

·传统医学与康复·

电针刺激对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及 大脑 NO 含量的影响*

罗 任¹ 闫 兵² 何利雷²

摘要 目的:观察电针刺激对血管性痴呆(VD)大鼠学习记忆能力及大脑氧化亚氮(NO)含量的影响。进一步讨论针灸治疗 VD 的机制,为临床推广和显示中医治疗 VD 的优势提供有力的实验依据。**方法:**实验中采取 4-血管阻断法制备 VD 模型,用 Morris 水迷宫测定大鼠学习记忆能力,并用分光光度比色法测定其大脑中 NO 的含量。**结果:**模型大鼠表现明显的学习记忆障碍,在水迷宫实验中,其潜伏期显著延长,在原平台象限跨越平台次数与其余三个象限无显著差异;其大脑 NO 水平明显升高。而电针组潜伏期较模型组明显缩短,相同时间内跨越原平台次数明显多于其余三个象限;其大脑 NO 含量较模型组大鼠显著降低。**结论:**电针刺激能改善 VD 大鼠学习记忆能力,并能显著降低其大脑 NO 含量,具有逆转缺血性脑损伤后 NO 含量升高所致神经元损害过程,可能最终减少血管性痴呆的发生。

关键词 电针;学习记忆能力;氧化亚氮

中图分类号:R493,R749.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2007)-06-0500-03

The influences of electro-acupuncture on learn and memory abilities and nitric oxide in cerebrum of vascular dementia rats/LUO Ren, YAN Bing, HE Lilei, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007,22(6):500—502

Abstract Objective: To observe the effect of electro-acupuncture on learn and memory abilities and nitric oxide in cerebral vascular dementia (VD) rats. **Method:** The VD rats were modeled with method of global ischemia reperfusion with 4 vascular occlusions (4-vo). Morris water tests were used for behavioral study. The nitric oxide in brain tissue was measured with spectrophotometry. **Result:** The model group animals needed more escape time than the control group, and they did not swim longer in platform quadrant crossing than in the others in the Morris water tests. The content of nitric oxide in cerebrum was higher than the others. In electro-acupuncture group, the animals cut the escape time mostly and they swam more times in platform quadrant crossing than in other three quadrants. The content of nitric oxide in cerebrum was obviously decreased. **Conclusion:** Electro-acupuncture can improve learn and memory ability, and it can also inhibit the increase of the nitric oxide in cerebrum which was concerned with the process of the damage of nerve cells of VD model rats, so it can reduce the occurrence of vascular dementia.

Author's address Acupuncture & Massage College of Guangzhou University of TCM, Guangzhou, 510405

Key words electro-acupuncture; learn and memory abilities; nitric oxide

目前,针灸治疗血管性痴呆(vascular dementia, VD)的临床疗效肯定,有关的基础研究也取得了初步成果^[1-2]。氧化亚氮(nitric oxide, NO)在脑缺血性损害后显著升高,并在缺血性脑损伤后期表现出神经毒性作用,损害神经元,加重脑缺血性损伤,这可能是最终导致血管性痴呆发生原因之一。本实验观察电针对全脑缺血模型大鼠的学习记忆能力及大脑皮质 NO 含量的影响,为探讨针灸治疗血管性痴呆和降低血管性痴呆发生机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型的制备与分组

健康成年 SD 大鼠 50 只,雌雄各半,体重 180—

220g,由广州中医药大学动物实验中心提供。随机抽取 8 只大鼠作假手术对照组,其余 42 只用于制备缺血模型,分 3 组:电针组、西药组和模型组各 14 只。动物采用国际公认的 4 血管阻断(4-vo)方法制作模型^[3]。假手术组仅暴露 4 条血管,不发生脑缺血,其余手术程序同上。术后,手术组 9 只,西药组 9 只,模型组 7 只。

* 指导老师:唐纯志,邵瑛(广州中医药大学针灸推拿学院针灸原理实验室)

1 广州中医药大学针灸推拿学院 2002 级本科,510405

2 广州中医药大学针灸推拿学院 2001 年 7 年制

作者简介:罗任,男,本科生在读

收稿日期:2006-08-30

1.2 主要仪器

SDQ-30 双极射频电凝器 (上海手术器械厂); Morris 水迷宫 (广州中医药大学提供); G860 电针仪 (上海), 多功能酶标仪 (TECAN GENios), 高速冷冻离心机 (美国 BECKMAN, 型号 CS-15R Centrifuge), 匀浆机 (德国 IKA-I 型)。

1.3 治疗方法

术后 10d, 刀口完全愈合, 饮食正常, 无肢体残疾, 体重恢复后开始给予电针及西药尼莫地平治疗。假手术组和模型组同等条件下饲养, 未予任何治疗。

电针组: 用 28 号 1 寸毫针, 于模型大鼠头部“百会”穴 (顶骨正中) 斜刺 0.5 寸, 背部膈腧穴 (第 7 胸椎下两旁肋间)、脾腧穴 (第 12 胸椎下两旁肋间) 和肾腧穴 (第 2 腰椎下两旁), 以上穴位均参考《实验针灸学》^[2], 各直刺 0.5 寸, 连接电针仪, 施以连续波, 频率 150Hz, 强度以大鼠安静耐受为度 (约 1mA), 每天电针 1 次, 留针 20min, 连续治疗 15d。

西药组: 大鼠给予尼莫地平 12mg/kg, 按 20ml/kg BW 灌胃, 每日 1 次, 连续 15d。

1.4 检测方法

1.4.1 行为学观测: 采用 Morris RG 所创 Morris 水迷宫学习记忆行为测试, 包括定位航行试验和空间探索试验^[3-5]。

1.4.2 大脑 NO 水平测定方法: 应用硝酸还原酶法测定 NO 含量^[6]。

1.5 统计学分析

采用 SPSS10.0 统计软件, 数据用均数±标准差表示。不同组间水迷宫测试、脑匀浆中 NO 含量的比较采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 对大鼠学习巩固和再现能力的影响

在 Morris 水迷宫试验中, 模型组与假手术组比较, 模型组大鼠平均潜伏期明显延长 ($P<0.01$)。假手术组大鼠在原平台象限跨相应平台次数明显多于其余三个象限, 而模型组在原平台象限跨越相应平台次数与另外 3 个象限的跨越次数之间的差异无显著性意义 ($P>0.05$)。将模型组和假手术组大鼠在原平台象限跨越相应平台次数做两两比较, 模型组大鼠的跨越次数明显少于假手术组大鼠。这说明模型组大鼠学习获取能力较差, 血管性痴呆大鼠记忆力障碍模型造模成功。电针组和西药组大鼠的平均潜伏期同模型组大鼠的平均潜伏期相比, 明显缩短 ($P<0.01$)。其两组大鼠在原平台象限跨相应平台次数也明显多于其余三个象限。其两组大鼠跨越次数较模型组大鼠的明显增多 ($P<0.01$)。而电针组、西药组和假手术组大鼠的测定结果比较差异无显著性 ($P>0.05$)。这表明电针和西药均能改善了模型大鼠的学习巩固和再现能力 (见表 1), 且电针和西药的改善大鼠记忆力疗效无明显差异。

2.2 对大鼠大脑 NO 含量的影响

模型组大鼠大脑 NO 含量显著比假手术组大鼠高 ($P<0.01$); 电针组与西药组大鼠大脑 NO 含量显著比模型组低, 差异具有显著性意义 ($P<0.01$), 但仍显著比假手术组要高 ($P<0.01$)。另外笔者还将西药组与电针组大鼠大脑 NO 含量进行均值比较, 发现差异无显著性意义 ($P>0.05$) (见表 2)。

表 1 各组大鼠学习巩固和再现能力的比较

($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	逃避潜伏期 (s)	原平台 (E)	右侧平台 (S)	左侧平台 (W)	对侧平台 (N)
假手术组	7	5.20±0.81	6.14±1.57	2.14±1.35	1.86±1.07	0.86±0.69
模型组	7	16.89±9.13 ^①	2.29±0.95 ^①	2.71±1.80	1.86±1.35	1.86±1.35
电针组	9	5.49±0.90 ^②	5.67±1.50 ^{②③}	1.33±1.00	0.89±0.78	1.11±0.78
西药组	9	6.73±0.97 ^②	5.44±1.51 ^②	1.56±1.01	1.33±1.00	1.00±1.00

与假手术组相比: ① $P<0.01$; 与模型组相比: ② $P<0.01$; 与西药组相比: ③ $P>0.05$

表 2 各组大鼠大脑 NO 含量的比较

($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	NO (μmol/g)
假手术组	7	178.41±6.88 ^②
模型组	7	402.97±28.06 ^①
电针组	9	206.27±8.01 ^{①②}
西药组	9	208.52±8.58 ^{①②}

与假手术组比较: ① $P<0.01$; 与模型组比较: ② $P<0.01$

3 讨论

VD 是发生在脑血管病基础上的以记忆、认知功能缺损为主的获得性智能的持续性损害, 属于传统医学的“呆病”。历代医家多以肝郁, 思虑不遂, 情志所伤为致呆之因, 同时强调肾虚髓空, 痰浊淤血在

痴呆发病中的作用。《医林改错》: “高年无记性者, 脑髓渐空”、“凡有淤血也令人善忘”。现代学者王永炎等^[7]认为血管性痴呆病位在脑, 涉及肝肾心脾, 其病理性质为本虚标实, 以精气亏虚为本, 痰热淤血为标, 而浊毒损伤脑络是主要病理环节。穴居颠顶, 是调节大脑功能的要穴, 百会位居巅顶, 穴归属督脉, 与脑密切联系, 别名“三阳五会”, 具有醒脑开窍, 振奋人身之正气, 安神定志的作用。膈俞为八会穴之一的血会, 具有理气宽胸, 活血通脉的作用。脾俞属足太阳膀胱经, 脾之背俞穴。因脾为后天之本, 脾俞具有健脾和胃, 利湿升清的作用, 为人体气血生化之

源。肾俞是肾的背俞穴,肾藏精,为先天之本,针刺肾俞可补肾滋阴、藏精生髓。诸穴合用,既补先天之本,又补后天之本,化生血气以养脑;既养血活血,又行气化瘀,促进体内痰浊瘀血消散。从而养血生精、藏精生髓、填髓充脑、醒脑开窍,促进脑损伤及各项功能的恢复。本实验的结果也表明,电针上述诸穴能够明显改善 VD 大鼠的学习巩固和再现能力。

NO 是人类在体内发现的第一个气体信息分子,体内 NO 是左旋精氨酸(L-arg)在氧化亚氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)作用下合成的^[8],它是自由基的一种。近年来,大量研究表明缺血性脑损伤后,NO 水平明显升高^[9-12],而 NO 对脑缺血损伤具有双重作用,即早期的保护作用,后期的神经毒性作用。NO 后期对神经元的损伤势必是脑缺血性损伤最终导致痴呆的重要因素之一。本实验旨在研究脑缺血所致痴呆大鼠皮质 NO 含量变化,以及电针对 NO 水平的影响。实验结果表明,脑缺血致血管性痴呆大鼠皮质 NO 显著升高($P<0.01$);电针显著降低大鼠皮质 NO 含量,但仍高于正常水平,这可能与本实验电针治疗时间较短有关;另外电针降低 NO 作用效力与西药一致,不存在差异。

研究表明,脑缺血再灌注后损伤 NO 水平升高。本实验亦验证了这一点。NO 的持续升高可能介导兴奋性氨基酸毒性^[13]、损伤线粒体^[14]和 DNA 等而表现神经毒性,损害神经元,并成为导致血管性痴呆的一个重要因素。本研究表明,电针可显著逆转大鼠缺血性损伤后期 NO 增高过程,减少 NO 生成,具有保护神经元的作用,并可能最终减少血管性痴呆的发生。

本实验研究了电针对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及大鼠皮质 NO 含量的影响,结果表明,电针可以改善血管性痴呆大鼠模型的学习巩固和再现能力,具有治疗血管性痴呆的作用,另外,电针能逆转大鼠缺血性损伤后大鼠皮质 NO 增高而致神经元损伤,通过对神经元的保护作用降低痴呆发生的几率,

这也可能是电针减少和治疗血管性痴呆的机制之一。而电针降低脑缺血损伤后 NO 水平的机制还有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 李忠仁主编.大鼠针灸穴位,实验针灸学[M]. 第1版. 北京:中国中医药出版社,2003.327—329.
- [2] Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions [J]. Nature, 1982,297(5868):681.
- [3] Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat[J]. J Stroke, 1979,10(3):267—272.
- [4] Kastury K, Beffa R, Druck T, et al. Potential gastrointestinal tumor suppressor locus at the 3p14.2 [J]. Cancer Res, 1996,56(5):979—983.
- [5] Baffa R, Veronese ML, Santoro R, et al. Loss of FHIT expression in gastric cancer[J]. Cancer Res, 1998,58(20):4708—4714.
- [6] 崔晓军,李伊为,陈东风,等.电针对局灶性脑缺血大鼠脑组织 NO 及 NOS 的影响[J]. 上海针灸杂志,2003,22(3):25—27.
- [7] 王永炎,张伯礼.血管性痴呆现代中医临床与研究[M].北京:人民卫生出版社,2003.45.
- [8] 朱清,萧明弟.一氧化氮—新的细胞信息[J].国外医学·生理、病理科学分册,1994,14(4):212
- [9] 许能贵,易玮,赖新生,等.电针对局灶性脑缺血大鼠 NO、NOS 和 ET-1 的影响[J]. 广州中医药大学学报,2002,19(1):63—64.
- [10] 王利春,刘海燕,王志勇,等.针刺对拟血管性痴呆大鼠脑内 NO、NOS 及血液流变学影响的实验研究 [J]. 针刺研究,2005,30(4):195.
- [11] 郑祖艳,赵立刚,梅晨健,等.针刺对血管性痴呆大鼠脑组织 SOD 活性及 NO 影响的实验研究[J].新中医,2005,37(3):90—92.
- [12] 王鹏,李积胜.血管性痴呆小鼠海马 NOS 活力和 nNOS 蛋白表达的改变[J].第四军医大学学报,2006,27(2):105—106.
- [13] Takagi K, Ginsberg MD, Globus MY, et al. Changes in amino acid neurotransmitters and cerebral blood flow in the ischemic penumbral region following middle cerebral artery occlusion in the rat: correlation with histopathology [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1993,13(4):575—585.
- [14] Bouaziz N, Redon M, Quere L, et al. Mitochondrial respiratory chain as a new target for anti-ischemic molecules [J]. Eur J Pharmacol, 2002,441(1—2):35—45.

第二届北京国际康复论坛将于 2007 年 8 月在京举行

第二届北京国际康复论坛将于 2007 年 8 月 17 日—21 日在北京隆重举行,欢迎各领域专家、学者莅临指导,参加大会,详情请登陆网站:www.crrc.com.cn