

针灸推拿 ·

针刺水沟穴治疗脑梗死的参数优化研究

李雅洁¹ 樊小农² 王 舒² 石学敏³

(1. 天津中医药大学 2006 级研究生, 天津市南开区鞍山西道 312 号, 300193;

2. 天津市针灸研究所天津市针灸学重点实验室; 3. 天津中医药大学第一附属医院)

[摘要] **目的** 筛选“醒脑开窍”针刺法的主穴之一“水沟”穴治疗脑梗死的最佳针刺参数(频率、时间)。**方法** 将 132 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型未干预组及模型干预组。模型干预组大鼠根据针刺时间(5s、60s、180s)及针刺频率(1次/s、2次/s、3次/s)组合形成的不同参数随机分为 9 组。模型组均复制左侧大脑中动脉缺血模型,分别用 9 种参数针刺模型干预组的“水沟”穴,针刺治疗时间为栓线阻塞大脑中动脉后 3h 及之后每间隔 12h 的共计 6 个时间点。于末次治疗后,进行大鼠神经行为学评分、软脑膜血流量检测、软脑膜微循环测定、脑缺血面积测量和脑组织光镜观察,所得数据进行灰色加权关联度分析,以期筛选“水沟”穴治疗脑梗死的最佳针刺参数。**结果** 各参数的灰色加权关联度排序为:参数 6>参数 1>参数 2>参数 9>参数 7>参数 4>参数 3>参数 8>参数 5。参数 6(针刺频率:3次/s;针刺时间:5s)可明显增加脑血流量、扩张微血管管径,缩小梗死面积并减少阳性细胞数及噬神经现象。**结论** 以手操作针刺“水沟”穴治疗脑梗死的最佳参数为:针刺频率:3次/s;针刺时间:5s。

[关键词] 水沟穴;脑梗死;针刺频率;针刺时间

Study on the Parameter Optimization of Acupuncture at Shuigou (GV 26) for the Treatment of Brain Infarction

LI Yajie¹, FAN Xiaonong², WANG Shu², et al.

(1. Tianjin University of TCM, Tianjin 300193; 2. Tianjin Institute of Acupuncture)

ABSTRACT **Objective** To find out the optimized parameter (frequency and time) of the main acupoint Shuigou (GV 26) in Acupuncture for Restoring Consciousness and Inducing Resuscitation for the brain infarction treatment. **Methods** The 132 SD rats were randomized into sham operation group, model untreated group and model treated group. The model treated group was subdivided into 9 groups according to the needling time (5, 60 and 180 seconds) and frequency (1, 2, and 3 times per second). The ischemia models of middle cerebral artery (MCA) on left side in the model groups were made. The model treated group was given acupuncture at Shuigou (GV 26) with 9 kinds of parameters 3 hours after the MCA occlusion and every 12 hours there-after, totally 6 time points. Then, the evaluation on neuroethology, the calculation on volume of blood flow and microcirculation of pia mater, measuring the ischemia area and observation on brain tissues with light microscope were performed. The acquired data based on the grey weight relation was analyzed to find out the optimized parameters of Shuigou (GV 26) for the treatment of brain infarction. **Results** The grey relation degrade of parameters was listed as: parameter 6>parameter 1>parameter 2>parameter 9>parameter 7>parameter 4>parameter 3>parameter 8>parameter 5. The parameter 6 (Frequency: 3 times/s, Time: 5 seconds) could increase the volume of blood flow, enlarge the diameter of vessel, decrease the ischemia area, and reduce the number of positive cells and neurophages. **Conclusion** The optimized parameter of Shuigou (GV 26) for the treatment of brain infarction is 3 times/s and 5 seconds.

Key Words Shuigou (GV 26); Brain infarction; Frequency of acupuncture; Time of acupuncture

脑梗死严重威胁人类健康,对其治疗方法的研究在不断深入。石学敏院士创立的“醒脑开窍”针刺法作为治疗脑梗死的方法之一,以其显著疗效被临床广泛应用^[1,2]。此方法首次对针刺手法操作进行了严格的量化界定,为了进一步探讨针刺手法量化标准,本研究设计采用不同参数(频率、时间)针刺“水沟”穴治疗脑梗

死,以期优化针刺参数,规范手法操作,统一量化标准,指导临床应用。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型复制

132 只正常雄性 SD 大鼠,体重 250~280g,北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2007-0001。按随机数字表随机分为 11 组,分别为假手术组、模型未干预组及模型干预组(包括:参数 1 组、参数 2 组、参数 3 组、参数 4 组、参数 5 组、参

数6组、参数7组、参数8组、参数9组), 每组12只。

模型复制:模型组采用 Longa 颈内动脉线栓法复制左侧大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型。于大鼠清醒后, 按照 Zausinger^[3]六分法评定模型复制是否成功, 得分为0~4分的大鼠判定为成功模型。假手术组除了线栓不插入颈内动脉外, 其他手术步骤同模型组。

1.2 取穴及针刺方法

1.2.1 取穴及定位 取“水沟”穴。定位:依据《实验针灸学》^[4]的常用实验动物针灸穴位, “水沟”穴位于唇裂鼻尖下1mm 正中处。

1.2.2 操作方法 模型干预组大鼠于清醒状态下, 一人以手固定大鼠头部及四肢, 另一人进行针刺操作。针刺手法为提插手手法, 针刺参数见表1。正常组、假手术组及模型未干预组不给予治疗。

表1 模型干预组各针刺参数表

指标	参数1组	参数2组	参数3组	参数4组	参数5组	参数6组	参数7组	参数8组	参数9组
针刺时间(s)	5	60	180	60	180	5	180	5	60
针刺频率(次/s)	1	2	3	1	2	3	1	2	3

1.2.3 针刺时间 研究显示, 针刺间隔时间过长影响疗效, 每日针刺2次疗效优于每日针刺1次^[5,6], 故本实验的针刺时间为线栓阻塞大脑中动脉后3h(即大鼠术后清醒的时间) 及之后每间隔12h 均进行1次针刺, 共治疗6次。

1.3 观察指标

1.3.1 神经行为学评定 按 Zausinger^[3]六分法进行大鼠神经行为学评定:不能自发行走为0分;自由走动状态下向病变对侧旋转为1分;抓住鼠尾, 大鼠向病变对侧旋转为2分;对于施向病变对侧的侧压力抵抗力下降为3分;不能伸直病变对侧前爪, 甚至全身向对侧屈曲为4分;无神经功能缺损为5分。

1.3.2 软脑膜血流量测定 将大鼠备皮麻醉后, 在其头皮剪开2cm 切口, 暴露颅骨, 将 DRT 4激光多普勒血流仪(惠普公司生产) 探头置于颅骨表面, 测定脑血流量。

1.3.3 软脑膜微循环测定 将大鼠备皮麻醉后, 剪开头皮, 暴露颅骨, 用立体定位仪在大鼠前凶左1mm、下3mm 处作标记, 以直径为5mm 的颅骨钻钻孔, 深度以穿破硬脑膜, 暴露软脑膜为度, 以 XW-4彩色微循环图象分析系统测定孔下软脑膜血管的输入支管径及输出支管径。

1.3.4 脑缺血面积测定 将大鼠麻醉后, 断头取脑,

将脑置于-20℃冰箱内20min, 取冠状面均匀切成2mm 厚脑片, 迅速放于2%TTC 溶液中, 37℃避光孵育30min, 10%甲醛固定2min, 数码相机(Olympusfe-240) 拍照后输入计算机, 用 Image-ProPlus6.0 图像分析软件, 计算脑梗死面积。

1.3.5 脑组织病理形态学观察 将大鼠麻醉后, 断头取脑, 分别取皮层、海马、纹状体3个部位的脑组织制成光镜标本。10%中性甲醛固定24h, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 制成5μm 石蜡切片, 常规 HE 染色。于400倍高倍镜下, 随机选取2个视野, 计数神经细胞、微血管、炎性细胞、阳性细胞及噬神经现象, 取均值。

1.4 数据分析

本实验采用灰色加权关联度分析法进行数据分析, 实验的原始数据见表2, 主要步骤如下。

表2 不同参数针刺水沟穴对效应指标影响的原始数据表

指标	参数1组	参数2组	参数3组	参数4组	参数5组	参数6组	参数7组	参数8组	参数9组
脑血流量	186.00	196.00	221.00	188.00	263.00	219.00	210.00	230.00	273.00
输入支管径	22.55	14.32	13.76	14.07	14.72	15.72	14.55	14.61	18.96
输出支管径	38.80	27.84	26.68	26.39	29.14	29.29	28.76	28.53	34.91
神经功能评分	3.25	3.33	2.92	3.08	3.00	2.58	2.92	3.00	2.92
脑缺血面积	220.13	179.92	242.24	254.18	373.05	233.05	234.37	360.09	350.68
神经细胞数	26.19	28.69	27.14	22.61	32.78	19.61	24.19	23.11	22.75
微血管数	4.53	5.72	5.42	4.83	2.19	4.47	3.31	2.81	3.00
炎性细胞数	7.14	2.64	2.78	7.97	0.69	3.72	0.97	0.56	0.53
噬神经现象	1.42	0.50	0.64	0.56	0.25	0.08	0.17	0.06	0.08
阳性细胞数	4.86	15.44	13.64	6.22	17.92	4.22	17.47	14.17	13.94

对原始数据进行无量纲化处理, 本实验采用初值化法。根据正负指标, 生成参考序列 $X_0(1.4677, 1.0000, 1.0000, 1.0256, 0.8173, 1.2513, 1.2638, 0.0739, 0.0392, 0.8686)$ 。按照公式 $\text{辄}(k) = |X_0(k) - X_i(k)| (i = 1, 2, \dots, 10)$ 计算差序列。求出最大最小极差, $M(\text{最大极差}) = 2.8172, m(\text{最小极差}) = 0.0000$ 。按照以下公式计算关联系数。

表3 不同参数针刺水沟穴对效应指标影响的关联系数表

指标	参数1组	参数2组	参数3组	参数4组	参数5组	参数6组	参数7组	参数8组	参数9组
脑血流量	0.7507	0.7729	0.8344	0.7550	0.9632	0.8291	0.8062	0.8590	1.0000
输入支管径	1.0000	0.7941	0.7833	0.7893	0.8023	0.8229	0.7988	0.8000	0.8985
输出支管径	1.0000	0.8330	0.8184	0.8150	0.8498	0.8518	0.8448	0.8418	0.9335
神经功能评分	0.9821	1.0000	0.9166	0.9482	0.9321	0.8592	0.9166	0.9321	0.9166
脑缺血面积	0.8852	1.0000	0.8326	0.8068	0.6162	0.8537	0.8506	0.6325	0.6449
神经细胞数	0.8486	0.9004	0.8674	0.7840	1.0000	0.7370	0.8113	0.7924	0.7863
微血管数	0.8423	1.0000	0.9543	0.8777	0.6439	0.8361	0.7252	0.6862	0.7009
炎性细胞数	0.6033	0.8265	0.8172	0.5746	0.9837	0.7589	0.9577	0.9972	1.0000
噬神经现象	0.5945	0.8179	0.7738	0.7996	0.9112	0.9863	0.9473	1.0000	0.9863
阳性细胞数	0.9147	0.3789	0.4210	0.7739	0.3333	1.0000	0.3407	0.4078	0.4132

$$\zeta_{.1}(k) = \frac{\min_i \min_k |X_0(k) - X_i(k)| + \max_k \max_i |X_0(k) - X_i(k)|}{|X_0(k) - X_i(k)| + \zeta_{\max_k} |X_0(k) - X_i(k)|}$$

Copyright © 1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

$$r_{0,i} = \sum_{k=1}^n w(k) \zeta_{.i}(k) \quad (i=1, 2, \dots, 9, k=1, 2, \dots, 10)$$

2 结果

本实验主要采用配对比较法计算权重系数。各指标的权重见表4。各指标的权重系数 ω_k 分别为: (0.133, 0.2, 0.067, 0.178, 0.089, 0.022, 0.067, 0.044, 0.111, 0.089)。

表4 观察指标的权重表

指标及其权重	子指标	子指标在子系统 中的权重(%)	子指标在大系统 中的权重(%)
光镜 (33.3%)	神经细胞数	6.7	2.2
	微血管数	20	6.7
	炎性细胞数	13.3	4.4
	噬神经现象	33.3	11.1
	阳性细胞数	26.7	8.9
微循环 (26.7%)	输入支管径	66.7	17.8
	输出支管径	33.3	8.9
脑血流量 (13.3%)	脑血流量		
脑缺血面积 (20%)	脑缺血面积		
神经行为学评分 (6.7%)	神经行为学评分		

不同参数针刺水沟穴对效应指标影响的关联系数见表3, 关联度的计算结果为: $r_{0,1} = 0.8587$, $r_{0,2} = 0.8330$, $r_{0,3} = 0.7935$, $r_{0,4} = 0.7973$, $r_{0,5} = 0.7715$, $r_{0,6} = 0.8650$, $r_{0,7} = 0.8002$, $r_{0,8} = 0.7751$, $r_{0,9} = 0.8209$ 。将各参数的加权关联度 $r_{0,i}$ 进行排序, 结果为: $r_{0,6} > r_{0,1} > r_{0,2} > r_{0,9} > r_{0,7} > r_{0,4} > r_{0,3} > r_{0,8} > r_{0,5}$ 。即: 参数6 > 参数1 > 参数2 > 参数9 > 参数7 > 参数4 > 参数3 > 参数8 > 参数5。结果提示, 以手操作针刺“水沟”穴治疗脑梗死的最佳参数为: 针刺频率为3次/s, 针刺时间为5s。此参数可明显减少阳性细胞数及噬神经现象、增加微血管管径、增加脑血流量并缩小脑组织梗死面积。

3 讨论

脑梗死属于中医“中风”范畴。“醒脑开窍”针刺法是针对“中风”病的基本病机为“窍闭神匿、神不导气”提出的针刺大法, 经过多年临床与基础的系统研究, 其理论内涵被不断充实与丰富, 其研究重点也从组方到单穴逐步细化。

“醒脑开窍”针刺法注重严格的手法量学操作规范, 认为有效的针刺参数(时间、频率)对提高临床疗效具有重要意义。本实验在课题组前期研究工作的基础上, 对“水沟”穴进行针刺参数的优化, 以期对穴位的针刺手法进行量化界定, 指导临床应用。“水沟”穴作为“醒脑开窍”针刺法的主穴之一, 为督脉与手足阳明经的交会穴。根据现代中医学的脑—肾学说, 针刺“水沟”

可调督脉之阳气而醒脑神、开清窍, 脑之神气激发肾间动气, 从而恢复生命活动^[7]。现代实验研究证明, 针刺“水沟”穴不但能改善缺血区脑微循环的灌注状态, 使开放的血管数增多, 血细胞流态改善, 增加微循环的血流量^[8,9]; 而且能有效地减少梗死面积及减轻神经元损伤^[10], 同时, 能抑制脑组织缺血半暗带 Caspase-3 的表达, 从而对抗半暗带区细胞的凋亡, 以改善神经缺损体征^[11]。以上证据说明, “水沟”穴在脑梗死的治疗中发挥着重要的作用。

本实验结果提示, 参数1(针刺频率: 1次/s; 针刺时间: 5s)对微血管管径的影响作用较明显, 但对脑组织病理形态学的影响不显著, 参数2(针刺频率: 2次/s; 针刺时间: 60s)在改善神经功能评分及减小梗死面积方面作用较优, 但在对脑血管舒张作用及增加脑血流量方面效果不显著。其他参数也均存在对某些效应指标的影响明显, 但对其它指标的影响较小, 或对每项指标的影响均较平均, 无显著性作用, 故致其它参数的治疗效果不及参数6(针刺频率: 3次/s; 针刺时间: 5s)理想。参数6在增加微血管的管径、减小脑组织梗死面积、改善脑组织病理形态学方面的作用均为最优或较优, 在其它方面也处于中等水平。前期研究中提示其可能的机制为: 一方面, 针刺“水沟”穴可改善微血管内皮细胞的ATP酶代谢, 保护血管内皮细胞钠钾跨膜转运功能, 从而有效地减轻因缺血缺氧而导致的血管内皮损伤, 同时, 有效拮抗细胞内cAMP的下降, 从而缓解脑血管的痉挛, 改善微血管的舒缩协调运动, 促进侧枝循环的尽早开放, 从使缺血区及梗死区及时获得代偿血流, 以缩小梗死面积和使可逆的脑细胞恢复功能^[12,13]。另一方面, 针刺可以部分抑制小胶质细胞活化, 尤其是在其活化的高峰期, 以减少其对神经细胞的吞噬毒性作用, 发挥对神经元的保护功能^[14], 从而减少噬神经现象, 相对增加有功能的神经细胞数。

本研究采用灰色加权关联度法评价最佳针刺参数。此方法的基本思想是一种相对性的排序分析, 首先确定一个样本作为比较物, 将待评价物与之比较, 如果两事物越接近, 则相应事物之间的关联度就越大, 反之就越小。本分析法的优势在于对于典型分布的大样本资料, 本方法可得到与传统统计学一致的结果, 对小样本资料, 它也可以得出有意义的结论; 在分析关系不明确, 达不到统计学显著水平的因素时, 灰色关联分析可提高分辨距离, 易于得出结论^[15]。

本实验通过对不同针刺频率与不同针刺时间组合形成的9种参数的比较研究证明, 针刺频率为3次/s; 针刺时间为5s, 是以手针刺“水沟”穴治疗脑梗死的最佳

参数。为了符合临床实践,实验采用人手进行针刺操作,在操作过程中虽然有严格的质量控制措施,如对针刺操作人员进行规范的手法操作培训与考核,使每位操作者的针刺力度、幅度、深度、速度等一切可能影响实验结果的因素尽可能达到统一,但仍存在一定的操作误差,在今后的实验中,我们将开发针刺手法控制仪,以规范操作,减小误差。

参考文献

- [1]邓红旗.“醒脑开窍针刺法”与传统针刺疗法比较研究[J].中国现代药物应用,2007,1(7):23-24.
- [2]杨元庆,吉学群,张智龙.“醒脑开窍”针法的临床研究进展——基于经穴特异性效应及其关键影响因素研究[J].辽宁中医杂志,2008,35(5):762-763.
- [3]Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, et al. Neurological impairment in rats after transient middle cerebral artery occlusion: a comparative study under various treatment paradigms[J]. Brain Res, 2000, 863(1-2):94-105.
- [4]李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2003:327.
- [5]徐振华,许能贵,符文彬,等.不同刺激量针刺对脑缺血后功能恢复影响的临床研究[J].江苏中医药,2006,27(8):38.
- [6]齐宇,何春慧,徐萍,等.针灸治疗超早期缺血性中风16例近期疗效观察[J].中国冶金工业医学杂志,2004,21(3):191-

192.

- [7]杜元灏,冀健民.醒脑开窍针法中水沟穴作用探讨[J].中国针灸,2001,21(9):535-536.
- [8]关玲,石现,杜元灏.针刺对脑梗死大鼠脑微循环灌注状态的定性和定量分析[J].中国临床康复,2005,9(29):238-240.
- [9]王世军,吴富东,韩冰冰.电针对大鼠海马CA1区微循环血流量的影响[J].中国微循环,2005,9(5):308-310.
- [10]张天生,杨慎峭,乔秀兰.不同时间电针对大鼠MCAO再灌注区梗塞面积及病理形态的影响[J].中华中医药学刊,2007,25(8):1610-1612.
- [11]范郁山,罗燕.浅刺水沟、内关穴对脑梗塞大鼠脑组织缺血半暗带Caspase-3蛋白表达的影响[J].针灸临床杂志,2007,23(2):45-48.
- [12]林雪,杜元灏.电针刺刺激对急性脑梗塞大鼠脑血管平滑肌细胞cAMP的影响[J].中国中医基础医学杂志,2007,13(11):860-862.
- [13]杜元灏,翟娜.针刺对急性脑梗塞鼠微血管壁ATP酶的影响[J].中国针灸,2000,20(10):621-622.
- [14]骆明军,程玲,刘胜洪.电针对缺血再灌注大鼠脑内小胶质细胞活化的影响[J].中国针灸,2004,24(5):351-353.
- [15]谭学瑞,邓聚龙.灰色关联分析:多因素统计分析新方法[J].统计研究,1995,65(3):46-48.

(收稿日期:2008-07-09;修回日期:2009-01-05)

[编辑:行之]

中国中医科学院针灸研究所北京国际针灸培训中心(国内培训部) 招 生 简 章

北京国际针灸培训中心自1975年在北京创办以来已经发展成为一所在全球享有盛誉的权威培训机构。中心一直以面向世界普及中医针灸知识为宗旨,为完成世界卫生组织“完善针灸培训方法,为世界各国医生提供培训”的任务而努力工作。30多年来,培训中心已为世界上100多个国家和地区的上万名医务工作者提供了中医针灸、推拿、中药、气功等方面的培训。

全国高级针灸进修班 学费:2260元。2009年7月16日~7月29日。此班为著名中医针灸专家临床经验传授班,属于国家I类中医药继续教育项目,授予12学分。将主要讲授有关中风、类风湿、头痛、运动肌损伤、呼吸系、消化系、神经系、妇科、皮肤科等疾病治疗经验、验方效穴的临床介绍及火针、头针、耳针、眼针等多种针法临床应用和操作技巧。所聘专家,均为从事中医针灸临床30余年,知识渊博,技艺精湛,闻名中外的著名专家、名医。将邀请中国工程院院士、中国针灸学会高级顾问程莘农教授;中国针灸学会高级顾问、“三通法”创始人、北京针灸学会会长贺普仁教授;中国针灸学会高级顾问田从豁教授及王岱、张士杰、金伯华、周德安、王居易、张世雄、李定忠、王本显、蒋达树、卢鼎厚、金嫣丽、王京喜、吴中朝、杨威、杨金生、彭增福等数十名著名专家亲自授课,表演手法、传授特技、答疑解惑。通过学习,学员的医术均有显著提高,并成为当地针灸骨干。持本班结业证书上岗、出国均有效。

全国高级推拿进修班及高级按摩师资格取证班 学费:2280元。2009年7月31日~8月13日。本着使学员学到和掌握更丰富、更全面的推拿、按摩理论知识和技能,顺利通过考核,优先竞争上岗的办学宗旨,将高级推拿进修班与高级按摩师取证班合二为一,我中心重视理论联系实际,突出名师指导下的操练,使学员打下扎实的技术功底,练就一身过硬的技术本领,通过多期培训,考试通过率达99%,此班将邀请著名骨伤推拿专家臧福科、庞承泽、董福慧、赵永刚等数位教授亲自授课和指导操练。学习班结束后,考核通过颁发国家高级按摩师资格证书及中国中医科学院针灸研究所北京国际针灸培训中心结业证书。该班请提前报名,报名时务必将身份证复印件,蓝底彩色2寸照片2张寄到中心。

全国中医减肥“经络调理师——子午经络手针法”进修班 学费:3800元。2009年6月16日~23日。

全国实用针灸、推拿(初级)进修班 学费:1200元。2009年7月5日~7月16日。

联系地址:北京市东直门内南小街16号(邮编:100700)中国中医科学院针灸研究所北京国际针灸培训中心,电话、传真:010-84049008、64014411转2781,手机短信:13391675516、13671280701,联系人:赵长龙,欢迎咨询并索取2009年招生简章。