤剂灌胃,正常组、模型组、假手术组,给予等剂量生理盐水灌胃。分别于干预后第 1,2,3 周采集大鼠腹主动脉血清进行代谢组学分析,回收包埋在 L₅ 神经根处的尾椎椎间盘标本,HE 染色后用光学显微镜下对标本进行组织形态学观察。**结果:**通过自体尾椎椎间盘移植法成功造出腰椎间盘突出模型,血清中共筛选出多种代谢差异物,对筛选出的谷氨酸、乳酸进行分析,发现腰椎间盘突出大鼠模型血清中谷氨酸、乳酸发生了动态变化。造模后大鼠腰椎间盘组织在药物干预后第 1,2,3 周镜下观察均在呈现不同程度的形态学改变,补肝健腰方中、高剂量组均在干预后第 3 周镜下观察大鼠腰椎间盘突出组织较之前得到改善。**结论:**补肝健腰方通过对大鼠血清中谷氨酸、乳酸的影响,对腰椎间盘突出具有干预作用,可能是补肝健腰方治疗腰椎间盘突出症的机制之一。

[关键词] 补肝健腰方;腰椎间盘突出大鼠模型;代谢组学

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]**1005-0205(2023)09-0007-08

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.230902

Effect of Bugan Jianyao Formula on Serum Metabolomics in Rats with Lumbar Intervertebral Disc Herniation

YIN Chendong¹ QIU Xiangzhong^{2△}

¹Hunan College of Traditional Chinese Medicine,Zhuzhou 412012,Hunan China;

²Affiliated Hospital of Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine,Changsha 410006,China.

Abstract Objective:To investigate the effect of bugan jianyao decoction on serum metabolomics of rats with lumbar disc herniation. **Methods:** 60 rats were randomly divided into normal group (12 rats),sham operation group (12 rats) and model group (36 rats). In the model group,36 rats were treated with lumbar disc herniation model (L_{5/6}) by autologous caudal intervertebral disc transplantation. In the sham operation group,only L₅ nerve root was exposed,and autologous caudal intervertebral disc transplantation was not given. After the establishment of the model,the neurological function score and the behavioral changes were observed. After the establishment of the model,the model group was divided into model group,medium dose group and high dose group,with 12 rats in each group,and the intervention of traditional Chinese

medicine was carried out. The medium and high dose groups were given the medium and high dose decoction of bugan jianyao decoction by gavage,and the normal group,model group and sham operation group were given the same dose of normal saline by gavage. At the 1st,2nd and 3rd week after intervention,the serum of rat abdominal aorta was collected for metabonomic analysis,and the specimens of caudal intervertebral disc embedded in L₅ nerve root were recovered. After hematoxylin-eosin (HE) staining,the specimens were observed under optical microscope for histomorphology.

基金项目:国家中医药管理局“全国名老中医药专家仇湘中传承工作室建设项目”(国中医药人教发[2016]42 号)
湖南省研究生科研创新项目(CX20200776)
湖南中医药高等专科学校校级科研计划项目
(XY2022.002)

¹ 湖南中医药高等专科学校(湖南 株洲,412012)

² 湖南省中医药研究院附属医院

△通信作者 E-mail:18974991366@189.cn

Results: The lumbar intervertebral disc herniation model was successfully created by the rat autologous coccygeal intervertebral disc transplantation method. A variety of metabolic differences were screened in the serum, and the screened glutamic acid and lactic acid were analyzed. It was found that the serum glutamic acid and lactic acid changed dynamically in the rat model of lumbar disc herniation. After modeling, the lumbar intervertebral disc tissue of rats showed different degrees of morphological changes under the microscope at 1st, 2nd and 3rd week after the drug intervention. It was observed that the herniated tissue of the lumbar intervertebral disc of the rat was improved compared with before. **Conclusion:** Bugan Jianyao decoction has an intervention effect on lumbar intervertebral disc herniation through the effect of glutamic acid and lactic acid in serum of rats, which may be one of the mechanisms of bugan jianyao decoction on the treatment of lumbar intervertebral disc herniation.

Keywords: Bugan Jianyao decoction; rat model of lumbar intervertebral disc herniation; metabolomics

腰椎间盘突出症(Lumbar Disc Herniation, LDH)基本病理改变是椎间盘、软骨终板、关节韧带的退行性改变,其发病的机制与机械性压迫、化学性物质、自身免疫等相关^[1]。临床上中医药治疗腰椎间盘突出症有效,但治疗的作用机制仍待进一步阐明,已成为当下研究的热点。补肝肾腰方是全国第五批名老中医专家仇湘中教授临床经验方^[2],前期临床研究发现其对于腰椎间盘突出源性腰痛有较好的临床疗效^[3],且对腰椎间盘突出退变的损伤有较好的修复作用^[4]。

代谢组学是进行低分子量代谢物的定性和定量分析的新学科,相关文献报道腰椎间盘突出症模型或腰椎间盘突出症患者的代谢组学研究中,发现血清中谷氨酸、乳酸的水平发生了变化^[5-9]。本实验拟观察补肝肾腰方对腰椎间盘突出大鼠的血清代谢组学影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

3~4个月龄清洁级健康SD大鼠60只,雄性,体重为180~220 g,由湖南省中医药研究院动物实验室代购,动物许可证号为SCXK(湘)2019-0004。

1.2 实验药物

补肝肾腰方组成:当归15 g,川芎12 g,白芍30 g,熟地黄25 g,炒枣仁10 g,杜仲15 g,延胡索10 g,蜈蚣5 g,全蝎3 g,甘草5 g。功效:补肝肾腰,通络止痛。补肝肾腰方10剂加水5 L,煎煮2次,每次60 min,合并煎液静置24 h后离心,将上清液浓缩至药物浓度分别为2.08 g/mL(等同于常人等效剂量)和4.16 g/mL(高剂量),灭菌保存。

1.3 分组及处理

清洁级健康SD大鼠60只,按照体重进行编号,参照随机数字表法将60只大鼠随机分为正常组12只、假手术组12只和造模组36只,造模组36只大鼠采用自身尾椎椎间盘移植法进行腰椎间盘突出症模型(L_{5/6})造模处理,造模成功后,将造模组分为模型组、中剂量组和高剂量组(每组12只),并进行中药干预。

腰椎间盘突出症大鼠动物模型制备参照自体髓核

移植法^[10-11],取大鼠2个尾椎椎间盘,刺破上下终板,暴露髓核,置于L₅神经根处。假手术组不放置椎间盘,直接缝合。正常组不做任何处理。术后大鼠左下肢予以青霉素 8×10^5 U/(kg·d),肌注,连续3 d,预防大鼠伤口感染。大鼠术后饲养条件同术前,术后观察其行为学情况,3 d后通过神经功能评分判断模型复制成功与否,神经功能评分超过2级即提示造模成功^[12]。

1.4 方法

1.4.1 药物干预 参照不同动物等效剂量的折算系数^[13],计算出大鼠每200 g体重灌胃补肝肾腰方1 mL(中剂量组含生药2.08 g,高剂量组含生药4.16 g)。正常组、假手术组、模型组:生理盐水(NS)灌胃,1 mL/200 g,1次/d。中剂量组:补肝肾腰方灌胃,1 mL/200 g,1次/d。高剂量组:补肝肾腰方高剂量汤剂灌胃,1 mL/200 g,1次/d。

1.4.2 样本采集和预处理 大鼠干预结束后,麻醉后打开腹腔,行腹主动脉穿刺取血,血液样品在4℃下经3 000 r/min离心,取上清液,放置于-80℃冰箱备用,统一进行血清代谢组学研究,具体如下。

1)血清样品预处理 精密吸取正常组、假手术组、模型组、中剂量组、高剂量组血清各200 μL,分别用3倍甲醇沉淀,13 000 r/min高速离心15 min,4℃下取上清至进样瓶中,进样采集。

2)上机检测 极性分子检测条件:流速为0.3 mL/min,进样盘温度为4℃,柱温为40℃,色谱柱为Acquity UPLC BEH Amide column(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),A为H₂O(含25 mmol/L NH₄OAc+25 mmol/L NH₄OH),B为Acetonitrile,进样量为2 μL,见表1(B为初始流动相比比例)。非极性分子检测条件:流速为0.3 mL/min,进样盘温度为4℃,柱温为40℃,色谱柱为Waters HSS T₃ column(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),A为H₂O(0.1%甲酸),B为Acetonitrile,进样量为2 μL,见表2。

取血结束后,模型组、中药处理组取造模后包埋组

织,正常组、假手术组则取自身尾椎椎间盘,行苏木精-伊红(HE)染色。

表 1 极性分子液相梯度条件

时间/min	B/%
1.0	95
14.0	65
16.0	40
18.0	40
18.1	95
23.0	9

表 2 非极性分子液相梯度条件

时间/min	B/%
0.01	1
1.50	1
13.00	99
16.50	99
16.60	1
20.00	停止

1.5 观察指标

1.5.1 动物一般行为学观察 观察大鼠实验期间的一般行为学指标,若术后各造模大鼠出现下肢无力、食欲降低、情绪激惹等表现,可为造模成功提供参考^[14]。

1.5.2 神经功能评分 对大鼠右后肢功能评分参照 Siegal 推荐的神经功能评分法^[12,15],分为 6 级,见表 3。

表 3 神经功能评分表

级别	行为表现	评分/分
5	瘫痪,后肢无自主移动	12
4	站立不稳,但后肢能够移动	10
3	后肢无力,行走时具有明显不稳定性	8
2	后肢无力,行走时具有轻度困难	6
1	后肢痿软,甩尾无力	4
0	正常	2

注:神经功能评分超过 2 级即提示造模成功。

1.6 统计学方法

实验数据采用 SPSS 26.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式描述,组件比较符合正态分布和方差齐性时采用单因素方差分析,不符合方差齐性时采用秩和检验。各组前后对比,符合正态分布时进行配对 t 检验,不符合则采用非参数秩和检验。 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

表 5 各组大鼠神经功能评分结果($\bar{x} \pm s$,分)

组别	造模后第 3 天	干预后第 1 周	干预后第 2 周	干预后第 3 周
正常组	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00
模型组	8.00±1.63 ¹⁾	9.00±1.15 ¹⁾	7.50±1.00 ¹⁾	8.50±1.00 ¹⁾
假手术组	3.00±1.15 ²⁾³⁾	2.00±1.00 ²⁾³⁾	3.00±1.15 ²⁾³⁾	2.00±0.00 ²⁾³⁾
中药中剂量组	7.00±1.15 ¹⁾⁴⁾	7.00±1.15 ¹⁾⁴⁾	6.00±1.13 ¹⁾⁴⁾	4.00±1.63 ¹⁾⁴⁾
中药高剂量组	7.50±1.00 ¹⁾⁴⁾⁵⁾	6.50±1.91 ¹⁾⁴⁾⁵⁾	5.00±2.00 ¹⁾⁴⁾⁵⁾	3.50±1.91 ¹⁾⁴⁾⁵⁾

注:各组间比较,与正常组比较,1) $P < 0.05$,2) $P > 0.05$;与模型组比较,3) $P < 0.05$,4) $P > 0.05$;中药组之间比较,5) $P > 0.05$ 。

原始数据经 Agilent Mass Hunter Workstation (Qualitative Analysis B. 06. 00) 软件进行数据转换。得到的数据导入 R 软件使用 XCMS 软件包进行峰对齐和峰积分等处理,最终得到一个保留时间、质荷比和峰强度的三维数据矩阵,并采用修正 80% 规则去除缺失值。再将得到的数据导入 SIMCA-P11. 5 (Umetrics) 处理软件,对数据集进行数据的标度化和中心化处理,采用无监督的主成分分析(PCA)和有监督的偏最小二乘判别分析方法(PLS-DA)对数据进行分析,并选择影变量重要性 > 1.5 的变量,进行 t 检验、方差分析以及对数转换分析,寻找潜在生物标志物。生物标志物的鉴定和代谢路径的分析,根据潜在生物标志物的相对分子量,在 KEGG (<http://kegg.com>) 和 HMDB(<http://www.hmdb.ca>) 数据库行质谱信息匹配,对潜在的生物标志物进行初步识别。最后将鉴定得到的标志物导入 Metpa 数据库,进行代谢路径的相关性分析。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学观察结果

各组大鼠行为学观察结果见表 4。

表 4 各组大鼠行为学观察结果

分组	大鼠行为学
正常组	运动灵活,无障碍。
假手术组	右后下肢轻度运动障碍,可逐渐恢复至正常。
模型组、中剂量组、高剂量组	均出现烦躁、易激惹、撕咬肢体、反复舔舐后爪、食量降低、部分严重者不能行走等表现;中剂量组、高剂量组大鼠干预后,症状呈好转趋势。

2.2 各组大鼠神经功能评分结果

造模后第 3 天,与正常组相比,假手术组评分稍增高,差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组和中、高剂量组评分升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干预后第 1 周和第 2 周,中、高剂量组较模型组评分均降低,差异无统计学意义($P > 0.05$)。干预后第 3 周,中、高剂量组评分较模型组评分降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。中、高剂量组之间比较,在造模后第 3 天及干预后第 1, 2, 3 周评分差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 5。

2.3 各组大鼠造模后组织形态学观察

正常组与假手术组中髓核细胞结构完整,纤维环清晰可见,细胞排列有序,未见炎性细胞浸润及纤维化、血管增生;模型组髓核破坏,髓核细胞逐渐减少,胶原出现排列紊乱,炎性细胞浸润,纤维环胶原较为扭曲,出现少许空泡样改变,干预后第2周髓核越发破坏,髓核细胞越发减少,炎性细胞浸润明显,类软骨样细胞代替出现,血管化、纤维化及空泡样形成,纤维环胶原排列扭曲明显,出现裂隙;干预后第3周可见髓核严重破坏,炎性细胞浸润明显,大量类软骨样细胞代替

出现,血管化、纤维化、瘢痕及空泡样改变明显,纤维环胶原排列扭曲严重,裂隙明显。

中、高剂量组第1周表现同模型组。干预后第2周可见髓核结构破坏,髓核细胞减少,炎性细胞浸润,少量血管化、玻璃样改变,纤维环胶原布局较扭曲,少量可见裂隙。干预后第3周可见髓核逐渐修复,髓核细胞较前增多,炎性细胞浸润得到控制,伴随软骨细胞反应性增生,少量血管化改变,纤维环胶原布局较为紊乱,见图1-图3。

2.4 各组大鼠干预后血清代谢组学分析

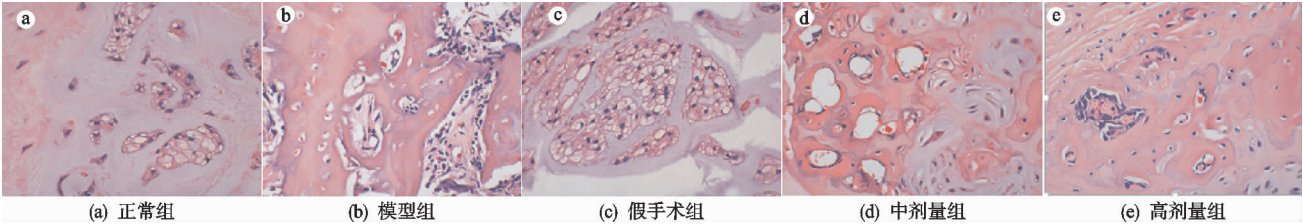


图1 各组大鼠干预后第1周 HE 染色结果(×400)

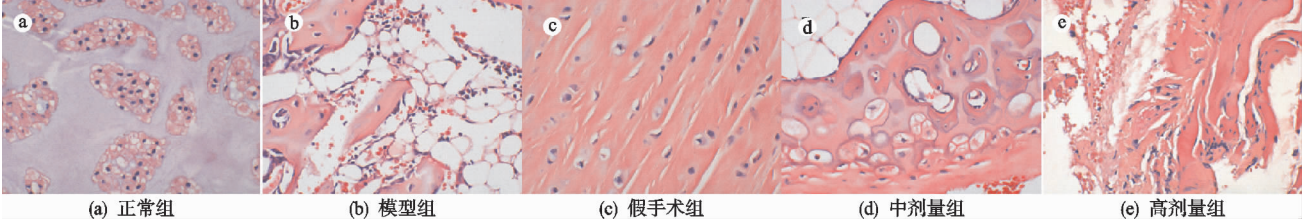


图2 各组大鼠干预后第2周 HE 染色结果(×400)

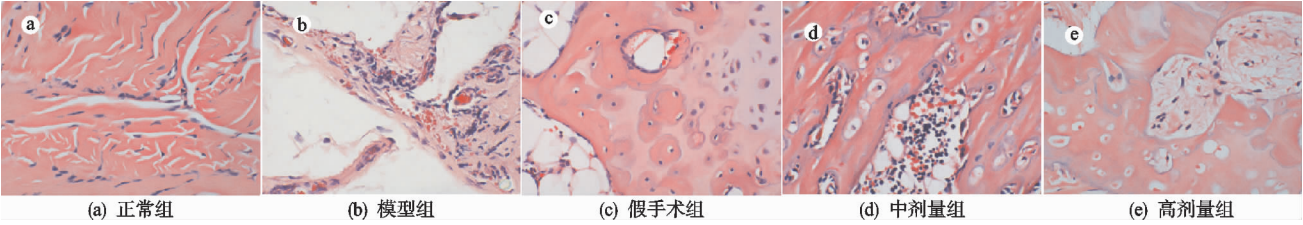


图3 各组大鼠干预后第3周 HE 染色结果(×400)

2.4.1 差异代谢产物的筛选 分析五组之间的代谢差异,将每周的数据导入 SIMCA-P 对其进行多变量分析。根据图4-图9所示的PCA、PLSDA模型(1为正常组,2为模型组,3为假手术组,4为中剂量组,5为高剂量组),各组在PCA、PLS-DA图中完全分开,表明各组之间代谢物存在差异,具有明显不同的代谢特征。

2.4.2 对目标差异代谢产物的分析 从血清中筛选出的代谢产物中,对目标代谢产物谷氨酸、乳酸的变化进行对比分析。谷氨酸在干预后第1周与正常组对比,模型组、假手术组升高,差异有统计学意义($P<0.05$);中、高剂量组较正常组升高,差异无统计学意义($P>0.05$);中、高剂量组较模型组下降,差异有统计学意义($P<0.05$);高剂量组较中剂量组下降,差异无统计学意义($P>0.05$)。干预后第2周模型组仍较其余4组升高,差异有统计学意义($P<0.01$);中、高剂

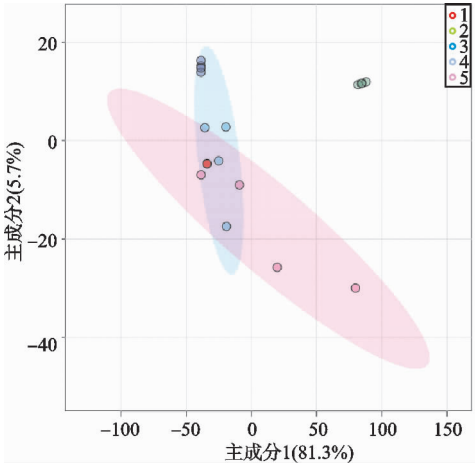


图4 干预后第1周数据 PCA 散点图

量组与正常组差异无统计学意义($P>0.05$);高剂量组较中剂量组下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。干预后第3周时模型组较正常组、中剂量组升高,差

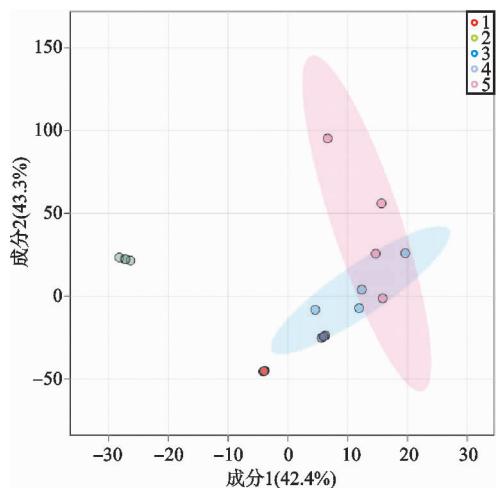


图 5 干预后第 1 周 PLS-DA 散点图

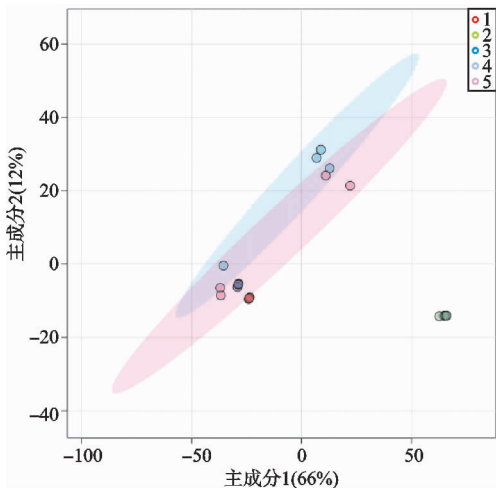


图 6 干预后第 2 周 PCA 散点图

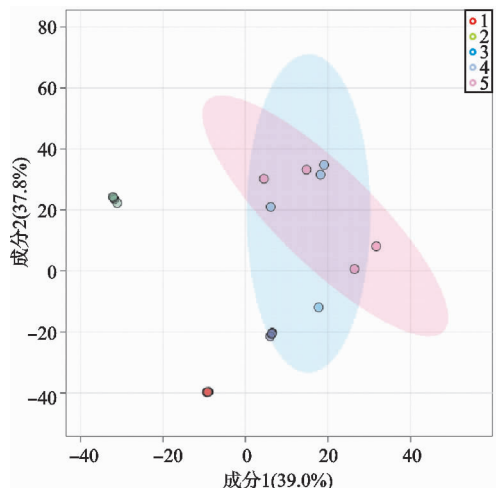


图 7 干预后第 2 周 PLS-DA 散点图

异有统计学意义 ($P < 0.05$)；模型组较假手术组降低，较高剂量组升高，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；中剂量组较高剂量组下降，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

中剂量组干预后第 2 周较第 1 周下降，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；第 3 周较第 1 周和第 2 周下降，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。高剂量组第 2 周较第

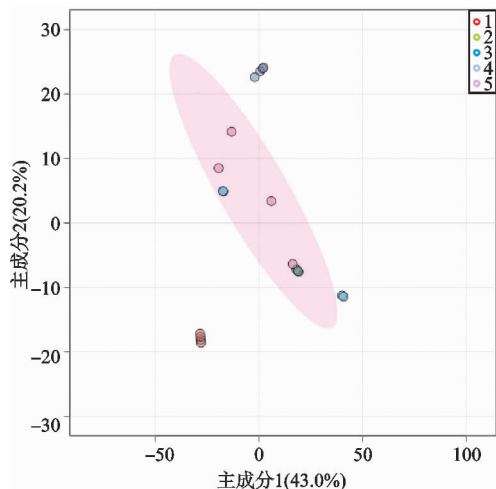


图 8 干预后第 3 周 PCA 散点图

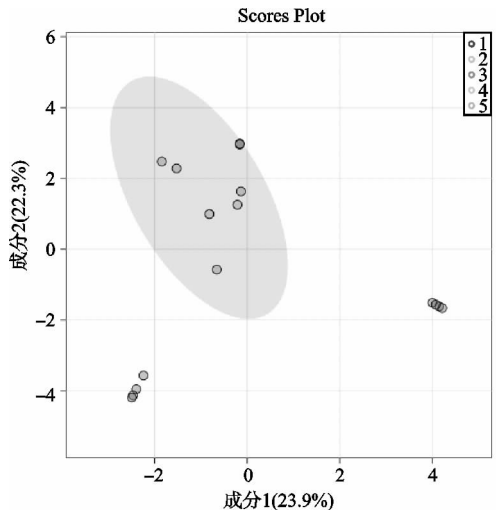


图 9 干预后第 3 周 PLS-DA 散点图

1 周下降，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；第 3 周较第 2 周升高，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；第 3 周较第 1 周下降，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)，见图 10。

乳酸在干预后第 1 周与正常组相比，模型组较正常组升高，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；假手术组和中、高剂量组较正常组升高，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；中、高剂量组较模型组降低，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；高剂量组较中剂量组升高，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。干预后第 2 周模型组较其余 4 组升高，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；中、高剂量组较模型组降低，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；中、高剂量组较正常组升高，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；中剂量组较高剂量组降低，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。干预后第 3 周模型组较其余 4 组升高，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；中、高剂量组较模型组降低，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)；中剂量组较正常组降低，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；高剂量组较正常组降低，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；高剂量组较中剂量组降低，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

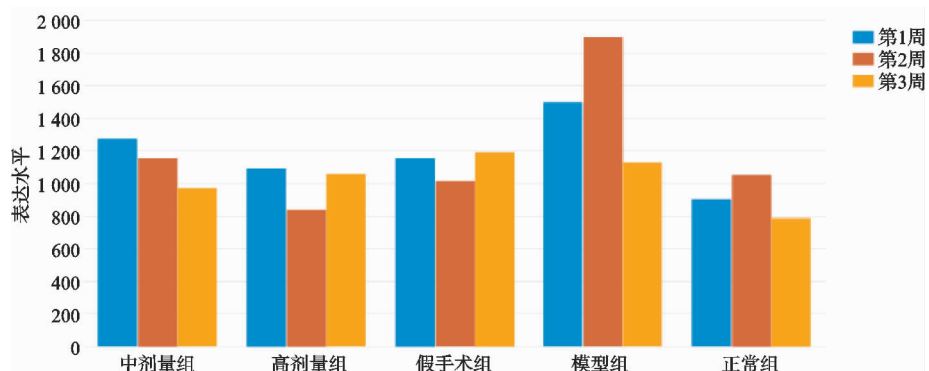


图 10 谷氨酸在各组大鼠腰椎间盘突出症模型血清中各周表达水平

中剂量组干预后第 2 周较第 1 周升高,差异有统计学意义($P<0.05$);第 3 周较第 1 周和第 2 周降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。高剂量组第 2 周较第

1 周升高,差异无统计学意义($P>0.05$);第 3 周较第 2 周降低,差异有统计学意义($P<0.01$);第 3 周较第 1 周降低,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 11。

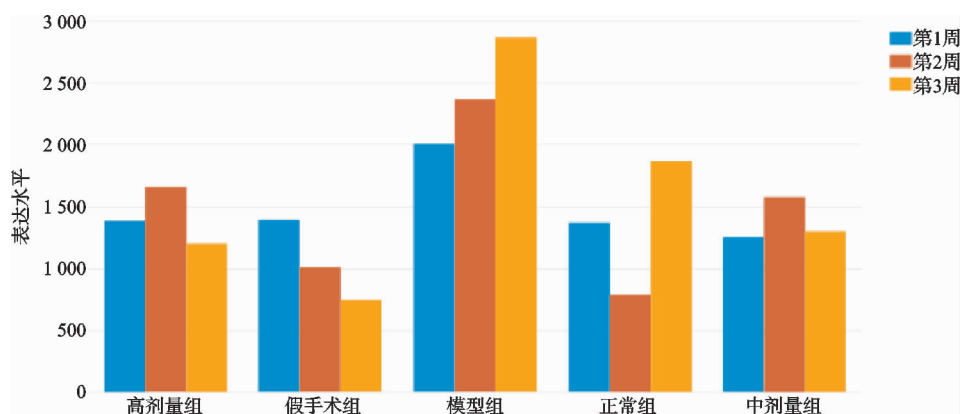


图 11 乳酸在各组大鼠腰椎间盘突出症模型血清中各周表达水平

2.4.3 生物功能富集分析 对大鼠血清中差异代谢物进行生物功能富集分析,差异代谢物在大鼠体内主要参与的生物功能有甲基组氨酸代谢(Methylhistidine Metabolism)、葡萄糖丙氨酸循环(Glucose-Alanine Cycle)、谷胱甘肽代谢(Glutathione Metabolism)、丙氨酸代谢(Alanine Metabolism)、苹果酸-天冬氨酸穿梭(Malate-Aspartate Shuttle)、泛醌生物合成(Ubiquinone Biosynthesis)、儿茶酚胺生物合成(Catecholamine Biosynthesis)、甘氨酸和丝氨酸代谢(Glycine and Serine Metabolism)、色氨酸代谢(Tryptophan Metabolism)、烟酸和烟酰胺代谢(Nicotinate and Nicotinamide Metabolism)等 10 余条代谢通路,见图 12。

3 讨论

腰椎间盘突出症是因椎间盘变性、纤维环破裂、髓核突出刺激或压迫神经根、马尾神经、窦椎神经出现以腰及下肢放射样疼痛为主要表现的疾病^[16],是临床上引起下腰痛的主要因素之一^[17]。据文献报道,总体上腰椎间盘突出症的发病率男性多于女性,且有报道男女比例约为 2:1^[18-20],95%的腰椎间盘突出症发生在 L_{4/5}、L₅S₁ 椎间盘^[21]。本病的病因包括内源性因素

(如遗传、发育、退变)和外源性因素(如应力、营养、劳损、外伤等),发病主要与腰椎间盘的退变、机械应力损伤、免疫炎性刺激损伤、细胞外基质代谢失衡相关^[22-23]。

中医学中并无腰椎间盘突出症这个概念,但古籍中有许多类似于腰椎间盘突出症症状的描述及治疗记载。《普济本事方》云:“腰脚疼痛挛急不得屈伸……治腰脚疼痛挛急……及腿膝冷麻。”这些古籍中所描述的症状与腰椎间盘突出症的症状类似,故可将腰椎间盘突出症归属于中医学的“腰腿痛”及“痹证”范畴^[24-25]。其病因复杂多样,有风邪、寒邪、湿邪、湿热、痰浊、体虚、肾虚、闪挫、跌扑劳伤等。《素问·痹论》:“风寒湿三气杂至合而为痹也。”《济生方》云:“皆因体虚腠理空疏,受风寒湿气而成痹也。”痹痛的发病机理为人体肝肾亏虚的基础上,复感风寒湿邪,三邪合而侵袭人体,使气血凝滞,经络闭阻,发为痹病。肝肾亏虚,筋骨失养,不荣则痛。外邪侵袭,邪阻络瘀,不通则痛。

中医学认为肌肉、肌腱、筋膜、椎间盘、关节软骨皆属于筋的范畴^[26]。《杂病源流犀烛·筋骨皮肉毛发病源流》云“筋也者,所以束节络骨,绊肉弼皮,为一身之关纽,利全体之运动者也,其主者所于肝”,筋的各项生

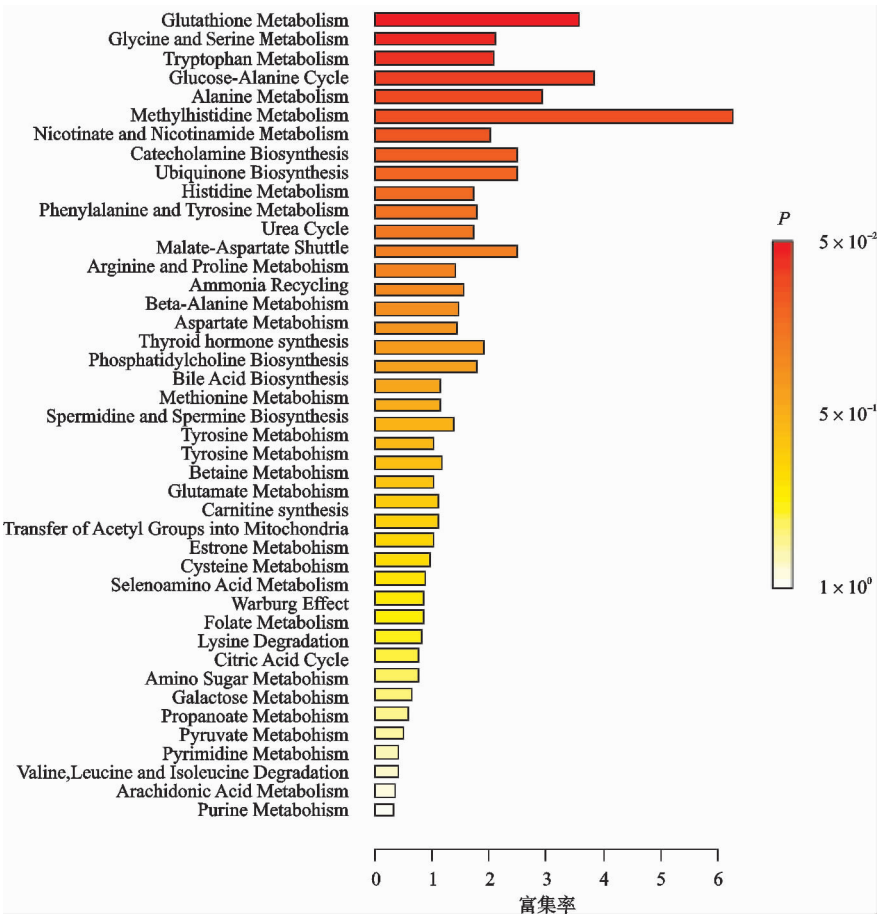


图 12 大鼠血清中差异代谢产物功能富集分析

理功能的实现得益于肝的濡养,说明肝与筋在生理上关系密切。在病理上,《素问》云“脾移寒于肝,痛肿筋挛”,说明肝的病变必然影响到筋。椎间盘属筋,有赖于肝血的濡养,肝血充沛,疏泄正常,才能使筋坚强而富有韧性,由此可见腰椎间盘突出症的发生与肝脏的亏虚有着密切的关系。肝肾两脏生理上关系为“精血同源”,若肾精不足、肝血亏虚,筋骨无法濡养,则出现腰腿疼痛、腰膝酸软、下肢麻木不仁等症狀。

本实验以大鼠腰椎间盘突出症的血清样本作为研究对象,对谷氨酸在血清中的表达进行对比。谷氨酸是哺乳动物神经系统中最丰富的快速兴奋神经递质,参与蛋白多糖降解,与椎间盘退变的发生密切相关,谷氨酸等神经递质可释放进入局部微环境,影响神经信号的传递^[27-28]。Harrington 等^[29]研究发现,神经周围高浓度的谷氨酸可以激活与神经活动有关的谷氨酸受体,从而诱发疼痛反应。实验发现谷氨酸在模型组中较正常组升高,且贯穿实验的始终。谷氨酸在中、高剂量组中较模型组下降,且随着时间的延长,谷氨酸水平下降明显,提示补肝健腰方可通过降低血液中的谷氨酸水平,减少疼痛反应,且治疗时间和疗效之间有相关性。中、高剂量组疗效在干预后第 1 周和第 3 周无差异,在干预后第 2 周高剂量组较中剂量组下降,提示中药的浓度和治疗的疗效并无相关性。

椎间盘缺乏血供,椎间盘细胞主要通过无氧酵解的方式维持生命活动,乳酸作为无氧酵解的产物,在髓核组织中心部位含量最高,由中心向外缘含量逐渐减少^[30]。在腰椎间盘的退变过程中,髓核可以释放乳酸、糖蛋白及其他炎症介质,和神经根周围局部炎症反应组织释放的内源性化学物质共同引起炎症反应致病^[31],增加伤害刺激感受器的敏感性,并能加大疼痛的程度^[32]。笔者发现乳酸在模型组中较正常组升高,且贯穿试验始终。中药干预后可降低腰椎间盘突出症大鼠模型血清中乳酸水平,中、高剂量组在干预后第 1 周较模型组下降,但差异无统计学意义,第 2 周和第 3 周较模型组下降,差异有统计学意义,提示药物的作用需要一定的时间。中、高剂量组干预后 3 周内均无明显差异,提示药物浓度不影响血清中乳酸的水平。在中剂量组中随着时间的延长,第 3 周的乳酸水平较前下降。在高剂量组中,第 3 周较第 2 周下降,提示药物的应用时间和乳酸水平的下降有相关性。说明一定时间内应用补肝健腰方可促进乳酸的代谢或减少椎间盘细胞的无氧酵解,以缓解炎症反应。

综上所述,笔者认为基于血清代谢组学分析发现腰椎间盘突出症大鼠模型血清中谷氨酸、乳酸的水平较正常组升高,中药干预后可降低腰椎间盘突出症大鼠模型血清中的谷氨酸、乳酸水平。补肝健腰方可通

过调节血清中谷氨酸、乳酸的变化以缓解大鼠腰椎间盘突出症疼痛及炎症反应,可能是补肝肾腰方治疗腰椎间盘突出症的机制之一。

参考文献

- [1] 中华医学会疼痛学分会脊柱源性疼痛学组. 腰椎间盘突出症诊疗中国疼痛专家共识[J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(1): 2-6.
- [2] 袁清照, 胥骞, 杨莹, 等. 名老中医仇湘中验方补肝肾腰方的制剂研究[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(3): 175-179.
- [3] 仇杰, 仇湘中, 蒋盛昶, 等. 补肝肾通络法内外并治腰椎间盘突出性腰痛 60 例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(2): 58-60.
- [4] 仇湘中, 朱承勋, 张信成, 等. 补肝肾腰方对腰椎间盘突出大鼠椎间盘 TNF- α 及 NF- κ B 表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2017, 25(9): 9-11.
- [5] SHAN L, LIAO F, JIN H, et al. Plasma metabonomic profiling of lumbar disc herniation and its traditional Chinese medicine subtypes in patients by using gas chromatography coupled with mass spectrometry[J]. Mol Biosyst, 2014, 10(11): 2965-2973.
- [6] 杨树彬, 刘勇, 于涛. 基于 GC-MS 的 LDH 模型兔血浆代谢组学研究[J]. 齐鲁医学杂志, 2016, 31(3): 307-309.
- [7] 程帅, 陈伯华, 刘勇, 等. 基于 GC-TOF-MS 的兔退变椎间盘代谢轮廓分析[J]. 齐鲁医学杂志, 2016, 31(2): 181-183.
- [8] 丁欢, 陈丽虹, 陈宇婧, 等. 基于尿液代谢组学数据评价不同刮痧方案干预腰椎间盘突出症模型大鼠的效果[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(23): 3654-3659.
- [9] 陈丽虹, 岳容兆, 张永怡, 等. 刮痧治疗腰椎间盘突出症不同方案疗效差异: 基于血清代谢组学的评价[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(32): 5110-5116.
- [10] JIANG R, XU G, CHEN H, et al. Effect of scraping therapy on interleukin-1 in serum of rats with lumbar disc herniation[J]. J Tradit Chin Med, 2013, 33(1): 109-113.
- [11] 师振予, 郭亦杰, 曾嵘, 等. 腰椎间盘突出症大鼠模型的建立及病理动态研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(1): 28-33.
- [12] 赵彩萍, 朱美玲, 王婷婷, 等. 化学神经根炎症模型大鼠的制备及评价[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(7): 1030-1034.
- [13] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004(9): 1069-1072.
- [14] 安文博, 姜劲挺, 张伦广, 等. 复方倍他米松局部注射后自体髓核移植模型大鼠脊髓及背根神经节中 P 物质和降钙素基因相关肽变化[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(49): 7955-7960.
- [15] SIEGAL T, SHOHAMI E, SHAPIRA Y, et al. Indomethacin and dexamethasone treatment in experimental neoplastic spinal cord compression: Part 2. Effect on edema and prostaglandin synthesis[J]. Neurosurgery, 1988, 22(2): 334-339.
- [16] 黄振星, 杨少锋, 郭彦涛, 等. 恒古骨伤愈合剂治疗瘀血阻络型腰椎间盘突出症的临床疗效[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30(3): 35-38.
- [17] 刘锦涛, 俞鹏飞, 马智佳, 等. 巨大破裂型腰椎间盘突出症重吸收 55 例分析[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(9): 27-31.
- [18] STRÖMQVIST F, STRÖMQVIST B, JÖNSSON B, et al. Surgical treatment of lumbar disc herniation in different ages-evaluation of 11, 237 patients[J]. Spine J, 2017, 17(11): 1577-1585.
- [19] JORDAN J, KONSTANTINOU K, DOWD J. Herniated lumbar disc[J]. BMJ Clin Evid, 2009: 1118.
- [20] 林承宇, 张清, 谢瑞, 等. 腰椎间盘突出症合并神经根病变的诊疗: NASS 循证医学指南解读[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(22): 1745-1751.
- [21] DEYO R A, MIRZA S K. Herniated lumbar intervertebral disk[J]. N Engl J Med, 2016, 374(18): 1763-1772.
- [22] 刘宗玮, 温剑涛, 张德宏, 等. 腰椎间盘突出症椎间盘退变相关炎性因子研究进展[J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(2): 388-391.
- [23] 曾佳兴, 梁斌. 腰椎间盘突出发病机制的研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(11): 1723-1726.
- [24] 陈锋, 吴晓飞, 闫乾, 等. 腰椎间盘突出症中医证候学研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(12): 13-16.
- [25] 王建平. 近 5 年腰椎间盘突出症的中医治疗综述[J]. 中医临床研究, 2020, 12(19): 143-145.
- [26] 姚新苗, 周国庆. 从“以筋为主”的视角认识现代脊柱康复医学[J]. 康复学报, 2015, 25(4): 52-55.
- [27] HUETTNER J E. Glutamate receptor channels in rat DRG neurons: activation by kainate and quisqualate and blockade of desensitization by Con A[J]. Neuron, 1990, 5(3): 255-266.
- [28] ADAMS M A, ROUGHLEY P J. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it? [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31(18): 2151-2161.
- [29] HARRINGTON J F, MESSIER A A, BEREITER D, et al. Herniated lumbar disc material as a source of free glutamate available to affect pain signals through the dorsal root ganglion[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2000, 25(8): 929-936.
- [30] 李若禹, 丁文元. 磁共振影像标志物对椎间盘退变及盘源性下腰痛诊断的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(13): 880-888.
- [31] 潘化平, 王健, 冯慧, 等. 腰椎间盘突出症的疼痛发生机制与治疗进展[J]. 海南医学院学报, 2008, 14(6): 761-764.
- [32] 胡星新, 刘立岷. 临床症状体征与影像学检查分离的腰椎间盘突出症的发生机制研究进展[J]. 中国骨伤, 2015, 28(10): 970-975.