

电针长强穴对缺血缺氧脑损伤大鼠发育的影响*

黄倩茹¹, 萨喆燕¹, 潘晓华¹, 万隆¹, 张学君², 许金森^{1△}

(1. 福建省中医药研究院, 福建 福州 350003; 2. 福建中医药大学, 福建 福州 350122)

摘要: **目的** 观察电针长强穴对缺血缺氧脑损伤大鼠体质量及睁眼时间的影响, 探讨新生儿缺血缺氧性脑损伤(HIBD)的有效干预措施。**方法** 随机挑选新生 PN7(postnatal 7day, PN7)SD 仔鼠 32 只, 其中 24 只予左侧颈总动脉结扎、剪断及缺氧后制备缺血缺氧大鼠, 并分为模型组、电针长强组(长强组)、电针非穴组(非穴组)各 8 只, 另 8 只分离左侧颈总动脉但不结扎剪断, 亦不做缺氧处理作为假手术组。长强组取长强穴, 电针刺激(连续波, 频率为 2 Hz, 强度为 2 mA)20 min, 连续治疗 10 d 为 1 个疗程, 共 1 个疗程; 非穴组取大鼠右肋肋下缘一横指处, 余操作同长强组; 空白组和模型组在相同环境下饲养, 不予干预; 对各组大鼠的体质量及睁眼时间进行记录并分析。**结果** ①体质量测评: PN7~PN13: 与假手术组相比, 模型组体质量下降, 差异无统计学意义($P>0.05$)。PN14: 与假手术组相比, 模型组体质量下降, 有显著性差异($P<0.05$); 与模型组相比, 长强组及非穴组体质量上升, 差异无统计学意义($P>0.05$)。PN15~PN21: 与假手术组相比, 模型组体质量下降, 有显著性差异($P<0.05$); 与模型组相比, 长强组体质量上升, 有显著性差异($P<0.05$), 非穴组体质量上升, 差异无统计学意义($P>0.05$)。② 睁眼时间评分: 与假手术组相比, 模型组睁眼日龄下降, 有显著性差异($P<0.05$); 与模型组相比, 长强组及非穴组睁眼日龄上升, 差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 电针长强穴可促进缺血缺氧脑损伤大鼠体质量趋于正常, 为缺血缺氧疾病的有效治疗方式之一。

关键词: 缺血缺氧脑损伤; 长强穴; 体质量测评; 睁眼时间评定

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2018)01-0025-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.01.006

Effect on Development of Electroacupuncture Changqiang Point in HIBD Rats

HUANG Qianru¹, SA Zheyen¹, PAN Xiaohua¹, WAN Long¹, ZHANG Xuejun², XU Jinsen¹

(1. Fujian Academy of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China;

2. Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: Objective To observe the curative of ischemia hypoxia increased the weight of rats and the influence of the open time, explore the effective intervention measures of HIBD. **Methods** Randomly selected PN7(postnatal day 7, PN7) SD wang rat only 32, 24 of them to the left common carotid artery ligation, cutting and preparation after hypoxia ischemia hypoxia in rats, and is divided into model group, electroacupuncture Changqiang group (Changqiang group), non-acupoint electroacupuncture group (non-acupoint group) each for 8, the other 8 separate but not of the left common carotid artery ligation cutting, nor do anoxic treatment as control group. Changqiang group take Changqiang point, electroacupuncture (continuous wave, frequency of 2 hz, strength to 2 ma) 20 min, continuous treatment for 10 days for a period of treatment, a total of one period of treatment; The acupuncture point group take the lateral edge of rats right rib refers to, long residual operation with strong group; The blank group and model group in the same environment, will not be intervention; For each group rats weight and open time for recording and analysis. **Results** ① The weight assessment: PN7~PN13: compared with control group, model group, weight loss, there was no statistically significant difference ($P>0.05$). PN14: compared with control group, model group, weight loss, there are significant differences ($P<0.05$); Compared with model group, weight

* 基金项目: 国家自然科学基金(81603543); 福建省科技厅省属公益类项目(2016R1033-2); 福建省卫计委青年人才项目(2016-1-82); 福州市科技局资助项目(2016-G-70); 福建省经络感传重点实验室资助

收稿日期: 2017-12-18

作者简介: 黄倩茹(1990-), 女, 研究实习生, 研究方向: 经络现代研究。

△通信作者: 许金森, E-mail: xujinsenjls@163. com

gain Changqiang group and non-acupoint group, there was no statistically significant difference ($P>0.05$). PN15~PN21: compared with control group, model group, weight loss, there are significant differences ($P<0.05$); Changqiang group compared with model group, weight gain, there are significant differences ($P<0.05$), the non-acupoint group, weight gain, there was no statistically significant difference ($P>0.05$). ② Open time score: compared with control group, model group opened its eyes fall day age, there are significant differences ($P<0.05$); Compared with model group, Changqiang open up day age group and the non-acupoint group, there was no statistically significant difference ($P>0.05$). **Conclusion** Acusector "Changqiang" can promote HIBD rats weight returns to normal, as one of the effective treatment of HIBD diseases.

KEY WORDS: HIBD; Changqiang point; weight measurement; open time to assess

新生儿缺血缺氧性脑损伤 (hypoxic-ischemic brain damage, HIBD) 指围产期窒息所引起的缺血缺氧性脑损害。随着现代医学技术的进步性, 新生儿窒息抢救成功率不断上升, 相应的缺血缺氧性脑损伤患者亦不断增加, 其中 25% 的存活儿可出现永久性脑损伤如智力低下、学习记忆困难、脑瘫及生长发育障碍等临床后遗症^[1-4]。近年来, 单纯针刺、电针等治疗缺血缺氧脑损伤患儿的临床疗效已有很多报道, 在长期的临床过程中, 发现针刺长强穴可改善精神发育迟滞等脑病患儿的症状^[5]。已有的动物研究发现, HIBD 幼鼠具有体质量增长缓慢、睁眼迟缓等发育障碍^[6], 因而本实验拟采用电针长强穴对 HIBD 新生大鼠进行干预, 观察电针长强穴对 HIBD 新生大鼠体质量和睁眼时间的变化, 进而明确电针长强穴对 HIBD 新生大鼠的保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 福建省中医药研究院实验动物中心所提供的购自福建医科大学实验动物中心 7 日龄 SD 仔鼠, 体质量 (15 ± 5) g, 雌雄不限 (许可证号 SCXK (闽) 2012-0001)。仔鼠饲养于恒温 (22°C)、恒湿 (50%) 及每日 12 h 日光灯明暗交替 (明: 6:00~18:00, 暗: 18:00~6:00) 的实验室中。随机选取新生 PN7 仔鼠 32 只, 其中 24 只建立 HIBD 大鼠模型, 按照完全随机分组的原则分为模型组、电针长强组 (长强组)、电针非穴组 (非穴组) 各 8 只; 另 8 只仔鼠只分离左侧颈总动脉但不结扎剪断、亦不做缺氧处理作为假手术组。

1.2 主要仪器及试剂 称重器 (福日 FEJ-1000B: Max=1000 g, d=0.5 g), 手术器械 (北京医疗器械厂), 恒温箱水浴箱 (型号 700, 中国), SDZ-II 型华佗牌电子针疗仪 (苏州医疗用品厂有限公司), 自制常压缺氧舱: 60 cm×50 cm×40 cm, 8% O₂~92% N₂ 混合气 (福州华鑫达工业气体有限公司)

1.3 造模 依照 Rice 法^[6], 运用 Nakajima 等改良的动脉结扎法^[7] 建立缺血缺氧动物模型。在保持室温 25°C 左右的环境下, 腹腔注射 10% 水合氯醛将新生 7 日龄 SD 大鼠予以麻醉, 将大鼠仰卧位四肢固定于小手术板上, 用 75% 酒精予大鼠颈部皮肤消毒后行颈前中切口, 无菌条件下分离大鼠左侧颈总动脉, 运用外科 7-0 灭菌手术丝线双道结扎大鼠左侧颈总动脉后, 将丝线中间剪断, 予以伤口缝合并再次消毒皮肤后将大鼠放入恒温箱 (32.5°C) 2 h。随后将手术大鼠放入底层铺有钠石灰 (以吸收 CO₂ 和湿气) 并置于 37°C 电热恒温水浴中的常压缺氧舱中 (8% O₂~92% N₂ 混合气) 2 h。后再置于室温下约 1~2 h, 待其状态尚可后放回母鼠笼行母乳喂养。假手术组只分离左侧颈总动脉但不结扎剪断, 缝合皮肤后不做缺氧处理, 后与模型组同时返回母鼠笼中饲养。

1.4 治疗方法 仔鼠长至第 10 d, 用布和皮筋固定, 长强组用 0.25 mm×13 mm 毫针 (双极针) 直刺模型仔鼠长强穴 (长强穴: 参照《实验针灸学》^[8], 当尾骨端和肛门连线中点) 0.25 mm×7.8 mm, 电针接在双极针两端, 刺激 20 min (连续波, 频率为 2 Hz, 强度为 2 mA), 连续治疗 10 d 为 1 个疗程, 共 1 个疗程; 非穴组取右肋下缘一横指处 (非经非穴点, 且避开长强穴同神经节段), 余操作同长强组; 空白组和模型组在相同条件下饲养, 除布和皮筋固定, 不予干预。

1.5 指标检测及方法

1.5.1 体质量测评 分别取 PN7~PN21 (postnatal day, PN) 4 组仔鼠, 称重, 并对不同组别不同日龄体质量数值进行分析。

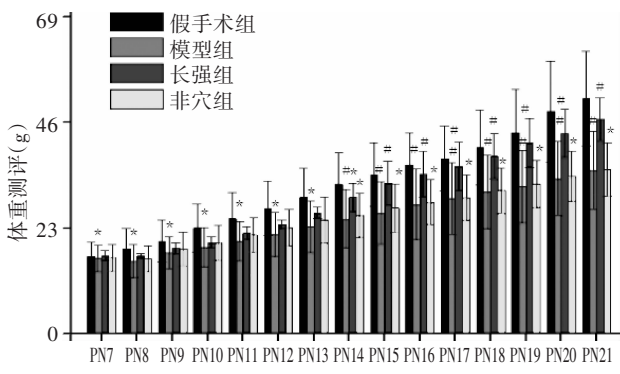
1.5.2 睁眼时间评定 分别观察 PN7~PN21 (postnatal day, PN) 4 组仔鼠睁眼情况, 并对不同组别睁眼日龄进行分析。

1.6 数据统计 应用 SPSS19.0 软件对实验数据进行统计, 满足正态分布者采用 ANOVA 分析, 不满足

正态分布者采用非参数检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 体质量测评 PN7~PN13: 与假手术组相比,模型组体质量下降,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。PN14: 与假手术组相比,模型组体质量下降,有显著性差异 ($P<0.05$);与模型组相比,长强组及非穴组体质量上升,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。PN15~PN21: 与假手术组相比,模型组体质量下降,有显著性差异 ($P<0.05$);与模型组相比,长强组体质量上升,有显著性差异 ($P<0.05$),非穴组体质量上升,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 1。



注:PN7~PN13:与假手术相比,* $P>0.05$;PN14:与假手术相比,* $P<0.05$,* $P>0.05$;PN15~PN21:与模型组相比,* $P<0.05$,* $P>0.05$

图 1 体质量测评

2.2 睁眼时间评定 与假手术组相比,模型组睁眼日龄下降,有显著性差异 ($P<0.05$);与模型组相比,长强组及非穴组睁眼日龄上升,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 睁眼时间评定($\bar{x} \pm s, d$)

组别	睁眼日龄
假手术组	12.75 ± 0.46
模型组	14.25 ± 0.89 [#]
长强组	13.38 ± 1.06 ^a
非穴组	13.75 ± 1.39 ^b

注:与假手术组相比,* $P<0.05$;与模型组比较,^a $P<0.05$,^b $P>0.05$

3 讨论

新生儿缺血缺氧脑病,指围产期窒息导致部分或完全缺氧,脑血流减少或暂停而引起胎儿或新生儿脑损伤^[9-10]。新生儿缺血缺氧后会造成脑细胞的能量代

谢衰竭、脑细胞内钙超载、细胞凋亡、血流动力学异常、自由基损伤、兴奋性氨基酸“兴奋毒”作用、一氧化氮参与作用,炎症细胞及炎性细胞因子作用,令其脑部产生水肿,进而出现神经元坏死、出血及脑梗死等改变,表现为肌张力、吸吮、拥抱异常;不同形式惊厥;呼吸衰竭,呼吸暂停;体质量下降、睁眼时间延缓、意识障碍、激惹、肢体颤抖、嗜睡,甚至昏迷^[11-15]。可见,新生儿缺血缺氧性脑病严重影响患儿的正常生长发育,甚至危及患儿的生命安全,因此需要采取有效的措施进行治疗。

缺血缺氧脑病的病位在脑,与心、肾等息息相关^[16-17]。督脉联系诸经,和心、脑、肾有着密切的关系。首先从循行分布上看,督脉与脑直接相关,说明督脉归属于脑,与脑的关系密切。此外,督脉联系心、肾二脏,二者与脑关系密切。心主神明,和脑一样都是人体情志、思维活动的中枢。脑为髓海,肾为藏精之府,精成而脑髓生,精足则令人能力坚强,智慧灵活。所以,从督脉论治脑病有其生理病理方面的直接理论依据。在长期的临床过程中,发现针刺长强穴可改善智障患儿的症状^[5]。长强穴,又名尾闾穴,为督脉的起始穴,位于尾骨端和肛门连线中点处。古人谓“长强-督脉-脑”紧密相连,如《难经》云:“督脉者,起于下极之俞……入属于脑。”长强穴即“下极之俞”,提示古人认为长强是督脉起始穴,且督脉同脑密切相关;脏腑精微多通过督脉上行于脑^[18],若督脉亏虚,则气血、津液未能上行入脑,造成脑髓的空虚^[19]。《医学入门》又云:“脑者髓之海,诸髓皆属于脑,故上至脑,下至尾骶……”,长强穴位于尾骶的附近,亦说明长强穴与脑息息相关。已有的动物研究发现,HIBD 幼鼠具有体质量增长缓慢、睁眼迟缓等发育障碍^[1];Huang 等^[20]研究亦发现,早期睁眼有利于脑海马穿通纤维突触的延伸,视觉刺激可促进脑海马发育,并影响与其相关的行为学表现,HIBD 大鼠睁眼迟缓抑制了其脑组织的发育。因而本实验通过观察 PN7~PN21 发育期内大鼠的体质量和睁眼日龄来分析长强穴对缺血缺氧脑损伤大鼠的干预作用。

本实验中体质量测评结果显示:PN7~PN13 之间模型大鼠体质量低于假手术组,但差异无统计学意义,提示大鼠在缺血缺氧早期的生长发育可能并无明显障碍;PN14~PN21 之间模型大鼠体质量低于假手

术组,且有显著性差异,提示缺血缺氧大鼠在 PN14 日龄之后具有体质量增长发育缺陷症状,与 Lubics 等^[21]等报道一致。PN14 日龄时长强组与非穴组体质量皆高于模型组大鼠,但差异无统计学意义,PN15~PN21 之间长强组体质量高于模型组大鼠,且有显著性差异,PN15~PN21 日龄非穴组体质量高于模型组大鼠,但差异无统计学意义,二者提示督脉长强穴在 PN15~PN21 日龄之间促进缺血缺氧脑损伤大鼠的体质量增长疗效可见,非经非穴组对体质量增长几乎无影响。睁眼时间评定结果显示:与假手术组相比,模型组睁眼日龄下降,有显著性差异,提示缺血缺氧脑损伤大鼠睁眼时间明显延迟,考虑与其结扎颈总动脉封闭翼腭动脉相关。长强组及非穴组睁眼时间较模型组皆早,但差异无统计学意义,提示长强组及非穴组虽对睁眼起刺激作用,但无明显疗效。上述结果可见,在体质量试验中大鼠 PN15~PN21 日龄督脉长强穴具有明显促进作用,而在 PN7~PN14 之间电针长强穴无明显作用,造成上述原因考虑:①电针长强穴在 PN15 日龄才起效?②电针长强穴针效累积至 PN15 起效?后续实验中可对上述疑问予以进一步深入,可对长强穴治疗缺血缺氧疾病的介入时间予以进一步明确。而电针长强穴对睁眼实验及非经非穴刺激对体质量、睁眼实验几乎无影响,可能考虑其实际疗效差或作用时间短且样本量少,后续实验亦可通过增加治疗时间和样本量来进一步观察其确切疗效。综上所述,在缺血缺氧大鼠发育早期,电针长强穴可通过促进缺血缺氧大鼠的体质量增长而改善其发育障碍。

参考文献:

- [1] 丁建伟,邵先桃,贾杰,等. 脊柱推拿促进缺血缺氧性脑病幼鼠生长发育的研究 [J]. 云南中医学院学报,2013,36(6):30-33.
- [2] ROGERS E E, BONIFACIO S L, GLASS H C, et al. Erythropoietin and hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Pediatr Neurol*, 2014, 51(5):657-662.
- [3] 赵琼. 新生儿缺氧缺血性脑病 48 例临床治疗体会 [J]. 山西中医学院学报,2002,3(3):42.
- [4] KURINCZUK J J, WHITE-KONING M, BADAWI N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy [J]. *Early Hum Dev.*, 2010, 86(6):329-338.
- [5] 吴强,韩平,王振宇,等. 针刺长强穴治疗精神发育迟滞患儿 57 例多中心临床研究报告 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(11):2668-2671.
- [6] VANNUCCI R C, BRIERLEY J B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat [J]. *Ann Neurol*, 1981, 9(2):131-141.
- [7] NAKAJIMA W, ISHIDA A, LANGE M S, et al. Apoptosis has a prolonged role in the neurodegeneration after hypoxic ischemia in the newborn rat [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(21):7994-8004.
- [8] 诸葛启钊. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:8-10.
- [9] 徐恒昀,曹和涛,徐金标. 新生儿缺血缺氧性脑病 CT 及 MRI 诊断比较[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志,2015(1):32-35.
- [10] 黑明燕. 孕晚期胎动减少与新生儿缺氧缺血性脑损伤 [J]. 中华实用儿科临床杂志,2015(14):1050-1052.
- [11] 贾艳玲. 新生儿缺血缺氧性脑病早期干预及预后观察 [J]. 中华脑血管病杂志(电子版),2011,5(4):305-308.
- [12] 刘郁,张海鹏. 缺血缺氧性脑损伤病理机制[J]. 中华急诊医学杂志,2003,12(7):496-497.
- [13] 谢集建. 缺氧缺血性脑损伤的发病机制研究进展 [J]. 国外医学·妇幼健康分册,2002,13(1):30-32.
- [14] WU Q, CHEN W, SINHA B, et al. Neuroprotective agents for neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Drug Discov Today*, 2015, 20(11):1372-1381.
- [15] 米粼. 新生儿缺氧缺血性脑损伤 [J]. 实用妇产科杂志, 1994(6):3.
- [16] 牛晓梅,殷克敬. 中医对新生儿缺血缺氧性脑病的认识及治疗研究展望[J]. 现代中医药,2004,(3):56-58.
- [17] 张怡,曾晓春,蒋迎佳. 中医对新生儿缺氧缺血性脑病的认识及治疗进展[J]. 中外女性健康研究,2015,(7):11-12.
- [18] 周丽,张允岭,孟繁兴. 针灸治疗血管性轻度认知障碍研究思路[J]. 山东中医药大学学报,2012,36(1):15-17.
- [19] 李国菁,王行宽. 中医对脑的认识[J]. 吉林中医药,2010(8):647-648.
- [20] HUANG Z, LIU J, CHEUNG P Y, et al. Long-term cognitive impairment and myelination deficiency in a rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Brain Research*, 2009, 1301:100-109.
- [21] LUBICS A, REGLODI D, TAMAS A, et al. Neurological reflexes and early motor behavior in rats subjected to neonatal hypoxic-ischemic injury [J]. *Behavioural Brain Research*, 2005, 157(1):157-165.