

针 灸 经 络

电针对局灶性脑缺血大鼠皮层体感诱发电位
和细胞超微结构的影响许能贵¹ 沈德凯² 周逸平² 王月兰²

摘要 采用凝闭大鼠大脑中动脉致局灶性脑缺血模型,研究电针督脉经“大椎”、“人中”两穴对皮层体感诱发电位(SEP)和细胞超微结构的影响,结果显示,缺血组SEP各成分波幅明显降低,峰潜伏期明显延长,细胞超微结构大部分崩解;电针组SEP各成分波幅略有降低,但峰潜伏期无明显延长,细胞超微结构大部分未破坏。表明电针可阻止神经元继发坏死,为针灸治疗缺血性中风提供理论依据。

主题词 脑缺血/针灸疗法 诱发电位,躯体感觉/针灸效应 神经元/超微结构

缺血性脑血管疾病是人类,特别是老年人严重致残和死亡的重要原因之一,在国内约占各类脑卒中的60%~70%,而在西方国家更高达80%以上,成为当今危害人类健康的三大祸首之一。由于神经元缺血损伤一旦达到不可逆阶段就难以再生修复,因此积极探索有效的防治措施和发病机理,有着重大医学价值和社会意义。通过大量的临床研究表明,针灸能够较为有效地治疗缺血性脑血管疾病,因此有必要对其机制进行深入探讨。本实验选择凝闭大鼠大脑中动脉(MCAO)致局灶性脑缺血为模型,应用能够反映大脑皮层灰质神经元电活动和白质神经纤维传导功能的皮层体感诱发电位(SEP)以及神经细胞的超微结构为指标,观察电针对缺血性神经元损伤的保护作用,并进一步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物与造模:动物选用健康的Wistar大鼠26只,体重150~250g,雌雄不拘,由安徽中医学院针灸经络研究所标准动物房提供。用10%水合氯醛溶液,按400mg/kg量腹腔麻醉。然后取右上侧卧位固定,沿耳眼连续中点切开皮肤,分离颞肌,暴露颞骨作一骨窗,轻抬脑,显露大脑中动脉,用烧红的不锈钢丝轻触大脑中动脉,使之凝闭,造成局灶性脑缺血模型。

基金项目:国家自然科学基金(39500192)和国家中医药管理局科研基金(930364)资助

1 广州中医药大学,广州市机场路12号(510405)

2 安徽中医学院针灸经络研究所

收稿日期:2000-07-03;修回日期:2000-09-15

1.2 SEP记录:在大鼠前囟后2mm,正中矢状缝旁开2.3mm处,相当于皮层感觉运动区(额顶区),对称地安置针形电极,尖端穿过颅骨接触硬脑膜,作为SEP引导电极,参考电极用针灸针刺入鼻尖皮下。应用RM-86型多导生理记录仪、RB-5型生物物理放大器和上海医科大学SMUP中Average软件,SEN-7130型刺激器恒源刺激,毫针刺入双侧足踝外侧腓神经,阴极置近心端,阳极置远心端,接地在阴极的近心端,方波、波宽0.2ms,频率2Hz,强度以引起后肢明显抽动,一般约8~10V,放大器源波时间常数0.3,高频1kHz,分析时间50~100ms,平均叠加50次,记录SEP。

1.3 电镜标本制作:造模后24h,将动物再次麻醉,在距大脑中动脉热凝固点5mm的颞顶皮层处取1mm³大小组织1块,常规电镜固定、脱水,Epon812包埋,超薄切片,H-800电镜观察。

1.4 动物分组及处理:将动物随机分为两组,缺血组13只,其中10只是记录SEP,3只作电镜观察,电针组13只,处理同上。缺血组凝闭大脑中动脉后不予任何治疗;电针组在造模前10min给予电针治疗,一直持续至手术结束后30min。

1.5 选穴及电针参数:穴位选用督脉经“大椎”、“人中”两穴,其定位参照大鼠常用的针灸穴位^[1]。“大椎”在第7颈椎与第1胸椎之间,背部正中;“人中”在鼻唇沟中点处。电针选用我所研制的PCE-A型程控电针仪,疏密波,5~10次/s,强度以大鼠轻度抖动为度,一般在3~5V,电针时间是在手术前10min进行,一直持续到手术结束后30min。

1.6 实验程序:缺血组和电针组在阻断大脑中动脉前记录正常的SEP,作为缺血前对照,阻断大脑中动脉后连续记录SEP 60min,电针组在阻断大脑中动脉前10min开始电针一直持续造模结束后30min。比较两组阻断大脑中动脉后5~10min、20~30min、50~60min的SEP变化。实验数据采用上海医科大学SMUP的Stat软件t检验方法进行统计学处理。超微结构的观察是按要求制好超薄切片,用H-800透射

附表 针刺对局灶性脑缺血大鼠 SEP 各成分波形峰潜伏期影响(ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	波形	缺血前	缺血后		
				5~10min	20~30min	50~60min
缺血组	10	P1	3.373±0.686	3.825±0.527	3.883±0.602	4.040±0.603**
		N1	4.733±0.648	5.323±0.562*	5.331±0.577*	5.606±0.745**
		P2	6.507±0.654	7.128±1.165	7.580±1.532	7.659±1.242**
电针组	10	P1	3.385±0.694	3.513±0.695	3.535±0.443	3.431±0.314△
		N1	4.735±0.685	4.886±0.539	4.781±0.436△	4.360±0.302△△
		P2	6.520±0.563	6.584±0.134	6.600±0.339	6.616±0.373△

与缺血前同波形比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与缺血组同时同波形比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$

电镜观察、拍照。

2 结果

2.1 SEP 的变化

2.1.1 缺血前大鼠 SEP 各波形态:刺激大鼠一侧腓神经,在对侧相当于皮层感觉运动区可记录到稳定的 SEP 波形。常见的 SEP 波形是由正向—负向—正向即 P1—N1—P2 波形组成,部分大鼠可记录另一负向波 N2。由于波幅在不同的大鼠中变异较大,正常值未予统计。但各波峰潜伏期相对比较稳定,本实验缺血前大鼠刺激腓神经 SEP 各成分峰潜伏期平均值见附表。

2.1.2 局灶性脑缺血后 SEP 的变化:附表示,阻断一侧大脑中动脉造成局灶性脑缺血后,除脑电图幅值明显下降外,SEP 各波均发生一定变化,其中缺血早期波幅变化最为明显,无论 P1、N1 波幅,还是 P2、N2 波幅,脑缺血后均随缺血时延长波幅逐渐下降,10 只大鼠有 8 只缺血后 60min P1、N1 波幅下降至缺血前正常值的 20%~40% ($P < 0.01$),少数大鼠缺血后 30min P1、N1 波幅逐渐下降近零水平。随着缺血时间延长,SEP 各波峰潜伏期亦明显延长,与缺血前相比,在连续观察的缺血后 60min 内差异均有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。但比较起来缺血后 SEP 的波幅变化明显早于峰潜伏期的变化。

2.1.3 电针对局灶性脑缺血大鼠 SEP 的影响:附表示,电针督脉经穴位后,对局灶性脑缺血大鼠 SEP 各成分波幅和潜伏期均有改善作用,虽然 SEP 的 P1、N1 波幅仍有下降趋势,但已是阻断前水平的 70%~80%;电针大大缩短脑缺血后 SEP 各波的峰潜伏期,与缺血前各波峰潜伏期相比无统计学差异,与缺血组 60min 内各波峰潜伏期相比差异有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.2 细胞超微结构的变化:为了有助于对比分析,电镜取材部位大约选择在梗死区的边缘区,结果清楚地观察到缺血组大部分神经元细胞器结构崩解、核膜胞膜不清,有的呈固缩状,有的连细胞结构都不清。在结构较为完整的神经元中,线粒体大部分呈空泡状,少数

线粒体膜溶解、消失。而电针组大部分神经元结构和细胞器结构是完整的,偶见有的线粒体水肿,呈球状,有的嵴断裂,有的细胞浆中核糖体脱落、解聚,少数核膜周隙增宽。

3 讨论

3.1 电针对 SEP 的影响:SEP 与脑电图一样,均为能及时反映脑缺血后脑功能状态的较为灵敏的指标,但脑电是综合反映大脑皮质细胞的突触后电位,SEP 则是反映刺激点到皮层上行传导道路及感觉运动皮质的电生理活动状态,其波幅可反映大脑皮层灰质神经元的电活动,潜伏期传导时间反映白质神经纤维的传导功能状态^[2],故定位定性较好,有助于临床对缺血性脑血管疾病的早期诊断和缺血功能障碍程度的客观评定。众多的研究认为,脑缺血后 SEP 的波幅和峰潜伏期均有明显变化,也有人报道脑缺血时波幅易受影响,峰潜伏期则不易发生改变^[3]。本实验观察到,阻断一侧大脑中动脉致局灶性脑缺血后,SEP 的波幅和峰潜伏期均发生显著改变,波幅变化较潜伏期变化早而明显。给予电针督脉经穴治疗后,SEP 的 P1、N1 波幅均加至正常的 70%~80%,P1、N1、P2 峰潜伏期明显缩短,和正常相比差异无显著性。表明电针对缺血后皮层及皮层下神经元损伤有明显保护作用。电针的这种保护作用可能在缺血前和缺血初始阶段激活皮层和皮层下神经元在神经元损伤尚未达到不可逆程度,处于缺血所致的抑制状态时,电针使受抑制的皮层和皮层下神经细胞功能迅速恢复,从而表现 SEP 的 P1、N1 波幅明显增高,峰潜伏期明显缩短。表明电针可通过调节大脑的 SEP,从而保护缺血性脑损伤。

3.2 电针对细胞的超微结构的影响:脑缺血的始动环节是血流阻断,在缺血的中心区,神经元已发生不可逆性损害,然而在其边缘区域存在着血流值介于神经元电机能衰竭阈值和膜机能衰竭阈值之间的半暗带^[4]。因此我们的电镜实验取材区域选择在边缘区域。神经元是对缺血缺氧最敏感的细胞,就细胞而言,对缺血最

(下转第 354 页)

显效 18 例 (45.0%), 有效 20 例 (50.0%), 无效 2 例 (5.0%), 总有效率为 95.0%; 对照组 40 例, 显效 12 例 (30.0%), 有效 18 例 (45.0%), 无效 10 例 (25.0%), 总有效率为 75.0%。两组比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。治疗组胃镜下粘膜恢复程度明显优于对照组。

4 讨论

1986 年 Sarfer 教授明确提出 PHG 的概念, 在肝硬化门脉高压病人致消化道出血原因中, PHG 出血占 21%~59%。一般肝功能损害愈重, PHG 出血愈多^[1], 现代医学认为其发病机理主要考虑两个方面。第一方面, 门脉高压时引起血流动力学障碍, 导致胃粘膜血管主动充血及被动淤血, 血流缓慢, 血流淤滞, 引起胃粘膜血流量减少, 血氧饱和度下降, 使胃粘膜屏障功能降低^[2], 这与中医学所说的肝气郁结、横逆犯胃, 进而气滞血瘀, 脉络瘀阻极为相似。另一方面, 门脉高压胃粘膜在基础状态下, 胃腔 pH 升高, H^+ 反渗增加, 易致血浆渗出^[3], 从而形成胃粘膜糜烂、出血、溃疡, 更进一步说明, 门脉高压性胃病病症在胃, 病本在肝。肝失疏泄, 气机郁结而横逆犯胃, 病位在“肝胃”, 病理基础是“气滞血瘀”。

因此, 治疗门脉高压胃病, 一方面要降低门脉压, 另一方面降低 H^+ 回渗, 减少攻击因子, 增加胃粘膜屏障功能。临床上我们使用心得安以降门脉压, 预防门脉高压胃病导致胃粘膜出血^[4]。同时联用中药, 按胃病从肝论治的法则, 采用疏肝和胃, 活血化瘀的加味四逆散治疗^[5]。方中丹参、当归活血通络, 可显著降低肝硬化门脉压力^[6], 其机制可能为通过体液因素, 降低门脉压力, 丹参可通过抑制磷酸二酯酶提高细胞内 cAMP 浓度, 对抗血小板聚集, 促进纤维蛋白降解, 降低血液高粘滞性^[7], 可抑制血液内血栓素 (TXA_2) 生成。促进前列腺环素 (PGI_2) 样物质的产生^[8], 从而降低门脉压力。同时, 丹参可激活胶原酶, 促进胶原蛋白降解, 丹参与当归可阻断糖胺多糖类细胞外基质, 促进胶原积聚, 并

使肝纤维化程度得到改善^[9]。方中柴胡、白芍、枳壳、炙甘草疏肝理气、调节植物神经功能, 促进肝功能恢复。厚朴、黄连辛苦降, 调和气机, 有抗炎, 杀灭幽门螺杆菌作用。乌贼骨、炙甘草和胃养阴, 抑制胃酸分泌, 保护胃粘膜。白及、田七具有止血、促进溃疡愈合作用, 现代药理研究亦证实, 白及、田七等止血药作用于凝血过程, 能缩短出凝血时间, 使局部血管收缩, 亦能降低血管通透性, 减低血流速度, 促血液凝固, 从而达到止血目的^[10]。诸药合用共同达到疏肝理气、活血化瘀、和胃养胃、凉血止血的功效。

通过两个疗程的治疗观察, 治疗组显效率 45%, 总有效率 95%, 明显高于对照组 ($P < 0.01$)。治疗组在临床症状的改善, 促进肝功能恢复及促进胃粘膜修复等方面均明显优于对照组。治疗过程中均未发现明显药物不良反应。对于门脉高压性胃病的治疗, 临床上心得安联用加味四逆散, 疗效确切, 副反应少, 费用低廉, 值得推广。

参考文献

- 1 于皆平, 沈志祥, 罗和生主编. 实用消化病学. 北京: 科学出版社, 1999: 1063-1068.
- 2 朱雅琪. 门脉高压的血液动力学研究. 中华消化杂志, 1991, 4: 202.
- 3 Sato T, Imamura M, Sasaki I, et al. Gastric acid secretion and gastrin and gastric inhibitory polypeptide release in cirrhotic patients. Am J Gastroenterol, 1985, 80(3): 163-169.
- 4 梁扩寰, 李绍白主编. 肝脏病学. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 588-635.
- 5 龙慎仪. 加味四逆散治疗肝源性溃疡 40 例. 中西医结合肝病杂志, 1999, 3: 40-41.
- 6 姚希贤, 李校天, 李迎斌, 等. 丹参等活血化瘀中药对门脉高压血流动力学影响的临床与实验研究. 中华消化杂志, 1998, 2: 24-27.
- 7 何瑞芝. 丹参的药理作用及临床运用. 云南医药, 1986, 7: 242-244.
- 8 徐理纳, 徐德成, 张白嘉, 等. 阿魏酸钠抗血小板聚集作用机理研究——对 TXA_2/PGI_2 平衡的影响. 中国医学科学院学报, 1984, 6: 114-116.
- 9 刘尔瑜, 王宝恩, 朱家骥. 丹参对实验性肝纤维化的治疗作用. 肝脏病学杂志, 1993, 1: 93-96.
- 10 卓大宏. 中药临床应用. 第 11 版. 广州: 广东人民出版社, 1975: 245.

(上接第 343 页)

敏感的是线粒体。我们在实验中观察到, 缺血组神经元细胞器结构崩解, 核膜胞膜不清, 有的呈固缩状, 有的细胞结构不清, 在结构较为完整的神经元中, 神经元线粒体大部分呈空泡状、嵴断裂, 少数线粒体膜溶解、消失。而电针组大部分神经元结构和细胞器结构是完整的, 有的只表现线粒体水肿, 有的细胞浆中核糖体脱落、解聚。这些超微结构表明, 电针组的神经元尚处在轻度、可逆性损伤之中, 为电针保护脑缺血后继发神经

元损伤提供了形态学依据。

参考文献

- 1 林文注, 王佩主编. 实验针灸学. 上海: 上海科学技术出版社, 1994: 286-290.
- 2 Prior PF. EEG monitoring and evoked potentials in brain ischemia. Br J Anaesth, 1985, 57(1): 63-81.
- 3 许能贵, 王月兰, 汪克明, 等. 针刺对大鼠局灶性脑缺血后 SEP 的影响. 安徽中医学院学报, 1999, 18(2): 30-32.
- 4 沈德凯, 侯思伟, 许能贵. 电针对局灶性脑缺血大鼠神经损伤保护作用的病理组织学研究. 中国中医药科技, 1998, 5(5): 269-270.

ABSTRACTS FROM ORIGINAL ARTICLES

Effects of Electroacupuncture on Cortical Somatosensory Evoked Potential and Cellular Ultrastructure in Rats of Local Cerebral Ischemia

Xu Nenggui, Shen Dekai, Zhou Yiping, et al.

Effects of electroacupuncture (EA) at Dazhui (GV14) and Rezhong (GV26) points on cortical somatosensory evoked potential (SEP) and cellular ultrastructure were investigated in the rat of local cerebral ischemia. Results indicated that amplitudes of the various components of SEP lowered significantly, the latent period of the peak prolonged obviously and the most cellular ultrastructure disintegrated in the ischemic group, and amplitudes of the various components of SEP decreased slightly and the latent period of the peak did not obviously prolongate and most of cellular ultrastructures were not destroyed. It is suggested that EA can block secondary necrosis, which provides a theoretical basis of theory for treatment of ischemic apoplexy with acupuncture and moxibustion.

Authors' address: Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405

Key words: Cerebral ischemia/acup — mox therapy; evoked potential, somatic sensation/acup effect, neurons/ultrastructure

(Original article on page 342)

Effects of Electroacupuncture on Learning and Memory Behaviour and Acetylcholinesterase of Brain in the rat of Vascular Dementia

Mo Feizhi, Li Jianqiang, Lei Liping, et al.

Effects of electroacupuncture (EA) on learning and memory and acetylcholinesterase (AChE) activity were investigated in the rat of vascular dementia. Thirty rats were randomly divided into model group, EA group and medicine (Dihydroergotoxine, DHET) group, 10 rats in each group. After treatment for 28 days, learning and memory behaviour were detected with water maze, and the AChE activity in brain was determined. Results showed that the latent period of water maze in the EA group and the medicine group was shorter than that of the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), respectively, and in the EA group was shorter than in the medicine group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The AChE activities of hippocampus and striatum in the EA group and the medicine group were higher than those in the model group, and the EA group was higher than the medicine group ($P < 0.05$). It indicates that electroacupuncture can promote the ability of learning and memory and enhance AChE activity of brain in rats of vascular dementia, and the therapeutic effect of electroacupuncture is better than that of DHET.

Authors' address: Institute of Quantum Electronics, South China Normal University, Guangzhou 510631

Key words: Alzheimer's disease/acup — mox therapy;

acetylcholinesterase (AChE)/acup — mox effect, memory/acup — mox effect

(Original article on page 344)

Clinical Study on Treatment of 85 Cases of Gouty Arthritis with Tong Feng Lotion

Zhang Shizhao, Ma Hongzhen, Li Xueming

One hundred and fifty cases of gouty arthritis were divided into two groups. Treatment group (85 cases) were treated with Tong Feng lotion and control group (65 cases) with external application of Voltaren. Results indicated that Tong Feng lotion could improve clinical symptoms and function of joints, and decrease blood sedimentation, reaction protein C, blood uric acid and blood viscosity; the total effective rate was 89.42% in the treatment group and 75.38% in the control group, with significant difference between the two groups ($P < 0.05$); there was no obvious relation between therapeutic effects and TCM syndrome types.

Authors' address: Section of Immuno—Nephropathy, Zhejiang Provincial Hospital of TCM, Hangzhou 310006

Key words: Arthritis, gouty/Chinese medicinal therapy: @Tong Feng Lotion

(Original article on page 347)

Effects of Lu Jiao Fang on Myocardial Fibrosis and Plasma Aldosterone Content in the Rat with Increase of Pressure — Loading

Cai Hui, Hu Wanying, Dong Yaorong, et al.

Effects of Lu Jiao Fang on myocardial fibrosis and plasma aldosterone (ALD) content in the rat with increase of pressure — loading were investigated for approach to the mechanism of anti — myocardial fibrosis. Left ventricular mass index (LVMI), myocardial collagen I, II, III and plasma ALD content were observed. Results showed that LVMI in the model group was significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.001$), in the Lu Jiao Fang group was lower than that in the model group ($P < 0.01$); Collagen I in the model group increased significantly ($P < 0.01$) as compared with that in the sham operation group, and in the Lu Jiao Fang group was lower than that in the model group ($P < 0.01$); Plasma ALD content in the model group was higher than that in the sham operation group ($P < 0.001$), and it was decreased in the Lu Jiao Fang group ($P < 0.001$). It is proved that plasma ALD level in the rat with increase of pressure — loading enhances; Lu Jiao Fang has against myocardial fibrosis of the rat, which may be related with the decrease of plasma ALD level.

Authors' address: Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017

Key words: Heart/drug effect, aldosterone/blood, @Lu Jiao Fang

(Original article on page 363)