

电针百会穴对小鼠大脑中动脉栓塞的保护作用研究

蔡璇, 许菁, 徐姣, 潘邓记

【摘要】 目的:研究电针百会穴是否对小鼠局灶性脑梗死具有保护作用。方法:将雄性昆明小鼠 48 只随机分为电针组和针刺组各 24 只,均通过颈内动脉线栓法建立小鼠大脑中动脉阻塞模型,电针组给予电针百会穴治疗,针刺组给予针刺百会穴治疗。治疗 4 周后,评估 2 组小鼠神经功能评分,测量梗塞体积,免疫组化检测超大 B 细胞淋巴瘤因子(Bcl-xl)的表达,对梗塞周边区域进行膜片钳检查。结果:电针组小鼠的梗死体积及神经功能评分均明显低于针刺组小鼠($P<0.01$),Bcl-xl 的表达较针刺组小鼠明显增加($P<0.01$);脑片膜片钳结果显示,电针组小鼠 BK-channel 的功能明显好于针刺组($P<0.01$)。结论:电针百会穴能够降低小鼠脑梗死的体积并改善小鼠的神经功能,这种保护作用可能与电针刺激 Bcl-xl 的表达增加有关,也与神经元 BK-channel 离子通道的功能改善有关。

【关键词】 电针;小鼠;脑梗死;BK-channel

【中图分类号】 R49;R743.3 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2015.02.002

Protective effects of electroacupuncture on Baihui on permanent middle cerebral artery occlusion Cai Xuan, Xu Jing, Xu Jiao, et al. Department of Neurology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

【Abstract】 Objective: To study the protective effect of electroacupuncture (EA) on Baihui on mice model of permanent occlusion of middle cerebral artery (MCAO). **Methods:** The MCAO model of mice were established and subjected to cerebral infarction by intraluminal occlusion of the middle cerebral artery. After intervention for 4 weeks, the lesion volume, the neurological impairment scores and the expression of Bcl-xl were observed and compared between the EA group and acupuncture group (psydoacupuncture). Patch clamp method was used in the the surrounding area of the infarction, and the change of BK-channel was observed. **Result:** The lesion volume and the neurological impairment scores in EA group were significantly reduced as compare with those in acupuncture group ($P<0.01$). The expression of Bcl-xl was higher in EA group than in acupuncture group ($P<0.01$). Patch clamp results showed that the BK-channel function of the neurons in EA group was significantly better than in acupuncture group in the surrounding area of the infarction ($P<0.01$). **Conclusion:** EA on Baihui can reduce the lesion volume and improve neurological function probably by up-regulating the expression of Bcl-xl and also by improving the function of neurons BK-channel.

【Key words】 electroacupuncture; mice; cerebral infarction; BK-channel

脑梗死病理生理机制复杂,目前临床上普遍认为电针对脑梗死有治疗作用,但缺乏基础研究方面的论证。本研究观察电针治疗脑梗死的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料 ①实验动物:14~18 周的雄性昆明小鼠 48 只,购自华中科技大学同济医学院动物房,体质量(30.0 ± 3.0)g。②仪器:G6805-2A 型低频电子脉冲

治疗仪(上海医疗电子仪器有限公司),健卫仕牌一次性无菌针灸针(上海泰成科技发展有限公司)。

1.2 方法 ①造模:通过颈内动脉线栓法建立小鼠大脑中动脉阻塞模型^[1],术后室温恒定在 25℃。②分组:将造模后小鼠随机分为电针组和针刺组各 24 只。③干预:电针组,造模术后第 1 天开始治疗,参照全国针灸学会实验针灸研究会制定的“实验动物针灸穴位图谱”,选取百会穴,φ0.32×15mm 毫针刺入,接电针仪。采用连续波,频率 3 次/s,强度以针柄颤动,但动物能保持安静为度。每日 1 次,每次 15min。针刺组,造模术后第 1 天开始针刺小鼠相同穴位,不予通电,每日 1 次,每次 15min。

1.3 评定标准 ①神经功能评分^[2]:术后 4 周,采用 5 分制评分法分别对 2 组小鼠进行评分。②梗死体

基金项目:国家自然科学基金(81371222)

收稿日期:2014-08-15

作者单位:华中科技大学同济医学院附属同济医院神经内科,武汉 430030

作者简介:蔡璇(1988-),女,硕士研究生,主要从事脑血管病方面的研究。

通讯作者:潘邓记,djpan@medmail.com.cn

积:从2组小鼠中各随机选择18只小鼠,断头取脑,冷冻后固定;选择每一切片的尾侧面用HPIAS-1000高清晰度图像处理系统进行分析,测量梗死体积。③免疫组化检测 Bcl-xl 蛋白表达:将2组各剩余的6只小鼠的脑组织进行检测。④脑片与膜片钳:2组各18只小鼠予以麻醉,开颅取脑,冷却固定,保持低温状态并持续通气。用振动切片机切成300 μ m厚的切片,脑片放于5% CO₂和95% O₂饱和的Krebs碱性缓冲液5ml,在37℃下孵育30min平衡,然后上机记录神经元电活动。

1.4 统计学方法 采用SPSS 11.0统计学软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

治疗4周后,电针组神经功能评分明显低于针刺组($P < 0.01$),梗死体积明显小于针刺组($P < 0.01$),Bcl-xl的表达量明显高于针刺组($P < 0.01$)。膜片钳结果显示,电针组BK-channel的宽度明显窄于针刺组($P < 0.01$)。见表1,图1a~b。

表1 2组小鼠神经功能评分、脑梗死体积、Bcl-xl蛋白表达阳性细胞数及动作电位宽度比较 $\bar{x} \pm s$

组别	神经功能(分)	脑梗死体积(mm ³)	Bcl-xl蛋白表达(个)	动作电位宽度(ms)
针刺组	3.61 \pm 0.92	27.28 \pm 2.59	233.41 \pm 11.57	1.82 \pm 0.44
电针组	1.82 \pm 0.73 ^a	17.84 \pm 1.81 ^a	367.07 \pm 16.76 ^a	1.60 \pm 0.25 ^a

与针刺组比较,^a $P < 0.01$

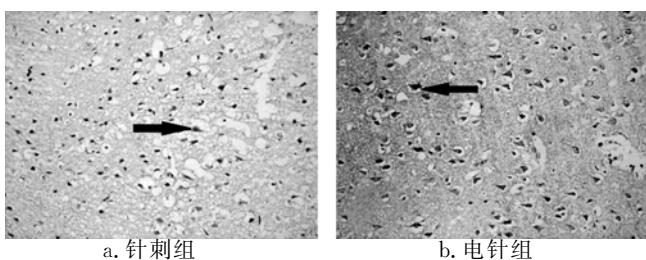


图1a~b 2组小鼠 Bcl-xl 蛋白表达的免疫组织化学染色($\times 400$)(箭头所示为 Bcl-xl 蛋白表达阳性细胞)

3 讨论

本研究结果显示,电针组小鼠的脑梗死体积及神经功能评分均明显低于针刺组,表明电针组小鼠大脑功能区损伤后的恢复程度好于针刺组小鼠。本研究发现电针组小鼠 Bcl-xl 的表达较针刺组明显增加。研究表明 Bcl-xl 参与多种蛋白质-蛋白质相互作用而发挥其抑制凋亡功能^[3]。在内源性凋亡途径中,Bcl-xl 通过阻断 Bax 对线粒体外膜的破坏发挥抗凋亡作用^[3]。Bcl-xl 通过干扰 Caspase-3 的活性阻止凋亡,也可以通

过维持线粒体膜电位和控制活性氧(ROS)的毒性发挥其抗凋亡的作用^[4]。大电导钾通道(BK-channel)被认为是可以起到保护神经元免受缺血再灌注损伤的作用^[5]。本研究结果显示,电针组BK-channel的宽度明显窄于针刺组,提示电针组存在BK-channel的功能改善,电针可能通过加强了BK-channel的功能而达到了神经保护的作用。

文献提示电针百会穴可抑制神经细胞凋亡,减轻脑缺血再灌注损伤,为本实验提供了用穴依据^[6-7]。在本实验中,电针百会穴可上调 Bcl-xl 蛋白表达,并出现电针小鼠梗塞体积的减小及神经功能评分的改善,有可能是通过阻断 Bax 对线粒体外膜的破坏或通过干扰死亡诱导信号复合体的组装,抑制 Caspase-8、干扰 Caspase-3 的活性阻止凋亡而实现的。另外,BK-channel 的功能改善也在电针组得到证实,说明在离子通道水平,电针也通过改善 BK-channel 的功能,抑制了钙超载,保护了神经元。

【参考文献】

- [1] 王芙蓉,肖文伍,张苏明,等. 颈内动脉线栓法建立小鼠局灶性脑缺血再灌注模型[J]. 卒中与神经疾病杂志,2003,10(2):112-112.
- [2] Hata R, Mies G, Wiessner C, et al. A reproducible model of middle cerebral artery occlusion in mice: hemodynamic, biochemical and magnetic resonance imaging[J]. Cereb Blood Flow Metab,1998,18(4):367-375.
- [3] Connolly ESJ, Winfree JC, Stern DM, et al. Procedural and strain-related variables significantly affect outcome in a murine model of focal cerebral ischemia[J]. Neurosurgery,1996,38(3):523-532.
- [4] Kim YC, Shim JW, Oh YJ, et al. Co-transfection with Cdna encoding the Bcl family of anti-apoptotic proteins improves the efficiency of transfection in primary fetal neural stem cells[J]. Neurosci Methods,2002,117(2):153-158.
- [5] Rundén-Pran E1, Haug FM, Storm JF, et al. BK channel activity determines the extent of cell degeneration after oxygen and glucose deprivation: a study in organotypical hippocampal slice cultures [J]. Neuroscience,2002,112(2):277-288.
- [6] 刘斌,董静,李建民,等. 人脂肪组织来源的神经干细胞移植对大鼠局灶性脑缺血再灌注后细胞凋亡及 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响[J]. 临床神经病学杂志,2010,23(1):42-45.
- [7] 孙晶,刘喆. 针灸抗脑缺血再灌注后炎症反应实验研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志,2011,21(8):591-593.