

针刺对肥胖大鼠纹状体组织一氧化氮和一氧化氮合酶含量的影响

刘志诚¹ 孙凤岷² 朱苗花¹ 孙志¹ 张中成¹ 洪承铨¹ 魏群利¹

摘要 目的:探讨针灸治疗肥胖症及其并发症的作用机理。方法:运用神经生化技术观察针刺对肥胖大鼠纹状体组织一氧化氮(NO)和一氧化氮合酶(NOS)含量的影响。结果:肥胖大鼠纹状体组织 NO 和 NOS 水平均显著低于正常大鼠;大鼠纹状体组织 NO 和 NOS 水平与体重和 Lee's 指数呈负相关。在针刺治疗取得良好减肥效果的同时,肥胖大鼠纹状体组织 NO 和 NOS 水平明显回升。结论:纹状体组织 NO 和 NOS 水平异常可能是肥胖发病的因素;针刺对肥胖机体纹状体组织 NO 和 NOS 水平的良性调整作用可能是实现减肥效应的中枢作用机制。

主题词 肥胖症/针灸疗法 纹状体/针灸效应 一氧化氮合酶/针灸效应

我们以往工作证实,针灸治疗肥胖症及其并发症取得了满意疗效,深受广大肥胖患者的欢迎。在此基础上,就针灸治疗肥胖及其并发症作用机理进行了多方面的研究^[1~3]。考察到纹状体参与了对下丘脑摄食中枢、植物神经中枢、体温调节中枢等的调控,本文以实验性肥胖大鼠为模型,观察针刺对肥胖大鼠纹状体组织一氧化氮(NO)和一氧化氮合酶(NOS)含量的影响,进一步深化针刺减肥的中枢神经作用机制。

1 材料

1.1 动物:1 月龄刚断乳 SD 雄性大鼠,体重 50~70g,由南京军区总医院实验动物中心提供。参照刘志诚等提供的实验性肥胖造模方法略进行改进^[4]。

1.2 药物及试剂:NO 试剂盒,批号 20010918;NOS 测定试剂盒,批号 20010929;考马斯亮兰 CBB_{G250} 贮备液(60ml×1);均由南京建成生物工程研究所提供。

1.3 主要仪器:动物脑立体定位仪,美国 Kopf 936/650;紫外—可见光分光光度计,日本岛津 UV-2401PC;全自动组织处理机,德国 Leica TP1020。

2 方法

2.1 动物分组与处理:以普通全阶鼠饲料喂养的大鼠作为正常对照组,简称正常组(6 只)。将造模成功的实验性肥胖大鼠随机分为两组,一组不做任何治疗,为模型对照组,简称对照组(6 只);另一组给予针刺治疗,

为针刺治疗组(6 只)。针刺治疗方法:分别将针刺组大鼠放入固定器中,取一侧后三里(相当于足三里)和内庭穴,用 32 号 1 寸毫针,分别刺入 5mm 和 3mm 深度,然后接通电针仪(电针综合治疗仪 G6805 III 型,福建省医疗器械厂生产),采用频率 10Hz,强度 1.5V 连续波,每次治疗 10 分钟,每日 1 次,连续治疗 14 天,左右侧轮换取穴。

2.2 实验方法:各组大鼠实验期间均采用普通全阶鼠饲料喂养,自由摄食和饮水,每日更换饲料和水。针刺组大鼠给予针刺治疗期间,正常组和对照组大鼠分别每天放入大鼠固定器中适应 15 分钟,持续 14 天。

2.3 检测指标和方法:实验前后观察大鼠摄食量、饮水量、大小便、体重、体长及 Lee's 指数($\sqrt[3]{\text{体重(g)}/\text{体长(cm)}} \times 10^3$)等。实验结束后,禁食过夜,次日断头处死,迅速分离心包、肾周和附睾等部位脂肪,称重并记录;同时分离脑组织置于液氮中保存,次日取出置于冰碟上,经定位分离出纹状体组织,称重后用生理盐水稀释制成纹状体组织匀浆。分光光度法分别测定 NO、NOS 和蛋白的含量,具体操作按药盒说明书进行。NO 单位为 $\mu\text{mol/g prot}$ 。NOS 活力单位为每毫克组织蛋白,每分钟生成 1nmol NO 为 1 个酶活力单位(U/mg prot)。

2.4 统计学方法:实验数据采用 SPSS 统计软件进行分析,组间比较采用 *t* 检验,相关分析采用多元相关分析。

3 结果

3.1 针刺对实验性肥胖大鼠肥胖指标的影响:表 1 示,肥胖大鼠体重和 Lee's 指数均显著高于正常大鼠水平($P<0.01$),针刺治疗后,体重和 Lee's 指数显著

表 1 各组大鼠处理前后体重、体长和 Lee's 指数变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	体重(g)	体长(cm)	Lee's 指数
正常组 处理前	382.00±32.59	24.25±0.76	299.16±1.01
(6 只) 处理后	405.00±14.27	24.67±0.61	300.65±3.17
对照组 处理前	515.50±17.16 [△]	25.00±0.29	318.95±1.51 [△]
(6 只) 处理后	511.33±13.79 [△]	25.17±0.26	317.85±1.52 [△]
针刺组 处理前	497.00±22.14 [△]	25.00±0.29	317.91±4.53 [△]
(6 只) 处理后	458.33±7.43 ^{△*}	25.48±0.39	302.23±4.11 [*]

与本组处理前比较,* $P<0.01$;与正常组同时时间比较,[△] $P<0.01$

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970923)

1 南京中医药大学针灸临床研究室,南京市汉中 282 号(210029)

2 南京人口管理干部学院

收稿日期:2002-06-03;修回日期:2002-08-20

表2 各组不同部位脂肪量比较(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	心包脂肪	肾周脂肪	附睾脂肪
正常组	6	0.51±0.13	4.74±0.87	3.12±0.42
对照组	6	0.98±0.21 $\Delta\Delta$	8.79±1.90 $\Delta\Delta$	5.81±1.23 $\Delta\Delta$
针刺组	6	0.71±0.05 $\Delta\Delta$	4.66±1.37 $\Delta\Delta$	3.57±0.45 $\Delta\Delta$

与对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与正常组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。下表同

表3 各组纹状体组织 NO 和 NOS 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NO($\mu\text{mol/g prot}$)	NOS(U/mg prot)
正常组	6	0.41±0.08	0.20±0.04
对照组	6	0.21±0.04 $\Delta\Delta$	0.12±0.02 $\Delta\Delta$
针刺组	6	0.32±0.06 $\Delta\Delta$	0.18±0.04 $\Delta\Delta$

回降, 经统计学处理差异具有显著性($P < 0.01$)。

3.2 实验各组不同部位脂肪量的比较: 表2示, 对照组三部位脂肪量均明显高于正常组和针刺组, 经统计学处理差异均具有显著性($P < 0.01$)。说明针刺具有减肥作用。

3.3 实验各组纹状体组织 NO 和 NOS 水平的比较: 表3示, 对照组纹状体组织 NO 和 NOS 水平均显著低于正常组水平; 针刺组纹状体组织 NO 和 NOS 水平均明显高于对照组水平; 说明针刺对肥胖大鼠纹状体组织 NO 和 NOS 水平具有良性作用。

3.4 纹状体组织 NO 含量或 NOS 活性与体重和 Lee's 指数的相关分析: 结果表明, 纹状体组织 NO 含量与体重和 Lee's 指数均呈高度负相关; 纹状体组织 NOS 活性与体重和 Lee's 指数均呈中度负相关。

4 讨论

已知纹状体对运动机能具有重要调整作用, 与随意运动的稳定、肌紧张和躯体运动的整合有密切的关系。神经解剖证实, 进入下丘脑的神经纤维之一来自纹状体, 说明纹状体对下丘脑的机能具有调整作用^[5]。已知多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NA)、5-羟色胺(5-HT)等中枢神经介质参与机体多种生理功能(包括摄食活动)的调节。NA在中枢神经系统内广泛分布, DA主要存在于黑质神经元胞体, 它的轴突末梢投射到纹状体, 当黑质神经元兴奋时, 其末梢释放 DA, 作用于纹状体产生生理效应; 5-HT神经元多位于中缝核群内, 它的轴突末梢向上投射到前脑的许多结构, 其中包括纹状体, 产生生理作用^[5]。我们以往工作证实, 肥胖大鼠纹状体组织 DA 和 NA 水平异常低下, 5-HT 水平异常升高, ATP 酶活性异常低下。说明纹状体组织中 NA、DA、5-HT 和 ATP 酶水平异常可能是致肥胖因素之一^[7]。

其中非传统的中枢信使——NO 是细胞内重要的信号传导信使。NO 是由 NOS 降解精氨酸产生 NO 和瓜氨酸。NOS 有三种亚型, 神经 NOS(nNOS), 内皮细胞 NOS(eNOS) 及诱导型 NOS(iNOS)。nNOS 和 eNOS 统称为固有型 NOS(cNOS)。大鼠脑组织中神经 cNOS 只存在于神经元, 多集中在大鼠的大脑皮质、海马及纹状体等许多区域中。NO 的生理功能活动不经受体介导, 而是直接作用于胞浆的可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)使其活化产生 cGMP, 作用于 cGMP 依赖性蛋白激酶(PKG), 从而参与生理兴奋的功能活动。NO 参与多个系统的正常生理功能(神经、免疫、心血管、消化和生殖等系统)和异常病理生理活动。

实验资料显示, 纹状体中 NO 可促进 DA 释放, NO 合成的底物 L-精氨酸同样可引起 DA 释放, 这种释放可被 NOS 抑制剂所对抗^[8,9]。本实验结果所见, 肥胖大鼠纹状体组织 NO 含量和 NOS 活性显著低于正常大鼠水平, 说明肥胖机体纹状体组织合成释放 NO 和 NOS 显著减少。相关分析显示, 大鼠纹状体组织 NO 含量和 NOS 活性均与体重和 Lee's 指数呈高度或中度负相关。说明纹状体组织 NO 含量和 NOS 活性异常低下可能是肥胖的致病因素。针刺治疗后, 肥胖大鼠体重、Lee's 指数、心包脂肪、肾周脂肪、附睾脂肪出现了显著回降, 说明针刺治疗肥胖可以取得良好的减肥效应; 与此同时针刺对肥胖大鼠纹状体组织 NO 和 NOS 的异常水平进行良好的纠正。提示针刺对肥胖大鼠纹状体组织 NO 和 NOS 水平的良性调整作用可能是针刺减肥作用机制的重要组成部分。

参考文献

- 1 刘志诚, 孙凤岷, 胡葵. 针刺治疗单纯性肥胖的临床研究. 中医杂志, 1997, 38(3): 155—157.
- 2 Liu Zhicheng, Sun Fengmin, Li Jia, et al. Study of the therapeutic effect of acupuncture on 1134 cases of simple obesity. Int. J of Acup, 1998, 2(2): 1—9.
- 3 刘志诚, 孙凤岷. 针灸治疗单纯性肥胖症临床和机理研究. 中国中西医结合杂志, 2001, 1(4): 16—18.
- 4 刘志诚, 孙凤岷, 韩燕, 等. 针刺治疗单纯性肥胖症的实验研究. 针刺研究, 1998, 23(1): 69—75.
- 5 韩济生, 任民峰, 汤健, 等. 中枢神经介质概论. 第2版. 北京: 科学出版社, 1982: 425—427.
- 6 B collier. 神经递质生理生化学(神经生理学手册). 上海: 上海科学出版社, 1984: 128—135.
- 7 刘志诚, 孙凤岷, 朱苗花, 等. 针刺对肥胖大鼠纹状体作用的研究. 针刺研究, 2001, 26(2): 122—126.
- 8 邹冈主编. 基础神经药理学. 第2版. 北京: 学科出版社, 1999: 345—359.
- 9 万选才, 杨天祝, 徐承焘主编. 现代神经生物学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1999: 170—171.