

针刀对第三腰椎横突综合征兔 β 内啡肽及脑啡肽含量的影响

刘乃刚^{1,2} 郭长青¹ 孙红梅³ 李晓泓¹ 吴海霞³ 许红³

摘要 目的 通过观察第三腰椎横突综合征兔外周和中枢 β 内啡肽 (β -endorphin, β -EP) 和脑啡肽 (enkephalin, ENK) 含量的变化,探讨针刀治疗第三腰椎横突综合征的镇痛机制。**方法** 选用清洁级日本大耳白兔 30 只,采用随机数字表法分为正常组、模型组、针刀组、电针组和针刀加电针组 5 组,每组 6 只。后 4 组采用在左侧第三腰椎横突部埋置明胶海绵的方法制作第三腰椎横突综合征模型,针刀组给予针刀干预,电针组给予电针双侧“委中”干预,针刀加电针组给予针刀和电针干预。造模后第 28 天进行取材,分别检测血浆、肌肉、脊髓和下丘脑中 β -EP 和 ENK 含量。**结果** 造模后,模型兔血浆和肌肉中 β -EP 和 ENK 含量较正常组升高,脊髓和下丘脑中 β -EP 和 ENK 含量较正常组降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。各治疗组(针刀组、电针组、针刀加电针组)在治疗后, β -EP 和 ENK 的含量均趋于正常,与模型组比较,肌肉中 β -EP 含量降低,下丘脑中 β -EP 及 ENK 含量升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各治疗组间比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 针刀和电针对外周和中枢的 β -EP 和 ENK 均有良性的调节作用,针刀较电针更具优势。

关键词 针刀;电针;第三腰椎横突综合征; β 内啡肽;脑啡肽

Effect of Small Knife Needle on β -endorphin and Enkephalin Contents of Transverse Process Syndrome of the Third Vertebra LIU Nai-gang^{1,2}, GUO Chang-qing¹, SUN Hong-mei³, LI Xiao-hong², WU Hai-xia³, and XU Hong³ 1 College of Acupuncture and Moxibustion, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 Department of Acupuncture and Moxibustion, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029); 3 Basic Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029)

ABSTRACT Objective To explore the analgesic mechanism of small knife needle for treating transverse process syndrome of the third vertebra (TPSTV) by observing peripheral and central changes of β -endorphin (β -EP) and enkephalin (ENK) contents. **Methods** Totally 30 Japanese white big-ear rabbits of clean grade were divided into 5 groups according to random digit table, i.e., the normal control group, the model group, the small knife needle group, the electroacupuncture (EA) group, and the small knife needle plus EA group, 6 in each group. The TPSTV model was established by inserting a piece of gelatin sponge into the left transverse process of 3rd lumbar vertebrae. Rabbits in the small knife needle group were intervened by small knife needle. Those in the EA group were intervened by EA at bilateral Weizhong (BL40). Those in the small knife needle plus EA group were intervened by small knife needle and EA at bilateral Weizhong (BL40). Contents of β -EP and ENK in plasma, muscle, spinal cord, and hypothalamus were determined after sample collection at day 28 after modeling. **Results** Compared with the normal control group, contents of β -EP and ENK in plasma and muscle increased significantly, and contents of β -EP and ENK in spinal cord and hypothalamus decreased significantly in the model group

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)课题(No. 2006CB504508)。

作者单位:1.北京中医药大学针灸推拿学院(北京 100029);2.中日友好医院中医针灸科(北京 100029);3.北京中医药大学基础医学院(北京 100029)

通讯作者:郭长青, Tel:010-64286687, E-mail: guochangqing66@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.04.0476

($P < 0.05$, $P < 0.01$). Contents of β -EP and ENK approximated normal levels in the three treatment groups after respective treatment. Compared with the model group, the content of β -EP in muscle decreased, and contents of β -EP and ENK in hypothalamus increased in the three treatment groups after respective treatment ($P < 0.05$). There were no significant difference among the three treatment groups ($P > 0.05$). Conclusions Small knife needle treatment and EA had benign regulation on peripheral and central β -EP and ENK in TPSTV rabbits. Small knife needle treatment showed better effect than that of EA.

KEYWORDS small knife needle; electroacupuncture; transverse process syndrome of the third vertebra; β -endorphin; enkephalin

第三腰椎横突综合征是引起腰部疼痛的一种临床常见病,针刀治疗效果显著,是针刀临床的优势病种^[1]。临床研究发现,针刀治疗本病可有效减轻疼痛,改善临床症状^[2]。本实验拟通过观察外周和中枢不同水平 β 内啡肽 (β -endorphin, β -EP) 和脑啡肽 (enkephalin, ENK) 含量的变化,探讨针刀治疗第三腰椎横突综合征的镇痛机制。

材料与方法

1 动物及分组 清洁级成年雄性大耳白兔 30 只,体重 2.1~2.4 kg,北京维通利华实验动物中心提供。北京中医药大学基础医学院实验动物中心动物室喂养。动物合格证号:SCXK(京)2006-0006。适应性饲养 4 天后,按随机数字表法将 30 只实验动物随机分为正常组、模型组、针刀组、电针组和针刀加电针组,共 5 组,每组 6 只。

2 药物 庆大霉素注射液(5 mL/支):天津药业焦作有限公司,批号:06051121;碘伏:武汉同济美迪生科技有限公司,批号:20060802;酒精:北京贞玉民生药业有限公司,批号:200607002;0.9% NaCl 注射液:中国大冢制药有限公司,批号:6H800;水合氯醛:北京化学试剂厂生产,批号:050902。

3 试剂 明胶海绵:南京金陵药业公司,批号:60323; β -EP 及 ENK 酶联免疫(ELISA)分析盒,北京尚柏生物医学技术有限公司。

4 仪器 电针仪:LH202H 型 HANS 穴位神经刺激仪,北京华卫产业开发公司;毫针:环球牌无菌针灸针,规格:0.25 mm $\times$ 25 mm,苏州针灸医疗器材有限公司;针刀:汉章牌一次性针刀,规格:0.60 mm $\times$ 40 mm,北京华夏针刀医疗器械厂;骨科手术器械:手术刀、双关节咬骨钳、止血钳、手术剪、眼科镊、普通镊子(直头、弯头),北京王府井医疗器械服务部。

5 方法

5.1 模型制备 参照王健瑞等^[3]的造模方法并加以改进,采用在第三腰椎横突部埋置明胶海绵的方

法复制模型。采用 10% 水合氯醛(2 mL/kg)进行耳缘静脉注射麻醉,动物麻醉后,使动物俯卧工作台上,腰背局部剪毛备皮,无菌术下于兔左侧腰背部皮肤(L3~L4 棘突旁约 1.5 cm)剪开长度约 1 cm 的纵向切口,分离深层筋膜,暴露左侧骶棘肌,在距正中线 1.5 cm 处纵向由浅入深钝性分开骶棘肌至第三腰椎横突,将大小为 0.5 cm $\times$ 0.5 cm 的明胶海绵植入第三腰椎横突的中下段处。操作时注意保护脊神经后支,避免损伤。上述操作完成后,手术切口用庆大霉素(2 mL:80 000 U)冲洗,以预防感染。而后将骶棘肌筋膜用 3-0 号羊肠线缝合 1 针,皮肤切口用 4 号线普通丝线缝合 1 针。

5.2 治疗方法 正常组:正常饲养,不做干预治疗。模型组:造模后正常饲养,不做干预治疗。针刀组:造模后第 15 天开始针刀治疗。方法为:首先将大耳白兔固定在治疗台上,待其平静后,在左侧造模皮肤切口处进行触诊,寻找硬结或条索状物,记号笔标记。然后局部常规消毒,采用针刀操作的四步规程法^[4],做“十字”疏通。操作完成后随即拔出针刀,棉球按压针孔 1 min,防止出血。每周 1 次,共治疗 2 次。电针组:造模后第 15 天开始进行电针治疗。方法为:首先将大耳白兔固定在治疗台上,待其平静后,参照《实验针灸学》^[5]选择双侧“委中”穴,用毫针刺入约 6 mm,接 HANS LH202H 型电针仪,选择疏密波,频率为 2/100Hz,电流强度 1~2 mA,以大耳白兔下肢微颤但不嘶叫、不挣扎为度,每次 20 min。隔天 1 次,1 周 3 次,共治疗 6 次。针刀加电针组:给予针刀和电针两种干预方法。针刀治疗方法及治疗次数同针刀组,电针治疗方法及治疗次数同电针组。

5.3 取材及指标测定 造模后第 28 天进行实验取材。采用 10% 水合氯醛按照 2 mL/kg 的剂量进行耳缘静脉注射麻醉,动物麻醉后,迅速开腹,暴露腹主动脉,腹主动脉取全血约 10 mL,放入提前 1 h 加入抗凝剂(EDTA.Na 290 μ L 与抑肽酶 120 μ L)的试管中,充分混匀后,静置 30 min,低温离心机离心(4 $^{\circ}$ C,

3 500r/min) 15 min, 吸取上清液, 放入安培中, 编号待检。然后腹主动脉放血法处死动物, 迅速分别取第三腰椎横突附近造模处肌肉组织(正常组, 取相应部位)、腰段脊髓和下丘脑, 冲洗称重后编号待检。用双抗夹心 ELISA 方法分别检测 β -EP、ENK 的含量, 操作步骤按照试剂盒说明书进行。

5.4 统计学方法 采用 SAS 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组兔血浆、肌肉、脊髓及下丘脑 β -EP 含量比较(表 1) 造模后, 模型兔血浆和肌肉中 β -EP 含量较正常组升高, 脊髓和下丘脑中 β -EP 含量较正常组降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组(针刀组、电针组、针刀加电针组)血浆和脊髓中 β -EP 含量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 肌肉中 β -EP 含量降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), 下丘脑中 β -EP 含量升高($P < 0.05$)。各治疗组间(电针组、针刀组、针刀加电针组)比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2 各组兔脊髓及下丘脑 ENK 含量比较(表 2) 造模后, 模型兔脊髓和下丘脑中 ENK 含量较正常组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 针刀组和电针组脊髓中 ENK 含量差异无统计学意义($P > 0.05$), 针刀组和电针组下丘脑中, 以及针刀加电针组脊髓和下丘脑中 ENK 含量均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。各治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

内源性阿片肽(endogenous opioid peptide, EOP)是一类在哺乳动物体内天然生成的阿片样活性物质, 是机体主要的内源性镇痛物质, 其主要功能是抑制性调节伤害性信息^[6]。 β -EP 是主要的 EOP, 在外周

表 2 各组兔腰段脊髓和下丘脑 ENK 含量比较 (pg/mg pro, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	ENK	
		脊髓	下丘脑
正常	6	57.18 $\pm$ 15.31	152.99 $\pm$ 53.58
模型	6	29.75 $\pm$ 4.12 **	70.36 $\pm$ 22.57 *
针刀	6	45.22 $\pm$ 12.02	141.72 $\pm$ 34.57 Δ
电针	6	44.43 $\pm$ 15.98	132.36 $\pm$ 49.09 Δ
针刀加电针	6	51.84 $\pm$ 13.58 Δ	146.76 $\pm$ 33.45 Δ

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

炎症或组织损伤时,可激活炎症部位的免疫细胞释放 β -EP 并活化神经末梢处的阿片样受体^[7]。其通过与外周感觉神经末梢上的阿片受体结合而产生抗伤害和镇痛作用^[8,9]。此外, β -EP 还可抑制痛觉传导递质的释放,而产生镇痛作用。在中枢 β -EP 神经元胞体集中在下丘脑弓状核,在脊髓只分布于 X 层^[10], 主要与 μ 和 δ 受体结合发挥镇痛作用。ENK 是脑内含量最高的 EOP, 主要与 δ 受体结合发挥镇痛作用^[11]。一般认为,在炎性疼痛时,中枢 EOP 的表达增加,以对抗和减轻机体的疼痛^[12,13]。但是,亦有人认为在慢性疼痛中,当慢性疼痛程度过于严重或机体的代偿功能低下时,则可能导致 EOP 的过度释放,造成 EOP 缺乏,产生痛觉过敏^[14]。

本实验结果来看,造模后,模型兔局部血浆和肌肉组织中 β -EP 含量显著升高,而腰段脊髓和下丘脑中 ENK 和 β -EP 含量显著降低,提示第三腰椎横突的局部炎症刺激,可启动外周 EOP 的释放,介导机体的局部镇痛效应,以降低机体的伤害性感受,对机体起到应激保护作用,同时中枢的 EOP 被大量消耗,中枢 EOP 的消耗速度超过了合成速度,从而使中枢 EOP 出现了含量的降低,使模型兔产生疼痛或痛觉过敏。针刀或电针治疗后,各治疗组中枢和外周 EOP 含量均趋于正常,其中针刀加电针组最优,这说明针刀或电针治疗可对外周和中枢的 EOP 有良好的调节作用,且效果有叠加效应。但针刀治疗无论是在治疗次数(2 次/6 次),还是在单次治疗时间(3 ~ 5 min/20 min)上均优于电针。

表 1 各组兔血浆、肌肉、脊髓及下丘脑 β -EP 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	β -EP			
		血浆 (pg/mL)	肌肉 (pg/mg pro)	脊髓 (pg/mg pro)	下丘脑 (pg/mg pro)
正常	6	273.13 $\pm$ 36.02	230.12 $\pm$ 69.02	209.78 $\pm$ 13.10	284.83 $\pm$ 38.75
模型	6	364.09 $\pm$ 27.04 *	387.12 $\pm$ 75.63 **	134.62 $\pm$ 28.03 *	178.17 $\pm$ 67.42 *
针刀	6	309.57 $\pm$ 22.77	297.47 $\pm$ 19.87 Δ	162.69 $\pm$ 44.71	250.93 $\pm$ 46.03 Δ
电针	6	312.56 $\pm$ 67.62	266.12 $\pm$ 81.72 Δ	168.53 $\pm$ 68.99	261.62 $\pm$ 54.97 Δ
针刀加电针	6	300.52 $\pm$ 62.45	245.55 $\pm$ 63.25 $\Delta\Delta$	181.02 $\pm$ 29.72	288.56 $\pm$ 58.73 Δ

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

针刀疗法是一种中西医结合的新疗法,其融合并借鉴了中医针灸学和现代手术学的一些特性和优点,形成了一套创新的理论体系,在临床取得了较为满意的疗效,尤其是在慢性软组织损伤和骨关节疾病的治疗方面。对于本病而言,针刀治疗直接作用于病变局部,可促进局部的微循环^[15],促进组织修复,同时也可良性的调节外周和中枢 EOP 的分泌,达到镇痛和治疗目的。

参 考 文 献

- [1] 张义, 权伍成, 尹萍, 等. 针刀疗法的适应证和优势病种分析[J]. 中国针灸, 2010, 30(6): 525-528.
- [2] 郭长青, 李石良, 乔晋琳, 等. 针刀松解法治疗第三腰椎横突综合征的多中心随机对照临床研究[J]. 成都中医药大学学报, 2012, 35(1): 20-23.
- [3] 王健瑞, 乔晋琳, 路平, 等. 第三腰椎横突综合征动物实验模型的建立及实验研究[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(7): 394-398.
- [4] 朱汉章. 针刀医学原理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 104-105.
- [5] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 316.
- [6] Janecka A, Perlikowska R, Gach K, et al. Development of opioid peptide analogs for pain relief[J]. Curr Pharm Des, 2010, 16(9): 1126-1135.
- [7] Yamdeu RS, Shaqura M, Mousa SA, et al. p38 mitogen-activated protein kinase activation by nerve growth factor in primary sensory neurons

- up-regulates μ -opioid receptors to enhance opioid responsiveness toward better pain control[J]. Anesthesiology, 2011, 114(1): 150-161.
- [8] Janson W, Stein C. Peripheral opioid analgesia[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2003, 4(4): 270.
- [9] Mousa SA, Shakibaei M, Sitte N, et al. Subcellular pathways of beta-endorphin synthesis, processing, and release from immunocytes in inflammatory pain[J]. Endocrinology, 2004, 145(3): 1331-1341.
- [10] Yang J, Yang Y, Chu J, et al. Endogenous opiate peptides in the spinal cord are involved in the analgesia of hypothalamic paraventricular nucleus in the rat[J]. Peptides, 2009, 30(4): 740-744.
- [11] Pinto M, Castro AR, Tshudy F, et al. Opioids modulate pain facilitation from the dorsal reticular nucleus[J]. Mol Cell Neurosci, 2008, 39(4): 508-518.
- [12] 张皓, 王健, 陈新勇, 等. 电针对佐剂性关节炎大鼠镇痛作用及内啡肽影响[J]. 青岛大学医学院学报, 2010, 46(5): 390-392.
- [13] 孙红梅, 胡波, 李晓泓, 等. 针刀松解法对第3腰椎横突综合征模型大鼠耐痛阈及脊髓与下丘脑 ENK、 β -EP 的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(3): 176-179.
- [14] 郝银菊, 蒋袁絮. TENS 对关节炎大鼠脊髓三种神经肽含量的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(2): 170-172, 214.
- [15] 刘乃刚, 郭长青, 李晓泓, 等. 针刀松解法对第三腰椎横突综合征模型大鼠血管活性物质的远期影响[J]. 北京中医药, 2012, 31(10): 780-782.

(收稿: 2014-12-22 修回: 2015-07-28)

全国中西医结合妇产科研究进展学术研讨会征文通知

第八届全国中西医结合妇产科学第五次学术会议(中西医结合妇产科研究进展学术研讨会暨中西医结合妇产科研究进展学习班)将于 2016 年 9 月 22—25 日在上海市举行。现将征文有关事项通知如下。

征文内容 中西医结合妇产科领域研究进展等。

征文要求 未公开发表的论文,以论文摘要形式投稿,摘要应包括题目、作者、单位及地址、邮编、目的、方法、结果及结论,字数 800 ~ 1 200 字,不含图标。会议将采用网上投稿,投稿信箱: xqiu10@fudan.edu.cn,请注明会议投稿。大会收到投稿后,将回复邮件确认。所有投稿请自留副本,投稿无论是否采用,一律恕不退稿。

截稿日期 2016 年 7 月 31 日。会议录用的稿件将由中国中西医结合学会妇产科专业委员会寄送正式通知。(为方便反馈信息,请在稿件最后写清联系地址、电子信箱和联系电话)。

联系人 王凌, 18221815182; E-mail: Dr.wangling@vip.163.com; 邱学敏, 15021198902; E-mail: xqiu10@fudan.edu.cn