

·基础研究·

## 半导体激光光灸“足三里”对急性佐剂关节炎大鼠的镇痛效应研究\*

钟会清<sup>1</sup> 杨 辉<sup>2</sup> 周 艳<sup>2</sup> 郭周义<sup>1,3</sup> 黄汉传<sup>1</sup> 叶丙刚<sup>1</sup> 倪艺榕<sup>1</sup>  
熊红莲<sup>1</sup> 金 梅<sup>1</sup> 吴秀丽<sup>1</sup> 苏成康<sup>1</sup> 龙 佳<sup>2</sup> 林 锦<sup>2</sup> 姜雪梅<sup>1</sup>

### 摘要

**目的:**采用波长为830nm半导体激光器照射急性佐剂性关节炎大鼠“足三里”穴,观察穴位处肥大细胞脱颗粒情况、足跖周长和痛阈值等的变化,从而研究激光照射后大鼠“足三里”穴对大鼠关节炎的镇痛效果。

**方法:**清洁级Wistar大鼠45只,随机分为空白对照组、模型组、光灸组各15只,其中空白对照组未做任何处理,模型组在造模之后不进行治疗,光灸组大鼠在造模后第1天开始对其用激光器照射右后腿的“足三里”穴位20min。应用辐射热缩爪反射的方法检测大鼠的痛阈值,且对其足跖周长、爪大小及穴位组织肥大细胞脱颗粒情况进行分析。

**结果:**空白对照组的右侧后爪的大小一直未变,但是光灸组在治疗第4个疗程后变化非常显著;而且发现光灸组在造模后第29天与造模后第1天相比,足跖周长差异显著,但是模型组和空白对照组未见显著差异,组织切片图发现光灸组穴位处肥大细胞脱颗粒现象明显;另外对比造模后第29天各组之间的痛阈差异,发现空白对照组和光灸组与模型组相比有显著差异。

**结论:**半导体激光光灸大鼠“足三里”具有镇痛、消炎的效果。

**关键词** 穴位;半导体激光器;急性佐剂性关节炎;肥大细胞;镇痛

**中图分类号:**R245、R684.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-1242(2017)-05-0560-04

激光用于诊断和治疗已有报道<sup>[1-2]</sup>,例如消炎止痛<sup>[3-4]</sup>,治疗神经损伤<sup>[5]</sup>等。激光针灸是通过采用激光照射人体穴位来替代传统毫针刺灸穴位实现针灸治疗的新针灸疗法<sup>[6-7]</sup>,和传统的毫针刺灸相比,激光针灸具有非侵入性的特点,能降低因重复使用针具而发生交叉感染的风险,避免患者晕针。

目前临床上常用的激光光灸主要有以下几种:He-Ne激光光灸治疗仪、CO<sub>2</sub>激光光灸治疗仪、Nd:YAG激光光灸治疗仪和半导体激光光灸治疗仪<sup>[7-11]</sup>,其中以He-Ne激光器、CO<sub>2</sub>激光器和Nd:YAG激光器作为光源的光灸仪仪器体积大、价格昂贵。而且使用者每次都须到医院,由专业的人士在仪器操作和剂量方面进行操作,这就要求医生具有较好的治疗经验,因此无法使激光光灸治疗仪达到家用化和小型化。

根据上述对激光光灸治疗仪的“激光针刺”和“激光光灸”的描述,发现现有激光光灸治疗仪的输出功率和波长不同,穿透深度不同,对于“针”和“灸”的效果何者起主要作用也不一样。例如,CO<sub>2</sub>激光具有明显的热效应<sup>[12]</sup>,而He-Ne激

光则具有较强的光化效应和刺激效应<sup>[13]</sup>。为了使得激光针灸同时具备激光的“针”和“灸”的效果,因此有人研究采用复合激光,如Shen等<sup>[12]</sup>研究采用波长650nm的半导体激光器和波长为10.6μm的CO<sub>2</sub>激光组成激光光灸治疗仪治疗膝关节炎,但是该仪器还是无法达到小型化的可能,因此为使激光光灸治疗仪具有小型化、家用化的特点,如果我们采用单一波长的半导体激光器作为微激光针灸的光源,其既有“针”和“灸”效果,而且也能使仪器达到小型化的要求。

目前激光针灸已被应用治疗很多疾病,例如小儿夜尿症<sup>[14]</sup>、小儿哮喘<sup>[15]</sup>、镇痛等<sup>[12,16-18]</sup>。本文研究小型化半导体激光器照射大鼠“足三里”穴对急性佐剂性关节炎的镇痛和消炎效应。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物与分组

Wistar大鼠,由中山大学动物中心提供,共45只,雌雄各半,体重(180±20)g。造模前1周开始进行动物环境适应。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.05.013

\*基金项目:无限极(中国)有限公司委托重大技术开发项目(HPG/2013/11/1598);国家自然科学基金项目(31300691;61275187;61335011;11404116);教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(20114407110001;20134407120003);广东省自然科学基金重点项目(9251063101000009);广东省重大科技专项项目(2012A080203008);广东省教育厅科技创新项目(2013KJJCX0052)

1 华南师范大学生物光子学研究院,国家中医药管理局中药与光子技术三级实验室,广州,510631; 2 无限极(中国)有限公司;

3 通讯作者

作者简介:钟会清,女,讲师; 收稿日期:2015-12-22

所有大鼠在同等标准环境(GB14925-2001)内饲养和使用,给以自然照明、自然饮水和饮食。所有实验经华南师范大学实验动物伦理委员会通过。

### 1.2 分组及治疗

随机分为3组,每组15只,分别为正常对照组:不造模。模型组:造模后不进行任何处理。光灸组:造模后的第1天开始采用波长为830nm,功率为30mW的半导体激光器照射大鼠右后腿的“足三里”穴20min,一共治疗4个疗程,7天/疗程(其中每个疗程治疗5天休息2天)。造模前所有的大鼠右后腿外侧都用脱毛膏脱毛。

### 1.3 痛阈测量方法

热辐射测痛仪(II TC Model 390足底热点测痛仪,购自II TC公司),测量大鼠的右侧后腿缩爪潜伏。实验环境温度控制在(23±1)℃,以防皮肤烫伤,最长刺激时间设置为20s。测量前将动物置入固定器中适应20min后进行测量,每只测3个点,每隔10min测量一个点,然后取其平均值。

### 1.4 测量足趾周长

造模前及造模后第8天,第15天,第22天和第29天,采用棉线测量大鼠右后腿足趾的周长<sup>[19]</sup>,然后再用游标卡尺测量,每天连续测量3次,再求平均值。

### 1.5 造模

戊巴比妥钠(0.1ml/100g)麻醉大鼠,然后在大鼠右后腿踝关节腔内注射完全弗氏佐剂(Complete Freund's adjuvant, CFA, 美国Sigma公司)0.05ml造模成急性佐剂性关节炎(adjunct arthritis, AA)模型。

### 1.6 标本制备和镜检

各组在治疗一个疗程结束后随机拿3只进行麻醉(1%戊巴比妥钠,1mg/kg腹腔注射)并断头处死,然后取动物右后腿“足三里”穴体积约为4mm×4mm×4mm的皮肤组织放入福尔马林中固定48h后进行脱水、石蜡包埋,切片,然后采用甲苯胺蓝染色,常规脱水、透明后封片,最后于10×40倍光镜下观察穴位处肥大细胞脱颗粒情况<sup>[20-21]</sup>。

### 1.7 统计学分析

用SPSS 18.0软件进行统计分析,数据以均数±标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析,继续以SNK检验,组内采用配对t检验比较。

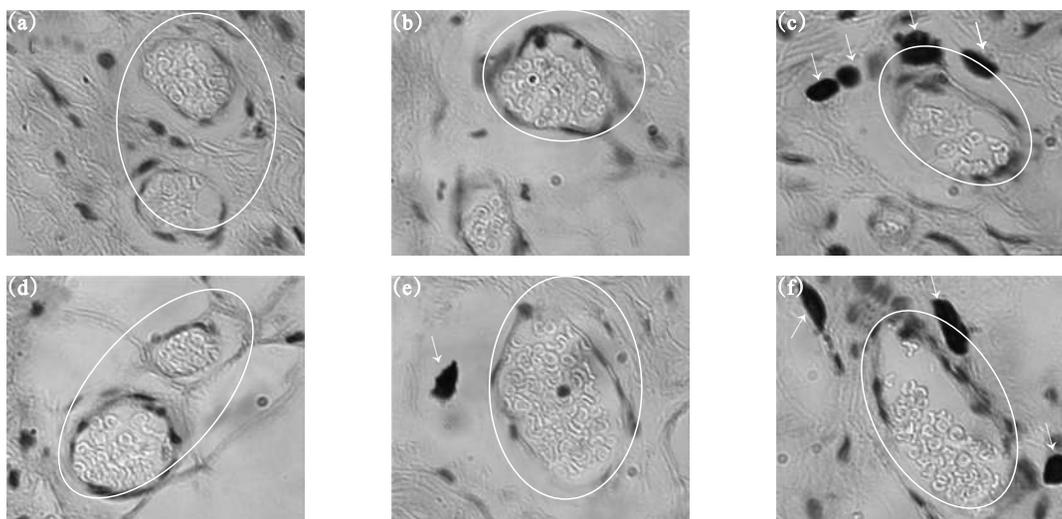
## 2 结果

空白对照组中的大鼠未经过任何处理,同时也按照正常方式饲养,与造模前1天相比,大鼠右侧后腿的踝关节在造模后第1天肿胀明显并行为受影响,说明造模成功<sup>[22-23]</sup>。该组在造模之后未进行任何的治疗,按照正常的饲养方法饲养。该组的右踝关节随着时间的加长不但没有愈合,有时反而炎症加重,肿胀的程度更加严重。

光灸组于在造模后的第1天开始采用半导体激光器照射大鼠的右后腿“足三里”穴20min(830nm, 30mW)。随着治疗的时间加长其右后腿踝关节的肿胀程度不断减小,在造模后第29天的照片发现其大小与造模前无差异。

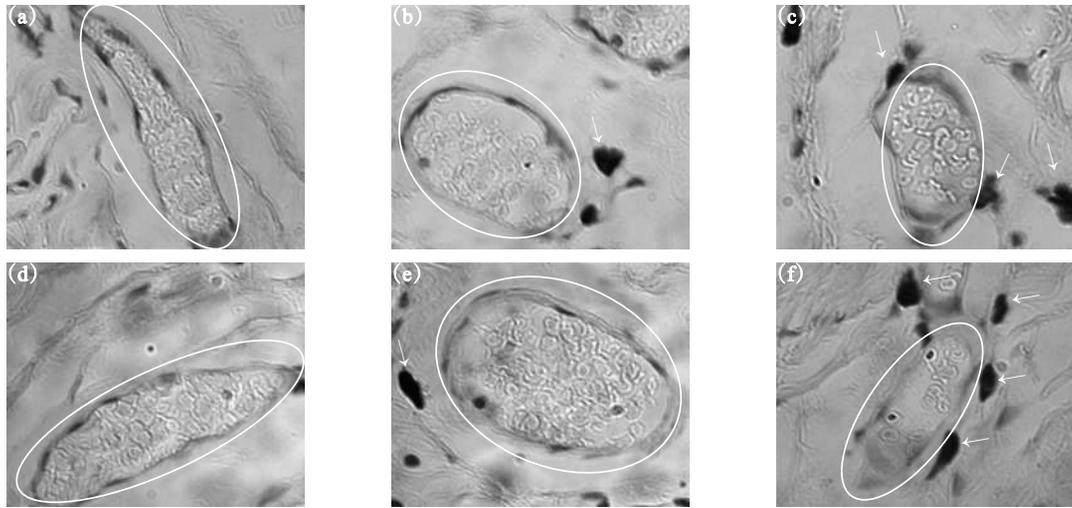
图1—2分别是各组大鼠右后腿“足三里”穴位处肥大细胞(呈球形或棱长形,绿色椭圆指示)在不同时间的脱颗粒情况。光灸组相对模型组肥大细胞脱颗粒的现象明显,细胞膜变薄并破裂,大量脱出颗粒散落在组织间,细胞周围有很多

图1 造模后第8天、第15天各组大鼠右后腿“足三里”穴位区皮肤肥大细胞脱颗粒现象 (甲苯胺蓝染色,×400)



(a)和(d)为造模后第8天和15天的空白对照组;(b)和(e)为造模后第8天和15天的模型组;(c)和(f)为造模后第8天和15天的光灸组的切片图。

图2 造模后第22天、第29天各组大鼠右后腿“足三里”穴位区皮肤肥大细胞脱颗粒现象 (甲苯胺蓝染色, ×400)



(a)和(d)为造模后第22天和29天的空白对照组;(b)和(e)为造模后第22天和29天的模型组;(c)和(f)为造模后第22天和29天光灸组切片图。

异染性颗粒(红色箭头所示),同时还发现模型组比空白组肥大细胞脱颗粒增多,这可能是因为大鼠自身对于炎症应激的自愈性倾向所致。空白对照组的肥大细胞膜完整,胞浆内的颗粒非常饱满,几乎没有脱颗粒的情况。

表1是对各组的右后爪足跖周长及痛阈在不同时间进行对比,发现光灸组在造模后第29天相对造模后第1天的足跖周长具有显著差异,模型组和空白组也见差异,只是差异没有光灸组相对空白组那么明显。同时对比造模后第29天各组之间的痛阈差异,发现正常对照组和光灸组相对模型组具有显著差异,说明采用半导体激光器照射“足三里”穴具有镇痛和消炎的效果。

表1 治疗前后AA大鼠的患足跖周长及痛阈的变化对比 (x±s)

组别	例数	足跖周长(cm)			29d 痛阈值
		造模后1d	造模后29d	1d与29d差值	
空白组	5	21.64±0.44	21.60±0.38	0.40±0.19	8.32±0.24 <sup>②</sup>
模型组	5	32.10±1.09	29.68±0.47	2.43±1.10	3.43±0.21
光灸组	5	32.75±1.52	26.17±1.55	6.17±0.84 <sup>①</sup>	8.02±0.72 <sup>②</sup>

与治疗的第1天对比:①P<0.05;与模型组对比:②P<0.05

### 3 讨论

本文对波长为830nm半导体激光光灸“足三里”穴对大鼠急性佐剂关节炎的效应进行了研究,与空白对照组及模型组对比发现,随着时间的加长,激光照射后的“足三里”穴的肥大细胞脱颗粒的数目明显增加,大鼠的右后爪足跖周长逐渐变小并且痛阈值逐渐提高,提示半导体激光光灸“足三里”穴对大鼠急性佐剂关节炎的疗效显著。肥大细胞在皮下结缔组织中富集,和周围的血管、神经丛、淋巴管等交织成一个

复杂体系,已有研究表明通过针刺穴位能使肥大细胞释放颗粒及释放的介质激活,而这些介质具有多种作用,其中较常见的如组织胺,能扩张毛细血管及微静脉,作用于血管内皮使基底膜暴露,组织液渗出,从而改善血管通透性,引发一系列机体生物效应的发生。另外,肥大细胞是免疫细胞的一种,其介质的分泌对免疫系统也产生影响<sup>[24]</sup>。根据已有报道<sup>[25-26]</sup>,本实验采用波长为830nm半导体激光器光灸,可能是通过刺激穴位处局部肥大细胞脱颗粒从而释放介质,其中组织胺的释放使得血管通透性改善,神经递质五羟色胺的释放可起到镇痛效果,因而在对大鼠的急性佐剂关节炎治疗中取得良好的疗效。

### 参考文献

- [1] Abou Nader C, Pellen F, Loutfi H, et al. Early diagnosis of teeth erosion using polarized laser speckle imaging[J]. J Biomed Opt, 2016, 21(7):71103.
- [2] Nees R, Pelster A, Körsgen M, et al. ToF-SIMS and laser-SNMS analysis of Madin-Darby canine kidney II cells with silver nanoparticles using an argon cluster ion beam[J]. Bio-interphases, 2015, 11(2):02A305.
- [3] 周晓兰,张志强.弱激光对兔失神经肌肉萎缩的防治作用[J].中国康复医学杂志,2010,25(08):725.
- [4] 庄淑美,刘建桥,张敏.手法结合半导体激光治疗颈源性头痛的临床观察[J].中国康复医学杂志,2009,24(08):753.
- [5] 王冰水,易南,李玲,等.低功率半导体激光照射对大鼠神经损伤后脊髓降钙素基因相关肽表达的影响[J].中国康复医学杂志,2000,15(02):4.
- [6] 黄义梅.针灸效应细胞响应的光学检测[D].福州:福建师范大学,2013.

- [7] Gottschling S, Meyer S, Gribova I, et al. Laser acupuncture in children with headache: a double-blind, randomized, bicenter, placebo-controlled trial[J]. *Pain*, 2008, 137(2):405—412.
- [8] Yuan D, Fu Z, Li S. Effect of He-Ne laser acupuncture on lymph-nodes in rats[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 1992, 17(1):54—58.
- [9] Zhou YC. An advanced clinical trial with laser acupuncture anesthesia for minor operations in the oro-maxillofacial region[J]. *Lasers Surg Med*, 1984, 4(3):297—303.
- [10] Erthal V, da Silva MD, Cidral-Filho FJ, et al. ST36 laser acupuncture reduces pain-related behavior in rats: involvement of the opioidergic and serotonergic systems[J]. *Lasers Med Sci*, 2013, 28(5):1345—1351.
- [11] Hsieh RL, Lo MT, Liao WC, et al. Short-term effects of 890-nanometer radiation on pain, physical activity, and postural stability in patients with knee osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2012, 93(5):757—764.
- [12] Shen X, Zhao L, Ding G, et al. Effect of combined laser acupuncture on knee osteoarthritis: a pilot study[J]. *Lasers Med Sci*, 2009, 24(2):129—136.
- [13] Mao H T, Wang Q G, Xing Q, et al. Design and study of deep laser acupuncture stimulator of modulation and multi-beam [M]//LUO Q, CHANCE B, TUCHIN V. International Workshop on Photonics and Imaging in Biology and Medicine. 2001: 15—.
- [14] Radmayr C, Schlager A, Studen M, et al. Prospective randomized trial using laser acupuncture versus desmopressin in the treatment of nocturnal enuresis[J]. *Eur Urol*, 2001, 40(2):201—205.
- [15] Gruber W, Eber E, Malle-Scheid D, et al. Laser acupuncture in children and adolescents with exercise induced asthma[J]. *Thorax*, 2002, 57(3):222—225.
- [16] Whittaker P. Laser acupuncture: past, present, and future [J]. *Lasers Med Sci*, 2004, 19(2):69—80.
- [17] Brockhaus A, Elger CE. Hypalgesic efficacy of acupuncture on experimental pain in man. Comparison of laser acupuncture and needle acupuncture[J]. *Pain*, 1990, 43(2):181—185.
- [18] 李芳杰,杨华元,王观涛.激光穴位照射对力竭运动大鼠骨骼肌SOD与MDA含量的影响[J].*上海针灸杂志*,2016,35(01):1.
- [19] 韩向晖,陆金根,曹永清,等.复黄片止血抗炎消肿抗菌作用的实验研究[J].*时珍国医国药*,2009,20(05):1096.
- [20] 张迪,丁光宏,沈雪勇,等.肥大细胞功能对针刺大鼠“足三里”镇痛效应的影响[J].*针刺研究*,2007,32(03):147.
- [21] 余晓佳,詹睿,黄红,等.手针与电针“足三里”穴镇痛效应的穴位传入机制差异性分析[J].*针刺研究*,2008,33(05):310.
- [22] Pearson CM, Waksman BH, Sharp JT. Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. V. Changes affecting the skin and mucous membranes. Comparison of the experimental process with human disease[J]. *J Exp Med*, 1961, (113):485—510.
- [23] Waksman BH, Pearson CM, Sharp JT. Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. II. Evidence that the disease is a disseminated immunologic response to exogenous antigen[J]. *J Immunol*, 1960, (85):403—417.
- [24] Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells[J]. *Physiol Rev*, 1997, 77(4):1033—1079.
- [25] 程珂,沈雪勇,丁光宏,等.激光针灸镇痛效应与穴位肥大细胞功能的关系[J].*中国针灸*,2009,29(6):478—483.
- [26] 张迪.肥大细胞功能对针刺镇痛效应的影响及其对中医治疗过程中的物理刺激的敏感性机制研究[D].上海:复旦大学,2007.