

· 基础研究 ·

电针结合磁刺激对脑缺血大鼠脑组织含水量和细胞外钙离子浓度的影响

黄晓琳 韩肖华 李春芳 胡晓晴 任恕

【摘要】目的 观察电针结合磁刺激对急性脑缺血大鼠脑组织含水量和细胞外钙离子含量的影响。**方法** 将 30 只雄性 Wistar 大鼠随机分成 5 组:正常组、模型组、电针组、磁刺激组和电针加磁刺激组,每组 6 只。制作急性大脑中动脉缺血模型,分别施以电针、磁刺激和电针加磁刺激,检测脑组织含水量和局部细胞外钙离子浓度。**结果** 单纯电针或磁刺激均能降低脑组织含水量和遏止细胞外钙离子浓度降低,而 2 者合用效果更优。**结论** 电针结合磁刺激能较好地改善急性脑缺血大鼠脑组织水肿和良性调节细胞外钙离子浓度。

【关键词】 电针; 磁刺激; 脑缺血; 脑组织含水量; 钙离子

The effects of electroacupuncture combined with transcranial magnetic stimulation on water content and extracellular calcium content of brain tissues after cerebral ischemia in rats HUANG Xiao-lin*, HAN Xiao-hua, LI Chun-fang, HU Xiao-qing, REN Shu. * Department of rehabilitation medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

【Abstract】Objective To observe the effects of electroacupuncture (EA) combined with transcranial magnetic stimulation (TMS) on water content and extracellular calcium content of brain tissue after cerebral ischemia in rats. **Methods** Thirty male Wistar rats were employed and divided randomly into 5 groups: the normal group, model group, EA group, TMS group and a EA plus TMS group. After the establishment of models of acute middle cerebral artery occlusion (MCAO), the rats were treated with EA, TMS and EA plus TMS, respectively. Then the water content and extracellular calcium content of the brain tissues were measured. The data were compared and analyzed among the groups. **Results** EA or TMS decreased the water content and inhibit the decrease of extracellular calcium content of brain tissue after cerebral ischemia in rats and better effect could be achieved with the combined use of EA with TMS. **Conclusion** EA plus TMS can effectively improve the cerebral edema and adjust the extracellular calcium content after cerebral ischemia in rats.

【Key words】 Electroacupuncture; Transcranial magnetic stimulation; Cerebral ischemia; Water/calcium content

急性脑梗死是老年人的常见病、多发病之一,严重危害患者的生命和健康,影响患者的生活质量。电针治疗急性脑梗死疗效肯定。我们以传统的电针治疗结合现代的磁刺激干预脑缺血大鼠,观察其对脑组织含水量和细胞外钙离子浓度的影响,报道如下。

材料与方法

一、动物分组与造模

1. 分组:30 只健康雄性 Wistar 大鼠(同济医学院实验动物中心提供),体重(200 ± 20) g,随机分成 5 组,即正常组、模型组、电针组、磁刺激组、电针加磁刺激组,每组 6 只。

2. 造模:参照廖维靖等^[1]和 Zea-Longa 等^[2]的大

鼠大脑中动脉缺血模型造模方法进行造模,即腹腔注射 6% 的水合氯醛(剂量为每公斤体重 350 mg);颈部正中切口,长约 2 cm,暴露右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)和颈外动脉(external carotid artery, ECA);0 号丝线结扎 ECA,分离与 CCA 伴行的迷走神经,在距 CCA 分叉处近端 0.5 ~ 0.6 cm 处结扎 CCA,在结扎线的远端置丝线备用;用微小动脉夹夹闭备用线远端的 CCA,在备用线的近端用眼科剪剪一小切口,将黑色 5/0 尼龙线线栓送进切口,向上推至动脉夹处,将备用线稍微扎紧,随即松开动脉夹;将线栓沿 CCA、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)顺行向上插入至大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)起始部,遇阻力时停止,从 CCA 分叉处计算插入深度为(1.9 ± 0.2) cm,造成大脑中动脉供血阻断(middle cerebral artery occlusion, MCAO)。

实验中正常组全部存活。在手术及术后治疗中,模型组死亡 3 只,电针组死亡 2 只,磁刺激组及电针加

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科(黄晓琳、韩肖华、李春芳),神经内科(胡晓晴);华中科技大学同济医学院生物医学工程实验室(任恕)

磁刺激组各死亡 1 只。为进行对比观察,及时补足所缺大鼠数,使实验结束时每组剩余大鼠数仍为 6 只,总共用大鼠 39 只。

二、模型神经功能缺损评分方法

大鼠清醒后,按 Bederson 方法进行肢体功能的神经缺损评分^[3]。标准为:0 分—无任何神经功能缺失;1 分—左前肢不能伸展;2 分—向左侧行走;3 分—向左侧转圈,成追尾状。24 只实验大鼠清醒后神经功能缺损总评分为 52 分。

三、治疗方法

1. 针刺组:于造模结束大鼠尚未清醒即开始针刺治疗,取“百会”、“水沟”穴(根据中国针灸学会实验针灸研究会 1992 年制定的“实验动物穴位标准”定位),用直径为 0.40 mm、长 25 mm 的华佗牌不锈钢毫针,“百会”斜向前刺入 10 mm,“水沟”直刺入 4 mm,然后接通 ZYZ-20GZ1 型高性能针灸治疗仪,“百会”接负极,“水沟”接正极,选用连续波,频率为 40 Hz,刺激强度以大鼠肢体轻微抖动为度,每天 1 次,每次 20 min,连续治疗 6 d。

2. 磁刺激组:于造模结束后 3 h 内给予磁刺激。采用英国产 Magstim 200 型磁刺激器(由华中科技大学同济医学院附属同济医院神经科提供),脉冲磁场的强度峰值为 2 T,最大输出强度取 70%,刺激频率为 0.5 Hz,利用直径为 4 cm 的圆形线圈,线圈边缘距离颅骨 1 cm,与大鼠右侧大脑半球相切,连续刺激 20 次,每天 2 遍,持续 6 d。

3. 电针加磁刺激组:于电针治疗结束后进行磁刺激,方法及参数分别与电针组、磁刺激组相同。

4. 正常组和模型组大鼠自然饲养,不作特殊处理。

四、细胞外钙离子浓度的测定

于第 6 天实验结束时,大鼠常规麻醉后,沿后正中线剪开大鼠顶部头皮,分离皮下组织,暴露颅骨,于后囟向前 0.5 cm,后正中线右侧旁开 0.3 cm 处用牙科钻钻开颅骨,暴露硬脑膜。应用中医传感针(为 28 号针灸针,经特殊工艺制作,由华中科技大学同济医学院生物医学工程实验室提供)测定脑组织细胞外钙离子浓度,即将传感针轻轻垂直刺入硬脑膜 0.2 cm,接通 PHS-3C 数字式精密酸度计进行检测,待约 2 s 后读数稳定时所得电压数值即可反应大脑皮层局部钙离子浓度。

五、大体观察

钙离子浓度测定结束后立即取正常组、模型组、电针组、磁刺激组和电针加磁刺激组大鼠各 1 只,断头取脑后立即置于生理盐水中轻轻冲洗,用数码相机拍摄大体照片,所拍照片作左、右侧和组间对照研究。

六、脑组织含水量的测定

最后取病灶侧大脑半球,称湿重后,在 100℃ 电热干燥箱中烘干至恒重,称干重,计算脑水含量[脑水含量(%) = (大脑湿重 - 大脑干重)/大脑湿重 × 100%]。

七、统计学分析

用 SPSS 11.0 统计软件,多组间比较用方差分析、两组间比较用 q 检验。

结 果

一、大体观察

正常组大鼠的大脑外观左右两侧对称,背侧表面血管呈淡红色,左、右分布基本均匀,血管数量未见明显差异。模型组大鼠取脑时,腹侧可见血栓头仍位于右侧 MCA 起始部,MCA 供血区组织苍白,右侧脑组织明显肿胀,显著不对称,大脑中线结构明显左移,右脑外侧血管可见明显扩张。3 个治疗组大鼠取脑时,腹侧亦可见血栓头位于右侧 MCA 起始部,MCA 供血区组织苍白,右侧脑组织肿胀不对称,无明显大脑中线结构移位,右脑外侧和背侧的血管可见扩张,但不如模型组大鼠明显。

二、各组大鼠脑组织含水量和钙离子浓度的比较

模型组脑组织含水量明显高于正常组($P < 0.05$)。电针组、磁刺激组和电针加磁刺激组治疗后脑组织含水量降低,与模型组比较差异有显著性($P < 0.05$)。后 3 组脑组织含水量之间比较无显著性差异($P > 0.05$)。正常组脑组织细胞外钙离子浓度为 (-44.46 ± 5.92) mV。模型组病灶局部细胞外钙离子浓度仅为 (-106.89 ± 14.60) mV,明显低于正常组($P < 0.01$),经过治疗后细胞外钙离子浓度与模型组比较均升高,其中尤以电针加磁刺激组升高明显($P < 0.01$)(表 1)。

表 1 各组大鼠脑组织含水量和钙离子浓度比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	脑组织含水量(%)	钙离子浓度(mV)
正常组	6	77.52 ± 0.69	-44.46 ± 5.92
模型组	6	$79.61 \pm 0.74^*$	$-106.89 \pm 14.60^{**}$
电针组	6	$77.85 \pm 0.90^{\#}$	$-81.37 \pm 8.30^{\#}$
磁刺激组	6	$78.09 \pm 0.82^{\#}$	$-81.30 \pm 7.97^{\#}$
电针加磁刺激组	6	$77.82 \pm 0.77^{\#}$	$-55.40 \pm 5.85^{##}$

注:表中以电压(mV)间接表示钙离子浓度,因为负值,故数值绝对值越大,浓度越低;与模型组比较, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;与正常组比较, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$

讨 论

作为一种传统的康复治疗方法,针刺用于治疗急性脑缺血疗效肯定。急性脑组织缺血后,能量耗竭、无氧糖酵解增加,产生大量的乳酸,细胞内酸中毒,细胞

膜通透性增高,继而发生细胞内水肿,从而引起脑容量增加,颅内压增高,可引发各种脑疝,严重威胁患者的生命。ATP 是组织细胞能够直接利用的唯一能量,被称为能的通用货币。杜元灏等^[4]观察到针刺能显著增强急性脑缺血大鼠脑组织 ATP 酶及细胞色素的活性,提示针刺可在疾病早期干预疾病发展过程中的能量代谢耗竭这一环节。戴高中等^[5]也证实电针能明显降低病损大鼠肿胀脑组织的含水量。钙离子作为一种细胞内第二信使参与多种细胞功能的调节。正常静息状态下,细胞内、外钙离子浓度相差约 10 000 倍,多种钙离子通道维持这种正常的浓度梯度,包括天门冬氨酸(NMDA)受体通道、电压依赖性钙离子通道等。在脑缺血缺氧病理状态下,细胞内、外钙离子平衡失调,使细胞内钙超载,从而引起缺血性脑损伤。郭义等^[6]的研究表明,针刺不仅能有效地降低病损大鼠脑组织细胞内钙离子浓度,而且还观察到针刺可遏止钙离子从细胞外向细胞内迁移。本实验以中医传感针直接插入病损脑组织局部,也观察到了相似的结果。

磁刺激即利用一定强度的时变磁场刺激,可兴奋组织,从而在组织内产生感应电场的过程。由于磁刺激有安全、无创、无副作用等优点,因而越来越受到人们的重视,目前已逐步用于中枢神经传导、神经疾病治疗及脑功能研究等各个方面,并取得了较好的效果。研究证明,低场强经颅磁刺激(TMS)可对神经系统钙离子活动、神经元兴奋性、神经递质等起到广泛的调节作用。磁刺激能干预钠离子、钙离子通道^[7],而 NMDA 等兴奋性氨基酸(EAA)不仅消耗 ATP,使细胞能量耗竭,而且它们的受体导致钠离子、钙离子大量流入细胞内,引发细胞内钙超载损害。有实验证实^[8],即使是在磁刺激结束后 24 h,仍可以观察到 NMDA 结合位点的持续增高。这都为磁刺激干预脑水肿和细胞内、外

钙离子含量提供了有力的实验依据。

我们用传统的电针刺激百会、水沟穴结合现代医学的磁刺激,通过中医传感针观测了不同组别间大鼠脑组织局部细胞外钙离子含量及脑组织含水量,结果提示:单纯电针或者磁刺激均能降低脑组织含水量和良性影响细胞外钙离子浓度,而两者结合治疗效果更优,为临床运用电针结合磁刺激对脑缺血患者进行早期康复治疗提供了有力的实验依据。

参 考 文 献

- 1 廖维靖,刘淑红,范明,等.线栓阻断大鼠大脑中动脉制作缺血性脑损伤模型的改良.中华物理医学与康复杂志,2002,24:349-352.
- 2 Zea-Longa E, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20:84-91.
- 3 Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurological examination. Stroke, 1986, 17:472-476.
- 4 杜元灏,石学敏.针刺对急性脑缺血鼠脑组织 ATP 酶及细胞色素氧化酶的影响.上海针灸杂志,1999,18:38-39.
- 5 戴高中,陈跃来,顾法隆,等.电针对脑出血大鼠脑组织病理形态学及脑组织含水量和神经损伤积分值的影响.中国中西医结合杂志,2002,22:133-135.
- 6 郭义,胡利民,张艳军,等.手十二井穴刺络放血对实验性脑缺血大鼠缺血区细胞外 Ca^{2+} 浓度影响的动态观察.针灸临床杂志,1999,15:48-50.
- 7 Ziemann U, Hallett M, Cohen LG. Mechanisms of deafferentation-induced plasticity in human motor cortex. J Neurosci, 1998, 18:7000-7007.
- 8 Kole MH, Fuchs E, Ziemann U, et al. Changes in 5-HT_{1A} and NMDA binding sites by a single rapid transcranial magnetic stimulation procedure in rats. Brain Res, 1999, 826:309-312.

(收稿日期:2003-02-10)

(本文编辑:郭正成)

· 消息 ·

骨科疾病康复治疗新技术培训班通知 (北京大学继续教育项目)

为推广和提高骨科常见疾病康复治疗技术,北京大学第一临床医学院将举办此次培训班。特请到英国国家物理治疗协会常务委员会委员、Glasgow 物理治疗及运动损伤医院院长 G. Smith 教授亲自主讲关节松动术在骨科疾病康复治疗中的应用。Smith 教授具有丰富的临床经验,而且是一位非常出色的讲师,曾在世界许多国家讲学。同时还请到国内知名专家讲授骨科疾病康复治疗概述、Mckenzie 疗法、骨科常见疾病的影像学表现、关节置换术及其康复治疗等。学习班以理论授课和技术演示相结合的方式,强调实用。时间为 2003 年 5 月 19 日~5 月 24 日(19 日全天报到)。学费 600 元,资料费 50 元。食宿统一安排,费用自理。考试合格者授予北京大学级 1 类继续教育学分 14 分及结业证。欢迎已开展或准备开展骨科疾病康复治疗的康复科、针灸和推拿科、理疗科及骨科的医、技人员参加。名额 50 人左右。回执请于 4 月 30 日前寄到:100034 北京大学第一医院物理医学康复科 黄真收。电话:(010)66171122 转 2455 或 2457。

北京大学第一临床医学院