

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2023.07.003

• 论 著 •

大鼠坐骨神经射频热凝神经病理性疼痛模型的建立

刘彦朋¹ 张 瑞² 孙 柏¹ 徐 赓¹ 黄科昌³ 任占杰^{1△}(¹ 潍坊医学院麻醉学院, 潍坊 261053; ² 潍坊护理职业学院, 潍坊 261041; ³ 潍坊医学院附属医院疼痛科, 潍坊 261000)

摘 要 目的: 通过射频热凝损伤大鼠坐骨神经, 建立热损伤引起的神经病理性疼痛动物模型。**方法:** 取 24 只健康成年 SD 大鼠随机分为四组, 每组 6 只。其中假手术组 (Sham 组) 仅进行相关手术操作, RF₅₅ 组、RF₆₅ 组和 RF₇₅ 组分别给予坐骨神经 55℃、65℃ 和 75℃ 射频热凝处理, 观察术前、术后 1~40 天机械刺激缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足反射潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL) 变化, 并判断大鼠自发性痛行为和术后运动功能差异, 确定最佳造模温度。另取 20 只大鼠随机分为假手术组 (Sham 组) 和最佳造模温度 65℃ 射频热凝模型组 (RF₆₅ 组), 每组 10 只。进行模型复制, 观察术后 14 天光镜下坐骨神经形态学变化, RT-PCR 法测定大鼠 L₄~L₆ 背根神经节 Nav1.8 mRNA 表达。**结果:** RF₅₅ 组术后 3~10 天 MWT 低于术前; TWL 术后 7~15 天明显缩短。RF₆₅ MWT 术后 5~30 天降低; TWL 术后 7~30 天缩短。RF₇₅ MWT 术后 3~15 天增高; TWL 术后均延长。射频热凝组均在术后出现自发性疼痛行为, 运动功能评分降低。坐骨神经 65℃ 射频热凝后, 组织水肿明显, 空泡增多, Nav1.8 mRNA 相对表达量明显高于 Sham 组。**结论:** 大鼠坐骨神经 65℃ 射频热凝, 可以复制稳定的热损伤神经病理性疼痛模型。

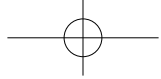
关键词 神经病理性疼痛; 动物模型; 热损伤; 射频热凝; 大鼠

A neuropathic pain model induced by radiofrequency on the sciatic nerve in rats

LIU Yanpeng¹, ZHANG Rui², SUN Bai¹, XU Geng¹, HUANG Kechang³, REN Zhanjie^{1△}(¹ Department of Anesthesiology, Weifang Medical University, Weifang 261053, China; ² WeiFang Nursing Vocational College, Weifang 261041, China; ³ Department of Pain Management, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261000, China)

Abstract Objective: To establish a neuropathic pain model induced by radiofrequency thermal injury of the sciatic nerve in rats. **Methods:** Twenty-four male adult SD rats were randomly divided into four groups. The animals in sham group received relevant operation, and other three groups were given radiofrequency of the sciatic nerve at 55℃ (RF₅₅ group), 65℃ (RF₆₅ group) and 75℃ (RF₇₅ group), respectively. The changes of mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were observed before operation and within 40 days after radiofrequency, and differences in spontaneous pain behavior and postoperative motor function were evaluated to determine the optimal modeling temperature. Another 20 rats were randomly divided into a sham group and an optimal modeling temperature group (RF₆₅ group) for model replication. The morphological changes of the sciatic nerve were observed under light microscopy 14 days after surgery, and the expression of Nav1.8 mRNA in the L₄-L₆ dorsal root ganglia of rats was measured with RT-PCR. **Results:** The MWT was decreased significantly from 3 to 10 days after operation, and the TWL was significantly shortened from 7 to 15 days after operation in RF₅₅. The MWT of the RF₆₅ group decreased from 5 to 30 days after operation, and the TWL was shortened from 7 to 30 days after operation. The MWT of the RF₇₅ group increased from 3 to 15 days after operation, and the TWL was significantly increased during the observation period. The pathological

[△] 通信作者 任占杰 renzhanjie@wfmw.edu.com



changes in the successfully established group showed nerve edema, loose structure, and increased vacuoles. The mRNA expression of Nav1.8 in the dorsal root ganglion was significantly higher than that in the sham group.

Conclusion: Radiofrequency of sciatic nerve at 65°C can replicate a thermally injured neuropathic pain model in rats.

Keywords neuropathic pain; animal model; thermal injury; radiofrequency; rats

神经病理性疼痛是由躯体感觉神经系统的损伤或疾病引起的疼痛^[1],其发病率高,在普通人群中约占7%~8%^[2],且疼痛严重,并常表现为灼烧样、针刺样的自发性疼痛,常伴有疼痛区域的感觉异常,甚至伴有睡眠障碍、抑郁焦虑等身心健康问题,其发病机制复杂^[3]。目前针对不同的损伤机制,已经存在许多神经病理性疼痛模型,如坐骨神经慢性卡压损伤、糖尿病周围神经损伤模型、臂丛神经撕脱等外周神经损伤模型。

热效应治疗已在临床广泛应用。常见的热效应治疗方式包括微波消融术、射频热凝术、经皮激光消融术和高强度聚焦超声等,其工作原理均是通过不同的能量方式产生局部热效应作用于靶组织,通过高温作用使组织凝固坏死达到灭活细胞和组织的目的。另外临床手术过程中,为满足视野要求,术中使用热凝止血时,由于器械头部的高温以及应用过程中的横向热扩散作用,导致医源性热损伤的发病率有所增加^[4],因此热损伤已成为周围神经损伤的常见原因,并由此引发病人术后出现神经性疼痛^[5]。与牵拉、卡压损伤类似,热损伤通常难以发现和识别,其后果可能更加不可逆^[6]。正因如此,治疗后神经损伤的并发症以及神经病理性疼痛的发生也随之增多^[5,7,8]。

既往有关于热效应对动物神经损伤的研究,发现40°C、5 min不会对猪的神经根功能产生任何影响,而70°C、5 min则会导致神经根功能完全阻滞,不同温度对神经损伤的程度不同,且与温度的增高呈正相关,说明温度的高低在神经损伤过程中有决定性的作用^[9]。对于损伤的机制,既往的研究发现大鼠周围神经的温度在58°C以上时会对神经内膜造成破坏,引起损伤,但在58°C下,无髓神经纤维电位最先消除并且发现了无髓神经纤维的变性,揭示了无髓神经纤维在高温下更易损伤^[10,11]。但另外的研究显示,在组织病理学观察中,髓鞘是神经纤维中较为脆弱的部分^[12],在44°C、30 min热处理后,观察到大量轴突出现脱髓鞘,同时其他的神经结构保持正常^[13]。这些发现反映了不同温度及热效应时间对神经的损伤不同,同时其损伤机制可能也存在差异。并且有研究显示传导痛觉的神经纤维较运动纤维更易受到热效应的损伤,这可能与神经热损伤

后病理性神经痛的发生密切相关^[14]。由于缺乏神经热损伤动物模型,使得临床中出现的热损伤后神经痛缺乏相关基础研究。本研究通过射频热凝技术的热效应处理模拟临床中存在的相关热损伤后神经病病人的发病过程,由此创建一种新型的稳定的热损伤后神经病理性疼痛模型,并探讨可能存在的发病机制,为临床中热效应治疗后并发的神经痛的预防与治疗提供依据。

方 法

1. 动物及饲养

成年雄性SD大鼠44只(220~250 g),以2~3只为一组饲养在塑料盒中,大鼠由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供,生产许可证号:SCXK(鲁)20190003。动物房及行为实验室温度为23~26°C,相对湿度40%~60%。为保证动物的生物节律,实行12小时的光照/黑暗循环环境设定,并自由摄取食物和水。本研究过程严格按照2006年科技部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》及潍坊医学院动物实验的相关管理规定(伦理批号2020SLD137)。

2. 主要设备及试剂

射频热凝电极套管针(德国英诺曼德医疗科技有限公司,批号:LOT19B051D,编号/型号:240100,规格:22G-50 mm-4 mm),射频手术电极(北京北琪医疗科技股份有限公司,型号:CD2201,规格:4 mm-50 mm),射频控温热凝器R-2000B D1(北京北琪医疗科技股份有限公司),PL-200热刺激仪(成都泰盟科技有限公司),von Frey纤维丝(Aesthesio),多样品组织研磨仪Tissuelyser-48 L(上海净信实业发展有限公司),高速冷冻离心机Neofuge 13 R(力康发展有限公司),微量离心机(赛默飞世尔科技有限公司),生物安全柜(上海力申科学仪器有限公司),核酸蛋白分析仪Nanodrop 2000 c(赛默飞科技有限公司),Light-Cycler 480 II实时荧光定量PCR仪(罗氏诊断产品有限公司),TRLZOL Reagent RNA提取试剂(赛默飞科技有限公司),无水乙醇500 ml(烟台远东精细化工有限公司),异丙醇500 ml(天津科茂化学试剂有限公司),高

效切片石蜡(上海华灵康复器械厂), 4%多聚甲醛通用型组织固定液(Biosharp)等。

3. 实验方案

将24只SD大鼠按随机数字表法随机分成4组, 每组6只。假手术组(Sham组)仅进行手术相关操作, 不采取射频热凝处理。其余三组设定不同的射频温度, 分别为55℃(RF₅₅)组、65℃(RF₆₅)组和75℃(RF₇₅)组。术后观察大鼠行为学变化。根据行为学观察, 选择出最佳造模温度。再根据最佳温度(65℃)另取20只大鼠随机分为2组: 假手术组(Sham组)和模型组(RF₆₅组), 每组10只, 14天后观察大鼠坐骨神经病理切片及背根神经节Nav1.8 mRNA的表达。

4. 手术操作及射频热凝处理

应用腹腔注射戊巴比妥钠(实验室提供, 50 mg/kg)对大鼠进行麻醉。大鼠取俯卧位, 伸展大鼠四肢, 固定于固定架上。取大鼠右侧股骨附近清理表层鼠毛, 碘伏消毒3遍, 铺洞巾, 在右侧股后正中纵切6~8 mm切口。暴露皮下肌肉, 用止血钳钝性分离肌肉后, 暴露出粗大的、乳白色的坐骨神经, 神经刺激后出现右足抽动, 说明坐骨神经选择正确。于神经分叉处向上1 cm处放置射频热凝穿刺针, 使用双极模式, 两穿刺针之间间隔5 mm, 将射频热凝电极套管针的电极导线连接射频治疗仪, 针尖贴近大鼠坐骨神经。RF₅₅组、RF₆₅组和RF₇₅组分别采取55℃、65℃和75℃, 其余射频参数为: 脉率2 Hz、脉宽20 ms、持续时间1 min, 重复进行2次射频热凝, 间隔5 min。手术结束后将坐骨神经归位, 整理肌肉, 缝合创口。本实验由专人进行, 保证手术方式和处理方式的一致。

5. 行为学观察

行为学实验均在白天进行, 测试都固定在每日9:00~12:00之间进行, 实验前3天每日将大鼠置于行为学观察箱中适应。术前、术后1、3、5、7、10、15、20、25、30、35、40天进行机械刺激缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)和热缩足反射潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)测试。于术前、术后1、3天分别观察大鼠后爪休息时姿势(assessments of resting paw posture)评价大鼠自发性痛行为和大鼠右下肢运动功能变化。

MWT是测定大鼠机械痛阈值的重要指标^[15], 为消除大鼠心理因素对测试结果的影响, 于测试前将大鼠放于测试箱内15~20 min, 实验环境控制在(23±2)℃, 实验室维持在安静环境。然后在底为有孔金属网格的相互隔开又透明的容器内, 选用不同

质量的von Frey纤维丝垂直刺激大鼠右侧后爪外侧部, 设置单位为g, 从小强度刺激开始, 逐步上升, 每个压力刺激10次, 间隔3~5 s, 10次刺激中有5次以上发生缩足、抖动与舔足反应的刺激强度, 即为大鼠的MWT。TWL是测定大鼠对热痛刺激的重要指标^[16], 测试前将大鼠处于静息状态15~20 min, 实验环境控制在(23±2)℃, 实验室维持在安静环境。大鼠置于有机玻璃罩内, 通过PL-200热刺痛仪辐照大鼠的足底, 设置参数为强度60%, 每次连续光热刺激不超过30 s, 单位为s。当大鼠出现快速抬足反应时, 记录开始照射至出现缩足逃避反应的时间, 重复测量5次, 每次间隔时间不低于5 min, 取5次平均值作为该大鼠的TWL。

实验前将大鼠放于试验箱中适应30 min以上, 在经射频热凝处理后, 于术前、术后1、3天观察20 min大鼠后爪休息时姿势, 评价大鼠自发性疼痛程度^[17]。评分标准: 大鼠后足可正常平放地面上记0分; 大鼠后足平放地面, 足趾并拢向下记1分; 大鼠后足仅后爪内侧缘着地记2分; 大鼠仅有后跟触地, 足趾向内卷起记3分; 大鼠全脚抬高, 远离地面记4分; 大鼠出现舔舐足部的表现记5分。

选取各组大鼠于术前、术后1、3天行改良的Tarlov评分^[18], 观察射频前后大鼠手术侧肢体活动及功能的改变, 判断神经的损伤程度。评分标准: 大鼠完全瘫痪评0分; 大鼠完全瘫痪, 对下肢针刺有反应, 但肢体不能移动评1分; 虽然四肢可以移动, 但不能站立或只能稳定站立(<5 s)评2分; 大鼠可以站立, 但不能行走评3分; 大鼠可以行走几步, 但不能稳定行走评4分; 大鼠可以缓慢行走, 但行走不灵活, 有一些缺陷评5分; 大鼠能正常行走评6分。

6. 组织形态学观察

根据射频热凝后大鼠行为学观察, 发现RF₆₅大鼠神经病理性疼痛临床表现较为典型, 且具有较强的稳定性, 遂选择65℃作为最佳造模温度对模型进行复制。模型复制后14天, 对Sham组和RF₆₅组大鼠取材, 取大鼠L₄~L₆背根神经节于-80℃冻存, 行Nav1.8 mRNA分析。取大鼠损伤侧坐骨神经行石蜡包埋, 制备成5 μm的切片进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色, 光镜下观察坐骨神经结构。

7. Nav1.8 mRNA测定

采用RT-PCR分析L₄~L₆背根神经节Nav1.8 mRNA含量。将冻存背根神经节按Trizol法进行RNA提取, 分光光度法对提取的RNA进行质和量的鉴定。按照FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2试剂盒说明书行逆转录获得cDNA, 再

对 Nav1.8 基因与内参 β -Actin 基因进行扩增。扩增后行水平电泳, 用图像分析系统进行半定量分析。

引物序列如下: Nav1.8 上游引物: 5'-GCCATT-CCTCTCACTGTTCC-3', 下游引物: 5'-CTTCT CTC-ATTGGCGTTTTT-3', 扩增片段长 345 bp; β -Actin 上游引物: 5'-AGGGAAATCGTGCGTGAC-3', 下游引物: 5'-CATGGATGCCACAGGATTC-3', 扩增片段长 211 bp。引物由华大基因公司合成提供。

8. 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行数据处理和分析, 对数据进行正态性检验, 对符合正态分布的数据进行分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 多组间比较使用重复测量方差分析, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MWT 测定

Sham 组整个观察期间 MWT 无明显变化, 在到达刺激阈值时仅有短时间的回缩躲避反应。射频热凝术后的大鼠对于机械痛的刺激出现较长时间躲避刺激的反应。RF₅₅ 组术后 3~10 天 MWT 较术前降低 ($P < 0.01$), 但术后 15 天即可恢复术前状态; 与 Sham 组对比, 术后 3~10 天差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。RF₆₅ 组术后 1 天 MWT 升高, 5~30 天 MWT 降低 ($P < 0.05$), 35 天大鼠 MWT 回归术前水平; 与 Sham 组对比, 5~30 天对比差异有统计学

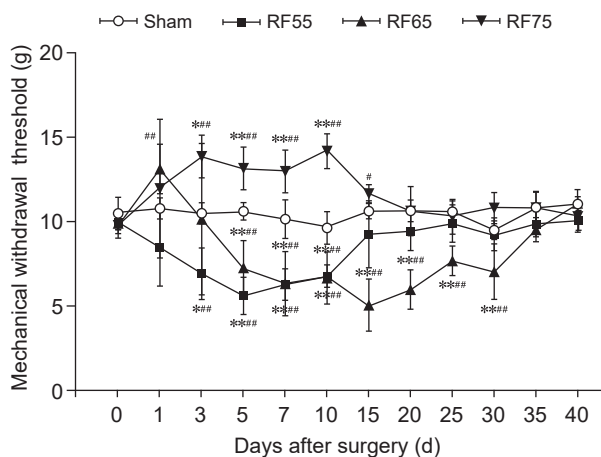


图 1 大鼠机械痛阈值变化比较

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 Sham 组相比; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与术前相比

Fig. 1 Comparison of mechanical withdrawal threshold of rats between different group

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with group Sham; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with 0 day.

意义 ($P < 0.05$)。RF₇₅ 组, 3~15 天 MWT 明显增高 ($P < 0.05$), 在整个观测期间, MWT 未见降低的现象; 3~10 天与 Sham 组对比差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见图 1)。

2. TWL 测定

整个观察期间, Sham 组 TWL 未见明显变化, RF₅₅ 组 TWL 于术后 1 天有延长 ($P < 0.05$), 7~15 天较术前有明显缩短 ($P < 0.05$), 第 20 天恢复术前水平; 与 Sham 组对比, 7~15 天有明显的缩短 ($P < 0.05$)。RF₆₅ 组术后 1~3 天 TWL 较术前有明显的延长 ($P < 0.01$), 7~30 天 TWL 较术前有明显的缩短 ($P < 0.05$), 35 天恢复术前水平; 与 Sham 组对比, 术后 1~3 天期间 TWL 有明显的延长 ($P < 0.05$), 7~25 天 TWL 有明显的缩短 ($P < 0.01$)。整个观测期间 RF₇₅ 组大鼠 TWL 均明显长于术前 ($P < 0.01$), 且与 Sham 组对比, TWL 均显著延长 ($P < 0.01$, 见图 2)。

3. 术后自发性痛

大鼠术后清醒后, 经射频热凝处理的当天, 抬足舔足次数较术前增加不明显, 但从术后 1 天开始自发性舔足次数增加, 并出现啃咬侧足部脚趾的情况。RF₅₅、RF₆₅ 和 RF₇₅ 组术后 1 天的自发性痛评分分别为 0.88 ± 0.35 、 1.38 ± 0.14 和 1.94 ± 0.77 , 术后 3 天分别为 2.33 ± 0.54 、 3.08 ± 0.26 和 3.83 ± 0.25 , 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$, 见图 3)。在休息姿势时, 射频后大鼠间歇性地突然舔足侧后爪, 同时用嘴轻轻咬或拉指甲。这种行为开始于术后 1 天,

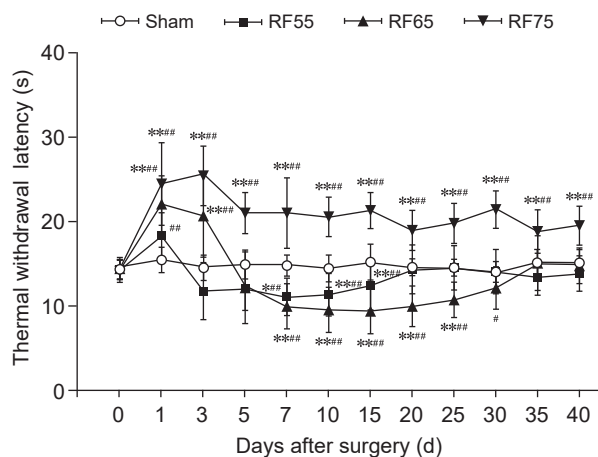


图 2 大鼠足底热痛刺激潜伏期变化比较

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 Sham 组相比; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与术前相比

Fig. 2 Comparison of thermal withdrawal latency of rats between different group

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with group Sham; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with 0 day.

在术后 20 天内常见,但在 25~40 天频率降低。 RF_{65} 和 RF_{75} 组出现自噬现象,消融后 3~7 天最明显,常见滴血、反复啃咬状态,术后 20 天大鼠自噬减少,伤口结痂愈合。手术侧大鼠足部多弯曲,脚趾聚拢,后爪外翻。

4. 运动功能评分

射频热凝后,Sham 组大鼠运动功能未见有明显异常,而经过射频热凝的大鼠手术侧肢体活动减少, RF_{55} 、 RF_{65} 和 RF_{75} 组 Tarlov 评分术后 1 天较术前对比均出现差异 ($P < 0.05$),术后 3 天仅 RF_{75} 组较术前有差异 ($P < 0.01$)。 RF_{55} 组大鼠术后,能正常行走和着地。 RF_{65} 组大鼠后爪外翻,能正常行走,行走时后爪的内侧边缘与地板接触,后足受力向健侧偏移。 RF_{75} 组大鼠还出现肢体拖曳和下肢肿胀的情况,运动功能明显受累。与 Sham 组比较, RF_{65} 组术后 1 天 Tarlov 评分差异有统计学意义 ($P < 0.05$), RF_{75} 组术后 1 天和 3 天差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, 见图 4)。

5. 组织形态学观察

根据既往确定的最佳造模温度,对模型进行复制,观察模型组大鼠坐骨神经的神经病理变化。Sham 组大鼠坐骨神经纤维排列相对规整,神经纤维粗细、走行较为一致,神经组织结构较为完整。而 RF_{65} 组大鼠局部损伤明显,出现了神经断裂,空泡增多,组织水肿的情况,神经组织结构疏松。说明 65°C 射频热凝对神经造成了一定程度的损伤 (见图 5)。

6. RT-PCR

大鼠坐骨神经射频热凝后 14 天, RF_{65} 组大鼠的背根神经节组织内的 Nav1.8 mRNA 表达量较 Sham 组显著增加 ($P < 0.05$, 见图 6)。

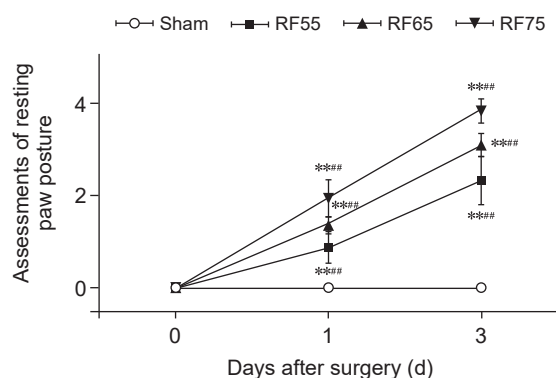


图 3 大鼠休息时爪姿势评分比较
** $P < 0.01$, 与 Sham 组相比; $^{###}P < 0.01$, 与术前相比

Fig. 3 Comparison of assessments of resting paw posture of rats between different group
** $P < 0.01$, compared with group Sham; $^{###}P < 0.01$, compared with 0 day.

讨论

神经纤维对温度的耐受不同。既往的研究表明 42°C 的脉冲射频对于任何神经均没有损伤,造成神经损伤的温度一般大于 50°C 。 60°C 时传递痛觉和温觉的 $A\delta$ 和 C 类纤维破坏,而传导运动和触压觉的 $A\alpha$ 纤维、 $A\beta$ 纤维和运动纤维能耐受更高的温度^[14]。郝玢^[19]报道 65°C 射频 5 min 对大鼠坐骨神经造成明显的损伤。Heavner 等^[20]在新鲜蛋清中采用不同温度的射频热凝对比,发现在 42°C 时没有产生凝固物,但当温度在 60°C 以上时就开始产生蛋清的凝固现象。所以我们的实验分别设置了 55°C 、 65°C 、 75°C 三个温度来进行坐骨神经的连续射频热凝处理。

RF_{65} 组和 RF_{55} 组均于术后逐渐开始出现 MWT 和 TWL 的改变。两组 MWT 的明显降低分别出现于第 3 天和第 5 天, RF_{55} 组持续时间仅为 1 周,而 RF_{65} 组持续降低有 25 天。两组 TWL 均于术后 7 天开始明显缩短, RF_{55} 组持续 8 天,而 RF_{65} 组持续长达 23 天。 RF_{55} 组损伤程度较轻,痛觉敏感维持的时间较短,大鼠术后神经功能恢复较快,2 周左右其神经功能即可恢复至术前状态。 RF_{75} 组术后神经损伤较为严重,出现了较明显的运动功能损伤,大鼠术后出现拖曳、自噬严重的现象,且 TWL 较 Sham 组及术前明显上升,未出现 MWT、TWL 降低的情况,不符合病理性神经痛相关的临床表现^[21,22]。通过不同温度的射频热凝,以及损伤后大鼠行为学的变化,对比发现 RF_{65} 组术后大鼠的行为学变化更加符合神经病理性疼痛模型的临床表现。

RF_{65} 组的损伤后表现,与 Bennett 等^[21]创建

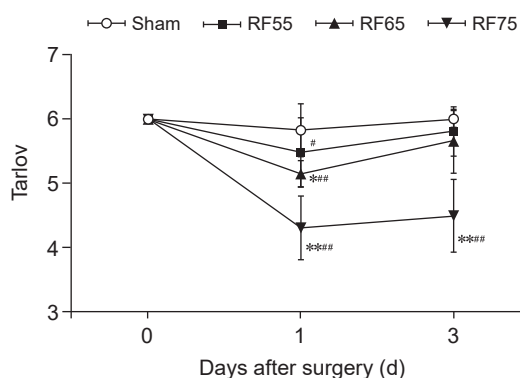


图 4 大鼠运动功能变化比较
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 Sham 组相比; $^{##}P < 0.05$, $^{###}P < 0.01$, 与术前相比

Fig. 4 Comparison of Tarlov scoring of rats between different group
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with group Sham; $^{##}P < 0.05$, $^{###}P < 0.01$, compared with 0 day.

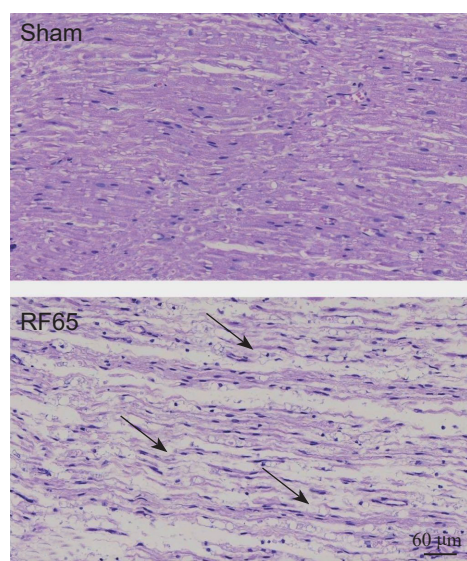


图5 大鼠坐骨神经 HE 染色切片 (HE 染色, 标尺=60 μm) 空泡

Fig. 5 Photomicrographs of the sciatic nerve after operation stained with HE, Bar scale = 60 μm, Vacuoles

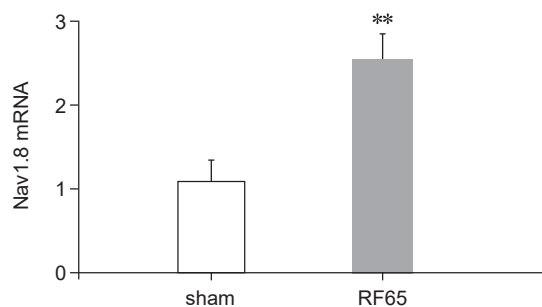


图6 射频热凝后大鼠背根神经节 Nav1.8 mRNA 的表达 ($n=10$)

** $P < 0.01$, 与 Sham 组相比

Fig. 6 Expression of Nav1.8 mRNA in rat dorsal root ganglion after radiofrequency thermocoagulation ($n=10$)

** $P < 0.01$, compared with group Sham.

的经典的大鼠坐骨神经结扎模型表现出的坐骨神经损伤后的临床表现类似, 在坐骨神经的处理后, 出现了患侧肢体自发性痛敏感和对有害刺激反应阈值明显减低的过程。王厚融等^[23]通过坐骨神经卡压损伤动物模型显示, 机械痛阈值和热痛阈值术后7天开始降低, 能维持1个月余。Song等^[24]建立的大鼠背根神经节慢性卡压模型术后第1天开始出现间歇性舔舐手术侧后爪, 轻微的自噬现象, 在术后前2周常见, 第5周后频率减低; 机械痛阈方面第1天就开始降低, 第1周过后开始缓慢恢复, 到第5周仍低于术前水平。而本研究中 RF₆₅ 组大鼠术后 MWT 先有一个短暂的阈值增高, 于第5天开始有明显的阈值降低, MWT 能维持到术后30天, 临床

表现类似。可见, 本研究创建的模型与一些经典的病理神经痛模型的病程相似。

Nav1.8 的外周表达增加已被证明与慢性疼痛的症状有关^[25], 坐骨神经卡压损伤使大鼠出现神经病理性疼痛的症状, 且损伤神经中的 Nav1.8 mRNA 的表达增加^[26]。本研究 RF₆₅ 组其背根神经节内 Nav1.8 mRNA 的表达水平较 Sham 组也有明显的增加, 说明 Nav1.8 通道可能参与本研究创建的射频热凝病理性神经痛模型的机制。

目前有多种坐骨神经损伤的病理性神经痛模型, 大多数病理性神经痛模型^[3,27]是通过对坐骨神经的套扎、卡压造成损伤, 其卡压的松紧程度、力度等存在一定的人为误差, 难以避免。其余的坐骨神经局部炎症性损伤、非压迫性髓核移植等^[28,29]也不能完全确保损伤程度的一致性。而本研究创建的65℃射频热凝后神经病理性疼痛模型的创建过程操作相对稳定, 客观的多种射频热凝参数能保证神经损伤的一致性更高, 使模型大鼠的表现也相对更加稳定。

当前临床中射频热凝的相关参数设定没有固定标准, 神经的损伤程度与温度、暴露时间有关, 电压^[30]与电流的频率对神经的损伤程度也有相关性, 本研究中射频参数主要是温度控制, 改变射频热凝的其他参数, 会对模型的建立产生何种影响需要进一步去探索。另外本研究仅选择了行为学表现较为明显的时间点进行了 Nav1.8 mRNA 的测定, 没有对该观察指标进行多时间点的动态监测, 因此对于 Nav1.8 mRNA 的最佳观测时间点仍需要进一步的观测。

本研究建立的大鼠射频热凝损伤病理性神经痛模型是一种新型的热损伤神经病理性疼痛模型。其潜在的价值是通过对该动物模型的观察和研究, 发现热损伤可能的机制, 以及在临床中预防和处理热效应损伤后并发的神经痛。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment[J]. Neuropathic Pain, 2020, 101(1):259-301.
- [2] Bouhassira D. Neuropathic pain: definition, assessment and epidemiology[J]. Rev Neurol (Paris), 2019, 175(1-2): 16-25.
- [3] Ding XD, Wang W, Ding ZG, et al. Impact of Botox-A SNAP-25 protein expression and the mechanism of



- inhibitory neurotransmitter imbalance in chronic sciatic nerve pain rat model[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(6): 2783-2786.
- [4] Pogorelić Z, Katić J, Mrklić I, *et al.* Lateral thermal damage of mesoappendix and appendiceal base during laparoscopic appendectomy in children: comparison of the harmonic scalpel (ultracision), bipolar coagulation (LigaSure), and thermal fusion technology (MiSeal)[J]. *Surg Res*, 2017, 212:101-107.
- [5] Ohyama S, Takahashi S, Tamai K, *et al.* Prevention of nerve root thermal injury caused by bipolar cauterization near the nerve roots[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2019, 44(6):E321-E328.
- [6] Dionigi G. Energy based devices and recurrent laryngeal nerve injury: the need for safer instruments[J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2009, 394(3):579-586.
- [7] Al Barim B, Lemcke L, Schwake M, *et al.* Repetitive percutaneous radiofrequency thermocoagulation for persistent idiopathic facial pain and central neuropathic pain attributed to multiple sclerosis-a retrospective monocentric analysis[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2020, 162(11):2791-2800.
- [8] Kornick C, Kramarich SS, Lamer TJ, *et al.* Complications of lumbar facet radiofrequency denervation[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2004, 29(12): 1352-1354.
- [9] Dong Y, Chen Y, Yao B, *et al.* Neuropathologic damage induced by radiofrequency ablation at different temperatures[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2022, 77:100033.
- [10] Konno S, Olmarker K, Byröd G, *et al.* The european spine society acromed prize 1994. Acute thermal nerve root injury[J]. *Eur Spine J*, 1994, 3(6):299-302.
- [11] Xu D, Pollock M. Experimental nerve thermal injury[J]. *Brain*, 1994, 117(Pt 2):375-384.
- [12] Delibas B, Kuruoglu E, Bereket MC, *et al.* Allantoin, a purine metabolite, enhances peripheral nerve regeneration following sciatic nerve injury in rats: a stereological and immunohistochemical study[J]. *Chem Neuroanat*, 2021, 117:102002.
- [13] Hoogeveen JF, Troost D, van der Kracht AH, *et al.* Ultrastructural changes in the rat sciatic nerve after local hyperthermia[J]. *Int J Hyperthermia*, 1993, 9(5):723-730.
- [14] Letcher FS, Goldring S. The effect of radiofrequency current and heat on peripheral nerve action potential in the cat[J]. *Neurosurg*, 1968, 29(1):42-47.
- [15] 李光玲, 张励才. 触液核 NGF/ERK 信号通路参与 CCI 大鼠神经病理性疼痛 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2020, 26(9):653-659.
- [16] 吴茗慧, 甄思佳, 徐婷, 等. 背根神经节 P2X3R 和 TRPV1 介导 CFA 致炎性痛大鼠不同时期痛行为 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2022, 28(5):331-339.
- [17] Ramzy EA, Khalil KI, Nour EM. *et al.* Evaluation of the effect of duration on the efficacy of pulsed radiofrequency in an animal model of neuropathic pain[J]. *Pain Physician*, 2018, 21(2):191-198.
- [18] Li Y, Gu R, Zhu Q *et al.* Changes of spinal edema and expression of aquaporin 4 in methylprednisolone-treated rats with spinal cord injury[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2018, 48(4):453-459.
- [19] 郝玢. 大鼠坐骨神经节段高低温处理的实验研究 [C]. 第四届中国肿瘤学术大会暨第五届海峡两岸肿瘤学术会议论文集. 2006: 823.
- [20] Heavner JE, Boswell MV, Racz GB. A comparison of pulsed radiofrequency and continuous radiofrequency on thermocoagulation of egg white in vitro[J]. *Pain Physician*, 2006, 9(2):135-137.
- [21] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man[J]. *Pain*, 1988, 33(1):87-107.
- [22] 吴志伟, 宋朋飞, 朱清广, 等. 神经病理性疼痛动物模型研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(5): 1083-1087.
- [23] 王厚融, 刘志凤, 于天源, 等. Minor CCI 与经典 CCI 大鼠模型成模特点的比较研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(10):1-7.
- [24] Song XJ, Hu SJ, Greenquist KW, *et al.* Mechanical and thermal hyperalgesia and ectopic neuronal discharge after chronic compression of dorsal root ganglia[J]. *Neurophysiol*, 1999, 82(6):3347-3358.
- [25] 康道林, 陈长春, 曾思玉, 等. Nav1.8 在疼痛中的研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2017, 23 (9):691-695.
- [26] Ruangsri S, Lin A, Mulpuri Y, *et al.* Relationship of axonal voltage-gated sodium channel 1.8 (Nav1.8) mRNA accumulation to sciatic nerve injury-induced painful neuropathy in rats[J]. *Biol Chem*, 2011, 286(46): 39836-39847.
- [27] Kiguchi N, Sakaguchi H, Kadowaki Y, *et al.* Peripheral administration of interleukin-13 reverses inflammatory macrophage and tactile allodynia in mice with partial sciatic nerve ligation[J]. *Pharmacol Sci*, 2017, 133(1):53-56.
- [28] 龙贤齐, 王旭, 任秀君, 等. 远近配穴电针对自体髓核移植大鼠脊髓 p38 丝裂原活化蛋白激酶及环磷酸腺苷表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2016, 41(3):202-209.
- [29] Jiang H, Yu X, Ren X, *et al.* Electroacupuncture alters pain-related behaviors and expression of spinal prostaglandin E2 in a rat model of neuropathic pain[J]. *Tradit Chin Med*, 2016, 36(1):85-91.
- [30] Yeh CC, Wu ZF, Chen JC, *et al.* Association between extracellular signal-regulated kinase expression and the anti-allodynic effect in rats with spared nerve injury by applying immediate pulsed radiofrequency[J]. *BMC Anesthesiol*, 2015, 15:92.