

电针对心肌缺血模型大鼠下丘脑内 去甲肾上腺素含量的影响

李 梦¹ 吴子建² 刘 婧³ 汪克明^{2*} 王月兰² 陈业农²

(1. 安徽中医学院科研处, 安徽省合肥市梅山路 103 号, 230038;

2. 安徽中医学院经脉脏腑相关研究中心; 3. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30801484); 安徽省自然科学基金资助项目(090413112);

安徽高校省级自然科学研究项目(KJ2011A188); 针灸基础与技术安徽省重点实验室培育基地

开放基金资助项目(2009zjkf001A); 安徽中医学院科学研究基金资助项目(2010zr016B);

* 通讯作者: kmwanghe@126.com, 13205513159

[摘要] 目的 观察电针不同经穴对心肌缺血模型大鼠下丘脑室旁核区内去甲肾上腺素(NE)含量的影响。方法 从 80 只 SD 大鼠中随机选择 10 只作为正常组, 其余大鼠结扎冠状动脉旋前降支复制心肌缺血动物模型。将造模成功大鼠 40 只随机分为模型组、神门组、内关组、太渊组, 每组 10 只。造模后第 3 天各电针组开始电针刺激, 每次 10min, 每天 1 次, 电针 3 天。治疗结束后取大鼠下丘脑室旁核区 $2\text{mm} \times 2\text{mm} \times 2\text{mm}$ 脑组织, 采用 ELISA 法检测 NE 含量。结果 模型组大鼠下丘脑室旁核区内 NE 较正常组明显下降 ($P < 0.01$); 各电针组大鼠 NE 含量均较模型组升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其中神门组 NE 含量高于内关组、太渊组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 内关组 NE 含量高于太渊组 ($P < 0.05$)。结论 电针神门穴、内关穴、太渊穴均可促进心肌缺血模型大鼠下丘脑室旁核区 NE 的释放, 从而改善心脏功能。其中电针神门穴效果最为显著, 内关穴、太渊穴次之。

[关键词] 电针; 内关穴; 神门穴; 太渊穴; 去甲肾上腺素; 下丘脑; 心肌缺血

Influence of Electro-acupuncture on Norepinephrine in Hypothalamus of Myocardial Ischemic Model Rats

LI Meng¹, WU Zijian², LIU Jing³, WANG Keming², WANG Yuelan², CHEN Yenong²

(1. Scientific Research Department, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038; 2. Research Center of Meridian-Viscera, Anhui University of Chinese Medicine; 3. Shanghai University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe the influence of electro-acupuncture at different points on norepinephrine (NE) in the paraventricular nucleus region of hypothalamus of myocardial ischemic rats. **Methods** Ten of the eighty SD rats were randomly selected as normal group, and the others were made myocardial ischemia models by ligating the prone descending branch of coronary artery. The 40 successfully made models were randomized into model group, Shenmen (HT 7) group, Neiguan (PC 6) group, and Taiyuan (LU 9) group, with 10 in each. Three days after modeling, the electro-acupuncture groups began to have electro-acupuncture, 10min each time, once per day, for 3 days. Then, the brain tissues $2\text{mm} \times 2\text{mm} \times 2\text{mm}$ of the paraventricular nucleus region of hypothalamus were taken out for measuring the NE content with the ELISA method. **Results** In the model group, the NE content in the paraventricular nucleus region of hypothalamus was significantly decreased than that in the normal group ($P < 0.01$). In the electro-acupuncture groups, it was all increased than that in the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), of which, the NE content in the Shenmen (HT 7) group was higher than that in both Neiguan (PC 6) group and Taiyuan (LU 9) groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and it was higher in the Neiguan (PC 6) group than in the Taiyuan (LU 9) group ($P < 0.05$). **Conclusion** Electro-acupuncture at Shenmen (HT 7), Neiguan (PC 6), and Taiyuan (LU 9) is all effective in promoting the release of NE in the paraventricular nucleus region of hypothalamus, benefiting the improvement of heart functions. The effect of electro-acupuncture at Shenmen (HT 7) is the best, while that of electro-acupuncture at Neiguan (PC 6) and Taiyuan (LU 9) is the second.

Key Words electro-acupuncture; Neiguan (PC 6); Shenmen (HT 7); Taiyuan (LU 9); norepinephrine (NE); hypothalamus; myocardial ischemia

下丘脑可通过对自主神经功能的调控、血管加压素(Arginine vasopressin, AVP)合成和释放、压力感受器反射等方面调节心血管功能活动^[1-4]。其内诸多神经递质均可通过改变自主神经活动引起心血管反应^[5]。本研究通过观察电针手厥阴心包经络穴

内关、手少阴心经原穴神门、手太阴肺经原穴太渊对心肌缺血模型大鼠下丘脑室旁核区去甲肾上腺素(NE)含量的影响, 探究下丘脑在针刺抗心肌缺血过程中的作用机制及其物质基础, 研究经脉脏腑相关与脑联系的中枢调控机制。

1 材料

1.1 动物

健康普通级 SD 雄性大鼠 80 只, 体重 (200 ± 20)g, 由南京安立默实验动物有限公司提供, 许可证号: SCXK(苏)2008-0004。适应性饲养 1 周。

1.2 药物与试剂

注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司, 批号: H13020657); 大鼠 NE 酶联免疫检测试剂盒(RB 公司, 批号: 08090412); 氨基甲酸乙酯(乌来糖, 上海曹杨第二中学化工厂, 批号: 050708)。

1.3 仪器

Powerlab16 导生理记录仪(澳大利亚 AD instruments 公司); PCE-A 型程控电针治疗仪(安徽天恒科技实业有限公司); ALLEGRA64R 冷冻离心机(美国 BECKMAN 公司); ELX 800UV 酶标仪(美国 BioTek 公司); CM1900 型切片机(德国 Leica); 28 号 0.5 寸针灸针(苏州医疗用品厂)。

2 方法

2.1 动物分组方法

按照《卫生统计学》^[6] 随机数字表从 80 只 SD 大鼠中选择 10 只作为正常对照组(正常组), 其余大鼠进行模型复制。将模型复制成功的 40 只大鼠根据上述随机数字表分为模型对照组(模型组)、电针神门组(神门组)、电针内关组(内关组)、电针太渊组(太渊组), 每组 10 只, 剩余模型大鼠同等条件下饲养, 以备补充实验。存在心电图异常、实验手术或记录失败、麻醉过量死亡、机能状态不良或术中死亡大鼠不纳入结果分析。

2.2 模型复制与评定方法

模型复制前剔除心电图异常者。参考本实验室对大鼠心肌缺血模型的改良方法^[7]进行模型复制。大鼠乙醚麻醉后固定于手术台上, 左胸部备皮, 常规消毒。沿胸骨左缘剪开皮肤, 用止血钳游离大鼠左侧的胸大肌, 暴露左侧第 2、3、4 肋, 以便清晰地观察到心脏暗影, 用弯头止血钳沿胸骨左缘 3、4 肋间撑开肋骨, 挤出心脏, 充分暴露心脏及其表面的血管, 用 4-0 医用缝合线在冠状动脉左前降支下 1/3 处快速结扎, 心脏复位后立刻关闭胸腔。根据模型复制前后心电图变化情况及血清酶学指标肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)的改变评判心肌缺血模型复制成功与否。

2.3 穴位与针刺参数选择

造模后第 3 天开始针刺治疗。穴位定位参照《实

验针灸学》^[8]。分别消毒各电针组大鼠左侧内关、神门和太渊穴区, 用针灸针直刺入穴位, 针柄连接 PCE-A 型程控电针治疗仪输出端, 参考电极置于穴区沿经脉纵向近端约 2mm 处, 接电针仪的另一输出端。刺激电压 5V, 电流强度 1.1mA, 频率为 2Hz, 波宽 300ms, 正负向交替方波刺激, 每次刺激 10min, 每天 1 次, 共治疗 3 次。模型组大鼠只固定不电针。

2.4 标本取材及检测

针刺治疗结束后大鼠麻醉状态下活体取材, 距第一次针刺时间 50h 左右。10% 水合氯醛腹腔麻醉, 活体开颅取出完整脑组织, 参照 Paxinos 和 Watson 大鼠脑解剖图谱^[9], 在冰上用无菌刀片切取下丘脑室旁核区 2mm × 2mm × 2mm 脑组织, 称重后立即标记置于 3ml 冻存管, 液氮冷藏保存, ELISA 法检测 NE 含量, 严格按照实验操作说明进行。每只动物取材时间不超过 2min。正常组取材时间、范围和方法与针刺组相同。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, 计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间均数比较采用单因素方差分析, 组间均数的两两比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 正常组与模型组大鼠血清 CK、LDH 水平比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组大鼠血清 CK 和 LDH 水平均明显升高 ($P < 0.01$)。结合心电图变化情况, 证明心肌缺血动物模型复制成功。

表 1 两组大鼠血清 CK、LDH 水平比较 ($U/L, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CK	LDH
正常组	10	239.4 ± 12.2	1230.3 ± 30.7
模型组	10	356.2 ± 35.8*	4285.2 ± 650.4*

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$

3.2 各组大鼠下丘脑室旁核区 NE 含量比较

表 2 示, 模型组大鼠下丘脑室旁核区内 NE 明显下降, 与正常组大鼠比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。电针后各治疗组大鼠 NE 含量均较模型组升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中, 神门组 NE 含量与正常组相当, 而高于内关组、太渊组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 内关组 NE 含量亦高于太渊组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠下丘脑室旁核区 NE 含量比较 (ng/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NE
正常组	10	79.80 ± 4.70
模型组	10	61.75 ± 5.39*
神门组	10	80.11 ± 5.99△△
内关组	10	73.85 ± 6.02*△△▲
太渊组	10	69.04 ± 6.93*△▲▲#

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与神门组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与内关组比较,# $P < 0.05$

4 讨论

中枢 NE 与心血管活动有着极为密切的联系,是中枢神经系统内的主要神经递质之一。动物实验发现^[10-11],NE 作用于中枢 α 受体可引起血压下降和心率减慢,兴奋中枢 β 受体则出现相反的效应,使血压升高和心率加快。针刺内关穴改善心肌缺血的效应与中枢肾上腺素能系统有关,陈丽新等^[12]向垂体后叶素(Pit)复制的急性心肌缺血模型家兔侧脑室内注射 NE 和 α 受体拮抗剂酚妥拉明,结果发现,NE 促使心肌缺血恢复,酚妥拉明使针效显著降低。李伊为等^[13]通过结扎冠状动脉左室支复制家兔急性心肌缺血模型,并向其侧脑室注入 NE、 α 、 β 受体拮抗剂,认为中枢 NE 系统参与电针促急性心肌缺血恢复作用,电针可能通过兴奋 α 受体,抑制 β 受体起作用。

本研究结果发现,针刺不同经穴对心肌缺血大鼠下丘脑室旁核区 NE 含量变化的影响不同。电针神门穴、内关穴、太渊穴均可使心肌缺血大鼠下丘脑室旁核区 NE 含量升高,其中神门穴和内关穴的升高程度更为显著,提示电针内关穴、神门穴可通过调节中枢 NE 含量,经神经—内分泌网络调节因心肌缺血造成的交感、迷走神经功能紊乱,从而改善心脏功能。下丘脑室旁核区参与电针神门穴、内关穴抗心肌缺血的中枢调控,下丘脑室旁核区的单胺类神经递质 NE 是电针抗心肌缺血损伤的中枢调控物质。

“神经—内分泌免疫网络”学说强调机体通过三系统之间存在着复杂而密切的相互关系,共同维持生物体的正常平衡状态。多年的研究证实,针灸作用有赖于神经、体液、免疫系统的结构与功能的完整。我们推论中枢神经内分泌调节部位下丘脑通过以下途径参与心血管活动调节:①通过交感神经并以低位脑干为中继站影响心交感神经的活动;②通过神经内分泌途径影响其他神经递质的分泌调节心血管活动。

本实验初步证实了下丘脑室旁核区参与电针抗心肌缺血的中枢调控,其单胺类神经递质 NE 是电针抗心肌缺血损伤的效应物质,为阐明经脉脏腑相关与脑联系的神经生物学基础提供了实验支持。

参考文献

- [1]虞燕琴,梁华为,夏强.下丘脑室旁核的心血管调节功能研究进展[J].生理科学进展,2000,31(3):273—276.
- [2]Martin DS, Rodrigo MC, Egland MC, et al. Disinhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus increases mean circulatory filling pressure in conscious rats[J]. Brain Res, 1997, 756(1—2):106—113.
- [3]Zhang K, Patal KP. Effect of nitric oxide within the paraventricular nucleus on renal sympathetic nerve discharge: role of GABA[J]. Am J Physiol, 1998, 275(3 Pt 2):R728—R734.
- [4]Kgiyama S, Tsuchihashi T, Abe I, et al. Antrisen inhibition of angiotensinogen attenuates vasopressin release in the paraventricular hypothalamic nucleus of spontaneously hypertensive rats[J]. Brain Res, 1999, 829(1—2):120—124.
- [5]虞燕琴,梁华为,夏强.下丘脑室旁核的心血管调节功能及与心血管疾病的关系[J].浙江大学学报(医学版), 2001, 30(3):139—141.
- [6]倪宗瓚.卫生统计学[M].4版.北京:人民卫生出版社, 2002:267.
- [7]王月兰,刘婧,龙迪和,等.非人工呼吸下大鼠心肌缺血再灌注损伤模型的复制[J].中国中医急症,2008,17(7):969—970.
- [8]林文注,王佩,刘元亮.实验针灸学[M].上海:上海科学技术出版社,1999:276—282.
- [9]Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereo taxic coordinates [M]. 4th Ed. San Diego: Academic Press, 1998:51—57.
- [10]谢翠微,韩济生. β 内啡肽和强啡肽参与可乐宁和去甲肾上腺素的中枢降压效应[J].生理学报,1985,37(2):172—179.
- [11]Struyker Boudier HA, Bekers AD. Adrenaline-induced cardiovascular changes after intrahypothalamic administration to rats[J]. Eur J Pharmacol, 1975, 31(1):153—155.
- [12]陈丽新,谷育梁,王立伟.电针“内关”促进急性实验性心肌缺血恢复的机制研究[J].上海针灸杂志,1993,12(1):37—38.
- [13]李伊为,陈东风,张立群,等.中枢肾上腺素能系统在“内关”与心脏联系中的作用[J].针刺研究,2000,25(4):263—264.

(收稿日期:2011—05—09;修回日期:2011—08—05)