

·基础研究·

低频电针对脊髓损伤致急性自发痛模型大鼠急性痛超敏的影响

刘静^a, 穆敬平^b, 廖恒^b

作者单位
十堰市太和医院
(湖北医药学院附属医院)a. 疼痛科,
b. 睡眠心身医学中心
湖北 十堰 442000
基金项目
2021 年度湖北省
卫生健康委科研项目
(No. ZY2021M0
06)
收稿日期
2020-11-27
通讯作者
廖恒
2445897387@qq.
com

摘要 目的:观察低频电针对脊髓损伤致急性自发痛模型大鼠急性痛超敏和自发痛行为学的影响。**方法:**60 只SD 大鼠随机均分为对照组,模型组及低、中、高频电针组,每组 12 只。模型组和低、中、高频电针组建立急性脊髓 L₂ 节段损伤模型。低、中、高频电针组分别用低频(2 Hz)、中频(50 Hz)、高频(100 Hz)电刺激 T₈~T₁₂ 节段夹脊穴和双侧“昆仑”和“足三里”,25 min/次,1 次/d,共 14 d。治疗结束后,观察各组大鼠自发疼痛行为,用足底热辐射测痛仪检测各组大鼠热缩足潜伏期(PWL)和 50%机械性缩足阈值(PWT);记录 L₁ 段体感诱发电位(SEP)潜伏期及 N 波、P 波的波幅。**结果:**与对照组相比,模型组的自发疼痛行为学动作的发生次数增多($P<0.05$);痛阈值降低(均 $P<0.05$),急性痛超敏发生率增高($P<0.05$),PWL 和 PWT 降低(均 $P<0.05$),SEP 潜伏期及 N 波、P 波波幅均增加(均 $P<0.05$)。与模型组相比,3 个电针组的自发疼痛行为学动作的发生次数降低(均 $P<0.05$),痛阈值升高(均 $P<0.05$),急性痛超敏发生率降低($P<0.05$),PWL 和 PWT 降低(均 $P<0.05$),SEP 潜伏期及 N 波、P 波波幅降低均 $P<0.05$),且低频电针组的疗效优于中、高频电针组(均 $P<0.05$)。**结论:**低频电针可提高脊髓损伤大鼠的痛阈,减轻急性自发痛超敏,改善自发痛引起的行为学变化。

关键词 低频电针;脊髓损伤;急性痛超敏;自噬;自发痛行为学

中图分类号 R741;R741.02;R741.05;R744 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgnj.20200860

本文引用格式:刘静, 穆敬平, 廖恒. 低频电针对脊髓损伤致急性自发痛模型大鼠急性痛超敏的影响[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16(10): 606-608.

脊髓损伤致残率高、治愈率低^[1],除导致损伤水平以下感觉、自主神经功能障碍及躯体运动功能损伤外,还可造成中枢性疼痛^[2]。患者主观感受为损伤水平以下皮肤痛觉已消失区域的疼痛,常表现为诱发痛、自发间断痛或自发持续痛^[3]。在脊髓损伤后急性期(15 天内)表现为急性痛超敏并伴有自发痛行为学改变^[4]。在自发痛动物模型中,神经源性疼痛的动物会出现损伤平面以下部位搔抓、舔咬和自噬,其中自噬现象是公认的严重自发痛^[5]。脊髓损伤诱发痛、自发间断痛或自发持续痛的发生率达 11%~94%,且重度疼痛甚至达到 5%~30%,可导致患者药物成瘾、抑郁、甚至出现自杀倾向^[6]。研究表明,低频电针可提高大鼠 50%足底机械缩足反应阈值而抑制紫杉醇诱发的周围神经痛^[7],也可改善脊髓损伤维持期神经痛^[8],但低频电针是否影响脊髓损伤急性期自发痛(中枢性疼痛)的实验研究较少。本研究拟研究低频电针刺激对脊髓损伤急性痛超敏和自发痛的影响,为临床治疗提供实验参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料
1.1.1 动物及分组 健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只,63 日龄,体质量(360.2±7.4)g,购于湖北省实验动物中心,饲养于十堰市太和医院实验中心[合格证号:SCX K(鄂)2019-0005]并在中心完成全部实验。实验期间满足动物福利,术后分笼饲养。

1.1.2 实验器材 NeuroExam M-800A 肌电图/诱发电位仪(珠海市迈康科技有限公司);足底热辐射测痛仪(上海瑞鲍生物科技有限公司);纤毛机械刺激针(von Frey hair,瑞典);LH202H-四导韩氏穴位神经刺激仪(北京华运安特)。

1.2 方法
1.2.1 分组 采用随机数字表编号,按随机、对照、盲法原则将大鼠随机分为对照组、模型组和低、中、高频电针组,每组 12 只。

1.2.2 大鼠脊髓损伤致急性自发痛模型 模型组和低、中、高频电针组实验前禁食 6 h、不禁水。10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,以 L₁ 为中心切开脊正中皮肤、分离浅肌层,暴露 T₁₃~L₂ 椎板及棘突并用咬骨钳咬除 L₁ 椎板,充分暴露 L₂ 节段脊髓,在长有机玻璃管(20 cm)引导下将铜棍(20 g)设定在 15 cm 处,自由坠落击打 L₂ 节段脊髓造成 3N 脊髓损伤^[9]。对照组手术同前,但不击打 L₂ 节段脊髓。术后分层缝合,碘伏消毒后分笼饲养。隔日观察,以大鼠双后肢瘫痪,自发嘶叫及对躯体下部、尾部和后肢舔咬、搔抓或自噬为成功造模标准^[10]。

1.2.3 治疗 于术后 12 h,将低、中、高频电针组大鼠固定,参照《华兴邦大鼠穴位图谱》,选择 0.25 mm×1 mm 针灸针,于 T₈~T₁₂ 节段棘突下缘两侧 4 mm 处取夹脊穴,于后肢外踝与跟腱之间的凹陷中取昆仑穴,于膝关节后外侧、腓骨小头下 5 mm 取足三里进针,接穴位神经刺激仪,分别用低频(2 Hz,2 mA)、中频(50 Hz,2 mA)、高频(100 Hz,2 mA)进行针刺,

25 min/次,1 次/d,共 14 d。对照组、模型组仅固定 25 min。

1.2.4 自发痛行为学观察 实验期间每天定时观察 2 h 大鼠是否出现自发嘶叫及对躯体下部、尾部和后肢舔咬、搔抓和自噬等现象。

1.2.5 痛阈测定 治疗结束后采用 von Frey Hairs 痛阈测定方法测量大鼠损伤下端躯干对非伤害性机械性轻压和轻触之疼痛反应阈值,同时观察引起 50%前爪抬足的阈值。以开始后 10 s 内出现对轻压的嘶叫、躲避或攻击,并出现抬前爪 1 次者为阳性;以引起 5 次痛反应重力为痛反应阈值;以橡皮抚过下端躯体皮肤引起痛反应为对轻触刺激的痛反应阈值;采用足底热辐射测痛仪检测各组大鼠热缩足潜伏期(thermal paw withdrawal latency, PWL)和 50%机械性缩足阈值(paw withdrawal threshold, PWT)^[9,10]。

1.2.6 体感诱发电位(somatosensory evoked potential, SEP)记录 治疗结束后麻醉大鼠,在背部正中切开皮肤,暴露 L₁段硬脊膜并在表面接银丝电极,于足跟处给予电刺激(1.2 ~ 1.4 mA),记录 SEP 潜伏期及 N 波、P 波的波幅。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-q; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低频电针对自发痛行为学的影响

模型组的自发疼痛行为学动作(自发嘶叫、对损伤平面以下部位、尾部和后肢的搔抓、舔咬和自噬)的发生次数较对照组增多($P<0.05$);3 个电针组的自发疼痛行为学动作的发生次数均低于模型组(均 $P<0.05$),且低频电针组低于中、高频电针组(均 $P<0.05$);中、高频电针组组间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.2 低频电针对急性痛超敏的影响

与对照组相比,模型组脊髓损伤后急性期对非伤害性机械性轻触、轻压损伤躯干下端皮肤和前爪痛阈显著降低(均 $P<0.05$),3 个电针组的上述指标高于模型组(均 $P<0.05$),且低频电针组高于中、高频电针组(均 $P<0.05$);与对照组相比,模型组急性痛超敏发生率增高($P<0.05$),3 个电针组的急性痛超敏发生率均低于模型组($P<0.05$),且低频电针组低于中、高频电针组(均 $P<0.05$);而中、高频电针组组间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.3 低频电针对 PWL 和 PWT 的影响

与对照组相比,模型组 PWL 和 PWT 降低(均 $P<0.05$);3 个电针组的 PWL 和 PWT 均高于模型组(均 $P<0.05$),且低频电针组高于中、高频电针组(均 $P<0.05$);中、高频电针组组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.4 低频电针对 SEP 的影响

与对照组相比,模型组 SEP 潜伏期及 N 波、P 波波幅均增加(均 $P<0.05$);3 个电针组的 SEP 潜伏期及 N 波、P 波波幅低于模型组(均 $P<0.05$),且低频电针组低于中、高频电针组(均 $P<0.05$);中、高频电针组组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

3 讨论

电针对不同类型的疼痛均有镇痛作用,但电针的刺激频率对不同病因导致的疼痛的镇痛效果不同^[11]。脊髓损伤后的疼痛可为痛觉过敏、痛觉超敏、自发痛等^[12],其症状与脊髓受损的部位和损伤程度有关^[13]。

急性痛超敏和自发痛行为学改变是脊髓损伤急性期的重要表现,如患者在脊髓损伤后出现捏掐、捶打下肢等行为改变^[5]。本研究模型大鼠自发疼痛行为学动作明显增多,对非伤害性机械性轻触、轻压损伤躯干下端皮肤和前爪痛阈显著降低,急性痛超敏发生率增高,PWL 和 PWT 降低。本研究采用低、中、高 3 种频率电针分别刺激夹脊穴和双侧昆仑和足三里,结果发现 3 种

表 1 各组大鼠自发痛行为学比较(次, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	搔抓	舔咬	自发嘶叫	自噬
对照组	12	1.02±0.02	0.05±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
模型组	12	22.87±2.09 ^①	13.23±1.90 ^①	13.34±1.81 ^①	5.97±0.38 ^①
高频电针组	12	16.03±1.21 ^{②③}	10.99±0.98 ^{②③}	10.25±0.92 ^{②③}	4.26±0.52 ^{②③}
中频电针组	12	15.97±1.03 ^{②③}	10.92±1.14 ^{②③}	9.13±1.24 ^{②③}	3.92±0.63 ^{②③}
低频电针组	12	10.59±0.84 ^②	8.79±0.71 ^②	7.95±0.57 ^②	3.06±0.97 ^②

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与模型比较,^② $P<0.05$;与低频电针组比较,^③ $P<0.05$

表 2 各组大鼠急性痛超敏结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	机械轻压/g	轻触皮肤/g	轻压前爪/g	急性痛超敏%
对照组	12	67.94±7.42	71.58±5.76	59.54±4.24	0.00
模型组	12	9.03±1.17 ^①	10.61±3.34 ^①	5.61±1.05 ^①	11.78 ^①
高频电针组	12	19.57±1.69 ^{②③}	26.36±1.02 ^{②③}	29.14±1.31 ^{②③}	8.97 ^{②③}
中频电针组	12	20.54±1.72 ^{②③}	27.01±1.92 ^{②③}	30.75±1.17 ^{②③}	8.54 ^{②③}
低频电针组	12	26.41±1.26 ^②	33.82±2.30 ^②	36.25±2.17 ^②	6.09 ^②

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与模型比较,^② $P<0.05$;与低频电针组比较,^③ $P<0.05$

表3 各组PWL和PWT比较(s, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	PWL	PWT
对照组	12	12.76±1.32	13.07±1.29
模型组	12	6.98±0.76 ^①	9.63±0.53 ^①
高频电针组	12	8.92±0.72 ^{②③}	10.04±0.66 ^{②③}
中频电针组	12	9.05±0.69 ^{②③}	10.48±0.81 ^{②③}
低频电针组	12	11.07±0.54 ^②	12.37±0.93 ^③

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与模型比较,^② $P<0.05$;与低频电针组比较,^③ $P<0.05$

频率的电针均可减轻急性痛超敏和改善自发痛行为学,且低频电针较中、高频效果更明显。痛阈检查结果也显示电针可提高脊髓损伤大鼠的PWL和PWT,低频组效果更好。这提示电针治疗有利于降低脊髓损伤大鼠的痛觉敏感性,减轻应激性损伤^[14]。

SEP可反映脊髓运动及感觉上行通路传导通路的完整性及功能状态,脊髓损伤后上行通路纤维受损,其传导的神经冲动和同步兴奋的皮质感觉神经元数量减少,由此上行神经冲动传导速度减慢,SEP潜伏期延长,N波和P波波幅增加^[15]。本实验模型组SEP潜伏期延长、N波和P波波幅增加,提示本模型为脊髓不完全性损伤为主且疼痛持续时间延长。电针治疗组SEP潜伏期缩短,N波和P波波幅降低,提示针刺可降低脊髓损伤造成的伤害性刺激持续时间,低频效果更好。根据中医脏腑经络理论推论:脊髓的功能与督脉相似,脊髓损伤可视为“督脉损伤”,用低频微电流刺激可疏通经络并促进脊髓再生^[16]。而“足三里”、“昆仑”二穴具有调补气血、活血化瘀等功效,在针刺治疗炎性痛及神经痛中有广谱性与特异性^[17]。这也是本研究选用基本思路。

综上所述,低频电针刺激T₈~T₁₂节段夹脊穴和双侧昆仑和足三里,能提高急性自发痛模型大鼠痛阈,减轻脊髓损伤致痛超敏,并改善由自发痛引起的行为学变化。

参考文献

[1] 刘二宁, 邹任玲, 卢旭华, 等. 脊髓损伤患者步行功能康复设备的研究进展[J]. 医学工程研究, 2020, 39: 100-103.
[2] 李雅静, 李建军, 高峰, 等. 脊髓损伤患者大脑中央前回的代谢改变[J]. 中国康复理论与实践, 2020, 26: 382-387.
[3] 佟安妮, 张军卫. 儿童创伤性脊髓损伤研究进展[J]. 中国康复理论与

表4 各组SEP比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	潜伏期/ms	N波/mv	P波/mv
对照组	12	22.54±1.87	9.71±0.98	14.56±1.91
模型组	12	34.27±2.10 ^①	13.13±1.50 ^①	18.04±1.25 ^①
高频电针组	12	32.03±1.97 ^{②③}	12.01±1.14 ^{②③}	17.21±1.03 ^{②③}
中频电针组	12	32.29±1.70 ^{②③}	12.05±1.37 ^{②③}	17.09±1.82 ^{②③}
低频电针组	12	30.57±1.32 ^②	10.85±1.82 ^②	15.39±0.87 ^②

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与模型比较,^② $P<0.05$;与低频电针组比较,^③ $P<0.05$

实践, 2020, 26: 377-381.
[4] 谢恒韬, 段铁轩, 张照庆, 等. 葛根素对神经病理性疼痛模型大鼠机械/热痛觉超敏的影响[J]. 中国疼痛医学杂志, 2019, 25: 817-822.
[5] 刘永达, 韩光, 王志彬, 等. 两种不同神经病理性疼痛模型中自噬的改变[J]. 中国疼痛医学杂志, 2017, 23: 489-493.
[6] Burke D, Fullen BM, Stokes D, et al. Neuropathic pain prevalence following spinal cord injury: A systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Pain, 2017, 21: 29-44.
[7] 李园园, 李清林, 尹诚语, 等. 低频电针对紫杉醇诱发周围神经痛大鼠背根神经节 TRPV1 表达的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2019, 32: 496-503, 511.
[8] 颜思思, 蒋永亮, 叶佳瑜, 等. SNI 大鼠神经痛维持期脊髓背角 TRPV1 的活化形式及低频电针干预作用[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40: 323-329, 352.
[9] 魏荣志, 王玉玦, 闫景龙, 等. 大鼠脊髓损伤模型研究进展概述[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15: 274-277.
[10] 项璇儿, 杜俊英, 方剑乔, 等. 电针对 CFA 致炎性痛大鼠热痛和机械痛优效频率观察及机制初探[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40: 891-897, 922.
[11] Shi RY, Fu TF, Cai YQ, et al. Electroacupuncture intervention relieves pain possibly by promoting MOR endocytosis in locus coeruleus in bone cancer pain rats with morphine tolerance[J]. Acupunct Res, 2019, 44: 161-169.
[12] 刘俊, 高峰, 李迪, 等. 脊髓损伤后神经病理性疼痛机制的研究进展[J]. 中国康复, 2020, 35: 488-491.
[13] Kei Y, Ma D, Cong B, et al. Application status of exercise rehabilitation in rehabilitation treatment of spinal cord injury[J]. Advances in Clinical Medicine, 2019, 9: 401-405.
[14] 代妮, 黄思琴, 唐成林, 等. 电针对脊髓损伤小鼠运动功能及炎性和氧化应激反应的影响[J]. 针刺研究, 2019, 21: 781-786, 804.
[15] 顾兵, 余彬, 张海明, 等. 脊髓损伤后的诱发电位检查及其在动物模型评价中的应用[J]. 中国药理学通报, 2015, 31: 1202-1206.
[16] 杜晓伟, 滕秀英, 高长乐, 等. 夹脊电针干预对大鼠脊髓损伤区巨噬细胞 NgR 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2020, 27: 5-8.
[17] 姚琳, 杨馥铭, 刘雁泽, 等. 基于数据挖掘技术探析针刺治疗炎性痛临床选穴规律[J]. 中国中医急症, 2019, 28: 782-785.

(本文编辑:唐颖馨)