

# 针刀松解对坐骨神经痛大鼠中枢多巴胺、去甲肾上腺素及 5-羟色胺的影响

张立<sup>1</sup> 董玮<sup>1△</sup> 董介轩<sup>1</sup> 殷志荣<sup>1</sup> 石小东<sup>1</sup> 李皎<sup>1</sup> 刘维统<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:观察针刀松解法治疗坐骨神经痛大鼠对其延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)及热缩足阈值的影响。方法:将 60 只 SD 大鼠随机分为假手术组、神经结扎组及针刀治疗组。假手术组仅手术暴露坐骨神经,不做结扎;神经结扎组手术暴露并结扎坐骨神经;针刀治疗组手术结扎坐骨神经,在造模成功后第 7,14,21 天分别进行针刀松解治疗。3 组在第 28 天进行热缩足试验,测定大鼠热缩足阈值;处死大鼠取延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓组织;用 ELISA 法检测 DA,5-HT 及 NE 浓度。结果:针刀治疗组与假手术组对比,大鼠腰膨大脊髓、丘脑 5-HT,NE,DA 浓度高于假手术组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );延髓 5-HT,NE,DA 浓度低于假手术组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。针刀治疗组与神经结扎组对比,大鼠腰膨大脊髓 5-HT,NE,DA 浓度高于神经结扎组,延髓 5-HT,NE,DA 浓度低于神经结扎组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。结论:针刀松解治疗坐骨神经痛大鼠能促进中枢 DA,NE,5-HT 在相应抑制疼痛受体分布区域的表达,起中枢镇痛的作用。

**[关键词]** 坐骨神经痛;针刀松解法;中枢镇痛

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2020)08-0013-04

## Effects of Acupotomy Release on Central DA, NE and 5-HT in Rats with Sciatica

ZHANG Li<sup>1</sup> DONG Wei<sup>1△</sup> DONG Jiexuan<sup>1</sup> YIN Zhirong<sup>1</sup>  
SHI Xiaodong<sup>1</sup> LI Jiao<sup>1</sup> LIU Weitong<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Orthopedics and Traumatology, Kunming Hospital of Traditional Chinese Medicine, the Third Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650032, China.

**Abstract Objective:** To observe the effects of acupotomolysis on dopamine (DA), norepinephrine (NE), 5-hydroxytryptamine(5-HT) and thermal foot threshold in sciatica rats. **Methods:** 60 SD rats were randomly divided into sham operation group, nerve ligation group and acupotomology group. In the sham operation group, the sciatic nerve was exposed surgically without ligation. Nerve ligation group: rats accepted surgical exposure and ligation of the sciatic nerve. Acupotomology group: surgical ligation of sciatic nerve, acupotomology release treatment 7, 14 and 21 d after successful modeling. The thermal foot shrinkage test was conducted in the three groups on 28 d to determine the threshold of thermal foot shrinkage in the rats. The rats were sacrificed and the medulla oblongata, thalamus, hippocampus and lumbar dilated spinal cord were collected. DA, 5-HT and NE concentrations were determined by ELISA. **Results:** The concentrations of spinal cord enlargement of thalamus 5-HT, NE and DA in the acupotomology group were higher than those in the sham group ( $P<0.01$ ). The concentrations of 5-HT, NE and DA in medulla oblongata were lower than those in the sham group ( $P<0.01$ ). The concentrations of 5-HT, NE and DA in the lumbar enlargement spinal cord of acupotomology group were higher than those in the nerve ligation group, and the concentrations of 5-HT, NE and DA in the medulla oblongata were

lower than those in the nerve ligation group ( $P<0.01$ ).

**Conclusion:** Acupotomy release therapy for sciatica rats can promote the expression of DA, NE and 5-HT in the corresponding pain receptor distribution area, and play the role of central analgesia.

**Keywords:** sciatica; acupotome release; central analgesia

基金项目: 云南省医疗卫生单位内设研究机构科研项目  
(2016NS103)

2017 云南省科技计划项目(2017FF117-(048))

<sup>1</sup> 云南中医药大学第三附属医院(昆明市中医医院)骨伤科  
(昆明, 650032)

<sup>△</sup>通信作者 E-mail: dongwei310@126.com

坐骨神经痛指的是沿着坐骨神经分布区域内所出现的放射性疼痛,其属于一种常见的疼痛综合征<sup>[1]</sup>。属于周围神经疾病的一种,分为干性和根性,即坐骨神经走行区域神经受损,就有可能诱发坐骨神经痛,本病是慢性腰腿痛的最主要病因之一<sup>[2-3]</sup>。坐骨神经痛的发病率可高达40%,女性多于男性,发病年龄大于40岁<sup>[4]</sup>。在坐骨神经痛症非手术疗法中针灸治疗效果良好<sup>[5]</sup>,小针刀作为近代发明的中医治疗器械,其作为针灸针及手术刀结合体。在工作中针刀松解法用于治疗坐骨神经痛疗效良好,报道也证实针刀松解法治疗坐骨神经痛有效<sup>[6]</sup>。但对其作用机制主要认为针刀松解能减轻局部无菌性炎症从而减轻疼痛,对针刀松解法治疗的中枢镇痛机制报道较少。在临床采用针刀治疗坐骨神经痛,就治疗结果来看针刀松解法治疗坐骨神经痛除了局部作用外,还具有一定的中枢镇痛作用。本实验基于此通过观察针刀松解法干预坐骨神经痛大鼠热缩足阈值变化,及中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓5-HT, NE, DA表达情况。通过实验数据对比,证明针刀松解法治疗坐骨神经痛大鼠具有中枢镇痛作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

健康成熟SD大鼠60只,体质量(200±20)g,雌雄各半,随机分为假手术组、神经结扎组和针刀治疗组,每组20只。

### 1.2 主要试剂及仪器

测痛仪为JZZ-光热测痛仪;酶标仪(BioTek公司,型号ELX800);Noradrenaline ELISA Kit NE试剂盒(Demeditec公司,DEE5200);ST/5-HT(Serotonin/5-Hydroxytryptamine) ELISA Kit 5-HT试剂盒(elab-science公司,DEE5200);大鼠(DA)Elisa试剂盒(上海榕柏生物技术有限公司R-J01896E);ELISA相关仪器及坐骨神经暴露结扎相关手术器械。

### 1.3 方法

**1.3.1 造模** 假手术组10%水合氯醛0.4 mL/100 g腹腔注射麻醉后,常规术区备皮酒精消毒铺巾,切开皮肤后钝性分离左侧大腿后外侧肌群,暴露左侧坐骨神经干约1 cm,将其放回原位,碘伏消毒术口,肌肉包埋坐骨神经,不缝合肌层,间断缝合术口皮层。神经结扎组和针刀治疗组参照Bennett等<sup>[7]</sup>方法建立坐骨神经慢性压迫损伤模型(CCI):10%水合氯醛0.4 mL/100 g腹腔注射,暴露坐骨神经干方法同前,暴露坐骨神经干约1 cm用4号可吸收线结扎神经干分别作4个轻度结扎,结扎间距约1 mm,结扎强度为引起术肢小腿肌肉轻度颤动,将结扎后坐骨神经放回原位,碘伏

消毒术口,肌肉包埋坐骨神经,不缝合肌层,间断缝合术口皮层。术后3组大鼠给青霉素8万单位/鼠,腹腔注射1次,给相同饲养条件进行喂养。

**1.3.2 针刀松解** 造模成功后神经结扎组不予任何处理。针刀治疗组:造模成功后于第7,14,21天进行针刀松解治疗,具体操作对大鼠左侧大腿原术口周围触诊找到条索状物并用定点,每次选2个点,常规备皮、消毒,用针刀纵向疏通后行横向剥离,出针后无菌纱布按压针眼孔10 s,针孔渗血延长按压时间至20 s。针刀松解治疗后,3组大鼠给相同饲养条件进行喂养。

**1.3.3 热痛缩足潜伏期测定** 造模成功后第28天,实验室采用日光灯照射,将大鼠放在树脂盒子中,下面的树脂板的温度维持在30℃,在正式测定潜伏期之前,将大鼠放于其中适应30 min。维持辐射热强度不变照射到大鼠后足接触到的树脂板上。大鼠的热痛缩足潜伏期是指热刺激开始到大鼠抬足的时间。为保护大鼠,在实际测试中,照射时间不长于25 s。每只大鼠测量6次,并且每次测量时间间隔在10 min以上。

**1.3.4 取材** 完成热痛缩足潜伏期测定后将各组大鼠处死,分离出中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大处脊髓。各部位中枢组织置于冰皿上编号,样品称重记录后快速置于-70℃冷藏箱保存待测,防止氧化作用影响实验结果。

**1.3.5 ELISA方法检测大鼠中枢各区域NE, 5-HT及DA** 检测时严格按照试剂盒操作说明进行。组织蛋白检测:依次加样后混合均匀,反应10 min,以试剂空白管调零,测定A标准和A样品。5-HT, NE, DA检测:依次加样后混合均匀,37℃孵育1 h;洗涤后加入亲和链霉素HRP 37℃孵育30 min;再次洗涤后加入底物37℃孵育10 min;加入终止液后于波长450 nm的酶标仪上读取各孔的OD值。样品含量计算:蛋白浓度 $A = (A \text{ 样品} / A \text{ 标准}) / \text{标准浓度}$ 。5-HT, NE, DA以吸光度OD值为纵坐标(Y),相应标准品浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,根据OD值由标准曲线计算样品含量B。5-HT, NE, DA最终结果为 $(B/4) \times A$ (见图1-3)。

### 1.4 统计学方法

数据采用SPSS23.0统计软件分析,所有测量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。针刀治疗组分别与假手术组、神经结扎组数据的组间比较LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 热痛缩足潜伏期测定

针刀治疗组热痛缩足潜伏期较神经结扎组及假手术组延长,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表1。

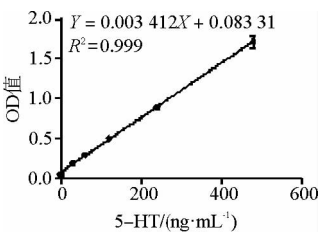


图 1 5-HT OD 值

表 1 大鼠热缩足潜伏期( $\bar{x}\pm s$ )

组别	热缩足潜伏期
假手术组	0.59±0.20
神经结扎组	0.37±0.25
针刀治疗组	0.86±0.23 <sup>1)2)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.01$ ;2)与神经结扎组比较, $P<0.01$ 。

2.2 ELISA 方法检测大鼠中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 5-HT 浓度

针刀治疗组与假手术组及神经结扎组对比,在大鼠腰膨大脊髓、丘脑、海马 5-HT 浓度均升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );延髓 5-HT 浓度低于假手术组及神经结扎组,差异有统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 大鼠中枢各区域 5-HT 浓度( $\bar{x}\pm s$ )

区域	假手术组	神经结扎组	针刀治疗组
腰膨大脊髓	20.88±3.16	35.62±5.82	38.67±9.56 <sup>1)2)</sup>
丘脑	26.49±5.44	30.73±3.27	33.62±8.45 <sup>1)2)</sup>
延髓	29.75±2.66	30.47±4.25	22.63±9.43
海马	23.98±4.48	28.79±5.29	34.75±4.10 <sup>1)2)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.01$ ;2)与神经结扎组比较, $P<0.01$ 。

2.3 ELISA 方法检测大鼠中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 NE 浓度

腰膨大脊髓针刀治疗组 NE 浓度高于假手术组及神经结扎组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );在丘脑针刀治疗组 NE 浓度高于假手术组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );其余区域差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

表 3 大鼠中枢各区域 NE 浓度( $\bar{x}\pm s$ )

区域	假手术组	神经结扎组	针刀治疗组
腰膨大脊髓	0.15±0.07	0.27±0.06	0.29±0.06 <sup>1)2)</sup>
丘脑	0.21±0.05	0.29±0.07	0.25±0.08 <sup>1)</sup>
延髓	0.25±0.04	0.29±0.07	0.17±0.08
海马	0.04±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01

注:1)与假手术组比较, $P<0.01$ ;2)与神经结扎组比较, $P<0.01$ 。

2.4 ELISA 方法检测大鼠延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 DA 浓度

针刀治疗组各区域 DA 浓度高于假手术组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );针刀治疗组腰膨大脊髓、丘

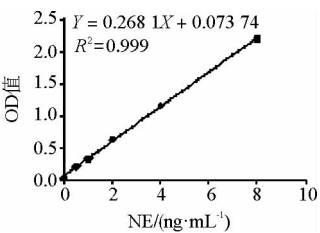


图 2 NE OD 值

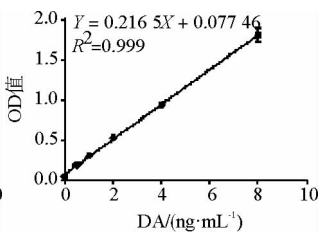


图 3 DA OD 值

脑 DA 浓度高于神经结扎组,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),见表 4。

表 4 大鼠中枢各区域 DA 浓度( $\bar{x}\pm s$ )

区域	假手术组	神经结扎组	针刀治疗组
腰膨大脊髓	0.36±0.05	0.37±0.03	0.51±0.07 <sup>1)2)</sup>
丘脑	0.30±0.04	0.45±0.08	0.49±0.11 <sup>1)2)</sup>
延髓	0.37±0.13	0.46±0.07	0.42±0.17 <sup>1)</sup>
海马	0.31±0.07	0.48±0.07	0.47±0.10 <sup>1)</sup>

注:1)与假手术组比较, $P<0.01$ ;2)与神经结扎组比较, $P<0.01$ 。

3 讨论

坐骨神经痛非手术治疗中,临床常使用脱水剂、镇痛药物、糖皮质激素等,也有治疗指南建议限制使用阿片类药物、肌肉松弛剂等<sup>[8]</sup>。但疗效不一、容易反复,且坐骨神经痛症多为老年患者,长期服药存在一定风险,使用此类药物有形成药物依赖可能,故需要一个有效、风险相对较小的治疗方案用于治疗坐骨神经痛。临床工作中采用针刀松解法治疗坐骨神经痛症收效良好,针刀松解法治疗坐骨神经痛症治疗疗程短,对患者损伤较小、无需长期服药,是治疗坐骨神经痛症的新选择。但对针刀松解的镇痛作用主要认为有局部镇痛作用,就临床观察来看针刀松解法治疗坐骨神经痛症除局部镇痛作用外,还具有一定的中枢镇痛作用。本实验通过观察针刀松解法干预 CCI 大鼠热缩足阈值变化,及中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 5-HT,NE,DA 表达情况,通过组间数据分析得出针刀松解法的治疗效应,证明针刀松解具有中枢镇痛作用。本实验所选用 CCI 大鼠模型能保留大部分传递疼痛的 C 类纤维<sup>[9]</sup>,可以模拟出临床坐骨神经痛症状,慢性神经痛症状可持续 8 周以上<sup>[10]</sup>,为试验提供充足的时间。

5-HT 是机体内源性镇痛系统的重要神经递质,由于不能透过血脑屏障,通常认为 5-HT 在中枢神经系统有镇痛作用而在外周有致痛作用<sup>[11]</sup>。产生疼痛或抑制疼痛主要由于 5-HT 作用部位或结合的受体亚型,抑制疼痛受体及受体亚型有 5-HT1A,5-HT2A,5-HT5A 及 5-HT7 受体<sup>[12]</sup>,其中以 5-HT7 受体分布最为广泛。5-HT7 受体主要分布于大鼠脊髓腰段背根神经节(Dorsal Root Ganglia, DRG)<sup>[13]</sup>;大脑皮层、海马、丘脑也有 5-HT7 受体的表达<sup>[14]</sup>。本实验检测大鼠中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 5-HT 针刀治疗

组与假手术组及神经结扎组对比,在大鼠腰膨大脊髓、丘脑、海马区域 5-HT 浓度均高于假手术组 ( $P < 0.01$ )。腰膨大脊髓、丘脑、海马为 5-HT 抑制疼痛受体 5-HT<sub>7</sub> 主要分布区域,当 5-HT 浓度升高时活抑制疼痛受体 5-HT<sub>7</sub>,从而产生抑制疼痛作用。

目前公认当机体受到疼痛刺激时,机体内源性镇痛机制即开始作用,其中以内啡肽物质为主。多巴胺 (Dopamine, DA) 属于儿茶酚胺类神经递质,在脑内 DA 受体功能下降或 DA 含量下降,可以促进啡肽类镇痛药物的临床镇痛效果<sup>[15]</sup>。在脊髓区域 DA 参与疼痛抑制,主要通过激活 DRD<sub>2</sub> (多巴胺 D<sub>2</sub> 受体)-cAMP-PKA 通路,起到镇痛作用<sup>[16]</sup>。即脑内 DA 含量下降则内源性镇痛加强,脊髓 DA 含量升高则激活 DRD<sub>2</sub> 产生镇痛作用。本实验检测大鼠中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 DA 浓度试验结果显示:针刀治疗组 DA 浓度在腰膨大脊髓、丘脑区域高于神经结扎组及假手术组 ( $P < 0.01$ );在延髓、海马区域针刀治疗组 DA 浓度高于假手术组 ( $P < 0.01$ ),低于神经结扎组 ( $P > 0.05$ )。结合试验数据分析可知针刀松解治疗坐骨神经痛大鼠可以促进脊髓、丘脑区域 DA 表达,减少延髓、海马区域 DA 的表达起中枢镇痛并加强内源性镇痛。NE 是一种儿茶酚胺类神经递质,主要作用于  $\alpha$  受体<sup>[17]</sup>。在  $\alpha$  受体中激活哺乳动物脊髓中的  $\alpha_2$  去甲肾上腺素受体可减轻病理性疼痛<sup>[18]</sup>,  $\alpha_2$  受体集中在哺乳动物脊髓神经突触后膜<sup>[19]</sup>,即在脊髓区域 NE 激活  $\alpha_2$  去甲肾上腺素受体而抑制疼痛。试验检测大鼠中枢延髓、丘脑、海马、腰膨大脊髓 NE 浓度结果显示:在腰膨大脊髓针刀治疗组 NE 浓度高于神经结扎组及假手术组 ( $P < 0.01$ ),丘脑针刀治疗组 NE 浓度高于假手术组 ( $P < 0.01$ )。分析试验结果可知针刀松解治疗坐骨神经痛大鼠可促进中枢 NE 在脊髓表达,激活  $\alpha_2$  去甲肾上腺素受体产生抑制疼痛作用。

综上所述,针刀松解治疗坐骨神经痛大鼠可以促进中枢 DA、NE、5-HT 在相应抑制疼痛受体分布区域的表达起到中枢镇痛作用。结合大鼠热缩足试验数据针刀治疗组大鼠热缩足潜伏期较其余两组延长 ( $P < 0.01$ ),患肢痛阈升高,可以认为针刀松解治疗后大鼠中枢镇痛物质表达增多、优化分布使大鼠耐受热痛刺激阈值升高。

## 参考文献

- [1] 崔艳红,张赛,陈旭义,等.坐骨神经痛的研究进展[J].中国医药,2019,14(7):1114-1117.
- [2] 赵玲,陈少宗.针灸治疗坐骨神经痛的取穴处方决策与经验统计[J].针灸临床杂志,2011,27(10):46-48.
- [3] HUNT S P, PINI A, EVAN G. Induction of c-fos like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation[J]. Nature, 2008, 328(6131): 632-634.

- [4] RUNU R, SINHA N K, PAI R, et al. Our experience with epidural steroid injections in management of low backpain and sciatica[J]. Kathmandu University Medical Journal, 2005, 3(4): 349-354.
- [5] 韩易言,马铁明.针灸治疗坐骨神经痛荟萃分析[J].辽宁中医杂志,2017,44(7):1472-1476.
- [6] 叶肖琳,黄雪莲,叶新苗.小针刀对腰椎间盘突出症治疗效果 Meta 分析[J].中华中医药杂志,2016,31(7):2784-2788.
- [7] BENNETT G J, XIE Y K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man[J]. Pain, 1988, 33(1): 87-107.
- [8] ATTAL N, BARROT M. Is Pregabalin ineffective in acute or chronic sciatica[J]. N Engl J Med, 2017, 376(12): 1169-1170.
- [9] 徐雪汝,林星武,傅少雄,等.脉冲射频背根神经节对 CCI 模型大鼠脊髓中 Iba1 和 TRPV1 表达的影响[J].中国疼痛医学杂志,2018,24(11):823-829.
- [10] CHALLA S R. Surgical animal models of neuropathic pain: pros and cons[J]. Int J Neurosci, 2015, 125(3): 170-174.
- [11] 肖智,文松.中脑导水管周围灰质 5-HT<sub>7</sub> 受体在神经病理性疼痛中的镇痛作用研究[J].中国疼痛医学杂志,2014,20(12):861-865.
- [12] 刘利龙,王莘朱,熊俊瑶,等.5-HT 系统在疼痛调节机制中的功能及其研究现状[J].南昌大学学报:医学版,2015,55(5):94-96.
- [13] DOLY S, FISCHER J, BRISORGUEIL M J, et al. Pre- and postsynaptic localization of the 5-HT<sub>7</sub> receptor in rat dorsal spinal cord: immunocytochemical evidence[J]. J Comp Neurol, 2005, 490: 256-269.
- [14] MARTIN-CORA F J, PAROS A. Autoradiographic distribution of 5-HT<sub>7</sub> receptors in the human brain using [<sup>3</sup>H] mesulergine: comparison to other mammalian species[J]. British Journal of Pharmacology and Chemotherapy, 2004, 141(1): 92-104.
- [15] 龚晓康,乐凯,皮明山,等.左旋四氢帕马丁在治疗甲基苯丙胺成瘾中的应用研究进展[J].神经损伤与功能重建,2015,10(1):65-67.
- [16] 宋雨田,杨清湖,刘霞,等.脊髓多巴胺 D<sub>2</sub> 受体对疼痛的调控[J].延安大学学报:医学科学版,2015,13(1):51-53.
- [17] 李先林,王静,王雪颖.阿片成瘾的神经生物学机制研究进展[J].临床医药文献电子杂志,2017,33(4):6524-6526.
- [18] ROH D H, KIM H W, YOON S Y, et al. Intrathecal clonidine suppresses phosphorylation of the N-methyl-daspartate receptor NRI subunit in spinal dorsal horn neurons of rats with neuropathic pain[J]. Anesth Analg, 2008, 107(2): 693-700.
- [19] WU L J, ZHUO M. Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for the treatment of neuropathic pain[J]. Neurotherapeutics, 2009, 6(4): 693-702.

(收稿日期:2019-12-03)