

电针对神经根型颈椎病大鼠 PI3K/ AKT 信号通路的影响

段晓英 丁宏 曹振强 李艳双 王明礼

(吉林大学第二医院, 长春, 130041)

摘要 目的:观察探讨电针对神经根颈椎病(CSR)大鼠 PI3K/AKT 信号转导通路及细胞凋亡的变化。方法:SD 大鼠 60 只,按照随机数字表法分为空白组、模型组和电针组 3 组,每组 20 只。造模后第 3 天开始电针,取双侧颈夹脊穴,以一侧穴位为一组,两侧均通过针柄接电针治疗仪,疏密波,频率,强度以大鼠四肢轻度抖动为度。1 次/d,30 min/次,连续治疗 14 d 后处死。采用 YLS-3E 型痛分析仪检测大鼠外周神经模型感觉功能,采用蛋白免疫印迹法检测 PI3K/AKT 通路表达情况,采用免疫组化法检测 BAX 和 BCL-2,同时以 DNA 断裂的原位末端标记法(Tunel 法)检测细胞凋亡情况。结果:1)与空白组比较,模型组和电针组大鼠外周神经疼痛感觉功能机械痛阈值均下降($P < 0.05$),其中电针组的机械痛阈值较模型组高($P < 0.05$)。2)与空白组比较,模型组和电针组大鼠 PI3K、p-AKT 的蛋白表达均下调($P < 0.05$),电针组 PI3K、p-AKT 较模型组明显上调($P < 0.05$),而 3 组的 AKT 和 GAPDH 蛋白表达差异均无统计学意义($P > 0.05$)。3)与空白组比较,电针组和模型组 BAX 明显上调($P < 0.05$),BCL-2 则明显下调($P < 0.05$);而电针组 BAX 表达程度低于模型组($P < 0.05$),电针组 BCL-2 的表达程度高于模型组($P < 0.05$)。4)与空白组比较,模型组和电针组细胞凋亡比例均增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);电针组细胞凋亡比例低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:电针双侧颈夹脊穴对 CSR 大鼠具有明显的镇痛作用,其机制可能与激活 PI3K/AKT 通路,激活下游 BAX、BCL-2 等生物因子抗细胞凋亡有关。

关键词 电针;神经根型;颈椎病;大鼠;PI3K;AKT;信号通路;动物实验

Effects of Electroacupuncture on PI3K/AKT Signaling Pathway in Rats with Cervical Spondylotic Radiculopathy

Duan Xiaoying, Ding Hong, Cao Zhenqiang, Li Yanshuang, Wang Mingli

(The Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, China)

Abstract Objective: To observe the changes of PI3K/AKT signal transduction pathway and apoptosis in rats with cervical spondylotic radiculopathy (CSR) treated by electroacupuncture. **Methods:** A total of 60 SD rats, SPF grade, weighing (250 ± 20) g, half male and half female, were randomly divided into 3 groups: a blank group, a model group and an electro-acupuncture group with 20 rats in each group. On the 3rd day after modeling, electro-acupuncture was started. Neck Jiaji (EX-B2) acupoints on both sides were taken. One side of the acupoints was used as a group. Both sides were connected with electro-acupuncture therapeutic apparatus by needle handle. The frequency of dilatational and the intensity was moderate to the slight shaking of the limbs of rats. Once a day, 30 minutes each time, after 14 consecutive days of treatment, they were executed. The sensory function of rat peripheral nerve model was detected by YLS-3E pain analyzer. The expression of PI3K/AKT pathway was detected by protein immunoblotting. BAX and BCL-2 were detected by immunohistochemistry. Apoptosis was detected by in situ end labeling (Tunel) with DNA fragmentation. **Results:** 1) Compared with the blank group, the mechanical pain threshold of peripheral nerve pain sensory function in model group and electro-acupuncture group decreased ($P < 0.05$). The mechanical pain threshold in electro-acupuncture group was higher than that in model group ($P < 0.05$), suggesting that electro-acupuncture could effectively improve the peripheral nerve pain sensory function in CSR rats. 2) Compared with the blank group, the expression of PI3K and p-AKT protein in the model group and electro-acupuncture group were down-regulated ($P < 0.05$). Among them, PI3K and p-AKT in the electro-acupuncture group were up-regulated significantly ($P < 0.05$), while the expression of PI3K and p-AKT protein in the AKT and GAPDH groups were not significantly different ($P > 0.05$), suggesting that electro-acupuncture CSR rats activated PI3K/AKT signal transduction pathway. 3) Compared with the blank group, BAX increased significantly in EA group and model group ($P < 0.05$), while BCL-2 decreased significantly ($P < 0.05$). BAX expression in EA group was lower than that in model group ($P < 0.05$), and BCL-2 expression in EA group was higher than that in model group ($P < 0.05$). 4) Compared with the blank group, the proportion of apoptotic cells in the model group and the electro-acupuncture group increased with statistical significance ($P < 0.05$); compared with the model group, the proportion of apoptotic cells in the electro-acupuncture group was lower than that in the model group, with statistical significance

基金项目:吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH20180107K)

作者简介:段晓英(1980.03—),女,硕士,主治医师,研究方向:针灸治疗骨科疼痛及周围神经再生主方面研究,E-mail:duanxiaoying163@163.com

通信作者:王明礼(1962.01—),男,硕士,主任医师,教授,研究方向:骨关节疾病及骨科疼痛疾病研究,E-mail:937248339@qq.com

($P < 0.05$). **Conclusion:** Electro-acupuncture at bilateral cervical Jiaji points has obvious analgesic effect on CSR rats. The mechanism may be related to activating PI3K/AKT pathway, activating downstream biological factors such as BAX, BCL-2 and so on to resist cell apoptosis.

Key Words Electroacupuncture; Nerve root type; Cervical spondylosis; Rats; PI3K; AKT; Signal pathway; Animal experiment
中图分类号: R246.9 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.12.020

神经根型颈椎病 (Cervical Spondylosis Radiculopathy, CSR) 的主要临床症状是颈部神经根性疼痛, 病因主要是由于椎间盘退行性病变压迫或刺激神经根而出现一系列分子生物学反应造成的^[1-3], 其中炎症反应递质是引起 CSR 根性疼痛的重要原因^[4-5]。近期研究^[6-7]表明, 炎症反应主要与细胞内大量传导通路的参与有关, 其中被广泛证实主要在细胞存活中起调控作用的是磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (PI3K/AKT) 信号通路。PI3K/AKT 在哺乳动物中有 3 个亚型, 其中 III 型为调控细胞增殖和凋亡的关键, 通过肌醇环第 3 位点磷酸化底物, 激活 PI3K 信号传导通路的关键下游靶点 AKT。p-AKT 由约 480 个氨基酸残基组成, 包括 PH、激酶催化和羟基端调控的 3 部分结构域, 其中羟基端是疏水性的, 在调节域的 40 个氨基酸序列中, 含有非常重要的磷酸化位点丝氨酸 473 位点, 这个位点的磷酸化是 AKT 完全活化的必要因素, 当 AKT 被 PDK2 磷酸化为 p-AKT 后, PKB/AKT 便具有了活性, 而活化了的 AKT 通过磷酸化含有丝氨酸残基的底物 (如 BAX 及 BCL-2 等) 而产生抗凋亡的分子生物学效应。有研究^[8-9]证实, PI3K/AKT 转导途径与脊神经细胞凋亡关系甚密, 研究人员在大鼠脊神经细胞培养中加入 PI3K 抑制剂后发现细胞的凋亡细胞比率上升。因此, PI3K/AKT 转导途径对脊神经细胞的凋亡意义重大。CSR 属于中医学“项痹”, 中医学常见的治疗方法有针灸、电针、推拿等。有研究^[10-11]表明, 单纯针刺双侧颈夹脊穴及电针双侧颈夹脊穴, 均可缓解颈椎病颈痛患者的颈痛程度、提高日常生活活动能力; 治疗后及随访后, 观察组疗效均优于对照组。因此本研究采用电针双侧颈夹脊穴对 CSR 大鼠进行治疗, 观察电针对 CSR 大鼠 PI3K/AKT 信号转导通路和细胞凋亡的影响。现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 动物 SD 大鼠 60 只, SPF 级, 体质量 (250 ± 20) g, 雌雄各半, 相同饲养环境下, 相同批次的喂养饲料, 密闭饲养, 实验大鼠均购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [动物许可证号: SCXK

(京)2016-0006]。饲养环境: 温度 (26 ± 0.5) °C, 湿度 (50 ± 2.5) %。

1.1.2 实验仪器与试剂 型痛分析仪 (北京众实嘉合生物科技有限公司, 型号: YLS-3E) 检测; 电针治疗仪 (北京中西远大科技有限公司, 型号: G-6805); 一次性使用无菌针灸针 (规格 0.35 mm × 13 mm, 华佗牌); 涡旋振荡仪 (上海珂淮仪器有限公司, 型号: I-4002-HCS); 蛋白电泳及转膜系统 (Bio-Rad 公司, 型号: 170-4070); 台式高速离心机 (Eppendorf 公司, 型号: 5810R); 抗体 p-AKT (货号: 4060T)、AKT (货号: 4685S)、PI3K (货号: 17366S)、BAX (货号: 5023T)、BCL-2 (货号: 15071T) 和 GAPDH (货号: 5174T), 全部购于 CST 公司; SDS-PAGE 琼脂糖凝胶 (上海钰博生物科技有限公司, 批号 YB81218-30); TUNEL 检验试剂盒 (美国 Roche 公司, 批号 11684795910)。

1.2 方 法

1.2.1 分组与模型制备 SD 大鼠 60 只, 按随机数字表法分为空白组、模型组、电针组 3 组, 每组 20 只。参照窦夏睿氏法^[12]进行 CSR 动物造模, 首先将大鼠用 10% 水合氯醛, 按 0.35 ml/100 g 剂量进行常规麻醉, 俯卧位固定, 首先手触下颈部附近定位最高棘突 (T₂), 常规手术配皮和消毒后, 于背部正中线上 T₂ 向上用手术剪快速做 3 cm 左右切口, 用手术弯镊不破坏肌肉组织的前提下, 逐层钝性分离颈后皮下组织和肌群, 当充分暴露 C₆ ~ T₂ 左侧椎弓时, 采用显微镊轻轻挑开 4 个椎体的 3 个椎间隙 (C₆ 和 C₇、C₇ 和 T₁、T₁ 和 T₂) 的黄韧带和结缔组织, 再以尖嘴蚊式钳轻轻钳开 C₇ 左侧椎弓, 在充分暴露脊髓后, 用神外显微剥离器之神经剥离子将脊髓轻推至右侧, 再用显微外科镊将尼龙渔线 (0.5 mm × 15 mm, 组织黏附性处理: 尼龙渔线经过乙醇浸泡, 无菌干燥后再浸泡至 0.1% 的多聚赖氨酸溶液中) 轻轻沿脊髓纵轴放至 C₆₋₇、T₁ 神经根腋下, 动物造模中尤其需要注意插线时不要过度下压, 以免碰破椎静脉丛导致椎管内大量出血。CSR 造模完成后, 逐层关闭伤口, 病因手术针线进行缝合。

1.2.2 干 预 方 法

1.2.2.1 空白组 正常饲养, 不做任何处置。

1.2.2.2 模型组 于造模后第3天开始,每日抓取1次,不做针刺处置。

1.2.2.3 电针组 造模后第3天开始电针,取穴:参照大鼠穴位图谱^[13],取双侧颈夹脊穴,常规消毒穴区皮肤,直刺进针,进针深度0.3~0.5 cm,轻捻转提插后,以一侧穴位为1组,两侧均通过针柄接电针治疗仪,疏密波,频率,强度以大鼠四肢轻度抖动为度。1次/d,30 min/次,连续治疗14 d后处死。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 模型评价 参照文献^[14]将造模后的大鼠每日固定时间段(9:00至10:30)置于观察箱,适应30 min后出现嘶叫、自叫等行为;同时参照 Kawakami 及 Dubussion 法评估大鼠步态障碍的方法:若出现受损足不持重或轻微持重、大鼠在行走时出现跛行;或受损足的大鼠走动时不着台面,伴有明显的足内收蜷缩畸形等现象说明造模成功。造模不成功的大鼠予以排除,不纳入后续研究。

1.2.3.2 外周神经模型感觉功能的检测 采用 YLS-3E 型痛分析仪检测大鼠外周神经模型感觉功能,在大鼠清醒状态下测量机械性痛阈,首先将 YLS-3E 型痛分析仪上一个钝头有机玻璃圆锥体此安装固定于大鼠足趾第3、4跖骨间,通过线性逐渐增大压力,直到大鼠嘶叫挣扎为止,此时仪器自动记录下的大鼠最后试图抽回后爪压力值(g)即为大鼠的机械痛阈,以此评估大鼠外周神经模型感觉功能。

1.2.3.3 蛋白质印迹法检测 PI3K/AKT 通路表达

动物于造模电针干预14 d后,通过用10%水合氯醛过量麻醉致死,然后在4℃下将造模是C₆-T₂段压尼龙鱼线处脊髓及神经根剥离出来,并以用研磨器制成组织匀浆,在蛋白裂解液的作用下,充分提取蛋白后,在低温离心机上高速离心(12 000 r/min),取上清液,-20℃冰箱保留代用。然后以考马斯亮蓝法测定样品蛋白浓度,计算同等体积下,每组样品的蛋白上样量。取出所购买的 SDS-PAGE 琼脂糖凝胶,加入电泳液并没过短玻板,轻轻提取加样孔梳,在第一加样孔用移液器精密加入5 μL 蛋白 MARKER 对蛋白分子量进行标记,其余加样孔根据空白组、模型组和电针组依次根据已得上样量进行加样。然后以60 V开始蛋白电泳待蛋白均跑出浓缩胶后,以100 V继续蛋白电泳至所有蛋白跑到底部停止,接着根据 MARKER 切出所检测蛋白的分子量,裁剪出相应大小的滤纸和 PVDF 膜,根据三明治转膜法,加入转膜液常规转膜,取出转好蛋白的 PVDF 膜时需及时标记正反面。之后将 PVDF 膜在

5%脱脂牛奶中常规封闭1 h,分别加入 PI3K、p-AKT、AKT 和 GAPDH 一抗在4℃冰箱中孵育过夜,次日用 TBST 缓冲液室温摇床洗3次,10 min/次;加入对应二抗,摇床充分反应2 h后,用 TBST 缓冲液室温摇床洗3次,10 min/次;ECL 显色试剂盒在避光黑暗处滴加在 PVDF 膜上,反应1 min 后在 CHEMIC 成像仪上读取蛋白条带图像,并通过 Image 图像处理软件读取蛋白条带灰度值。

1.2.3.4 免疫组化法检测 BAX、BCL-2 的表达 动物于造模电针干预14 d后,通过用10%水合氯醛过量麻醉致死,然后在4℃下将造模是C₆-T₂段压尼龙鱼线处脊髓及神经根剥离出来放置于4%福尔马林中,48 h后进行常规组织脱水和透明处理,然后在二甲苯与石蜡混合液中进行渗透和常规石蜡包埋,采用美国旋转切片机连续切片4 μm 厚度,每张切片均以防脱载玻片承载并于贴片后放置在60℃烤箱中烘烤5 h。常规脱蜡水化后,以枸橼酸缓冲液在微波炉中加热至沸腾,闭门焖5 min 进行抗原修复,待冷却至室温后 PBS 泡洗后加封闭液封闭10 min,防水笔在切片周围画好隔离圈后,加入一抗 BAX、BCL-24℃冰箱孵育过夜,次日于37℃烤箱中回温45 min,PBS 泡洗3次,5 min/次,加入对应二抗,室温反应10 min,PBS 泡洗3次,5 min/次,DAB 显色后再浸泡于苏木素中复染30 s,常规脱水封片后在显微镜下观察,计数,拍片。

1.2.3.5 DNA 断裂的原位末端标记法(Tunel 法)检测细胞凋亡的情况 动物于造模电针干预14 d后,通过用10%水合氯醛过量麻醉致死,然后在4℃下将造模是C₆-T₂段压尼龙鱼线处脊髓及神经根剥离出来,同1.2.3.4 免疫组化常规石蜡包埋,切片,脱蜡水化后,加入现配的3% H₂O₂,室温孵育10 min后,蒸馏水浸泡洗3遍,每遍2 min;然后加入0.01 MTBS 和新鲜稀释蛋白酶 K 混合液(1:200)15 min,0.01 MTBS 浸泡洗3遍,每遍2 min;接着切片分别加入20 μL 添加标记液(1 μL TDT、1 μL DIG-UTP 和18 μL 标记缓冲液)37℃孵育2 h,0.01 MTBS 浸泡洗3遍,每遍2 min;封闭液封闭30 min,1% DGX 抗体溶液反应30 min,0.01 MTBS 浸泡洗3遍,每遍2 min;1% SBAC 溶液反应30 min,DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明,封片,显微镜下观察,计数,拍片。各组切片光镜下随机拍摄7个高倍视野,每个视野计数100个细胞计算细胞凋亡率凋亡率(%)=[(凋亡细胞数/总细胞数)]×100%。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行

数据分析,3 组数据同时符合正态分布和方差齐性,采用单因素方差分析,若其中一组数据不符合正态分布,则采用多组秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 CSR 造模成功率 根据造模模型评价标准,模型组和电针组分别有 18 只和 17 只大鼠的 CSR 造模成功,纳入后续研究。见图 1。

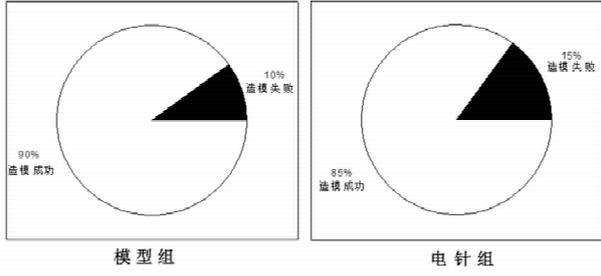


图 1 各组 CSR 造模成功率

2.2 电针对 CSR 大鼠外周神经疼痛感觉功能的影响 与空白组比较,模型组和电针组大鼠外周神经疼痛感觉功能机械痛阈值均下降 ($P < 0.05$),其中电针组机械痛阈值较模型组高 ($P < 0.05$),提示电针能有效改善 CSR 大鼠外周神经疼痛感觉功能。见表 1。

表 1 各组大鼠的 CSR 大鼠外周神经疼痛感觉功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	痛阈值(g)
空白组(n=20)	809.66 ± 94.78
模型组(n=18)	502.79 ± 68.17*
电针组(n=17)	758.93 ± 60.84* [△]

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

2.3 电针对 PI3K/AKT 通路的影响 与空白组比较,模型组和电针组大鼠 PI3K、p-AKT 的蛋白表达均下调 ($P < 0.05$),其中电针组的 PI3K、p-AKT 较模型组明显上调 ($P < 0.05$),而 3 组的 AKT 和 GAPDH 蛋白表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),提示电针 CSR 大鼠能激活 PI3K/AKT 信号转导通路。见图 2。

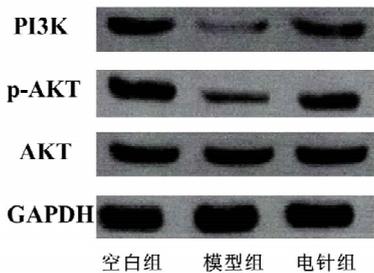


图 2 Western Blot 检测 PI3K/AKT 通路的激活情况

2.4 电针对 BAX 和 BCL-2 的影响 与空白组比

较,电针组和模型组 BAX 明显上调 ($P < 0.05$),而 BCL-2 则明显下调 ($P < 0.05$);而电针组 BAX 表达程度低于模型组 ($P < 0.05$),电针组中 BCL-2 的表达程度高于模型组 ($P < 0.05$)。见图 3 和表 2。

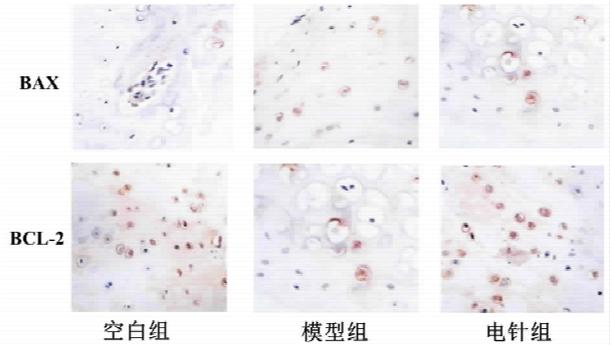


图 3 各组 BAX 和 BCL-2 的表达比较

表 2 各组 BAX 和 BCL-2 的表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	BAX	BCL-2
空白组(n=4)	6.89 ± 9.47	22.19 ± 9.06
模型组(n=4)	17.52 ± 6.81*	11.57 ± 5.19*
电针组(n=4)	10.73 ± 3.08* [△]	20.64 ± 8.35* [△]

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

2.5 各组 TUNEL 的表达情况 与空白组比较,模型组和电针组细胞凋亡比例均增高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);电针组与模型组比较,细胞凋亡比例低于模型组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

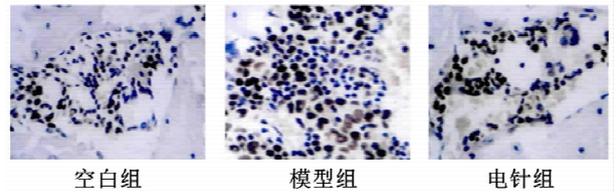


图 4 各组 TUNEL 的表达

3 讨论

颈椎病属于中医学“痹证”“项痹”等范畴。此病中医学病因多由劳损或风寒湿等邪气侵袭人体而诱发,引起颈项部疼痛或上肢麻木等气血运行不畅之表现,故也常称其为“项强”。颈椎病最根本的病因当属气虚血瘀型项痹,病位在肝肾,致病特点可概括为本虚标实。目前,在颈椎病的治疗方法中,中医疗法的针灸和推拿为首选。有研究人员采用电针颈夹脊穴治疗 CSR 取得总有效率的疗效更好,患者治疗后外周神经疼痛症状疗效明显优于治疗前;若配合辨证取穴治疗 CSR,有效率达 97%^[15]。因此认为,电针治疗 CSR 疗效显著。在本实验中,电针的波形选择疏密波,缘于本研究团队在临床诊疗 CSR 中发现疏密波的抗炎止痛效果明显好于连续波和断

续波,同时研究^[16]发现,电针的 2 Hz 和 100 Hz 的频率分别能够促进脊髓释放不同阿片类药物起到镇痛效应,而疏密波是高低 2 种频率间歇使用,使脊髓能释放包括强啡肽在内的 4 种已知阿片类药物,相互叠加起到更强的镇痛消炎效果,可有效改善患者 CSR 的临床症状;另外,研究人员通过对不同波形电针对颈性疼痛疗效的观察,不仅证实了疏密波对颈椎病的疗效优于连续波,而且发现疏密波可保持机体对电针治疗的敏感度,防止耐受^[17]。

PI3K 是一种胞内磷脂酰肌醇激酶,具有脂类激酶活性和蛋白激酶活性,可被受体酪氨酸激酶或 G2 蛋白耦联受体激活,再通过第二信使(如 BAX 和 BCL-2)在细胞的增殖、凋亡等过程中起重要的作用。BAX 和 BCL-2 是 PI3K/AKT 信号转导通路上的 2 个关键因子,他们同属 BCL-2 家族,参与细胞凋亡的重要生物学因子。其中 BAX 是促细胞凋亡的因子,而 BCL-2 则与之相反,属于抗细胞凋亡的因子。现代研究表明,BCL-2 家族主要是以线粒体为靶器官,通过对线粒体的介导而对细胞凋亡过程起调控作用。BCL-2 家族可分为 3 个结构功能各异的亚家族:一是 BAX 亚族,可促进细胞凋亡;二是 BCL-2 亚族,起到抑制凋亡的作用;三是 BH3 域蛋白亚族,和 BAX 一样也是促进凋亡发生的重要因子。BAX 对细胞凋亡的调控可能通过诱发线粒体膜上供凋亡蛋白通过的离子通道开放和精确改变线粒体膜的通透性而释放 CytC;而 BCL-2 则是通过拮抗 BAX,抑制细胞色素 C 与半胱氨酸蛋白酶激活而起到的抗凋亡作用^[18]。本研究结果显示:电针激活了 PI3K/AKT 通路,而 BAX 和 BCL-2 的免疫组化结果发现与空白组比较,电针组和模型组中 BAX 明显上调($P < 0.05$),而 BCL-2 则明显下调($P < 0.05$);而电针组中 BAX 表达程度低于模型组($P < 0.05$),电针组中 BCL-2 的表达程度高于模型组($P < 0.05$)。提示电针治疗后激活 PI3K/AKT 通路,进而诱导下游 BAX 和 BCL-2 的分子生物学反应,其中通过下调 BAX 的表达和上调 BCL-2 的表达,从而起到对 CSR 的脊神经细胞的保护作用。

综上所述,本研究发现,电针双侧颈夹脊穴对 CSR 大鼠具有明显的镇痛作用,其机制可能与激活 PI3K/AKT 通路,下调下游 BAX 的表达和上调 BCL-2 的表达而起到抗脊神经细胞凋亡有关。

参考文献

[1] Goel A, Dharurkar P, Shah A, et al. Facetal Fixation Arthrodesis as

Treatment of Cervical Radiculopathy[J]. World Neurosurg, 2018, 32(11):1821-1827.

- [2] Passias P G, Hasan S, Radcliff K, et al. Arm Pain Versus Neck Pain: A Novel Ratio as a Predictor of Post-Operative Clinical Outcomes in Cervical Radiculopathy Patients[J]. Int J Spine Surg, 2018, 12(5): 629-637.
- [3] 曹世强,于金栋,张静,等.神经根型颈椎病针灸治疗研究进展[J].河北中医,2015,14(1):144-148.
- [4] Chen GL, Feng TT, Xu ST, et al. Clinical observation of percutaneous coblation nucleoplasty for the treatment of cervical spondylotic radiculopathy[J]. Zhongguo Gu Shang, 2018, 31(8):729-734.
- [5] Diebo BG, Tishelman JC, Horn S, et al. The impact of mental health on patient-reported outcomes in cervical radiculopathy or myelopathy surgery[J]. J Clin Neurosci, 2018, 54(23):102-108.
- [6] 侯红燕,黄凯,宋敏,等.从痰论治椎动脉型颈椎病的 PI3K/Akt/mTOR 信号调控机制研究进展[J].中医正骨,2018,34(8):42-45.
- [7] 柯玫瑰,廖军,徐腾.电针大椎穴对大鼠颈椎病模型纤维环细胞 FAK 蛋白表达的影响[J].福建中医药大学学报,2013,23(4):25-28.
- [8] Matsuda S, Nakagawa Y, Tsuji A, et al. Implications of PI3K/AKT/PTEN Signaling on Superoxide Dismutases Expression and in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease[J]. Diseases, 2018, 6(2):302-309.
- [9] Ouyang Z H, Wang W J, Yan Y G, et al. The PI3K/Akt pathway: a critical player in intervertebral disc degeneration[J]. Oncotarget, 2017, 8(34):57870-57881.
- [10] 黎汝定.电针加穴位注射在神经根型颈椎病中的应用及对肌电图的影响[J].吉林中医药,2017,10(2):205-208.
- [11] 王秀军.电针联合穴位注射血塞通治疗神经根型颈椎病的临床观察[J].中国现代医学杂志,2016,63(16):109-113.
- [12] 窦夏睿,孙建宁,王威,等.中药复方颈舒片对大鼠神经根型颈椎病模型感觉功能的影响[J].中国药理学杂志,2007,42(8):578-581.
- [13] 华兴邦,周浩良.大鼠穴位图谱的研制[J].实验动物与动物实验,1991,10(1):1-5.
- [14] 谢炜,赵伟宏,于林,等.川芎提取物对神经根型颈椎病模型大鼠根性疼痛的保护作用研究[J].广东药学院学报,2008,24(5):496-498.
- [15] 崔启生.电针与假电针治疗颈椎病颈痛的对比研究[D].广州:广州中医药大学,2016.
- [16] 陆黎,朱洪生.电针联合地佐辛对瑞芬太尼诱发患者术后痛觉过敏的影响[J].中华麻醉学杂志,2017,37(12):1434-1437.
- [17] 戢炳金,周佐强,黄明君.不同波形电针对颈椎病颈痛的疗效观察[J].保健医学研究与实践,2015,12(2):39-43.
- [18] Maes ME, Schlamp CL, Nickells RW. BAX to basics: How the BCL2 gene family controls the death of retinal ganglion cells[J]. Prog Retin Eye Res, 2017, 57(1):1-25.