

电针“百会”、“风府”和“阳陵泉”对帕金森病模型大鼠氧化应激反应的影响*

郭春霞¹, 张晓雷², 邵水金^{1△}, 郝 莉¹, 朱 晶¹

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2 海绿谷制药有限公司, 上海 201203)

[摘 要] 目的: 探讨电针“百会”、“风府”和“阳陵泉”对帕金森病模型大鼠的治疗作用及作用机理。方法: 采用 6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 注射于脑右侧黑质建立偏侧 PD 模型, 造模成功后随机分为电针组、美多芭组、电针结合美多芭组与模型对照组, 另设正常对照组; 各组分别给予相应处理, 实验结束后, 应用化学比色法测定大鼠中脑黑质纹状体部位谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 的含量, 超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性。结果: 电针组、美多芭组、电针结合美多芭组均可增加 SOD、GSH-Px 活性, GSH 含量, 降低 MDA 含量。结论: 电针可明显提高 PD 模型大鼠的抗氧化能力, 降低自由基对脑的损伤。

[关键词] 电针; 帕金森病; 氧化应激; 6-OHDA; 大鼠

中图分类号: R256.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2012)05-0026-04

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 又称震颤麻痹, 是一种多发于中老年人的常见的慢性神经系统退行性疾病, 临床以静止性震颤、运动迟缓等为主要特征, 尚有语言减少和声音低沉单调、吞咽困难、流涎、睡眠障碍、抑郁或痴呆等症状, 严重影响患者的运动能力和生活质量。由于 PD 的病因尚未完全明确, 于是提出各种假说, 如遗传因素学说、氧化应激学说、环境因素学说、细胞凋亡学说等。而氧化应激学说在 PD 的发病中仍占主导地位^[1-3]。此外, 由于 PD 是一种慢性进展性疾病, 目前尚无根治的方法, 治疗以左旋多巴等药物为主, 但只能缓解临床症状, 且疗效递减性以及副作用 (抑郁、焦虑、幻觉、欣快、精神错乱、轻度躁狂等) 一直是困扰人们的难题。近年来, 针灸以其自身优势, 在改善 PD 的运动障碍、延缓 PD 进程、减少左旋多巴的毒副作用、提高患者的生活质量等方面已发挥了重要作用, 逐渐受到人们的重视, 针灸因此成为治疗帕金森病的方法之一^[4]。本研究通过观察电针“百会”、“风府”和“阳陵泉”对帕金森病模型大鼠氧化应激反应的影响,

探讨电针对帕金森病可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 180 ~ 220g, 由上海中医药大学实验动物中心提供, 许可证号: SYXK (沪) 2004-2005。

1.2 药物、试剂和仪器

药物及试剂: 美多芭 (上海罗氏制药公司, 批号 SH11687), 6-羟基多巴胺 (美国 Sigma 公司, 批号 048k3728)、阿扑吗啡 (美国 Sigma 公司, 批号 100839-200601)、抗坏血酸 (美国 Sigma 公司, 批号 063k1082), 庆大霉素 (上海第一制药厂), 丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽 (GSH)、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所), 戊巴比妥钠 (上海中西药业股份有限公司, 批号 WS20090920), 冰醋酸 (国药集团化学试剂有限公司), 等。

仪器: TOW-3A 型大鼠脑立体定位仪 (广东汕头市教育医学仪器厂), XW-80A 型旋涡混合

* 基金项目: 上海高校选拔培养优秀青年教师科研专项基金资助项目 (NO: szy09013)

收稿日期: 2012-08-11 修回日期: 2012-09-25

作者简介: 郭春霞 (1981~), 女, 内蒙古呼和浩特人, 讲师, 主要从事腧穴解剖学教学与研究工作。△通讯作者: 邵水金, Email: shaoshuijin@163.com

器(上海医科大学仪器厂),UV754N型紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),华佗牌针灸针(苏州医疗用品厂),KWD-808型全能脉冲电疗仪(上海电子仪器厂)等。

1.3 PD模型制备方法

采用经典的PD模型^[5]。术前按常规进行行为测试,确认无异常旋转行为后,用戊巴比妥钠(3%的戊巴比妥钠,50mg/kg)腹腔注射麻醉。然后将大鼠固定于脑立体定位仪上,头部去毛,苯扎溴铵常规消毒。无菌条件下,沿正中中线切开大鼠颅顶皮肤,剥离骨膜,暴露前囟。以前囟为准,根据大鼠脑立体定位图谱^[6],确定右侧黑质二坐标:①前囟后5.2mm,正中右侧1.0mm,硬膜下9.0mm。②前囟后5.2mm,正中右侧2.5mm,硬膜下8.5mm。用颅骨钻于手术要求部位小心钻开颅骨,用5 μ L微量进样器将6-OHDA(溶于含0.02%抗坏血酸的生理盐水中,即称量药品抗坏血酸0.001g,溶于生理盐水0.5mL中)注入右侧黑质部(以1.0mm/min速度缓慢进针),每孔3 μ L,注射速度为1 μ L/min,注射完毕后留针5min,然后以1.0mm/min速度缓慢退针。手术完成后,用医用明胶海绵填塞颅骨孔,缝合切口皮肤,肌肉注射庆大霉素7d,待动物清醒后放回饲养笼中饲养。正常对照组只固定大鼠,不进行任何处理。

10d后,以腹腔注射APO 0.5mg/kg诱发大鼠向一侧旋转,记录从开始旋转至30min内的旋转圈数,以旋转圈数平均>7次/min者为合格的PD模型^[7]。

1.4 分组及治疗

将成功PD模型大鼠(31只)随机分为4组:①电针组9只:采用类比法取穴,腧穴定位如下:风府:在大鼠头顶部,枕外隆凸直下凹陷处;百会:在大鼠头顶部,两耳尖连线的中点处;阳陵泉:在大鼠小腿外侧,膝关节下外1.5cm处。用0.25 $\times$ 13mm的针灸针,刺0.6~1cm深,稍行提插捻转手法。使用全能脉冲电疗仪,正、负电极输出线分别夹在“百会”、“风府”和双侧“阳陵泉”穴位上的毫针针柄上。选用断续波型,电针频率为5Hz,电流强度为20mA左右,以肌肉出现轻微抽动为准。每次刺激时间为15min,每日1次,每周6次,共治疗4周。②美多芭组8只:灌胃给药,剂量135mg/kg(10mL/kg),每日1次,

每周6次,共给药4周。③电针结合美多芭组8只:方法如电针组治疗结合美多芭组治疗,每日1次,每周6次,共治疗4周。④模型组6只:不做任何处理。正常对照组6只也不做任何处理。各组除干预措施不同外,其余各条件一律相同。

1.5 标本采集

治疗结束后,立即断头取脑,小心分离黑质,制备脑黑质匀浆液。操作方法:取脑黑质,在冰冷的生理盐水中漂洗,除去血液,滤纸拭干,放入10mL的匀浆管内;在匀浆管中加冷的0.86%盐水0.65mL,用眼科剪尽快剪碎脑黑质块;再加入冷的0.86%生理盐水0.3mL进行充分匀浆。将匀浆液以4000r/min离心15min,将上清液置-20℃冰箱中备用^[8]。

1.6 检测指标及方法

氧自由基检测方法:取适量上清液进行MDA, GSH, GSH-Px和SOD的检测,具体方法按南京建成生物工程研究所试剂盒说明书步骤进行测试。

1.7 统计学方法

实验数据用(mean $\pm$ s)表示,两组间各参数比较采用SPSS 13.0统计软件, *t*检验方法进行统计学分析,其中 $P<0.05$ 说明两组之间差异有统计学意义, $P<0.01$ 说明两组之间差异有统计学意义。

2 实验结果

动物造模成功率57.41%。与正常对照组比较,模型组SOD活性降低,MDA含量升高,GSH含量降低,GSH-Px活性降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,电针组、美多芭组、电针+美多芭组均能提高SOD、GSH-Px活性,提高GSH含量和降低MDA含量,差异均有统计学意义($P<0.05$)。而美多芭组,电针组和电针+美多芭组黑质中SOD、MDA、GSH和GSH-Px含量测定结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。(见表1)

3 讨论

《资生经》曰:“百会”又名天满,属督脉,为督脉与足太阳、手足少阳和足厥阴五条经脉之所会,故有“三阳五会”之称,《针灸大成》中称“主心烦闷,惊悸健忘,忘前失后,心神恍惚”,具开窍醒神之功,针刺“百会”可以激发头部和诸经经气,治疗脑病和十四经病,调一身之阴阳气血,补脑益髓。风府穴出自《素问》,“头重,身

表 1 5 组大鼠黑质中 SOD、MDA、GSH 和 GSH - Px 含量测定结果比较

组别/指标	例数	SOD/ (NU/mg)	MDA/ (nmol/mg)	GSH/ (mg/g)	GSH - Px/ (U/mg)
正常对照组	6	176.38 ± 53.27 *	8.02 ± 2.26 *	10.86 ± 1.95 *	810.23 ± 163.20 *
模型组	6	127.62 ± 32.65	13.28 ± 2.31	6.32 ± 2.96	562.56 ± 97.33
美多芭组	7	165.16 ± 46.56 *	8.91 ± 1.73 *	8.53 ± 1.27 *	749.21 ± 128.85 *
电针组	9	163.80 ± 37.62 *	9.31 ± 2.03 *	7.21 ± 1.96	718.26 ± 102.89 *
电针 + 美多芭组	7	156.32 ± 41.38 *	8.44 ± 1.30 *	8.02 ± 2.53	766.36 ± 90.47 *

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ；美多芭组和电针 + 美多芭组各死亡 1 只。

痛，恶寒，治在风府”，《备急千金要方》风府主治“舌缓，不能言”，这些临床症状似属于帕金森病症状范畴；针刺风府穴可以振奋督脉阳气，宣散风邪，调理气血，使经脉气血疏通，临床帕金森病治疗有较多应用。阳陵泉穴始出自《灵枢·邪气脏腑病形》篇，是足少阳胆经合穴，又是八会穴之一的“筋会”，位于小腿外侧当腓骨头前下方凹陷处，是临床的常用穴；具有强健腰膝、通络止痛等功效；近年来，阳陵泉穴单穴或处方配穴应用治疗多种疾病，如肩周炎、膝关节炎、面肌痉挛、偏瘫、坐骨神经痛、扭挫伤等病证；临床研究认为针刺阳陵泉，对调整脑血流量有一定影响，对急性缺血性中风患者，通过针刺治疗取得良好疗效^[9]。基于上述原因及其临床在治疗帕金森病的应用，本实验针对性的选择“百会”、“风府”和“阳陵泉”三穴，并考察电针该三穴位对帕金森病模型大鼠氧化应激反应的影响，探讨电针对帕金森病可能的作用机制。

本实验结果表明，模型组与正常对照组比较，SOD 活性降低，MDA 含量升高，GSH 含量降低，GSH - PX 活性降低，提示帕金森病大鼠的氧化反应被激活，处于氧化应激状态；同时说明机体清除氧自由基的能力低，细胞膜结构和功能的完整性受损，机体细胞受自由基攻击的程度加重。与模型组比较，美多芭组、电针组、电针结合美多芭组均能提高 SOD 活性，提高 GSH - Px 活性，提高 GSH 含量和降低 MDA 含量，说明三种治疗方法均能使机体清除氧自由基的能力提高，机体细胞受自由基攻击的程度减轻，对细胞膜结构和功能的完整性起到保护的作用。而美多芭组，电针组和电针结合美多芭组组间测定结果比较，差异多无统计学意义，说

明此三种治疗方法谁更略胜一筹，尚无定论。通过本实验可以推测，电针治疗清除过氧化脂质及自由基，提高机体抗氧化能力的作用机制，可能与其对机体的多方面调节作用有关，电针通过局部治疗与整体调节作用，达到了对自由基的清除作用，从而使机体免受自由基的损害。

[参考文献]

- [1] Di Monte DA. The environment and Parkinson's disease: is the nigrostriatal system preferentially targeted by neurotoxins [J]. Lancet Neurol, 2003 (2): 531 - 538.
- [2] Vila M, Przedborski S. Genetic clues to the pathogenesis of Parkinson's disease [J]. Nat Med, 2004 (10 suppl): S58 - S62.
- [3] Jenner P. Oxidative stress in Parkinson S disease [J]. Ann Neurol, 2003, 53 (suppl 3): S26 - S38.
- [4] 贾军, 李博, 孙作厘, 等. 电针防治帕金森病的实验研究. 科技导报 [J], 2007, 25 (23): 74 - 80.
- [5] Ungerstedt U, Arbthnott GW. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6 - OHDA lesions the nigrostriatal dopamine system [J]. Brian Res, 1970, 24: 485 - 493.
- [6] 包新民, 舒思. 大鼠脑立体定位图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 53.
- [7] Carman LS, Gage GH, Shuhs CW. Partail lesion of the substantia nigra; relation. between extent of lesion and rotational behavior [J]. Brian Res. 1991, 553: 275 - 83.
- [8] 何建成, 袁灿兴. 6 - 羟基多巴胺帕金森病模型大鼠氧化应激反应 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 25 (11): 4920 - 4922.
- [9] 贾玉勤, 张伦忠, 冯乐燕, 等. 帕金森病的中医药治疗概况 [J]. 中国中医药科技, 2010, 15 (2): 183 - 184.

(编辑: 迟 越)

Oxidative Stress Effect of Electro – Acupuncture for “Baihui” “Fengfu” and “Yanglingquan” on PD Model Rat

GUO Chun – xia, SHAO Shui – jin, Zhang Xiao – lei, HAO Li, ZHU Jing

(Shanghai University of TCM, Shanghai 201203)

[**ABSTRACT**] Objective: To research the effect of electro – acupuncture for “Baihui” “Fengfu” and “Yanglingquan” in the treatment of the PD model rat and reveal the oxidative stress mechanism of the acupuncture preventing and curing Parkinson’s Disease (PD). Methods: The PD model rats were induced by injecting 6 – OHDA into the right striatum, The valid PD rats were randomly divided into four groups: electro – acupuncture group, Madopa group, Madopa/ electro – acupuncture group and model control group, normal control group were also established. All groups were given corresponding treatments. At last, the contents of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), GSH – peroxidase (GSH – Px), and superoxidedismutase (SOD) in nigrostriatal area were measured with chemical chromatometry. Results: Electro – acupuncture group, Madopa group, Madopa/electro – acupuncture group can increase significantly the average activity of SOD, GSH – PX, GSH, and decrease obviously the average level of MDA. Conclusion: Electro – acupuncture can enhance the antioxidant capacity of the nerve cells of the substantia nigra in PD model rat, reducing the damage of free radicals on the brain.

[**KEY WORDS**] Electro – Acupuncture; Parkinson’s disease; Oxidative Stress; 6 – OHDA; Rat

(上接第14页)

[9] 杨波. 中药寒热药性的实验评价方法及物质基础研究

[8] 王振国, 王鹏, 欧阳兵. 中药物质成分与寒热药性相关性研究的方法学框架 [J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33 (5): 734 – 737.

[D]. 西北大学. 2010.

(编辑: 李 平)

Evaluation on Cold or Heat Nature Based on Physiological and Biochemical Characteristics of Unprocessed Rhizoma Pinelliae and Rhizoma Pinelliae with Bamboo Vinegar Processed

YANG Xin – jie, YANG Fang, LIU Qi, WANG Wei, CUI Jiu – cheng, SONG Xiao – mei *

(College of Pharmacy, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shanxi 712046)

[**ABSTRACT**] Objective: Testing the physiological and biochemical parameters in mice, to evaluate the nature of unprocessed Rhizoma Pinelliae (RP) and Rhizoma Pinelliae With Bamboo Vinegar Processed (RP – BVP). Methods: Measured weight, water intake, food intake, body temperature, oxygen consumption, total protein content of liver tissue, Na – K – ATPase activity, liver coefficient of mice after giving the water decocted solution of RP and RP – BVP intragastrically 11days. Results: Compared with control group, weight, food intake, liver coefficient had no significant difference in RP and RP – BVP group; Compared with control group, water intake, body temperature, oxygen consumption, Na – K – ATPase activity, total protein content of liver tissue increased in RP group; oxygen consumption, the liver tissue total protein content, Na – K – ATPase activity reduced in RP – BVP group. Conclusion: water intake, body temperature, oxygen consumption, Na – K – ATPase activity, total protein content of liver tissue can be used to evaluate the cold and heat nature of RP and RP – BVP.

[**KEY WORDS**] RP; RP – BVP; cold or heat nature; physiological and biochemical parameters