

电针三阴交对自然更年期大鼠焦虑行为学的影响

徐 玲 李 由 秦 卓 程 凯

(北京中医药大学针灸推拿学院, 北京, 100029)

摘要 目的:观察电针三阴交穴对自然更年期大鼠焦虑行为学的影响。方法:将大鼠分为正常组、模型组和治疗组,治疗组在三阴交穴处进行电针,隔日 1 次,共治疗 15 次。正常组、模型组常规饲养,隔日抓取刺激。记录在高架十字迷宫实验中焦虑行为数据(进入开放臂次数、向下探究次数、封闭臂后腿直立次数和进入开放臂时间等)。结果:与正常对照组比较,模型组的 OE%、OT% 均显著减少,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),HD 值均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)表现出明显的焦虑症状,模型组、治疗组的 OE + CE 差异均无统计学意义($P > 0.05$);与模型组比较,治疗组的 OE% 及 OT% 均显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),治疗组的 HD 值明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);RE 值无统计学意义。结论:电针三阴交有一定的抗焦虑作用。

关键词 电针;高架十字迷宫;自然更年期大鼠;三阴交

Effect of Electrical Acupuncture (EA) in Sanyinjiao Acupoint on Anxiety Behavior of Natural Climacterium

Xu Ling, Li You, Qin Zhuo, Cheng Kai

(School of Acupuncture-moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To observe the effect of electrical acupuncture in Sanyinjiao acupoint on anxiety-like behavior of natural climacterium rats. **Methods:** The rats were divided into normal control group, model group and treatment group. Rats in the treatment group were given electro-acupuncture at Sanyinjiao acupoint once every other day for 15 sessions. Rats in the other two groups were fed with conventional methods, and received stimulation every other day. The data of anxiety behavior were recorded, including times of entering the open arm, times of rear leg upright standing in the closed arm, time entering the open arm, etc. **Results:** Compared with normal control group, the percentages of close-area time (OE%) and open-area time (OT%) showed an decreasing trend in model group, and the difference was significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$) which showed significant symptoms of anxiety; but the difference of OE and CE between the model group and treatment group was not statistically significant ($P > 0.05$); compared with model group, the percentages of OE and OT increased greatly, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); the value of HD in model group increased greatly, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$), the HD value in treatment group showed a downward trend, and the difference was significant ($P < 0.05$), but the RE value was not statistically significant. **Conclusion:** Electrical acupuncture in Sanyinjiao acupoint shows certain anti-anxiety effect.

Key Words EA; Elevated plus maze; Natural Menopause rat; Sanyinjiao

中图分类号:R-332;R246.3 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.05.027

围绝经期综合征(Peri-menopausal Syndrome, PMS)是妇科的常见病,指妇女绝经前后因卵巢功能衰退,出现性激素波动或减少所致的以植物神经系统功能紊乱为主,伴有神经心理症状的一组症候群^[1],调查显示,2030 年我国 50 岁以上妇女将达 2.8 亿,当今社会的激烈竞争,生活作息的不规律等都影响着围绝经期妇女的身心健康^[2]。在围绝经期这一过程中,由于卵巢功能逐渐退化,大部分 PMS 患者因不能适应围绝经期的生理变化而表现出特有的身心症状,如因植物神经功能紊乱而出现的阵发性潮热、眩晕、出汗、失眠耳鸣,焦虑不安等^[3]。围绝经期焦虑症临床表现为焦虑不安、心烦、失眠、敏感多疑等症状,常困扰更年期妇女。研

究发现,大约 75% 左右的更年期妇女出现神经精神症状,10% ~ 15% 妇女因症状较严重需要接受治疗^[4]。本实验以自然衰老更年期大鼠为模型,通过电针三阴交治疗后,对大鼠进行高架十字迷宫实验,采用动物行为活动分析系统来分析判定行为学指标,以初步评价电针三阴交穴对更年期大鼠焦虑行为学的改善作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型制备 根据文献方法,11 ~ 15 月龄雌性 SD 大鼠机体病理生理与妇女更年期类似,表明已进入更年期。故我们选取 11 ~ 15 月龄雌性 SD 大鼠作为本实验的动物模型。阴道组织涂片法是有效区分大鼠动情周期各个阶段的一种简便方法^[5],

通过阴道涂片法即每日定时将大鼠的阴道涂片用碱性美蓝溶液染色后在显微镜下观察其组织学变化,连续观察3个动情周期(15 d),根据细胞形态、种类及数量筛选符合围绝经期变化规律的大鼠16只,体重(320 ± 20)g。根据随机数字法分为:更年期对照组(模型组)8只和电针治疗组(治疗组)8只。另将3个月龄大鼠8只作为青年对照组(正常组),体重(220 ± 20)g,共3组。所有SD大鼠均为清洁级,由北京维通利华动物中心提供(许可证编号为SCXK(京)2012-0001)。动物置于清洁柜中,实验室内温度保持在(20 ± 2)℃,湿度为65%,12 h光暗周期,自由摄食和饮水。

1.2 仪器 高架十字迷宫、高架十字迷宫视频分析系统、韩氏穴位神经刺激仪(北京华卫公司)高架十字迷宫结构:由2条相对的开放臂(Open Arm,长×宽分别为45 cm×15 cm)、两条相对的封闭臂(Enclosed Arm,长×宽×高分别为45 cm×15 cm×30 cm)及一个联接4条臂的中央平台(Central Platform,15 cm×15 cm)组成,即开放臂-中央平台-开放臂或封闭臂-中央平台-封闭臂,此二者互相垂直成为“十”(plus)形状。封闭臂顶部开放。迷宫四条臂合中央平台均为深灰色,整体固定于铁制支架上,使其距地面高度为50 cm。在中央平台上方安置摄像头。毫针:华佗牌不锈钢针灸针(规格:长13 mm,直径0.22 mm;苏州华佗医疗器械有限公司制造)。

1.3 针刺治疗 穴位定位和刺法参考林文注主编《实验针灸学》选取双侧三阴交穴,直刺3 mm,进行电针刺激,采用疏密波,频率2/100 Hz,强度以针柄轻微抖动为宜,每次留针20 min。隔日1次,共计15次。其他各组常规饲养,隔日抓取。

1.4 行为学观测方法 操作间内保持较暗的光线(以1.5 m距离处能区分大鼠细微活动的最低亮度为准)、室温24℃、安静条件下进行。迷宫测试开始前将待测大鼠放入1个鼠笼内,任其自由探究5 min后迅速放于迷宫的中央平台处,使其头部正对其中任一开放臂,释放后即开始观察测试并同步录像。每只大鼠测试5 min。取出大鼠后,用干抹布蘸75%乙醇及时清除每只动物的排泄物,待乙醇挥发扩散后,再进行下一只大鼠的测试。

1.5 行为学观察指标 1)进入开放臂次数(Open Arm Entry, OE):进入到任一开放臂的次数,以大鼠4个爪子均进入到臂内为准,中途一个爪子从该臂中完全退出则为该次进入活动完成;2)进入开放臂时间(Open Arm Time, OT),单位:s;3)进入封闭臂次数(Close Arm Entry, CE):进入到任一封闭臂的次数,以

大鼠4个爪子均进入到臂内为准;4)进入封闭臂时间(Close Arm Time, CT),单位:s;5)OE百分率=OE/(OE+CE)×100%;6)OT百分率=OT/(OT+CT)×100%;7)进入开放臂和封闭臂的总次数(OE+CE):表示大鼠的运动活力;8)向下探究次数(Head Dipping, HD):大鼠置身于中央平台或开放臂时,一边用前爪抓住迷宫边缘,一边把头部和肩部伸出开放臂的边缘向迷宫外面探究的行为次数;9)封闭臂内后腿直立次数(Rearing, RE):大鼠在封闭臂内前腿抬起以后腿支持使身体竖立的次数。

1.6 分析及数据处理方法 运用国际公认的荷兰Noldus公司开发的动物行为活动标记分析系统The Observer 5.0和Etho Vision 3.0两套软件对各组大鼠有关自主活动、学习与记忆、焦虑等行为进行分析评价。采用SPSS 17.0统计软件进行统计,数据以均数±标准差表示,先进行正态分布检验,计量资料进行单因素方差分析,方差不齐者用秩和检验。

2 结果

2.1 电针三阴交对大鼠OE%、OT%、OE+CE的影响 与正常对照组比较,模型组的OE%、OT%均显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$)表现出明显的焦虑症状。与模型组比较,治疗组的OE%及OT%均显著增高($P < 0.05$)。(见表1)

表1 各组大鼠OE、OT和OE+CE比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	OE/%	OT/%	OE+CE
正常组	8	32.89 ± 14.27	21.20 ± 11.99	12.63 ± 2.27
模型组	8	14.44 ± 3.85 [△]	3.10 ± 0.64 ^{△△}	9.13 ± 3.83
治疗组	8	26.85 ± 5.99 [*]	12.70 ± 4.01 ^{*△}	11.75 ± 2.49

注:与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,与正常组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$ 。

2.2 电针三阴交对大鼠HD和RE的影响 与正常组比较,模型组的HD值均显著升高($P < 0.01$),表现明显的焦虑症状。与模型组比较,治疗组的HD值显著降低($P < 0.05$)。(见表2)

表2 各组大鼠的HD和RE比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HD	RE
正常组	8	4.63 ± 0.92	10.13 ± 4.88
模型组	8	7.75 ± 3.01 ^{△△}	14.00 ± 4.50
治疗组	8	5.75 ± 1.04 [*]	11.50 ± 1.31

注:与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,与正常组比较,^{△△} $P < 0.01$ 。

3 讨论

围绝经期综合征中医称为“绝经前后诸症”范畴,历代文献关于本病的论述散见于“脏躁”“心悸”“失眠”“眩晕”“头痛”“郁证”等病症中^[6]。其病机主要

为肾气虚,天癸竭,冲任脉虚,脏腑气血功能失调。随着我国人口结构不断老龄化和社会竞争日益激烈,不良的工作环境、家庭关系紧张及精神等因素影响,妇女进入更年期逐渐增加、年龄提早,从而使围绝经期焦虑症的发病率亦明显增加^[7]。因此治疗和缓解更年期综合征焦虑症具有重要的社会意义。

三阴交在调节内分泌、镇痛、调节神经递质、增强免疫功能、调节血流变以及对子宫肌电收缩影响和大脑中枢参与方面已取得一定认识^[8]。三阴交作为足太阴脾经经穴,又是足太阴、足厥阴、足少阴三条经脉的交会穴,本穴在千金方中言其别名为承命、太阴^[9],具有补脾胃,助运化,化浊利湿,通经活络,调和气血,滋补肝肾之功效,妇女的生理特点与肝脾肾三脏关系密切,因此三阴交穴在治疗妇科病症方面有着独特的优势,常作为妇科疾病的首选穴位。本实验通过电针三阴交穴,来改善围绝经期所出现的身心症状。

90%的围绝经女性拥有完整的卵巢,且其激素水平呈现逐渐衰退过程^[10],去势模型大鼠除影响雌激素外还使促性腺激素释放激素、黄体生成素及促卵泡素等水平快速下降^[11]。不仅如此,卵巢的摘除还会影响雄激素的水平^[12]。采用X线照射破坏卵巢所致症状来反映围绝经期综合征主要表现,但经X线照射后可明显出现放射线肠炎症状,严重可伴有大鼠死亡^[13]。总之采用去势模型和X线照射破坏卵巢模型虽然能达到激素水平的变化,但不能准确地模拟自然衰老过程出现的病理生理变化。本实验以自然衰老更年期大鼠为模型,因围绝经期出现的机体变化不是单纯卵巢的生理改变和相关激素水平的变化,而是机体整体的改变,由于大鼠在自然衰老过程中未受到人为地干预,其机体生理病理的变化与人类围绝经期的变化极为相似,可较客观地反映人体的变化过程。这也符合中医顺应自然的理论。

实验中所采用的高架十字迷宫是国际公认的动物焦虑行为测评的首选装置。利用动物对新异环境的探究特性和对高悬敞开臂的恐惧形成动物的矛盾冲突来考察动物的焦虑状态^[14]。并且其作为焦虑大鼠模型的评价方法具有很好的复测信度^[15]。观察实验指标以大鼠OE%与OT%反映大鼠焦虑状态;以(OE+CE)反映大鼠的运动能力;以开放臂和中央区HD次数反映在非保护区的探索行为^[16],与焦虑程度具有相关性;封闭臂RE值也可用来观察电针三阴交有无镇静作用及镇静强度。本实验结果中,模型组的OE%、

OT%分别为(14.44 ± 3.85)、(3.10 ± 0.64)表明自然衰老更年期大鼠较少进入或者停留于开放臂,而趋向探究封闭臂,而电针治疗组的OE%、OT%值分别为(26.85 ± 5.99)、(12.70 ± 4.01)较模型对照组显著增加($P < 0.05$),说明该组大鼠对开放臂和非保护区的探究增加,提示电针三阴交具有抗焦虑作用。与模型组比较,治疗组的HD值显著降低,HD具有统计学意义($P < 0.01$),因此,我们可以认为电针三阴交具有一定的抗焦虑作用。

参考文献

- [1] 王东芹,张金菊,范玉婵. 围绝经期综合征的中医药研究现状[J]. 江苏中医药,2011,43(1):92-93.
- [2] 郑锦,李倩,宋琳奕,等. 上海市社区人群围绝经期综合征的流行病学调查[J]. 中华中医药学刊,2011,29(3):505-508.
- [3] 陈莹,李红. 调体治未病预防围绝经期综合征[J]. 中医药通报,2012,11(1):26.
- [4] 吴海芬. 中医药治疗更年期焦虑症44例[J]. 福建中医药,2012,43(5):44-45.
- [5] 王洁,吴素慧,尚海霞. 性成熟雌性SD大鼠动情周期的观察[J]. 当代医学,2013,19(28):25-26.
- [6] 靳冉,瞿建英,岳枫,等. 二至百合浓缩膏对去势雌性大鼠焦虑行为学的影响[J]. 中华医药科学,2013,3(12):20-22.
- [7] 秦莉花,李晟,易霞,等. 中医药治疗更年期焦虑症的思考[J]. 中国现代医药杂志,2012,14(11):128-130.
- [8] 卢承顶,张永臣. 10年来三阴交穴针灸机理研究[J]. 河南中医,2012,32(2):224-225.
- [9] 巩昌镇,陈少宗,郭珊珊,等. 三阴交[M]. 北京:中国医药科技出版社,2012:2.
- [10] Acosta JJ, Mayer LP, Braden BB, et al. The cognitive effects of conjugated equine estrogens depend on whether menopause etiology is transitional or surgical[J]. Endocrinology,2010,151(8):3795-3804.
- [11] Rocca WA, Grossardt BR, Shuster LT, et al. Oophorectomy, menopause, estrogen treatment, and cognitive aging: clinical evidence for a window of opportunity[J]. Brain research,2011,1379:188-198.
- [12] Rivera Z, Christian PJ, Marion SL, et al. Steroidogenic capacity of residual ovarian tissue in 4-vinylcyclohexene diepoxide-treated mice[J]. Biology of reproduction,2009,80(2):328-336.
- [13] 樊官伟,苏李娜,郭茂娟. 围绝经期综合征实验模型研究进展[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(1):184-185.
- [14] Foreman MM, Hanania T, Eller M. Anxiolytic effects of la-motrigine and JZP-4 in the elevated plus maze and in the four plate conflict test[J]. Eur J Pharmacol,2009,602(2-3):316-320.
- [15] 宗绍波,魏盛,苏云祥,等. 焦虑大鼠模型高架十字迷宫实验的复测信度检验及参数相关性分析[J]. 中国医药导报,2011,8(30):5-7.
- [16] 韦史利,赵学军. 逍遥丸对高架十字迷宫小鼠行为影响的实验研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(6):265-266.

(2013-12-26 收稿 责任编辑:曹柏)