

穴位注射胞二磷胆碱对创伤性脑损伤大鼠神经功能障碍的影响

郭知学, 李鸥, 汪春

【摘要】 目的:观察足三里穴位注射胞二磷胆碱疗法对创伤性脑损伤大鼠神经功能的影响。方法:成年健康雄性SD大鼠40只,采用改进的Feeney法建立大鼠脑损伤模型,设假手术组大鼠8只(A组),造模成功大鼠32只随机分为穴位注射组(B组)、穴位注水组(C组)、腹腔给药组(D组)和对照组(E组)各8只。造模后每日B、C、D、E组分别给予足三里穴位注射胞二磷胆碱及生理盐水、腹腔注射胞二磷胆碱及生理盐水处理,连续14d。采用神经功能缺损评分、斜板试验及平衡试验观察造模后第1、2、4、6、8、10、12、14天各处理方法对大鼠的神经行为的影响。结果:致伤后第1天B、C、D、E组大鼠神经行为学评分及平衡能力评分均较致伤前及A组明显增加($P<0.05$)。伤后评分逐渐下降,B组大鼠得分除第1天外均低于C、D、E组($P<0.05$),C、D、E组各时间点比较评分差异无统计学意义。致伤后B、C、D、E组爬坡角度均较致伤前及A组明显下降($P<0.05$),B组大鼠在致伤第2天开始爬坡角度明显大于C、D、E组($P<0.05$)。结论:穴位注射胞二磷胆碱能明显促进脑创伤大鼠神经功能的恢复。

【关键词】 脑损伤;胞二磷胆碱;穴位疗法;神经功能

【中图分类号】 R49;R651.15 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2013.02.003

Effects of the citicoline acupuncture point injection on neural dysfunction after brain trauma in rats GUO Zhi-xue, LI Ou, WANG Chun, Department of Rehabilitation Medicine, Hangzhou Sanitarium of Nanjing Military Area, Hangzhou 310007, China

【Abstract】 Objective: To investigate the effects of injection of citicoline into Zusanli point on neural dysfunction of rats following traumatic brain injury. Methods: Forty healthy adult male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups: sham-operated group (A), acupuncture point drug injection group (B), acupuncture point saline injection group (C), intraperitoneal drug injection group (D) and control group (E). Opened brain trauma was induced by the improved Feeney method in the 32 rats of groups B, C, D and E. Eight sham-operated rats were subjected to the same surgical procedure, except brain injury. The rats in groups B and C were treated with acupuncture injection of citicoline or saline daily respectively. The rats in groups D and E were treated with intraperitoneal injection of citicoline or saline daily respectively. The treatment continued for 14 days. On the 1st, 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th, 12th and 14th day after injury, the alteration of neural function in rats was assessed by using neurological severity score, balance test and slanting board test. Results: The neurological severity score and the balance test score in groups B, C, D and E were increased significantly as compared with those before injury and in group A on the 1st day after injury ($P<0.05$), then gradually decreased. The scores in group B were lower than in groups C, D and E except the 1st day after injury ($P<0.05$). The inclined board angle in groups B, C, D and E was decreased markedly as compared with that before injury and in group A ($P<0.05$). The inclined board angle in group B was more than that in groups C, D and E from the 2nd day after injury ($P<0.05$). Conclusion: Acupuncture point drug injection therapy could significantly promote the recovery of neural dysfunction after traumatic brain injury.

【Key words】 traumatic brain injury; citicoline; acupuncture therapy; neural function

脑外伤是最常见的严重致残性神经系统伤病,常遗有肢体运动功能障碍^[1-2]。穴位注射疗法是在传统的针灸疗法基础上,选择合适的穴位注入适量液体药

物,以防治各类疾病的方法。本实验观察足三里穴位注射胞二磷胆碱对脑创伤大鼠平衡及运动功能的影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 ①实验动物:成年健康雄性SD大鼠40只,体质量250~300g,由第三军医大学野战外科研究

基金项目:南京军区杭州疗养院院管课题(201004)

收稿日期:2012-09-13

作者单位:南京军区杭州疗养院康复科,杭州310007

作者简介:郭知学(1965-),男,主任医师,主要从事脑损伤及老年病的康复研究。

所实验动物中心提供。②药品:注射用胞二磷胆碱钠 0.5g/瓶,购自闽东力捷迅公司。

1.2 方法 ①模型制备及分组。采用改进的 Feeney 法制作自由落体脑损伤模型^[3]。大鼠术前均禁食 8h,禁水 2h,10%水合氯醛腹腔内注射麻醉后,俯卧固定于脑立体定位仪上。右侧颅顶部备皮,常规消毒铺巾,选取右侧颅顶旁正中切口,长约 3cm,分离皮肤,切开骨膜,向两侧分离,露出约 1cm×1cm 大小的颅骨。以前囟后 1.5mm 处为中心钻孔,蚊式钳扩大骨窗至 4mm。保持硬膜完整。将其置于自由落体底部,40g 砝码沿 25cm 高处滑下,撞击于骨窗之硬膜上,致伤面积 1cm²,下陷深度约 2mm。假手术组(A 组)大鼠 8 只,麻醉后同样皮肤切口及缝合,但不进行重力撞击。造模成功大鼠 32 只随机分为穴位注药组(B 组)、穴位注水组(C 组)、腹腔给药组(D 组)和腹腔注水组(E 组)各 8 只。②干预方法。B 组:胞二磷胆碱粉针以生理盐水溶解为 500mg/ml,500mg/kg 体质量,足三里穴位注射,注射体积 0.25~0.3ml。足三里穴定位采用拟人比照法(大鼠后膝关节外下方腓骨小头下约 5mm 处,直刺 5mm);C 组:足三里穴注射等体积生理盐水;D 组:胞二磷胆碱 500mg/kg 体质量腹腔注射;E 组:造模后腹腔注射等体积生理盐水;A 组:不造模腹腔注射等体积生理盐水。各组注药、注水均于致伤后 30min 开始首次注射,每日 1 次,连续给药 14d。

1.3 检测指标 于致伤前,致伤后第 1、2、4、6、8、10、12 及 14d 分别进行神经症状评分、斜板及平衡试验。致伤当天为第 1 天,手术后 4h 开始各项神经功能评价和试验。①大鼠神经功能缺损评分^[4],提鼠尾离开地面约 30cm,观察两前肢状况;将大鼠置于水平地面,分别从两侧推动其双肩,观察两侧抵抗力有无差异;大鼠置于地面,观察行走情况。采用 5 级评分法:0 分,行为完全正常,步态平稳;1 分,提起鼠尾离开地面,非损伤侧前肢内旋、内收;2 分,将大鼠置于地面,推动大鼠躯体检查两侧抗力,非损伤侧抗力下降;3 分,将大鼠置于地面,观察其行走,只向一侧转圈;4 分,无法站立或虽能站立但不能自行行走。②斜板试验,采用 Rivlin 法^[5],将大鼠放置于自制斜板上,上面垫一 5mm 橡胶垫,斜板可绕下边旋转,将大鼠身体纵轴与斜板纵轴平行放置,大鼠头朝斜板抬高侧,斜板倾斜角度从 0°开始缓慢上升。逐渐增大角度,直至大鼠停留在斜板上维持至少 5s 时的最大角度,每次测试 3 遍,取其平均值。③平衡试验^[6],将大鼠置于一宽 1.5cm 的木条上,木条下端悬空,另一端固定于一块 40cm×40cm 的平板中心,以防大鼠从木条上爬到桌面上影响实验。木条下备有软垫以防大鼠掉下时跌伤。根据在 2min

内大鼠的平衡能力行神经学评分:1 分,在木条上站稳,无摇晃;2 分,在木条上站稳,左右摇晃,未下滑;3 分,在木条上站立,下滑至一侧,未掉下;4 分,在木条上站立不到 2min 从木条上掉下;5 分,试图在木条上站稳,但在数秒内掉下;6 分,无任何站立能力。正常大鼠的平衡能力在 1~2 分。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 10.0 软件进行统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析, LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 神经功能缺损评分 致伤前 5 组大鼠评分均为 0 分。致伤后第 1 天 A 组大鼠神经行为学表现正常,评分均为 0 分,显著低于其他 4 组($P < 0.05$)。伤后 B、C、D、E 组随着测试日期延长,评分逐渐下降,B 组大鼠得分除第 1 天外均低于 C、D、E 组($P < 0.05$)。C、D、E 3 组间比较差异无统计学意义。见表 1。

2.2 斜板试验 A 组各时间点及 B、C、D、E 组损伤前斜板试验爬坡角度均在 73°水平。致伤后 B、C、D、E 组爬坡角度均较 A 组明显下降($P < 0.05$),各致伤组大鼠爬坡角度自第 2 天开始恢复,第 2~6 天恢复较快,之后恢复速度缓慢。B 组大鼠在致伤第 2 天开始爬坡角度明显大于 C、D、E 组($P < 0.05$)。C、D、E 组各时间点比较爬坡角度差异无统计学意义。见表 2。

2.3 平衡试验 A 组各时间点及 B、C、D、E 组大鼠在损伤前平衡试验得分均为 1 分。致伤后 B、C、D、E 组平衡能力均较 A 组明显减弱($P < 0.05$),致伤第 1 天大鼠基本都在 2min 内跌落,各致伤组大鼠平衡能力自第 2 天开始恢复,第 4~6 天恢复较快,之后恢复速度缓慢,而 B 组在第 8~14 天得分仍有较明显的下降。B 组大鼠在致伤第 4、10、12、14 天平平衡试验得分明显低于 C、D、E 组($P < 0.05$)。C 组在各时间点与 E 组比较平衡试验得分差异无统计学意义。D 组在第 4、6 天得分明显低于 C、E 组($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 5 组大鼠致伤后神经功能缺损评分比较 分, $\bar{x} \pm s$

组别	n	第 1 天	第 2 天	第 4 天	第 6 天
A 组	8	0	0	0	0
B 组	8	3.25±0.46 ^a	2.13±0.64 ^b	1.13±0.35 ^b	1.00±0.53 ^b
C 组	8	3.38±0.74 ^a	2.63±0.52	1.88±0.64	1.75±0.46
D 组	8	3.25±0.46 ^a	2.25±0.52	1.75±0.46	1.63±0.52
E 组	8	3.25±0.71 ^a	2.63±0.52	2.25±0.71	2.00±0.53
组别	n	第 8 天	第 10 天	第 12 天	第 14 天
A 组	8	0	0	0	0
B 组	8	0.88±0.35 ^b	0.63±0.52 ^b	0.63±0.52 ^b	0.50±0.53 ^b
C 组	8	1.50±0.53	1.38±0.52	1.13±0.64	0.88±0.35
D 组	8	1.38±0.52	1.25±0.71	1.00±0.53	0.75±0.46
E 组	8	1.88±0.35	1.50±0.53	1.25±0.71	1.00±0.53

与 A 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 C、D、E 组比较, ^b $P < 0.05$

表2 5组大鼠致伤后斜坡试验爬坡角度比较 °, $\bar{x} \pm s$

组别	第1天	第2天	第4天	第6天
A组	73	73	73	73
B组	35±3 ^a	42±2 ^b	48±4 ^b	57±4 ^b
C组	33±3 ^a	37±2	41±3	44±3
D组	35±4 ^a	40±3	42±2	45±6
E组	34±3 ^a	38±2	40±2	44±4
组别	第8天	第10天	第12天	第14天
A组	73	73	73	73
B组	58±5 ^b	59±6 ^b	60±8 ^b	62±5 ^b
C组	45±2	46±4	46±2	46±4
D组	46±3	47±3	50±4	50±3
E组	45±4	45±5	46±3	47±5

与A组比较, ^a $P < 0.05$; 与C、D、E组比较, ^b $P < 0.05$

表3 5组大鼠致伤后平衡试验评分比较 分, $\bar{x} \pm s$

组别	第1天	第2天	第4天	第6天
A组	1	1	1	1
B组	4.38±0.74 ^a	3.75±0.46	2.25±0.46 ^b	2.00±0.53 ^b
C组	4.38±0.74 ^a	3.88±0.64	3.13±0.64	2.63±0.52
D组	4.38±0.74 ^a	3.75±0.71	2.88±0.64 ^c	2.13±0.64 ^c
E组	4.38±0.52 ^a	3.88±0.64	3.25±0.46	2.75±0.46
组别	第8天	第10天	第12天	第14天
A组	1	1	1	1
B组	1.75±0.71 ^b	1.50±0.53 ^b	1.38±0.52 ^b	1.25±0.46 ^b
C组	2.63±0.52	2.25±0.46	2.13±0.64	2.00±0.53
D组	2.13±0.35	2.13±0.35	1.88±0.35	1.75±0.46
E组	2.63±0.46	2.50±0.53	2.25±0.46	2.13±0.35

与A组比较, ^a $P < 0.05$; 与C、D、E组比较, ^b $P < 0.05$; 与C、E组比较, ^c $P < 0.05$

3 讨论

胞二磷胆碱是核苷酸衍生物,作为辅酶参与体内卵磷脂生物合成,能增加脑部血流和氧的消耗,对中枢神经系统受到外伤所产生的脑组织代谢障碍和意识障碍有调节和激活作用^[7]。穴位注射疗法,是在经络、腧穴上,适量注射药物,以防治各类疾病的方法。穴位注射若选择的经络、腧穴适当,药物作用的出现时间与效果远远优于肌肉注射,与静脉注射的效果相当甚至更佳^[8]。从针灸形态学角度来看,穴位具有丰富的神经末梢、毛细血管及肥大细胞,是神经化学末梢或生物学的制动点。这一生理特征决定了穴位比非经非穴能更充分地吸收注入的药物,进而发挥强大效用。足三里穴属足阳明胃经的合穴,是临床上穴位治疗最常采用的一个穴位,目前在针刺穴位对脑功能的影响方面对足三里穴研究的较多。吴珊珊等^[9]通过功能磁共振发现针刺足三里穴后25分钟在右侧额中回、左侧额上回、右侧额上回、后扣带回、右侧中央旁小叶等脑区仍具有后续效应。在动物实验中,电针刺激足三里穴能够增加脑梗死大鼠脑梗死区GAP-43表达,从而改善脑梗死大鼠神经功能,促进其神经功能重塑^[10]。

本实验中,对脑损伤模型大鼠给予了穴位注射胞二磷胆碱、穴位注水、腹腔注射胞二磷胆碱、腹腔注水四种处理。采用了神经行为学表现、斜坡爬坡角度及平衡试验得分3种评价大鼠神经功能的手段,大鼠在脑损伤后神经功能出现明显的障碍,主要表现在神经行为学评分、平衡试验得分升高,斜坡试验爬坡角度下降这些方面。随着实验观察时间延长,神经功能缺损均有一定的自我恢复,恢复最快的时间在致伤后第2~6天。而B组的大鼠在以上3种试验中恢复均明显优于其他各组。在平衡试验中,腹腔注射胞二磷胆碱在第4天和第6天这两个时间点得分明显低于E组,且得分与穴位注射胞二磷胆碱无明显差异,考虑胞二磷胆碱在大鼠脑损伤早期平衡能力的恢复上起较大作用,但后期对平衡能力影响不大,在脑损伤后期穴位注射胞二磷胆碱仍可加速大鼠平衡能力的恢复。穴位注射神经保护剂的方法发挥中西医结合的优势,能促进脑损伤后神经功能缺损的恢复,至于穴位注射发挥作用的机制有待进一步的研究。

【参考文献】

- [1] 励建安. 脑外伤康复的现状与未来发展趋势[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(12): 881-883.
- [2] 罗爱华, 窦祖林. 颅脑外伤后认知功能障碍恢复的实验研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(9): 881-883.
- [3] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: I methodology and local effects of contusions in the rat[J]. Brain Res, 1981, 211(1): 67-77.
- [4] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(3): 472-476.
- [5] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in rat[J]. J Neurosurg, 1977, 47(5): 577-581.
- [6] 童武松, 卢亦成, 江基尧, 等. 环己基腺苷对大鼠脑损伤后神经功能的保护作用[J]. 第二军医大学学报, 2002, 23(3): 287-289.
- [7] 杨藻宸. 药理学和药物治疗药[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000, 647-648.
- [8] 吴焕淦, 赵琛, 陈汉平. 略论穴位注射[J]. 中国针灸, 1995, 15(4): 303-305.
- [9] 吴珊珊, 陈俊, 刘波, 等. 针刺足三里穴后续效应的脑功能成像研究[J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(1): 29-32.
- [10] 周元成, 吴新贵, 肖贻财, 等. 电针刺激“足三里”和“内关”对脑梗死大鼠GAP-43表达的影响[J]. 中国针灸, 2011, 31(1): 55-59.