

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.02.016

电针耳甲区对 2 型糖尿病大鼠痛觉障碍及抑郁症状的影响

李少源, 翟 煦, 荣培晶*, 王宏才, 李荣俊

(中国中医科学院针灸研究所, 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 100700)

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (2040230)

摘要 目的 观察电针刺激耳甲区对链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 2 型糖尿病模型大鼠痛觉障碍及抑郁症状的影响。方法 36 只 SD 大鼠随机分为空白对照组 10 只、模型组 13 只、耳甲区电刺激组 13 只; 空白对照组予以普通饲料喂养, 不予任何处理; 模型组、耳甲区电刺激组大鼠以高脂饲料喂养, 并一次性腹腔注射 STZ 50 mg/kg 制备 2 型糖尿病模型。造模 30 天后对耳甲区电刺激组大鼠连续进行 14 天电针干预, 每次 30 min。记录造模前、造模 3、15、30 天及电针治疗 14 天各组大鼠的体重、血糖、行为学评分及机械刺激和热刺激收爪延迟时间。结果 造模 30 天与空白对照组比较, 模型组、耳甲区电刺激组大鼠体重明显下降, 血糖显著升高, 行为学评分降低, 机械刺激和热刺激收爪延迟时间延长 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 电针 14 天与模型组比较, 耳甲区电刺激组大鼠体重上升, 血糖下降, 行为学评分升高, 热刺激和机械刺激收爪延迟时间明显缩短 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 电针刺激耳甲区可改善 STZ 介导的 2 型糖尿病模型大鼠消瘦、高血糖、抑郁症状及机械、热痛觉障碍。

关键词 2 型糖尿病; 抑郁症; 痛觉障碍; 电针; 耳甲区

2 型糖尿病患者容易产生情绪低落、思维迟缓、言语动作减少等情绪变化, 这些抑郁表现对 2 型糖尿病及其并发症的影响已引起医学界的广泛关注^[1-2]。一方面, 抑郁症患者普遍有以疼痛为主诉的躯体不适, 常见有头痛、颈痛、背痛、肌肉疼痛、胃部烧灼感、腹痛及排尿疼痛等, 也称之为隐匿性抑郁症^[3]; 另一方面, 2 型糖尿病周围神经病变亦有四肢对称性慢性疼痛、麻木等。由此可见, 2 型糖尿病、抑郁和疼痛症状三种情形可能共存^[1-2]。也有研究发现, 电针刺激某些穴位可以产生镇痛^[4-5]、降糖^[6-7]、改善抑郁症状^[8-9]的作用。耳甲区是耳部唯一有迷走神经分布的区域, 其传入可直接投射到迷走神经感觉中枢孤束核, 耳迷走神经电刺激也有上述疗效^[9-10]。本实验观察电针刺激耳甲区前后, 链脲佐菌素 (STZ) 介导的 2 型糖尿病大鼠的抑郁症状及疼痛行为指标的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 36 只, 体重 180 ~

220 g, 由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCK (军) 2007-004。采用随机数字表法分为空白对照组 10 只, 模型组 13 只, 耳甲区电刺激组 13 只。

1.2 主要试剂与仪器

电子秤 (中国常熟市双杰测试仪器厂, JJ500 型); 拜安捷 2 型快速血糖仪 (德国拜耳公司); STZ (美国 Sigma 公司, S0130); 自制敞箱; 动态足底触觉仪 (意大利 Ugo Basile 公司, Model 37450); 热辐射足底测试仪 (意大利 Ugo Basile 公司, Model 37370); 异氟烷 (河北九派制药有限公司, 批号: 19980141), 异氟烷气化器 (美国 Midmark, Matrx VIP 3000); 韩氏电针仪 (HANS-400A)。

1.3 造模方法

参照文献 [1] 的造模方法并进行改进。模型组及耳甲区电刺激组给予高脂饲料 (购于北京华阜康生物科技股份有限公司, 由脂肪 32%、蛋白质 13%、碳水化合物 55% 组成) 喂养, 禁食 12 h 后经腹腔注射 STZ 50 mg/kg, 72 h 后测尾尖血糖, 大于 16.7 mmol/L 即为造模成功^[12]。

* 通讯作者: drrongpj@163.com, (010) 64014411 转 2718

1.4 处理方法

耳甲区电刺激组于造模后第 31 天开始, 在异氟烷气体麻醉下采用 HANS-100A 韩氏电针仪, 连接正负极自吸附导电磁铁, 无创固定于大鼠双侧耳甲腔部。对大鼠进行连续 14 天的电针干预。作用时间为每日 15:00 – 18:00, 每次持续针刺 30 min, 电刺激强度为 1 mA, 频率为 15 Hz 连续波。空白对照组及模型组大鼠不予任何处理。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 体重及血糖变化 分别于造模前及造模后 3 天、15 天、30 天、电针 14 天时各测量大鼠体重及血糖 1 次。

1.5.2 行为学评定 造模前及造模后 3 天、15 天、30 天、电针 14 天时进行旷场实验测定。在安静房间内, 将大鼠置于 80 cm × 80 cm × 40 cm 的正方体黑色不透明敞箱中心方格内, 箱底以白线平均分为 25 个格子, 计算 3 min 内大鼠穿越敞箱底面格数, 计为水平运动得分 (四爪均进入方格才可以计分), 后肢直立次数计为垂直运动得分 (两前爪腾空或攀附墙壁) [13]。

1.5.3 机械刺激及热刺激 机械刺激测试使用动态足底触觉仪, 以金属纤丝刺激大鼠后爪皮肤, 仪器以 2 g/s 增加刺激力度, 最大应力为 50 g, 仪器自动记录其收爪延迟时间。热刺激测试使用热辐射足底测试仪, 以热辐射源刺激大鼠后爪皮肤, 辐射源输出温度为 52℃, 设定 30 s 自动终止热辐射以

保护大鼠皮肤, 仪器自动记录其缩爪延迟时间。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组内数据两两比较采用配对 *t* 检验, 组间数据比较采用单因素方差分析, 以 *Dunnnett* 双侧检验进行统计。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间点体重比较

表 1 示, 造模后第 15 天、30 天和电针 14 天时, 模型对照组和耳甲区电刺激组大鼠体重较同时点空白对照组显著降低 ($P < 0.01$); 耳甲区电刺激组在电针 14 天时, 与模型组比较, 大鼠体重显著升高 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠不同时间点血糖水平比较

表 2 示, 造模后 3 天、15 天、30 天和电针 14 天时, 模型组和耳甲区电刺激组大鼠血糖显著高于同时时间点的空白对照组 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 耳甲区电刺激组大鼠在电针 14 天时血糖下降 ($P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠不同时间点行为学得分比较

表 3 示, 造模后第 30 天和电针 14 天, 模型组、耳甲区电刺激组大鼠水平运动得分较空白对照组降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 耳甲区电刺激组大鼠在电针 14 天时水平运动得分显著升高 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠不同时间点体重比较 ($g, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后 3 天	造模后 15 d	造模后 30 d	电针 14 d
空白对照组	10	208 ± 11.4	239 ± 15.2	381 ± 22.1	410 ± 23.2	410 ± 23.2
模型组	13	212 ± 12.7	230 ± 24.1	314 ± 26.3*	297 ± 36.6*	267 ± 31.7*
耳甲区电刺激组	13	210 ± 12.3	233 ± 25.7	321 ± 24.5*	305 ± 27.5*	326 ± 18.5* [△]

注: 与空白对照组同时时间点比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组大鼠不同时间点血糖水平比较 ($mmol/L, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后 3 天	造模后 15 d	造模后 30 d	电针 14 d
空白对照组	10	6.7 ± 0.8	6.9 ± 1.1	6.9 ± 1.0	7.1 ± 1.3	7.2 ± 1.2
模型组	13	6.6 ± 0.9	27.9 ± 2.8*	26.3 ± 2.4*	24.7 ± 2.6*	25.1 ± 2.9*
耳甲区电刺激组	13	6.8 ± 0.9	28.2 ± 2.3*	26.1 ± 2.2*	24.0 ± 2.3*	18.3 ± 3.3* [△]

注: 与空白对照组同时时间点比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, $\Delta P < 0.01$

表 3 各组大鼠不同时间点水平运动得分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后 3 天	造模后 15 d	造模后 30 d	电针 14 d
空白对照组	10	42.3 ± 9.3	43.6 ± 10.2	40.1 ± 9.8	38.4 ± 11.6	37.5 ± 10.9
模型组	13	42.0 ± 8.9	38.6 ± 12.3	33.6 ± 13.4	25.9 ± 15.7*	18.4 ± 13.3**
耳甲区电刺激组	13	43.7 ± 9.7	39.7 ± 11.7	33.9 ± 14.2	23.1 ± 16.1*	27.6 ± 12.1* [△]

注: 与空白对照组同时时间点比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, $\Delta P < 0.01$

表 4 各组大鼠不同时间点垂直运动得分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后 3 天	造模后 15 d	造模后 30 d	电针 14 d
空白对照组	10	16.7 ± 3.1	15.6 ± 3.2	15.1 ± 3.2	17.2 ± 3.4	16.4 ± 3.4
模型组	13	17.1 ± 2.8	16.2 ± 3.5	13.2 ± 3.7	8.5 ± 4.1*	5.3 ± 3.9*
耳甲区电刺激组	13	17.6 ± 3.2	16.6 ± 3.0	13.1 ± 3.8	8.4 ± 4.3*	10.3 ± 2.9* [△]

注: 与空白对照组同时时间点比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, $\Delta P < 0.05$

表 5 各组大鼠不同时间点机械刺激收爪延迟时间比较 (s, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后 3 天	造模后 15 d	造模后 30 d	电针 14 d
空白对照组	10	12.0 ± 1.7	11.2 ± 1.8	11.9 ± 2.1	12.1 ± 2.4	12.9 ± 2.3
模型组	13	11.2 ± 1.8	11.8 ± 1.9	14.3 ± 3.5*	15.9 ± 3.9**	17.1 ± 4.1**
耳甲区电刺激组	13	11.3 ± 1.8	11.9 ± 1.7	14.7 ± 3.5*	16.1 ± 4.3**	13.7 ± 2.7 [△]

注: 与空白对照组同时时间点比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, $\Delta P < 0.05$

表 6 各组大鼠不同时间点热刺激收爪延迟时间比较 (s, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后 3 天	造模后 15 d	造模后 30 d	电针 14 d
空白对照组	10	8.2 ± 1.2	8.4 ± 1.3	8.9 ± 1.4	8.9 ± 1.2	9.1 ± 1.3
模型组	13	8.5 ± 1.3	8.4 ± 1.3	7.7 ± 2.5	12.2 ± 3.3**	13.1 ± 2.1*
耳甲区电刺激组	13	8.5 ± 1.1	8.7 ± 1.5	7.8 ± 2.6	11.9 ± 2.2**	10.5 ± 2.2* [△]

注: 与空白对照组同时时间点比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组同时时间点比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 示, 造模后第 30 天和电针 14 天, 模型组、耳甲区电刺激组大鼠垂直运动得分显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 耳甲区电刺激组大鼠在电针 14 天时垂直运动得分显著升高 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠不同时间点机械刺激和热刺激收爪延迟时间比较

表 5 示, 造模第 15 天、30 天和电针 14 天时, 模型组大鼠机械刺激收爪延迟时间较空白对照组延长 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 耳甲区电刺激组电针 14 天时, 大鼠机械刺激收爪延迟时间缩短 ($P < 0.05$)。

表 6 示, 造模第 30 天和电针 14 天时, 模型组和耳甲区电刺激组大鼠热刺激收爪延迟时间较空白对照组延长 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 耳甲区电刺激组大鼠电针 14 天时热刺激收爪延迟时间明显缩短 ($P < 0.01$)。

3 讨论

迷走神经刺激 (VNS) 是近 20 年来兴起的用于治疗某些顽固性疾病的物理治疗方法。本课题组近年来开展了以耳迷走穴电刺激替代 VNS 治疗顽固性癫痫等多项相关研究。耳甲区 (耳迷走穴所在位置) 是耳部唯一有迷走神经分布的区域, 其传入可直接投射到迷走神经感觉中枢孤束核。前期研究表明^[4-13], 耳迷走穴电刺激在调控血压、治

疗癫痫、缓解失眠等方面均取得较好疗效。

本实验通过观察 STZ 介导的 2 型糖尿病大鼠体重、血糖、行为学得分、机械刺激及热刺激收爪延迟时间发现, 电针刺激耳甲区能有效遏制 STZ 介导的 2 型糖尿病模型大鼠的消瘦、高血糖、抑郁症状及机械、热痛觉障碍。有研究证实^[14], 耳甲区电针刺激后, 大鼠孤束核细胞反应的潜伏期较短, 这可能是由于耳针直接刺激了由孤束核发出的迷走神经耳支, 进而干预孤束核的葡萄糖敏感神经元或 (和) 胰岛素敏感神经元放电活动的结果。这种耳—迷走反射过程, 可能是耳针降糖效应的直接原因。大鼠在造模后第 30 天, 行为学得分明显降低, 显示其探索欲减低, 出现了抑郁症的表现。经过耳甲区迷走神经电刺激后, 这种情况得到了一定程度的改善。在痛觉改变方面, 我们观察到模型组大鼠在造模第 30 天时, 出现对机械、热刺激痛的不敏感, 提示在严重糖尿病状态的大鼠可能出现了痛觉障碍, 电针刺激耳甲区后, 这种情况得到改善。

2 型糖尿病大鼠并发症的出现, 可能是导致其抑郁状态加重的因素之一。有研究认为, 糖尿病合并抑郁的病理生理改变, 是由于下丘脑—垂体—肾上腺轴功能活动亢进, 促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH)、促肾上腺皮质激素 (ACTH) 及皮质酮 (CorT) 水平显著增高, 长期高皮质酮持续刺激胰岛素 (INS) 分泌, 导致胰岛 B 细胞衰竭, 加重糖尿病^[14]。同时, 抑郁状态诱发的神经内分泌改变,

如肾上腺皮质轴或自主神经系统活性的增高, 也会引起脂肪沉积和胰岛素水平升高^[17]。这些都是 2 型糖尿病发生的危险因素。综合上述糖尿病—抑郁—疼痛的相关关系, 我们可以看出, 三者存在相互依存、相互促进的状态和趋势。针对这种情况, 选取的治疗方法应当兼顾糖尿病和抑郁状态及其并发症的改善, 而电刺激耳甲区可收到一定疗效。

参考文献

- [1] Toth C, Mawani S, Brady S, et al. An enriched-enrolment, randomized withdrawal, flexible-dose, double-blind, placebo-controlled, parallel assignment efficacy study of nabilone as adjuvant in the treatment of diabetic peripheral neuropathic pain [J]. Pain, 2012, 153(10): 2073-2082.
- [2] Pergolizzi JV Jr, Raffa RB, Taylor R Jr, et al. A review of duloxetine 60 mg once-daily dosing for the management of diabetic peripheral neuropathic pain, fibromyalgia, and chronic musculoskeletal pain due to chronic osteoarthritis pain and low back pain [J]. Pain Pract, 2012, 13(3): 239-252.
- [3] Blumer D, Heilbronn M. Chronic pain as a variant of depressive disease: the pain-prone disorder [J]. J Nerv Ment Dis, 1982, 170(7): 381-406.
- [4] Hwang HS, Yang EJ, Lee SM, et al. Antiallodynic Effects of Electroacupuncture Combined with MK-801 Treatment through the Regulation of p35/p25 in Experimental Diabetic Neuropathy [J]. Exp Neurobiol, 2011, 20(3): 144-152.
- [5] 雷亚宁, 丁友梅, 张军明, 等. 电针刺激三里穴对内脏牵拉痛大鼠的镇痛作用 [J]. 中华麻醉学杂志, 2005, 2(9): 688-690.
- [6] 刘朝晖. 电针耳甲区对 2 型糖尿病降糖效应的临床研究 [J]. 北京: 中国中医科学院, 2010.
- [7] 孟宏, 翟煦, 郝晋东, 等. 电针干预对糖耐量受损患者血糖的影响 [J]. 中国针灸, 2011, 31(11): 971-973.
- [8] Liu JH, Wu ZF, Sun J, et al. Role of AC-cAMP-PKA Cascade in Antidepressant Action of Electroacupuncture Treatment in Rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012; 2012: 932414.
- [9] 史榕苻, 李辉, 于战歌, 等. 颈夹脊、腰夹脊加头针为主穴电针治疗抑郁症 38 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2013, 54(15): 1291-1293.
- [10] 梅志刚, 朱兵, 李艳华, 等. 大鼠孤束葡萄糖敏感神经元、胰岛素敏感神经元对耳甲电针的反应 [J]. 中国针灸, 2007, 27(12): 917-922.
- [11] Schmeichel AM, Schmelzer JD, Low PA, et al. Oxidative injury and apoptosis of dorsal root ganglion neurons in chronic experimental diabetic neuropathy [J]. Diabetes, 2003, 52(1): 165-171.
- [12] Hensley K, Folyd RA. Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: a look back [J]. Arch Biochem Biophys, 2002, 397(2): 377-383.
- [13] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. Neuroscience & biobehavioral reviews [J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5(2): 247-251.
- [14] 刘儒鹏. 经耳甲电刺激干预抑郁状态模型大鼠的机制研究 [J]. 北京: 中国中医科学院, 2012.
- [15] 王晓宇. 耳迷走神经刺激与抗癫痫效应 [J]. 北京: 中国中医科学院, 2010.
- [16] Anagnostis P, Athyros VG, Tziomalos K, et al. Clinical review: the pathogenetic role of cortisol in the metabolic syndrome: a hypothesis [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(8): 2692-2701.
- [17] 王步军, 蓝长安. 2 型糖尿病与抑郁症的相关性 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(46): 149-151.

Effect of Electroacupuncture in Concha Area on Pain Disorder and Depression of Type 2 Diabetes Mellitus Rats

LI Shaoyuan, ZHAI Xu, RONG Peijing, WANG Hongcai, LI Rongjun

(China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700)

ABSTRACT Objective To observe the effect of electroacupuncture (EA) in concha area on pain disorder and depression of streptozotocin (STZ)-induced type 2 diabetes mellitus (DM) rats. **Methods** Totally 36 Sprague Dawley (SD) rats were randomized into the blank control group (n = 10), model group (n = 13) and EA group (n = 13). The rats in the blank control group were fed with normal diet without any treatment. The rats in the model group

and EA group were fed with high-fat diet and administrated with a single intraperitoneal injection of 50mg/kg STZ to establish type 2 DM models. Thirty days after modeling, the rats in EA group were given EA for 14 consecutive days. The body weight, blood glucose, behavioral score and delay time of claws pulled back because of thermal stimulation and mechanical stimulation were recorded before modeling and on the 3rd, 15th and 30th day of modeling and 14th day of EA. **Results** Comparing with the blank control group, the body weights were significantly decreased, blood glucose values were significantly increased, behavioral scores were significantly decreased and delay time of claws pulled back because of thermal stimulation and mechanical stimulation were significantly prolonged in the model group and EA group after modeling ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the model group, the body weights were significantly increased, blood glucose values were significantly decreased, behavioral scores were significantly increased and delay time of claws pulled back because of thermal stimulation and mechanical stimulation were significantly shortened in the EA group after EA ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** EA in concha area can relieve emaciation, hyperglycemia, depression and pain disorder in STZ-induced type 2 DM rats.

Keywords type 2 diabetes mellitus; depression; pain disorder; electroacupuncture; concha area

(收稿日期: 2013-11-01; 修回日期: 2013-12-05)

编辑: 洪 潮

东华原医疗—— 浓缩收膏包装机组 膏方生产全自动

提供从中药材到膏滋包装成品多种“一站式”解决方案

全程
把控

环环
紧扣

方便
快捷

中药材

密闭煎药机
密闭煎药, 滑动锁紧, 无味便捷

多功能真空浓缩收膏机
兼具密闭、常压、循环三种煎煮功能, 收膏量达3000-4000ml/小时

液体单体浓缩机
浓缩效率高达7000-8000ml/小时

膏方包装机
可进行10-50ml不同容量产品包装, 灵活实用

膏滋包装成品

北京东华原医疗设备有限公司 www.donghuayuan.com 400-888-0258 800-810-0359