

蒙医温针对局灶性脑缺血早期脑组织 VEGF 含量和脑水肿的影响

李玉棠 萨仁图雅 乌云格日勒 王月红 阿日嘎太 水 灵 乌力吉木仁 斯楞格 萨其拉

(内蒙古医科大学附属医院, 呼和浩特, 010020)

摘要 目的: 探讨蒙医温针对大鼠局灶性脑缺血再灌注后脑组织 VEGF 水平、脑梗死体积、脑含水量的影响。方法: 将雄性 SD 大鼠随机分为蒙医温针组、针刺组、尼莫地平组、假手术组、模型组 5 组。采用改良线栓法建立大鼠中动脉阻塞再灌注模型, 各组在造模成功 1 h 时进行治疗, 1 次/d, 假手术组和模型组不给于治疗。各组大鼠在术后 24 h 进行神经功能评分及测脑组织 VEGF 水平和脑梗死体积及脑含水量。结果: 假手术组无神经功能缺损症状, 蒙医温针组与各组比较脑组织 VEGF 含量有统计学意义, 各组脑梗死体积、脑含水量与假手术组比较均有统计学意义, 蒙医温针组脑梗死体积、脑含水量与模型组比较有统计学意义。结论: 蒙医温针有改善大鼠局灶性脑梗死后的神经功能和减轻脑水肿、降低脑梗死体积作用。蒙医温针治疗缺血性脑卒中中进行早期干预具有十分重要的临床意义。

关键词 蒙医温针疗法; 大脑中动脉阻塞再灌注; 神经功能; 血管内皮生长因子; 脑水肿

Effects on Mongolian Warm Acupuncture on VEGF Levels and Cerebral Edema of Brain Tissue in Early Focal Cerebral Ischemia

Li Yutang, Sarentuya, Wuyungerile Wangyuehong, Arigatai, Shuiling, Wulijimuren, Silengge, Saqila

(People's Hospital Affiliated to Inner Mongolia Medical University, Huhhot 010020, China)

Abstract Objective: To explore the effect of the Mongolian warm acupuncture on VEGF levels in brain tissue, infarct volume, brain water content in rats with cerebral ischemia after reperfusion. **Methods:** Male SD rats were randomly divided into Mongolian warm acupuncture group, acupuncture group, nimodipine group, sham operation group, and model group. Modified suture method was used to set up artery occlusion in rats occlusion and reperfusion model. Rats in each group except sham group and model group were treated for one hour once a day after being successfully modelled. The nerve function, VEGF levels in brain tissue, infarct volume and brain water content after 24 hours of surgery were measured. **Results:** The sham operation group had no nerve functional defect symptoms, and Mongolian warm acupuncture group showed significantly different outcomes in VEGF levels in the brain tissue compared with other groups; infarct volume and brain water content in each group were significantly different from those of the sham operation group, and Mongolian warm acupuncture group had significant differences in terms of infarct volume and brain water content compared with the model group. **Conclusion:** Mongolian warm acupuncture can improve rat neurological function after focal cerebral infarction and ease cerebral edema and reduce infarct volume effect. Mongolian warm acupuncture has very important clinical significance to treat ischemic stroke early intervention.

Key Words Mongolian Warm Acupuncture Therapy; Middle cerebral Artery Occlusion and Reperfusion; Nerve Function; Vascular Endothelial Growth Factor

中图分类号: R246 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.12.022

缺血性脑卒中是主要的卒中类型, 约占 70 ~ 80%, 而且我国缺血性脑卒中病例逐年增加和年轻化趋势^[1]。蒙医温针对缺血性脑血管病的治疗作用好, 能够改善脑卒中后神经功能缺损症状^[2-6]。为进一步了解蒙医温针早期治疗缺血性脑卒中的机制, 本次研究通过蒙医温针治疗大鼠脑缺血早期作用, 探讨其对神经功能缺损、脑梗死体积及血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 表达的影响, 为临床应用蒙医温针早期治疗缺血性脑血管病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物 将 SD 雄性大鼠 [体重 (280 ± 20) g], 由中国解放军医学科学院实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK-(军)2007-004。大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、药物对照组、常规针刺组、蒙医温针组, 16 只/组。

1.2 仪器与试剂 蒙医温针 MYL-I 治疗仪, 由内蒙古中蒙医科学技术责任有限公司提供; 德国徕卡 RM2016 轮转式切片机; 日本 Olympus BX51 显微镜; VEGF 试剂

盒、免疫组化试剂盒 SP-9000 购自北京环亚泰生物技术有限公司。

1.3 模型制备 采用 Zea Longa^[6] 方法并加以改进,制备急性脑缺血再灌注大鼠模型。假手术组只分离动脉,不结扎、插线。大鼠苏醒后参照 Zea Longa^[7] 方法评分。0 分:未见神经病学征象,无神经功能缺损症状。1 分:大鼠被提尾倒悬时,病灶右侧前肢呈屈曲、抬高状态,不能伸展右侧前爪。2 分:有向瘫痪侧旋转的征象,即行走右侧转圈。3 分:有向病灶对侧跌倒的征象,即行走困难并向右侧倾倒。4 分:不能自发行走,意识水平呈下降状态。达到 1~3 分为造模成功,采用差额补充的方法以保证每组实验动物例数。

1.4 干预方法 大鼠清醒后 1 h 进行治疗。蒙医温针组,选取顶会穴(位于从两眉正中与两耳叶上缘正中线,在头顶的交叉处)、赫依穴(位于背部正中,第七颈椎与第一胸椎间,下凹正中以及左右两侧约 5 mm 处各有一穴位),银针刺入 5 mm,连接电热针治疗仪(电流为 100 mA,温度控制为 40 ℃ 左右),留针 30 min;常规针刺组,选取大椎、气海、命门穴位,分别毫针直刺 5 mm、2 mm、4 mm,留针 30 min,留针期间每隔 10 min 行针 1 次;药物对照组,按照尼莫地平片 10.8 mg/(kg·d) 剂量,灌胃给药 1 次。模型组、假手术组:常规饲养于笼内,不进行任何干预治疗。

1.5 指标检测

1.5.1 神经功能评定 参照 Zea Longa^[7] 神经功能评分标准评分。在造模成功 24 h 时进行神经功能评分,观察大鼠的精神状态、活动情况、饮食及毛发光泽度等。

1.5.2 标本采集与检测 脑梗死体积、脑组织含水量及脑指数的测定:各组大鼠神经功能评分后随机取 8 只,用水合氯醛腹腔内注射麻醉后,迅速断头取脑,剔除嗅脑、低位脑干及小脑,称重。-20 ℃ 冷冻 10 min,脑组织做冠状切片,厚度为 2 mm 左右,切成 5 片。脑片置于 2% TTC 溶液中,37 ℃ 避光孵育 30 min。取出脑片用生理盐水冲洗 2 次,10% 甲醛固 24 h 后扫描,应用 IPP 6.0 图像分析软件分析计算每张切片梗死面积和切片对侧正常半球的面积,梗死严重程度定义为梗死面积/对侧半球面积,将各脑片的梗死面积与厚度的乘积进行累加,获得梗死体积,结果用百分数表示。

将染色后的脑组织用滤纸吸干水分,立即称取湿重,置于 105 ℃ 烤箱内烘干 24 h 至恒重后称取干重。脑组织含水量(%) = (脑湿重 - 脑干重)/脑湿重 × 100%。脑指数(%) = 脑重/体重 × 100%。

脑组织匀浆制的备与 VEGF 的测定:动物麻醉后,

迅速断头在冰盘上取脑,取缺血侧大脑,去除小脑和延髓部分,距额极 2.5 mm 向后切取约 10 mm 脑组织,称重后移入玻璃匀浆管中,按 1:9(w/v) 比例加入 9 倍体积的预冷生理盐水,冰盘上匀浆。制备好的 10% 匀浆,4 ℃,500 r/min 离心 10 min,提取上清液,按照 VEGF 试剂盒说明操作,用 ELISA 法测定大鼠脑组织 VEGF 含量。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,成组、成对资料均数比较采用 *t* 检验,多组间比较采用 oneway ANOVA 分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能评分比较 见表 1,假手术组大鼠无神经功能缺损症状。模型组和蒙医温针组比较,神经功能评分有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 1 各组大鼠缺血再灌注后 1 h、24 h 神经功能评分比较

(n = 8, $\bar{x} \pm s$)			
组别	神经功能评分 (1 h、治疗前)	神经功能评分 (24 h、治疗后)	脑组织 VEGF 含量 (pg/mL)
假手术组	—	—	54.241 2 ± 11.902 2
模型组	3.17 ± 0.71	3.00 ± 0.60	78.855 4 ± 4.623 2 *
药物对照组	3.12 ± 0.78 *	2.76 ± 0.56 △	122.182 2 ± 6.524 5 △
常规针刺组	3.10 ± 0.72 *	1.70 ± 0.80 △△	154.891 0 ± 14.284 4 △
蒙医温针组	3.15 ± 0.81 *	1.55 ± 0.76 △△	181.117 8 ± 23.252 6 ▲

注:与假手术组比较,**P* < 0.05;与模型组比较,△*P* < 0.05,△△*P* < 0.01;与药物对照组、常规针刺组比较,▲*P* < 0.05。

2.2 各组大鼠缺血再灌注后脑梗死体积、脑组织含水量、脑指数及血清 VEGF 比较 见表 2。

表 2 各组大鼠脑组织含水量、脑指数、脑梗死体积及脑组织 VEGF 比较(n = 8, $\bar{x} \pm s$)

组别	含水量(%)	脑指数	脑梗死体积(%)
假手术组	0.761 2 ± 0.009 1	0.757 0 ± 0.034 6	—
模型组	0.775 2 ± 0.006 6 △△	0.842 2 ± 0.056 4 *	77.30 ± 2.62
药物对照组	0.768 0 ± 0.008 9 △	0.761 7 ± 0.062 4 △△	74.33 ± 2.36
常规针刺组	0.773 4 ± 0.006 2	0.798 4 ± 0.048 4	55.65 ± 4.12 △
蒙医温针组	0.768 2 ± 0.005 6 △	0.782 8 ± 0.062 2 △	34.93 ± 3.23 △△

注:与假手术组比较,**P* < 0.05;与模型组比较,△*P* < 0.05,△△*P* < 0.01。

3 讨论

缺血性脑卒中在蒙医学上属萨病范畴,多见于老年人,主要因赫依偏盛引起,赫依与血相搏,气滞、血瘀,导致气血运行与流通障碍为本病病机,继而损伤脑部的黑脉并引起白脉之海——脑之缺血、受损而致病^[8]。由于老年人属赫依偏盛型体质,容易大脑、心脏等器官缺血,人体的三根和七素之间的动态平衡关系失调^[9]。蒙医温针疗法是用特制的银针在人体的固定部位或其它部位给予针刺加温灸刺激,达到预防、康复

和治疗疾病目的的一种蒙医传统疗法^[10]。本疗法具有改善气血运行、散积消聚、改善脏腑功能、神志清明、改善气血循行、调节赫依巴达干的功能失调等功效,且有疗效快而简便易行等优点^[8-10]。长期的临床实践可验证其减轻脑损伤,促进神经功能康复,改善患者临床症状等作用^[5-6,11-12]。本次研究选用了会穴、赫依穴、顶会穴:主治巴达干、赫依性头痛、青哑症、神志不清、妇女赫依瘀症、癫狂,由于赫依情志抑郁、热邪窜于心及命脉等病症,治疗脑及心、命脉病多用此穴^[10];赫依穴:主治癫狂、颤抖、心悸、哑结、耳聋、颈项强直等各种赫依病,对心、脑、脊髓白脉病有独特疗效^[10]。

蒙医温针疗法有针刺与温热刺激作用。资料显示,热刺激作用于机体局部,可使组织温度上升,在一定范围内血管扩张,血流加速^[13]。具有改善气血循行、调节赫依巴达干的功能失调、提高机体免疫功能,激发调动和增强机体的抗病能力等作用^[14],具有抗炎、止痛,调节神经和内分泌系统作用^[15-16]。实验性急性脑缺血时,脑内可有大量微血栓形成,造成与急性脑血管疾病病理生理学相似的改变^[17]。本实验结果显示大鼠脑缺血再灌注后脑指数、脑组织含水量和 VEGF 均明显增加,脑组织形态学发生改变;而蒙医温针疗法早期干预缺血性脑卒中可使减小脑指数、缓解脑水肿,促进 VEGF 的产生;从而促进脑组织的血液供应,改善脑梗死后的神经功能,有助于临床症状的改善。这正与蒙医温针的传统理论及临床作用相吻合。

VEGF 是促进血管增生的重要因子,不仅可以诱导内皮细胞的增殖、促进微血管的形成,还能直接作用于多种类型的神经细胞,发挥神经营养及保护作用,可增强细胞活性和存活能力,并能促进轴突再生^[18-19],蒙医温针作用于顶会穴、赫依穴,减轻脑水肿、脑组织梗死及神经功能缺损,这可能与蒙医温针诱导细胞表达 VEGF,促进脑微循环血液灌流,改善脑组织的缺血状态,减轻半暗带脑组织的缺血性损伤有关。

参考文献

- [1] 任岩,曹余恒,李杰萍,等. 补阳还五汤对大鼠脑缺血再灌注损伤后神经细胞凋亡和 Caspase-3 基因表达的影响[J]. 中国医学创新, 2014, 11(13): 16-18.
- [2] 李玉棠,阿古拉. 蒙医温针配合蒙药治疗颈动脉狭窄症的经验总结

- [J]. 中国蒙医药, 2011, 30(4): 289-290.
- [3] 赞丹. 脑血管疾病临床研究近况[J]. 中国蒙医药(蒙文版), 2010, 4(5): 18-22.
- [4] 李玉棠,阿古拉,阿日嘎太. 蒙医温针对缺血性脑血管病的早期干预意义[J]. 中国民族医药杂志, 2012, 12(3): 33-35.
- [5] 李玉棠,包智红. 蒙医温针治疗缺血性脑卒中的临床疗效研究[J]. 中国蒙医药, 2012, 2(19): 51-54.
- [6] 赞丹. 脑血管疾病临床研究近况[J]. 中国蒙医药(蒙文版), 2010, 4(5): 18-22.
- [7] Longa, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery Occlusion without craniotomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84.
- [8] 伊喜巴拉珠尔. 四部甘露[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1998: 60-74, 322-324.
- [9] 策·苏荣扎布. 蒙古学百科全书·蒙医卷[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2004: 1, 31, 32.
- [10] 阿古拉. 蒙医传统疗法大成(蒙文版)[M]. 赤峰: 内蒙古科技出版社, 2000: 12, 128-132.
- [11] 李立, 奥·乌力吉, 张春花, 等. 蒙医药治疗脑梗塞的研究进展[J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2008, 23(3): 333-337.
- [12] 李玉棠. 治疗缺血性脑血管病的临床研究进展[J]. 中国蒙医药, 2014, 5(9): 61-66.
- [13] 乔志恒, 范维铭. 物理治疗学全书[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001: 833.
- [14] 霍布仁. 蒙医温针作用机理的初探[J]. 中国民族医药杂志, 2006, 23(5): 76.
- [15] 阿古拉, 卢峻, 陈英松, 等. 蒙医温针对疲劳大鼠作用的神经内分泌机制研究[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 9(31): 643-646.
- [16] 阿古拉, 苏朝鲁门, 张朝鲁门, 等. 蒙医温针对疲劳大鼠行为学及下丘脑组织中单胺类神经递质含量的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(1): 129-132.
- [17] 宋学萍, 孙盛同, 杨俊, 等. VEGF 在局灶性脑缺血大鼠中表达规律的研究[J]. 现代医院, 2013, 13(7): 24-26.
- [18] Fan Y, Yang GY. Therapeutic angiogenesis for brain ischemia: A brief review[J]. Neuroimmune Pharmacol, 2007, 2(322): 521-528.
- [19] Guo S, Kim WJ, Lok J, et al. Neuroprotection via matrix-trophic coupling between cerebral endothelial cells and neurons[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(21): 7582-7587.

(2014-09-14 收稿 责任编辑: 徐颖)