

电针补肾益精法对围绝经期血管性痴呆大鼠脑组织 SOD、MDA 含量的影响

宋 扬¹ 徐天舒²

(1.南京中医药大学中西医结合鼓楼临床学院,江苏南京210023;2.南京鼓楼医院,江苏南京210008)

摘 要 目的:观察电针补肾益精法对围绝经期血管性痴呆(VD)大鼠行为学改变和脑组织内超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量的影响。方法:将30只围绝经期大鼠随机分为假手术组、模型组和电针组。除假手术组外,其余2组采用反复夹闭双侧颈总动脉-再灌注方法造成VD模型,假手术组仅分离双颈总动脉不结扎。造模成功后,电针组电针足三里、三阴交,每次20min,每日1次,共治疗20次。模型组和假手术组每日同时间点固定20min。治疗结束后,用Morris迷宫试验检测各组大鼠定位航行能力,用比色法检测大鼠脑内MDA含量及SOD活性,并进行组间统计学比较。结果:与假手术组比较,模型组大鼠的逃避潜伏期时间明显延长,脑组织SOD水平下降、MDA水平明显上升($P<0.05$)。与模型组比较,电针组大鼠的潜伏时间明显缩短,脑组织SOD水平上升,MDA水平明显下降($P<0.05$)。结论:电针补肾益精法能提高围绝经期VD大鼠自身的抗氧化能力,保护VD后继发的神经元损伤。

关键词 电针 补肾益精 围绝经期 血管性痴呆 足三里 三阴交 实验研究

中图分类号 R749.130.5

文献标志码 A

文章编号 1672-397X(2018)08-0072-03

基金项目 江苏省中医药局科技项目(LZ13116)

血管性痴呆(Vascular Dementia, VD)主要是由于出血或缺血性卒中导致人体行为和认知等脑区低灌注从而出现的认知功能障碍。已有研究发现,绝经是女性血脂异常的独立危险因素,绝经后总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇均较绝经前明显升高^[1],且随着绝经年限的延长,升高越显著,由此引发的脑血管疾病、VD成为围绝经期及绝经后中老年女性需关注的问题。随着医疗条件和技术的进步,脑血

管病的死亡率在逐年下降,但因脑血管病造成的各类痴呆发生率却在升高,因此对围绝经期VD的研究具有现实和迫切的社会意义。大量研究表明,电针治疗VD有较确切的疗效^[2-4]。我们前期研究发现,电针补肾益精法对围绝经期大鼠有脑保护的作用^[5]。为此,本研究采用电针治疗围绝经期VD模型大鼠,观察其空间学习记忆能力,并检测脑组织SOD、MDA水平,旨在研究电针对围绝经期VD的治疗作用。

辛苦下降,同时使用人参、茯苓、白术健脾益气,助脾运行^[6]。此方实是枳术汤变法。

4 结语

枳术丸用药精简,配伍得当,疗效拔群。李东垣本人及后世医家辨证施治,根据枳术丸一方衍生出众多方剂,体现了《脾胃论》中“发明脾胃之病,不可一例而推之,不可一途而取之”的思想。临床可根据患者症状体征,结合病因,详察病机,选用枳术丸及其类方治之。

参考文献

- [1] 刘统治, 金国娥. 浅谈李东垣枳术丸及现代临床运用[J]. 中医药临床杂志, 2015, 27(3): 357.
- [2] 宋志前, 吕署一, 王淳, 等. 枳术丸与枳术汤对比分析[J]. 中

国中医基础医学杂志, 2009, 15(10): 780.

- [3] 刘公望. 试论“脾胃之病不可一途而取”:也谈东垣脾胃治法[J]. 天津中医学院学报, 1983(2): 1.
- [4] 林越, 李雨. 浅谈李东垣运用黄芩、黄连、黄柏的特点[J]. 国医论坛, 2008, 23(3): 13.
- [5] 葛舒瑶, 惠建萍. 枳实消痞丸的配伍特点及临床应用探析[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(20): 86.

第一作者:王曼莉(1996—),女,本科生,中医学专业。

通讯作者:冯哲,医学博士。i7seven@163.com

收稿日期:2018-03-20

编辑:吴宁

1 实验材料

1.1 实验动物 11~15月龄清洁级SD雌性大鼠,体重370g左右,上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号:SCXK(沪)2012-0017,饲养和实验在南京大学医学院附属鼓楼医院动物实验中心屏障环境[SYXK(苏)2014-0052]。

1.2 主要仪器与试剂 低温高速离心机,分光光度计,Labsystems Finnpiptette 100μL单道移液器,Thermo 50μL 8道移液器,HH-4数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),MCAO栓线(北京沙东生物技术有限公司,型号为2432-50 AAAA),华佗牌SDZ-V型电子针疗仪(苏州医疗用品厂),0.25mm×13mm华佗牌一次性针灸针。

2 实验方法

2.1 造模与分组 造模大鼠适应性饲养3d后连续5d行阴道分泌物采样涂片,经HE染色后光镜下观察脱落细胞。镜下连续5d呈现无规律动情周期变化则可确定为围绝经期大鼠。用3.5%水合氯醛按1mL/100g体重将围绝经期大鼠腹腔麻醉后,仰卧固定;颈正中切口,分离双颈总动脉;用“0”号线结扎双颈总动脉血流10min,再灌注10min,共间歇阻断双侧颈总动脉血流3次,每次间隔10min;术后缝合切口,笼内饲养。假手术组大鼠仅分离双颈总动脉不结扎。术后7d,对造模大鼠进行Morris水迷宫试验以筛选入组大鼠。分别记录每只大鼠的逃避潜伏期,计算假手术组逃避潜伏期的平均值(X),标准差(Y),以“X+2Y”为标准值^[2],如逃避潜伏期大于“X+2Y”则认为VD模型造模成功。将造模成功的大鼠随机分为模型组和电针组,每组10只,假手术组取10只。

2.2 干预方法 电针组:固定大鼠,选取“关元”及双侧“三阴交”(大鼠穴位定位参考《实验针灸学》),针刺得气后,连接电子针疗仪,以肢体微微抖动为度,连续波,频率为2Hz,每次20min,每日1次,共治疗20次。模型组、假手术组:每日同时间点固定20min。

2.3 行为学检测 治疗结束后各组大鼠行Morris水迷宫试验检测其定位航行能力。每日将大鼠面向池壁分别从4个入水点放入水中若干次,记录其寻找到隐藏在水面下平台的时间,即逃避潜伏期(escape latency)。记录每只大鼠连续5d的逃避潜伏期平均

值,计算每日每组大鼠潜伏期的平均值,评价各组动物空间学习记忆的获得能力。

2.4 脑组织SOD、MDA含量测定 行为学检测结束后,各组鼠断头处死,2min内取出大鼠脑组织,迅速置于冰盘上分离脑组织,弃嗅球和小脑,与4℃预冷的生理盐水一起倒入匀浆管中进行匀浆,充分研碎,使组织匀浆化,制成10%的脑组织匀浆,3000r/min离心10min,留上清液,4℃保存待测。按照SOD、MDA试剂盒说明书,用光电比色法测定大鼠脑组织中SOD活性、MDA含量。

2.5 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验,方差齐时采用t检验,方差不齐时采用t'检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠Morris水迷宫定位航行逃避潜伏期比较 结果见表1。随着训练时间的延长,各组大鼠在Morris水迷宫试验中的上台前游泳时间都呈现下降的趋势。与同期假手术组比较,模型组大鼠各时期的逃避潜伏期均明显延长(P<0.05),说明VD模型建立成功,模型大鼠存在明显的学习记忆障碍。与模型组比较,电针组大鼠的逃避潜伏期明显缩短(P<0.05),说明经过一段时间的治疗后,“补肾益精”电针疗法可明显改善围绝经期VD大鼠的学习记忆能力。

3.2 各组大鼠脑组织SOD、MDA水平比较 结果见表2,说明“补肾益精”电针法可有效改善围绝经期VD模型大鼠脑组织SOD、MDA水平。

4 讨论

VD发病多见于中老年人群,中国65岁以上人群中VD患病率为1.1%,约占痴呆总患病率的30%^[6]。围绝经期和绝经后妇女血脂异常率高^[7],并随着绝经时间的延长,升高更显著,由此损伤心脑血管造成缺

表1 各组大鼠连续5d逃避潜伏期比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
假手术组	10	82.4±1.43	64.7±2.23	52.6±1.78	39.0±1.15	23.5±1.43
模型组	10	96.9±1.52 [△]	89.3±1.49 [△]	77.4±1.35 [△]	69.2±1.14 [△]	61.9±0.99 [△]
电针组	10	88.1±1.97 [#]	75.7±1.52 [#]	66.1±1.73 [#]	52.3±1.42 [#]	41.5±2.46 [#]

注:△与假手术组比较,P<0.05;#与模型组比较,P<0.05。

表2 各组大鼠脑组织SOD、MDA水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	SOD(U/mg prot)	MDA(nmol/mg prot)
假手术组	10	178.00±24.02	1.04±0.18
模型组	10	111.40±2.07 [△]	3.30±0.12 [△]
电针组	10	174.60±2.76 [#]	1.30±0.09 [#]

注:△与假手术组比较,P<0.05;#与模型组比较,P<0.05。

血缺氧脑损害机率不断升高。

中医学认为,VD是由于各种原因导致肾精亏虚,痰瘀阻痹,使脑髓空虚,脑髓失养,其基本病机为髓减脑消,神机失用,属于“痴呆”“善忘”等范畴。围绝经期VD又有其独特的病因病机。妇女进入围绝经期,肾气渐衰,天癸将竭,冲任二脉虚损,肾精不足,脏腑功能紊乱,髓海空虚,神机失守。故肾精亏虚为发病之本,治疗以补肾益精为基本原则。三阴交是足太阴脾经、足少阴肾经和足厥阴肝经三条阴经交汇处。电针三阴交可以升高雌激素,抑制促性腺激素释放激素(GnRH)分泌,调节下丘脑—腺垂体—卵巢轴,提高痴呆小鼠记忆能力^[8];关元穴位于有“阴脉之海”之称的任脉,可养肝脾之气血,能够补肾益精,调理冲任。两穴合用,可以补肾益精,充盈髓海,达到补肾益脑之效。

西医学认为,因各种原因导致的脑缺血所引起的脑损害是VD发病的主要原因之一,而自由基是脑缺血、缺氧后神经细胞损伤的重要发病因素。自由基生成系统对学习记忆有明显的损害作用,主要源于自由基对细胞及细胞膜上不饱和脂肪酸的破坏、过氧化及MDA产生。MDA是脂质发生过氧化反应后的分解产物,其通过交链蛋白质、糖类、核酸及脂类,使DNA发生突变,从而影响信息传递、转录和复制过程,致使蛋白质合成功能紊乱,合成能力下降,从而表现出记忆力和智力下降。MDA含量间接反映了自由基损害程度,含量越高,损害程度越高。SOD是机体直接清除自由基的重要抗氧化酶类,是机体新陈代谢中重要的金属酶,其可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞。前期研究表明,电针补肾益精法对围绝经期大鼠脑组织有一定保护作用^[5],能够清除自由基,改善脑缺血、缺氧症状^[9]。

本研究结果发现,与假手术组比较,模型组大鼠的Morris水迷宫定位航行逃避潜伏期时间明显延长,说明VD模型建立成功,其存在明显的学习记忆障碍。与模型组比较,电针组大鼠的逃避潜伏期明显缩短,说明经过一段时间“补肾益精”电针的治疗,围绝经期VD大鼠的学习记忆能力得到明显改善。脑组织检测结果显示,与假手术组相比,模型组大鼠脑组织SOD水平下降,MDA水平明显上升,说明脑组织SOD、MDA水平与VD存在一定联系。与模型组比较,电针组大鼠脑组织SOD水平明显上升,MDA水平明显下降,说明“补肾益精”电针法可有效改善围绝经期VD模型大鼠脑组织SOD、MDA水平。

综上,电针补肾益精法能提高围绝经期VD大鼠

自身的抗氧化能力,减轻VD引起的组织过氧化损伤,减少MDA含量,从而保护VD后继发的神经元损伤。本研究初步探讨电针补肾益精法对围绝经期血管性痴呆大鼠脑保护机制,其他可能的作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 聂广宁,杨洪艳,刘建,等.围绝经期女性血脂变化的多中心临床流行病学调查[J].中国妇幼保健,2017,32(24):6208.
- [2] 冯德琳,刘玉驰,刘晨,等.电针干预血管性痴呆大鼠海马CA1区AVP、 $A\beta$ 1-40蛋白表达的研究[J].针灸临床杂志,2015,31(6):59.
- [3] 黎帅,谭洁,张泓,等.针灸治疗血管性痴呆的选穴规律探讨[J].中国针灸,2017,37(7):785.
- [4] 何宇峰,李建婷,赵明华,等.调神通督针法联合中西医结合卒中单元治疗血管性痴呆随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2016,30(8):84.
- [5] 徐天舒,张华军,赵航,等.电针补益肾精法对围绝经期大鼠脑保护作用的实验研究[J].南京中医药大学学报,2013,29(5):469.
- [6] 冯银玲,马翔凌,陈金,等.GCs对血管痴呆大鼠认知功能及海马脑区NF- κ B表达影响的实验研究[J].中风与神经疾病杂志,2013,30(11):997.
- [7] 郑燕伟,刘杰,陶敏芳,等.女性绝经状态与血脂代谢的关系研究[J].中国妇幼健康研究,2017,28(9):1112.
- [8] 王婧,秦卓,翟丽静,等.电针三阴交对雌性痴呆模型小鼠HPO轴及学习记忆功能影响的实验研究[J].针灸临床杂志,2017,33(1):42.
- [9] 戴桃李,潘娅,杨琼,等.阿尼西坦对VD大鼠学习记忆功能和海马齿状回长时程增强的影响[J].贵阳医学院学报,2007,32(3):234.

第一作者:宋扬(1992—),女,硕士研究生,研究方向为针刺镇痛及治疗神经内分泌系统疾病。

通讯作者:徐天舒,博士,主任中医师,博士研究生导师。tianshuxu2007@126.com

收稿日期:2018-04-11

编辑:吴宁

