

电针对糖尿病周围神经病变模型大鼠外周血流灌注量及其坐骨神经 NGF 受体表达的影响

阮继源 张文红 杨丹红

(浙江中医药大学第三附属医院, 杭州, 310053)

摘要 目的:通过腹腔注射链脲佐菌素(Streptozocin, STZ)建立痛性糖尿病周围神经病变(Painful Diabetic Neuropathy, PDN)模型,探讨电针对PDN的治疗作用机制。方法:采用PDN组大鼠腹腔注射STZ建立糖尿病模型,观察各组大鼠的行为反应,各大鼠的一般情况、血糖、痛阈,处死前检测大鼠周围血流灌注量,于处死后采用免疫组化法检测大鼠坐骨神经神经生长因子(Nerve Growth Factor, NGF)受体的表达,进而初步探讨电针治疗PDN大鼠的部分机制。结果:与空白组比较,模型组大鼠周围血流灌注量、NGF受体的表达明显降低,电针组大鼠血流灌注量、NGF受体的表达增加,并且电针2组较电针1组血流灌注量、NGF受体的表达增加较多。结论:电针可以提高PDN模型大鼠的痛阈,增加大鼠周围血流灌注量,电针可以增加PDN模型大鼠坐骨神经NGF受体的表达,从而对损伤的坐骨神经起到修复的作用,电针能够改善PDN模型大鼠坐骨神经的病理形态和超微结构,对神经具有保护作用。

关键词 痛性糖尿病周围神经病变;电针;周围血流灌注量;神经生长因子;大鼠;实验;模型

Effects of Electroacupuncture on Peripheral Blood Flow and Expression of NGF Receptor in Sciatic Nerve of PDN Rats

Ruan Jiyuan, Zhang Wenhong, Yang Danhong

(Acupuncture Research, The Third Clinical Medical College, Affiliated to Zhejiang

Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract Objective: To build the Painful Diabetic Neuropathy (PDN) model by intraperitoneal injection of Streptozocin (STZ), to discuss treatment mechanism of PDN by electric acupuncture (EA) and provide theoretical basis for clinical promotion. **Methods:** The PDN group was intraperitoneal injected STZ to build PDN model for observing behavior reaction of each groups and general state, blood glucose and pain threshold of all rats. Before death, peripheral blood perfusion was measured. After death, expression of receptor expression of Sciatic Nerve growth factor (NGF) was detected by immunohistochemistry. Moreover, it was to investigate the mechanism of electroacupuncture in the treatment of painful diabetic peripheral neuropathy in rats. **Results:** After building model, blood glucose of model group is increased significantly, pain threshold was declined gradually. After treatment of EA, blood glucose was not significant changed, and pain threshold was rising after treatment for 4 weeks. 8-week-treatment pain threshold was rising more than 4-weeks-treatment group. **Conclusion:** The treatment of EA can improve the pain threshold of PDN model rats for increasing the peripheral blood perfusion and microcirculation, can improve the expression of NGF receptors in the sciatic nerve of the PDN model rats for repairing the injured sciatic nerve, can improve the Sciatic pathological morphology and ultrastructure of PDN model rats for protecting the nerves.

Key Words Painful Diabetic Neuropathy (PDN); Electric acupuncture (EA); Peripheral blood perfusion; Nerve growth factor (NGF); Rats; Experiments; Model

中图分类号: R245.3 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.02.021

糖尿病(Diabetes Mellitus, DM)是一种体内胰岛素相对或绝对不足或靶细胞对胰岛素敏感性降低,或胰岛素本身存在结构上的缺陷而引起的碳水化合物、脂肪和蛋白质代谢紊乱的一种慢性疾病。糖尿病周围神经病(Diabetic Peripheral Neuropathy, DPN)在DM患者较为常见,导致DPN的主要因素有:代谢障碍、缺氧缺血、神经营养因子缺乏等因素。其临

床表现有多种形式,最常见为远端对称性感觉多发神经病。在DPN患者中其中又有60%~90%的患者合并有自觉症状,通常表现为肢体远端特别是下肢皮肤表现烧灼样疼痛,麻木,称之为痛性DPN^[1-2]。目前,西医的药物有4种主要的类型,醛糖还原酶抑制剂(ARIs)、改善微循环类药物、神经营养因子、维生素等。由于西药治疗主要是针对发病机制中的某

一个环节,很难实现多靶点的治疗效果,治疗效果不太令人满意,而且不良反应比较大,所以发挥针灸的治疗作用显得尤为重要。有研究表明,电针可以降低 DM 患者的血糖,显著改善 DM 患者的周围神经传导速度,促进神经功能的恢复,提高 DM 患者生命质量^[3-4]。本研究拟在众多的临床疗效的基础上,根据机械痛阈、血流灌注量、坐骨神经超微结构、NGF 受体等指标的变化,探讨针灸调节 PDN 的机制,为临床治疗 PDN 奠定理论基础、提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康雄性 Wistar 大鼠 32 只,体质量(220~250)g,实验动物由浙江中医药大学实验动物中心提供。饲养室保持良好通风,室温控制在(21±1)℃,湿度 63%,噪声≤55 dB,自由摄食,饮水,光照与黑暗时间每 12 h 交替。

1.1.2 试剂与仪器 链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)(Sigma 公司,德国,生产批号:S0130);柠檬酸、柠檬酸三钠(江苏强盛功能化学股份有限公司,20130418、20120901)。韩氏镇痛仪(南京济生医疗科技有限公司,HANS-100 型)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

1.2.1.1 造模方法 PDN 组将链脲佐菌素(STZ)按 50 mg/kg 腹腔注射(1%,溶剂柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,pH 值为 4.2~4.5),空白组腹腔注射相同剂量(50 mg/kg)的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。72 h 后,尾静脉取血检测血糖,若血糖高于 16.7 mmol/L 则为 DM 大鼠。

1.2.1.2 分组方法 将大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、电针 1 组、电针 2 组,共 4 组,每组 8 只。

1.2.2 干预方法 电针 1 组:确定为 PDN 模型大鼠,接受电针治疗,电针治疗 4 周,隔日 1 次。电针 2 组:确定为 PDN 模型大鼠,接受电针治疗,电针治疗 8 周,隔日 1 次。电针治疗方法:用针灸针(0.18 mm×13 mm)刺入大鼠双侧足三里 0.6 cm、昆仑穴 0.5 cm,然后连接韩氏电针仪(HANS-100A),刺激参数:频率为 0.02 Hz,波形为连续波,强度以患肢轻微抽动为度。空白组、对照组大鼠用布套固定但不采取治疗。

1.2.3 检测指标与方法

大鼠一般状况及体质量:观察每天大鼠进食、饮水、热料的湿度、大鼠毛色、精神状况、体质量等一般

状况,做好记录。

1.2.3.1 大鼠血糖监测 从大鼠尾静脉取血测各组大鼠的血糖水平。同时每天观察大鼠的一般状态,活动情况等,并检测 STZ 注射前、STZ 注射后、STZ 注射后第 4、8、12 周各组空腹血糖。检测血糖当天早晨 6 点给大鼠禁食,下午 4 点用电子血糖仪在大鼠尾部取血测血糖值,并记录数据。

1.2.3.2 痛阈测定 采用 BIO-EVF3 测痛仪,将大鼠至于高架网内,待其探索和舔足等适应性行为停止后,通过类似钝性金属纤维慢慢靠近大鼠右后足底,刺激其右后足底中央部位,采用足底触觉测痛仪,记录引起动物缩足的刺激力量(g)2 次刺激间隔为 1 min,每只大鼠共刺激 3 次,取平均值作为其痛阈值。分别于造模前、造模后每两周检测实验动物痛阈变化,每次测量前两天进行适应性训练。

1.2.3.3 多普勒激光测速仪测量血流 保持室温在 25℃,用激光多普勒血流测定仪(Perimed 5000 购于瑞典 Perimed 公司)测定仪预热 30 min,将各组大鼠用 10% 水合氯醛按 0.35 mL/100 g 的量腹腔注射麻醉后,仰卧固定于测量台上,用剃毛器将右下肢脱毛,选取距其踝关节内侧上方 2 cm 处,避开大血管,将激光多普勒测定光纤导管探头贴近此点,测定血液灌注量(Perfusion,PU),每次连续测定 5 min,得出 PU 平均值;每点均测量 3 次,以均值作为大鼠的 PU 值。

1.2.3.4 获取标本和动物处死 空白组、模型组及电针 2 组在第 12 周结束时及电针 1 组在治疗第 8 周结束时,取 Wistar 大鼠坐骨神经,将大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(0.35 mL/100 g)进行麻醉,俯卧固定于固定架上,剖开右侧股骨皮肤,暴露出坐骨神经,用无菌玻璃剥离器小心剥离坐骨神经后取出,坐骨神经的长度约以 1 cm 左右为宜。剪取坐骨神经时动作要轻,为防止组织内部发生变化,千万不能用力牵引或用镊子挟持。坐骨神经取下后,先用 0.9% 的生理盐水清洗,以洗去血液与污渍。坐骨神经取下后应当迅速放入 4% 多聚甲醛溶液中固定。固定液的用量与坐骨神经体积之比一般在 20:1。在离心管上记录固定液的名称,材料的种类及开始固定的时间,4℃冰箱保存,备光学显微镜、免疫组化检测。然后同样的方法取左侧神经靠近坐骨切迹的部位约 0.1 cm 置于预冷的 2.5% 戊二醛中固定以备做电镜使用。获取神经标本后将动物当即处死。

1.2.3.5 神经 NGF 受体阳性细胞的计数 1)标本制备:大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(0.35 mL/100 g)

麻醉,剥离两侧坐骨神经;将一侧神经组织在4%多聚甲醛中固定24 h,另一侧用于电镜检测;乙醇脱水;二甲苯透明;石蜡包埋;取坐骨神经连续5 μm 切片,贴于黏附波片上,制作石蜡切片。2) HE 染色:石蜡切片置于60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温烤箱中1 h;二甲苯脱蜡15 min $\times$ 2次,无水乙醇1 min $\times$ 2次,95%乙醇1 min $\times$ 2次,85%乙醇1 min;自来水清洗2 min;苏木素染色2 min;流水洗1~3 s;1%盐酸乙醇10 s;自来水洗1~3 s;伊红染色1 min;自来水洗1~3 s;85%乙醇20 s-90%乙醇30 s-95%乙醇1 min-无水乙醇1 min-无水乙醇5 min;二甲苯1 min $\times$ 2次;中性树胶封片。3) 免疫组织化学染色:石蜡切片置于60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温烤箱中1 h,二甲苯脱蜡15 min $\times$ 2次;乙醇下行至水;无水乙醇5 min-无水乙醇5 min-95%乙醇3 min-85%乙醇3 min-75%乙醇3 min;PBS冲洗5 min $\times$ 3次。抗原微波修复:在微波炉里加热0.01 mol/L柠檬酸钠缓冲溶液(pH 6.0)至沸腾后将组织切片纳入,使容器内的液体温度保持在92~98 $^{\circ}\text{C}$ 并持续10~15 min以修复抗原,取出容器,室温冷却。PBS冲洗5 min $\times$ 3次,每个组织处滴加1滴(约50 μL)内源性过氧化酶阻断溶液(3% H_2O_2 去离子水)以灭活内源性过氧化物酶,室温避光静置15 min。PBS冲洗5 min $\times$ 3次,滴加0.3% Triton 15 min, PBS冲洗5 min $\times$ 3次。每个组织处滴加1滴(约50 μL)正常山羊血清封闭液(SP免疫组化检测试剂盒中试剂A),室温静置1 h,甩去多余液体;每个组织处滴加1滴(约50 μL)内源性过氧化酶阻断溶液(3% H_2O_2 去离子水)以灭活内源性过氧化物酶,室温避光静置15 min。PBS冲洗5 min $\times$ 3次,滴加0.3% Triton 15 min, PBS冲洗5 min $\times$ 3次,每个组织处滴加1滴(约50 μL)正常山羊血清封闭液(SP免疫组化检测试剂盒中试剂A),室温静置1 h,甩去多余液体。每个组织处滴加1滴(约50 μL)内源性过氧化酶阻断溶液(3% H_2O_2 去离子水)(阴性对照采用抗体稀释液代替一抗),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中复温1 h。PBS冲洗5 min $\times$ 5次,每个组织处滴加1滴(约50 μL)生物素标记二抗工作液(SP免疫组化检测试剂盒中试剂B),37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育1 h, PBS冲洗5 min $\times$ 5次;每个组织处滴加1滴(约50 μL)辣根酶标记链霉卵白素工作液(SP免疫组化检测试剂盒中试剂C),37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育1 h, PBS冲洗5 min $\times$ 5次。DAB显色1~5 min,在显微镜下掌握染色程度;苏木素复染30 s,自来水冲洗,1%盐酸乙醇20~30 s,自来水冲洗,1%氨水1 s,自来水冲洗。75%、

85%、95%乙醇中各3 min,无水乙醇5 min $\times$ 2次脱水。二甲苯5 min $\times$ 2次,中性树胶封片、镜检。显微镜下计数染色为棕黄色的阳性细胞,只有染色深度达到足以区分其周界的免疫阳性细胞才被计数和测量对象。每张切片于10 $\times$ 40倍光镜下选择3个相邻视野(1个视野=1 mm^2),计数阳性细胞并取其平均值为坐骨神经NGF受体阳性细胞的计数。

1.3 统计学方法 采用SPSS 17.0统计软件对实验数据进行分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,进一步两两比较,采用LSD- t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 电针对PDN大鼠一般状况及体质量的影响

2.1.1 一般状况 空白组大鼠毛色光滑柔软,性格温顺,反应迅速,行动灵敏,每天饮食饮水以及尿量正常,垫料湿度正常,隔日或3 d一换;模型对照组大鼠则毛色枯黄、无光泽,精神萎靡,行动迟缓,爱蜷缩不动,抓取挣扎无力,出现“三多一少”的典型症状,每天饮食饮水及尿量均明显增多,垫料湿度明显增加,须每天一换。电针组经过电针治疗后毛色有所好转,精神状态变好,相对模型组比较活跃,但饮食饮水与模型组比较并无太大变化。

2.1.2 体质量变化 造模前空白组大鼠体质量为(245.13 $\pm$ 14.98) g,其他3组大鼠体质量分别为(251.25 $\pm$ 14.46) g、(241.13 $\pm$ 11.19) g、(245.50 $\pm$ 13.17) g,各组差异无统计学意义($P > 0.05$)。之后模型组大鼠造模4、8、12周后体质量均显著低于空白组($P < 0.05$)。电针1、2组在造模后各时间点体质量与空白组及模型组比较,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表1、图1。

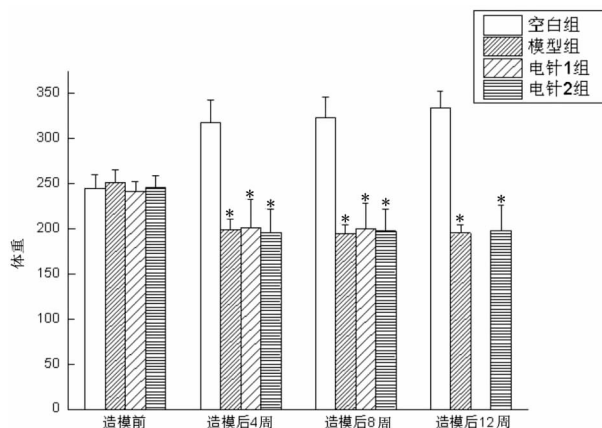


图1 电针对大鼠体质量的影响

注:与对照组比较 * $P < 0.05$

表 1 电针对大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, g, n = 8$)

组别	造模前	造模后		
		4 周	8 周	12 周
空白组	245.13 ± 14.98	317.63 ± 24.84	323.50 ± 22.29	334.63 ± 18.02
模型组	251.25 ± 14.46	199.50 ± 11.50 *	194.38 ± 10.17 *	195.29 ± 9.01 *
电针 1 组	241.13 ± 11.19	201.25 ± 31.17 * [△]	199.88 ± 28.64 * [△]	—
电针 2 组	245.50 ± 13.17	196.12 ± 25.47 * [△]	197.50 ± 24.70 * [△]	198.25 ± 27.71 * [△]
F 值	0.759	47.605	62.864	121.725
P 值	0.527	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

表 2 电针对大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}, n = 8$)

组别	造模前	造模后		
		4 周	8 周	12 周
空白组	5.98 ± 0.76	6.00 ± 0.95	5.61 ± 0.86	5.62 ± 0.88
模型组	5.94 ± 0.76	25.35 ± 2.22 *	24.36 ± 3.45 *	26.69 ± 2.99 *
电针 1 组	5.81 ± 1.02	24.94 ± 1.19 *	23.35 ± 3.59 *	—
电针 2 组	5.74 ± 0.81	25.15 ± 2.21 *	23.58 ± 2.21 *	23.68 ± 3.56 * [△]
F 值	0.148	242.148	86.770	243.425
P 值	0.93	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

表 3 针对大鼠痛阈的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	造模前	造模后		
		4 周	8 周	12 周
空白组	47.96 ± 1.43	49.39 ± 0.89	50.17 ± 0.67	50.62 ± 0.88
模型组	48.24 ± 2.15	39.87 ± 0.94 *	38.93 ± 1.23 *	39.40 ± 0.68 *
电针 1 组	47.81 ± 1.60	39.17 ± 1.29 *	41.14 ± 1.48 * [△]	—
电针 2 组	48.65 ± 1.36	40.26 ± 1.21 *	41.33 ± 1.39 * [△]	46.13 ± 0.90 * [△]
F 值	0.398	155.005	129.890	370.730
P 值	0.756	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

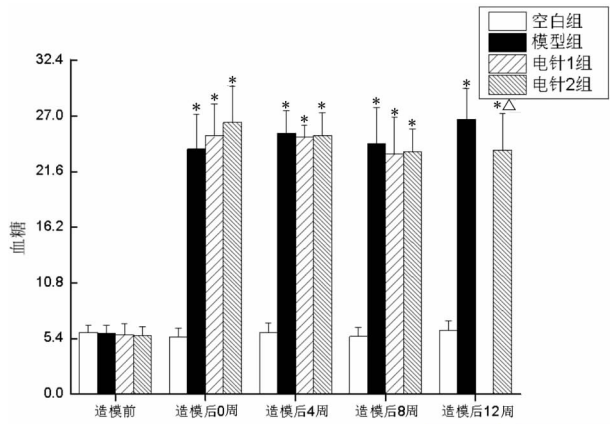


图 2 电针对大鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

2.2 电针对 PDN 大鼠血糖的影响 造模组大鼠造模后各时间点血糖均高于 16.7 mmol/L,与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),2 组电针组大鼠在治疗 4 周后血糖有所下降,但与模型组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),而电针 2 组在第 8 周血糖与模型组和电针 1 组比较,差异均无统计学

意义(P 均 >0.05),而电针 2 组在第 12 周时血糖较模型组显著下降($P < 0.05$)。见表 2,图 2。

2.3 电针对 PDN 大鼠机械痛阈的影响 应用测痛仪检测大鼠后足的机械痛阈,结果显示:造模前各组大鼠机械痛阈比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05),从 DM 模型成模 4 周开始,模型组大鼠机械痛阈下降,模型组在第 4 周、8 周、12 周时与空白组比较,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。而 2 组电针组从接受电针治疗开始,痛阈逐渐升高,在电针治疗 8 周、12 周后,电针 1、2 组与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),但仍然低于对照组大鼠($P < 0.05$)。见表 3,图 3。

2.4 电针对 PDN 大鼠周围血流灌注量的影响 各组大鼠于实验 8 周后,应用血流检测仪检测大鼠下肢周围血流灌注量,选取 PU 值作为评价指标,检测结果显示:各组大鼠周围血流灌注量均明显低于空白组大鼠($P < 0.05$),电针组在接受电针治疗后周围血流灌注量高于模型组大鼠($P < 0.05$),

并且电针 1 组要优于电针 2 组 ($P < 0.05$)。见表 4, 图 4。

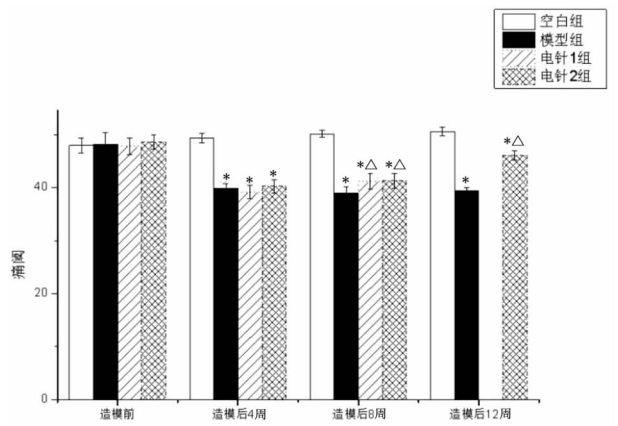


图 3 电针对大鼠痛阈的影响 ($\bar{x} \pm s, g$)

注:与对照组比较, * $P < 0.05$,与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 电针对大鼠血流灌注量的影响 ($\bar{x} \pm s, PU$)

组别	血流灌注量
空白组	56.30 ± 5.11
模型组	23.14 ± 2.24 *
电针 1 组	36.38 ± 2.51 * Δ
电针 2 组	43.21 ± 4.07 * Δ $\blacktriangle$
F 值	112.996
P 值	0.000

注:与空白组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$,与电针 1 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

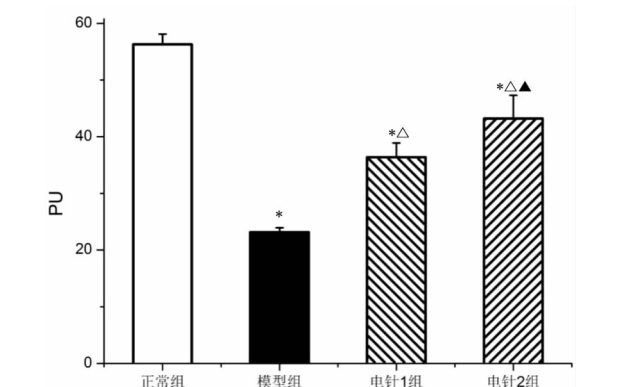


图 4 电针对大鼠血流灌注量的影响 ($\bar{x} \pm s, PU$)

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$,与电针 1 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

2.5 电针对 PDN 大鼠坐骨神经 NGF 受体表达的影响 光镜下观察结果显示:NGF 受体阳性反应,染色呈棕黄色。各组大鼠坐骨神经 NGF 受体均有阳性细胞表达。模型组大鼠坐骨神经 NGF 受体的阳性表达较空白组减弱 ($P < 0.05$),电针 1、2 组大鼠坐骨神经阳性细胞表达量显著高于模型组 ($P < 0.05$)。且电针 2 组更高 ($P < 0.05$),说明电针治疗后可以增强大鼠坐骨神经 NGF 受体的阳性表达。见表 5、图 5。

表 5 电针对 PDN 大鼠坐骨神经 NGF 受体表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, 个, $n = 8$)

组别	阳性细胞数
空白组	33.29 ± 1.33
模型组	20.42 ± 0.75 *
电针 1 组	25.62 ± 0.65 * Δ
电针 2 组	30.42 ± 1.31 * Δ $\blacktriangle$
F 值	228.701
P 值	0.000

注:与空白组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与电针 1 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

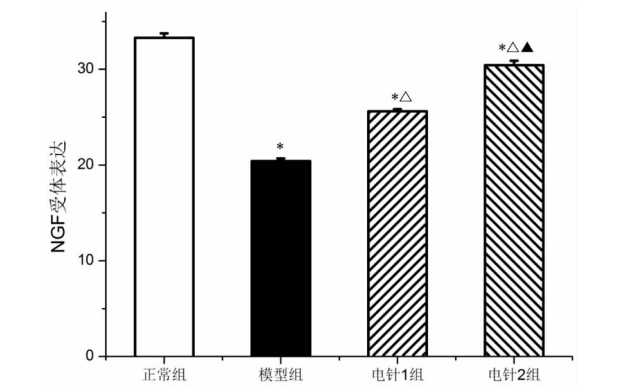


图 5 电针对 PDN 大鼠坐骨神经 NGF 受体表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, 个)

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与电针 1 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

3 讨论

中医理论认为 PDN 的发生主要与瘀血阻滞经络有十分密切的关系,其主要原因是 DM 长久不愈,导致气血虚弱,气为血之帅,气虚则血运行不畅,血脉闭阻不通,不通则痛,而临床多见肢体疼痛。血虚不能够濡养筋脉,临床上多表现为肢体麻木不仁,长此以往则废萎不用。除此之外,脾胃虚弱,痰湿雍盛,痰湿互结,同样也可以导致络脉闭阻、血行不畅。故本实验选择了临床常用的调和气血、通络止痛功能的效验穴,其中足三里穴,为足阳明胃经穴。是胃经合穴,同时也是胃的下合穴。足三里,五行属土,土载万物,调补气血,能健脾益胃,以资生化之源,气血充盛,则肢体得到濡养,具有补中气,健脾肾,调和气血,疏通经络的作用。昆仑穴,为足太阳膀胱经穴,为膀胱经之经穴。可以通络止痛,主要治疗远端病证,如足痛、下肢疼痛麻痹、甚至瘫痪、坐骨神经痛、局部软组织损伤等。两穴配合,可共同起到缓解周围神经痛的功能。

现代医学研究证明 DM 患者的发病与机体的代谢障碍、神经细胞的缺氧缺血、遗传因素、自身免疫性疾病或血液流变学改变等密切相关。现代病理学

有研究指出,DM 患者其毛细血管的变化也会导致神经变性坏死,例如毛细血管壁内皮细胞的增生和肿胀、管壁内基底膜的增厚与异常的透明变性、以及由多种原因导致的血管内壁管腔狭窄,血管内壁管腔狭窄使得血管内的阻力增加,进一步加重神经内膜以及神经低灌注的缺氧,最终引发神经变性坏死^[5]。另外,也有研究显示,机体内的内皮细胞与神经内膜毛细血管是紧密连接的,当机体处于高血糖状态时,两者之间的数目上的消失或是减少时,会导致神经细胞的损伤,加上破坏了组合构成血管神经屏障的紧密连接构建,促使神经内膜中有了血管内血清钠渗透,进一步造成神经细胞的损伤。而且 DM 患者的微循环容易造成血液的分流,导致神经的缺血,主要是因为上述情况。体内神经外膜和神经内膜的细小动脉组成是由许多的交感神经末梢所支配的,然而微血管循环有助于神经调节功能,神经内膜的血流供给的变化也可能责之于自主神经的病变。神经元的生长、发育、存活等功能所必需维持和依赖的营养因子源自于感觉、交感和中枢神经中的胆碱。NGF 可以诱导神经递质的合成,同时也是蛋白磷酸化与甲基化所依赖的重要物质,例如 ras-蛋白基因表达所必需具备的酶^[6]。就目前的临床研究来看,NGF 可以由正常成人的细胞产生,而且在体内神经元的发育生长过程中,能够促进生长因子受体的产生。反之,作为 DM 患者,体内胰岛素的缺乏会导致施万细胞受到损害,而这些施万细胞是与高血糖山梨醇相关的,这时便会影响机体 NGF 的合成,使得 NGF 合成减少,体内神经微管、微丝 mRNA 的水平降低,更进一步的影响了基因表达调控,最后可能会导致神经轴索营养障碍,其再生能力也将受损。也有学者实验研究表示^[7],当 DM 实验小鼠体内的 NGF 水平降低的同时,出现了不同组织尤其是坐骨神经以及小腿肌肉 NGF-mRNA 的进行性下降^[8]。本研究通过腹腔注射 STZ,破坏大鼠胰岛 β 细胞,血糖升高。大鼠出现多饮多食的状态,随后出现消瘦,毛发枯黄无光泽。由实验结果可见,模型组大鼠的体质量明显下降,与空白组比较差异有统计学意义。而电针组大鼠虽也同时经受 STZ DM 造模,虽然体质量明显下降,但在精神状态和行为表现方面,较模型组动物为轻,提示可通过电针改善实验动物由于 DM 引起的部分症状。目前临床上 PDN 的主要临床表现包括:持续性的感觉疼痛,感觉异常,并且痛阈相对于正常人有着明显的下降。临床诊断主要通过主诉疼痛,以及神经功能的检测来判

断。此次实验中 DM 大鼠机械痛阈明显下降,则说明 DM 神经病理痛模型制备成功。实验结果显示,PDN 模型造模成功后,各组大鼠痛阈较正常组都有明显的下降,在接受电针治疗后,电针观察组痛阈有所上升,并且电针治疗时间越久,痛阈越接近正常值。不论是临床试验还是动物实验均已表明,电针能够起到镇痛作用,并且电针 1 周后就可有明显的镇痛效应^[9]。所以,本实验通过电针镇痛效应,缓解 PDN 大鼠疼痛,提高生命质量。与 DM 有关的神经营养因子主要是神经生长因子(NGF),神经营养因子-3(NT),胰岛素样生长因子(IGF)和脑源性营养因子(BDNF)^[10],长期高糖环境下,上述营养因子缺乏或减少,使逆向运输至神经元的神经营养因子减少,损伤对其敏感的神经元。在神经损伤时,生长因子及其受体表达异常^[11],实验结果显示:PDN 模型大鼠坐骨神经 NGF 受体明显下降,在接受电针治疗后,NGF 受体表达增多,并且 NGF 受体表达会随着电针治疗的时间延长而增加。所以,可以肯定的是电针可以增加大鼠坐骨神经中 NGF 受体的表达,NGF 表达增多,则有助于轴突的生长和再生神经元的存活及损伤修复,从而达到治愈本病的目的。DM 引起的血管病变,主要包括大血管和微血管病变。DM 患者的神经组织活检发现,随着神经病变的加重,微血管结构改变也加重,如基底膜增厚、内皮细胞增生、动静脉吻合减少,此种改变在给予血管扩张剂治疗后得到改善。因此认为神经低灌注是引起 DM 神经病变的一个重要因素^[12]。动物实验发现 PDN 大鼠神经内膜血流比正常值减少 33% 左右,且神经受损更严重,提示高血糖状态下神经组织对缺血缺氧更敏感^[13]。同时血液呈高黏滞状态,周围神经微血管的血流减慢,血供减少,神经内膜缺血缺氧,可致神经受到损害^[14]。通过此次实验我们可以得知,PDN 模型大鼠周围血流灌注量明显低于对照组大鼠,电针治疗后,周围血流灌注量明显提高,并且电针 2 组要优于电针 1 组。

综上所述,电针能够改善大鼠周围血流灌注量,改善微血管病变,从而提高神经细胞的供血供氧,达到神经细胞修复的目的。从本研究中可以得出以下结论:1)腹腔注射 STZ 可以使 Wistar 大鼠血糖明显升高,是复制 DM 大鼠模型的较稳定方法。2)电针可以提高 PDN 模型大鼠的痛阈,缓解 PDN 大鼠的疼痛。3)电针治疗可以通过增加 PDN 大鼠坐骨神经内 NGF 受体的阳性表达,改善神经组织的功能,从而达到治疗 PDN 的目的。4)电针可以改善大鼠

的周围血流灌注量,通过改善微循环达到治疗 PDN 的目的。5)电针可以改善 PDN 大鼠坐骨神经超微结构,从而达到治疗 PDN 的目的。然而作为电针治疗 PDN 的方法从本项实验中可见无论疗效或者安全性方面均值得临床推广应用。

参考文献

- [1] Galer BS, Gíanas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2000, 47(2): 123-128.
- [2] Marchettini P, Teloni L, Formaglio F, et al. Pain in diabetic neuropathy case study: whole patient management[J]. Eur J Neurol, 2004, 11(1): 12-21.
- [3] 张子谦, 姚红, 陈建雄, 等. 电针治疗糖尿病周围神经病 92 例临床观察[J]. 广州医学院学报, 2006, 34(5): 45-47.
- [4] 李永方, 孙辉臣, 郭秀英, 等. 电针对糖尿病大鼠坐骨神经传导速度和神经超微结构的影响[J]. 针刺研究, 2004, 29(3): 192-196.
- [5] Kessels J, Tarantola A, Salahuddin N, et al. Rabies post-exposure prophylaxis: A systematic review on abridged vaccination schedules and the effect of changing administration routes during a single course[J]. Vaccine, 2010, 23(5): 77-79.
- [6] Craner MJ, Klein JP, Black JA, et al. Preferential expression of IGF-I in small DRG neurons and down-regulation following injury[J]. Neuroreport, 2002, 13(13): 1649-1652.
- [7] Leininger GM, Vincent AM, Feldman EL. The role of growth factors in diabetic peripheral neuropathy[J]. J Peripher Nerv Syst, 2004, 9(1): 26-53.
- [8] Pieron CR, Murakawa Y, Zhang W, et al. Impaired glucose tolerance and insulin open in the GE-rat causes peripheral neuropathy[J]. Diabetes Matab Res Rev, 2001, 18(8): 33-34.
- [9] 刘俊岭, 陈淑萍, 高永辉, 等. 不同强度、不同频度电针对慢性痛

大鼠镇痛作用的比较[J]. 针刺研究, 2006, 31(5): 280-285.

- [10] Brewster WJ, Fernyhough P, Diemel LT, et al. Diabetic neuropathy, nerve growth factor and other neurotrophic factors[J]. Trends Neurosci, 1994, 17(8): 321-325.
- [11] Provenzano MJ, Xu N, Ver MMR, et al. p75NTR and sortilin increase after facial nerve injury[J]. Laryngoscope, 2008, 118(1): 87-93.
- [12] 贾建平. 神经病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 419-421.
- [13] Delva P, Pastori C, Montesi G, et al. Intralymphocyte free magnesium and calcium and insulin tolerance test in a group of essential hypertensive patients[J]. Life Sci, 1998, 63(16): 1405-1415.
- [14] Chung SS, Ho EC, Lam KS, et al. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(8 Suppl 3): S233-236.
- [15] 伍绍铮, 曹仁贤. 糖尿病周围神经病变发病机制研究进展[J]. 中国医药指南, 2012, 10(10): 467-468.
- [16] 钟美蓉, 付秀美, 付文亮, 等. 糖尿病周围神经病变发病机制及中医药治疗研究进展[J]. 承德医学院学报, 2009, 26(4): 438-440.
- [17] Vinik AI. Diabetic neuropathy: pathogenesis and therapy[J]. Am J Med, 1999, 107(2B): 17S-26S.
- [18] King RHM. The role of glucation in the pathogenesis of diabetic polyneuropathy[J]. Clin Pathol Mol Pathol, 2001, 54(6): 400-408.
- [19] Yangihashi S. Pathology of diabetic neuropathy. A review from the updated literature of last 10 year[J]. Nippon Rinsho, 2002, 60(10): 204.
- [20] 叶成夫, 卢学勉, 陈良苗. 2 型糖尿病患者血浆同型半胱氨酸水平与糖尿病周围神经病变的关系[J]. 临床医学, 2005, 25(9): 29-31.
- [21] 余俊先, 张银娣. 糖尿病周围神经病变的发病机制及药物治疗[J]. 中国医刊, 2007, 42(9): 66-69.

(2018-08-24 收稿 责任编辑: 王明)

腰痛宁胶囊临床研究与应用征文启事

腰痛宁胶囊是颈复康药业集团有限公司生产的治疗腰腿痛的首选药品之一。为了总结腰痛宁胶囊多年来研究及临床应用经验, 更好的指导临床用药, 中医杂志社与颈复康药业集团有限公司联合主办此次有奖征文活动, 现将有关事项通知如下。

一、征文内容

1. 腰痛宁胶囊治疗腰椎间盘突出症、坐骨神经痛、腰肌劳损、腰肌纤维炎、风湿性关节炎, 症见腰痛、关节痛及肢体活动受限等病症的临床经验、体会与分析;

2. 腰痛宁胶囊临床用量、用法的研究与经验总结;

3. 腰痛宁胶囊组方研究、药理研究与探讨;

4. 腰痛宁胶囊临床扩大应用范围的探讨与研究;

5. 名医名家应用腰痛宁胶囊治疗腰椎间盘突出症等腰腿痛经验总结与分析;

6. 包括但不限于以上内容的文章。

二、征文要求

1. 来稿未公开发表, 字数不低于 3000 字, 请附单位介绍信, 来稿不退;

2. 文章中涉及到的计量单位、实验数据等须采用法定标准方法表示;

3. 文题下署作者姓名、单位、通讯地址、邮编、联系电话等, 请以 Word 形式投送电子稿件, 不接受纸质投稿。

三、奖励办法

由全国中医药界知名专家、教授组成评审委员会, 将评出:

一等奖 1~2 篇, 每篇奖励 5000 元;

二等奖 5~10 篇, 每篇奖励 4000 元;

三等奖 10~15 篇, 每篇奖励 3000 元;

优秀奖若干篇, 每篇奖励价值 500 元的精美礼品一份。

获奖者将获得由主办单位颁发的获奖证书、奖金或礼品, 获奖文章达到刊用标准的将在《中医杂志》等期刊上发表, 其他获奖文章达到标准的将在《中医杂志》2020 年增刊发表, 并赠送样刊 1 册。评选结果将在颈复康药业集团有限公司官网、《中医杂志》《中国医药报》《中国中医药报》等媒体上公布。

主办单位将邀请部分获奖者免费参加颁奖大会, 以及知名专家学术交流会。颁奖大会时间、地点另行通知。

本次征文不收取任何费用, 来稿请于 2019 年 12 月 31 日前发至邮箱: jtcmm@163.com。联系地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社, 联系人: 22 号编辑, 邮编: 100700, 电话: (010) 64035632。