



電針百會、大椎對全腦缺血-再灌注腦損傷 大鼠干預作用機制的研究

郭奕德

土城仁安堂中醫診所

摘要

腦中風是起病急驟、變症迭出及發病率、致死率、致殘率、復發率皆高的疾病，古稱四大難症之首，腦中風在全球，已成為第一致殘及第三致死的疾病，腦中風分為缺血型（短暫性腦缺血發作、腦血栓、腦栓塞、腔隙性腦梗死）和出血型（腦出血、蛛網膜下腔出血），缺血型腦中風約占80%，出血型腦中風約占20%，腦中風的病人約有1/3會致死，而出血型腦中風的死亡率高達70%，缺血型腦中風立即致死的比例小於25%，存活的病人約占3/4有或輕或重的殘疾，“缺血型腦中風”是主要的證型，發病率占了腦中風的絕大區塊，雖然對缺血中心區已壞死組織，現在任何藥物都無能為力，但若能於有效時間內，阻止缺血半影區可存活組織發生進一步不可逆損傷，則可降低死亡率、致殘率、提高病人生活品質，所以缺血型腦中風急性期予於及時治療，對疾病轉歸是至關重要的。

“腦為髓之海，其輸上在於其蓋（百會）”。督脈與腦密切相關，督脈通於腦。百會和大椎均屬督脈穴位，百會穴為督脈之要穴，又稱三陽五會，為百脈聚會處，而大椎穴為“三陽督脈之會”為手足諸陽之會。中醫學認為腦為髓海，其氣血上沖於蓋（百會），下在風府。因此，百會與大椎對腦部疾患具有特殊的治療作用。百會、大椎穴在中醫古籍記載是急症常用穴位，尤其在腦中風不論預防、急性期的中經絡或中臟腑、緩解期與後遺症皆為常用穴位，特別是腦中風急性期中臟腑在昏迷狀態是首選穴位，是非常值得深入研究的穴位，所以本研究選用在缺血型中風急性期電針百會、大椎穴的干預方法，應用組織病理學、免疫組織化學法以及高效液相等現代技術，從腦梗死體積、分子生物學水準探討針刺治療減輕腦損傷的有效作用機制。

第一章 文獻研究

第一節 腦中風中醫理論溯源和發展趨勢評述

1 中風病名溯源

關於中風的病名在中醫古籍中就有記載，“中風”一詞始見於《黃帝內



經》，《靈樞·邪氣臟腑病形篇》中亦有“五臟之中風”的條文描述，但其所論“中風”與現代的“中風病”有較大的出入。而對類似現今“中風病”的病症命名，《內經》則按不同發展階段而予以不同的名稱，如在卒中神昏時有仆擊、大厥、薄厥、煎厥等病名；在半身不遂時期又有偏枯、偏風、身偏不用、痲風、擊仆、暗痲等不同名稱。“中風病”的確切命名及描述始見於《傷寒雜病論》。

清代末期，隨著西方醫學的不斷滲透，西醫學的觀點也逐漸為人們所認識，一些主張中西醫匯通的醫家如張伯龍、張錫純等將中西醫學術觀點加以互參。對中風病的認識，他們在中醫學原有基礎上，汲取西方醫學中“血沖腦神經”的觀點，提出了“腦充血”和“腦貧血”的病名，從而使中風病的認識更加切合實質。

2 中風的病因病機

對中風的病因病機認識經歷了外風立論、內風立論以及內外風並提論等階段。唐宋以前，中醫學對中風病的認識主要以“外風”學說為主，多以“內虛邪中”為主導思想。綜觀各家所論，中風病因病機可歸納為虛火風痰氣血六端，以肝腎陰虛為其根本，同時氣候變化、五運六氣、自然環境、情緒因素、飲食勞倦、年齡性別等對中風發病也產生影響。

3 中醫治療原則記載

對中風的治療，歷代醫家積累了許多寶貴的經驗，對其治則的學術爭鳴更加突出。

張山雷在《中風詮·中風總論》中說：古之中風皆是外因，治必溫散解表者，所以外來之邪風也。今之中風多是內因，治必潛降鎮攝者，所以靖內動之風陽也。誠能判別此外內二因之來源去委，則於古今中風證治，思過半矣。可見中風治則的爭議是以病因學說的分歧為依據的。因此，所謂古今治療原則的不同，仍應以金元時代為分水嶺。金元以前醫家，因持外風入中之說，故治則以風為主，而金元以後，對中風治療已有較大發展。清尤在涇《金匱翼·中風統論》立有中風八法：一曰開關，二曰固脫，三曰大邪，四曰轉大氣，五曰逐癱瘓，六曰除熱氣，七曰通竅燧，八曰灸輸穴。強調按病期，分階段進行辯證論治。例如開竅法，適用於閉證：“卒然口噤目張，兩面三刀手握固，痰壅氣塞，無門下藥，此閉證。閉則宜開，不開則死。”固脫法回陽救逆，適用於脫證“猝然之候，但見目合、口開、遺尿自汗者，無論有邪無邪，總論脫證。脫則宜固，急在無氣也。”除開竅與固脫之外，後世醫家多綜合前人之說，依臨床辯證而靈活運用滋陰潛陽、平肝熄風、通腑化痰、健脾利濕、益氣養血等治則。而活血化瘀治則，為清代王清任以後許多醫家所共同推崇，近代運用這一治則治療本病總結出不少



好經驗。

4 針灸治療記載

應用針灸療法治療中風，《靈樞·熱病》、《中藏經》、《針灸甲乙經》、《千金方》、《醫學綱目》、《針灸大成》、《金匱翼》等歷代都有文獻記載。綜觀古代文獻對有關針灸治療中風病的論述可以看出，古人在辯證取穴的基礎之上廣泛應用針灸治療中風疾患，且多從症取穴。

第二節 腦中風的中西醫治療標準

1 中風中醫分期辯證論治：

1.1 急性期

中醫認為中風病急性期治療當以熄風、化痰、祛瘀、清熱為主，並應重在開竅。

主要有絡脈空虛風邪入中型、氣虛血瘀脈絡阻閉型、肝腎陰虛風陽上擾型、痰熱上擾脈絡閉阻型、陽閉證、陰閉證、脫證等證型，分別辨證施治。

1.2 恢復期

主要有氣虛血瘀，脈絡阻閉型、肝腎陰虛，脈絡不暢型、陰虛血瘀，痰濁阻絡型、陰虛陽亢，瘀血痰阻型、風痰上擾，脈絡閉阻型，亦進行辨證施治。

1.3 後遺症期

主要有氣虛血滯，脈絡瘀阻型、肝陽上亢，脈絡瘀阻型、痰瘀互結，痺阻脈絡型、風痰阻絡型、腎虛精虧型、風痰瘀血阻絡型。

2 西醫治療中風標準

一般治療主要包括保持安靜、臥床休息、避免搬動，注重飲食、營養及水、電解質平衡，調整血壓，防治腦心綜合症，及時預防和處理呼吸系統合併症，預防和治療上消化道出血，正確處理發熱七個方面。

2.2 出血性中風的治療

降低顱內壓，減輕腦水腫；止血藥物的應用；保護腦細胞；手術治療，在出血性中風的治療中，控制血壓，保持呼吸道通暢，加強護理、預防各種併發症等也十分重要。

2.3 缺血性中風的治療

控制腦水腫，降低顱內壓；擴張血管，擴充血流量，改善微循環；抗凝、溶



栓。

除上述治療外，對於腦栓患者，還應注意積極治療風濕性心臟病、心房纖維顫、心力衰竭等原發病。缺血性中風患者還可選用：血壓氧療法、血光量子療法、體外反搏療法以及腦代謝活化劑、神經元保持劑等。至於控制血壓、加強護理、防治併發症等一般治療措施，也是必須重視應用的。

第三節 缺血性中風急性期中醫藥臨床研究概況

在中國傳統醫學中沒有明確提出缺血性中風的概念，該病屬“中風”範疇。依病邪的由淺入深及病勢的輕重，中風分為中絡、中經、中腑、中臟，缺血性中風大多歸屬於中絡、中經或中腑。中風又名“卒中”，多由憂思惱怒、飲食不節、嗜酒縱欲等原因，以致臟腑陰陽失調，氣血逆亂於腦所致。臨床以突然昏僕、半身不遂、口舌歪斜、言語謇澀或不語、偏身麻木為主症。因本病起病急劇，變化迅速，與自然界善行而數變之風邪特性相似，故古人以此類比，名為中風。近年來，隨著中醫藥現代化的推進，中醫藥在本病的防治中發揮著越來越重要的作用。大量的臨床報導證實了中醫藥在本病治療中具有獨特優勢，臨床主要有中藥療法、針藥結合療法、單純針刺療法、頭針療法、電針療法、刺血療法、中藥針劑注射療法等。

缺血性中風是中醫藥臨床與實驗研究涉及較多的領域，廣大醫療工作者投入了大量的精力進行了古代文獻的整理，並利用現代科學技術進行深層次的研究，雖取得了一些成果，但仍然存在一些不足，主要體現在以下幾個方面：

- 1 研究設計需要更加規範、嚴謹。綜合文獻報導，中醫藥治療中風大多臨床研究是描述性研究，隨機方法不明確，雖設立對照組，但無明確雙盲法；診斷及療效標準參考不統一。因此，設計規範、嚴謹的研究方案是必要的，這樣可使中醫藥治療中風的臨床研究有較強的可重複性，從而使療效更加確切，更加有說服力。
- 2 中醫藥防治中風病的臨床研究，其最有說服力的療效評價指標應該是中風病的發病率或復發率，而現有的中醫藥對中風病防治的研究則多是以中風發病或復發前某些症狀或輔助檢查微觀指標的改善為療效評價指標，這樣不免會降低中醫藥防治中風病的可信度。因此，在以後的中風預防研究中，應儘量通過長期的隨訪觀察，以中風的發病率或復發率來研究中醫藥對於中風病的防治作用，從而提高中醫藥防治中風病的可信度。
- 3 防治中風的中醫治法很多，儘管在這些治法中大多都用活血化瘀法，但單用活血化瘀者少，大多均配合其他治法，如化痰、熄風、益氣、補腎、清熱、滋陰等，這就提示我們：防治中風應立足于辨證施治，開展多途徑、



全方位的研究，從而更有效地指導臨床。建立在相同治療原則基礎上的中藥或組方常常是對不同的分型患者均有治療作用，中醫辨證論治的特點無從體現，而目前的辨證分型也缺乏規範性、客觀性，故須使用統一的標準，便於臨床和科研，因此辨證分型與客觀指標之間的規律也有待於進一步研究總結。

- 4 腦缺血中風急性期是腦組織在生化代謝、生理功能、病理形態等多層次、多方面發生急劇損害的時期，針灸治療的意義在於激發機體的調整功能，保護腦組織減輕腦損害，促進機體修復。從目前研究結果看，針灸確實能夠起到治療和保護作用。然而由於急性腦缺血發生的部位、病變範圍、缺血程度、是否再灌注、發病次數、年齡、全身機能狀況及針灸的時機、選穴、針灸手段手法及針灸與其他治療方法的恰當配合等各方面均是影響療效的因素。所以，目前的臨床研究僅僅是剛剛起步，針刺作用機理的臨床和實驗研究有待深入進行。

第四節 針灸治療缺血性中風急性期機理研究進展

急性腦血管病的發病率、死亡率、致殘率均較高，其中急性缺血性中風約占50~60%，其病理生理非常複雜且未完全闡明，因此研究急性缺血性中風的病理生理機制及有效的、安全的治療方法是當代醫學的重要目標之一。中醫藥治療中風病取得了較好的療效，尤其是針灸療法其療效確切，目前，臨床和基礎研究對針灸治療機理也進行了大量的探索性研究，並取得了一些階段性成果，目前對其作用機制的研究主要體現在對腦組織形態學的影響、改善微循環，增加腦血流量、改善腦電活動、拮抗自由基損傷及脂質過氧化反應、調節能量機制，抑制興奮性氨基酸釋放、維護膜平衡，防止鈣超載、調節NO與ET水準、分子生物學研究、抑制細胞凋亡、缺血性腦損傷病理機制等方面。總之，缺血性腦損傷是極為複雜的病理生理過程，是多種機制共同作用的結果，他們均由缺血引發，並有因果、時空中的關連與重疊，因而在治療上需採取多靶點的綜合對策。

大量臨床報導證實了針刺治療缺血性腦血管病的臨床療效肯定，針灸治療缺血性腦血管病研究已從臨床和基礎實驗方面進行了廣泛的探討和較深入的研究，從不同側面揭示了針灸治療缺血性腦血管病的作用機理，取得了令人矚目的成績。

針刺治療缺血性腦血管病其作用機制多樣，歸納起來，針刺可直接擴張血管，增加缺血區氧和血液的供應，發揮即刻護腦的作用，同時針刺可調整血液流變學及血管活性物質，加速自由基清除，提高機體抗氧化能力，間接地改善缺血區氧和能量的代謝，發揮延緩的護腦作用，從而使腦細胞的形態和功能損害減



輕。目前，在臨床治療中，早期改善腦缺血區的供血，對於減少腦缺血壞死區域，減弱神經細胞的不可逆性損傷具有重要意義。近來，有研究發現壞死中心區有神經纖維生長，但尚未發現有神經細胞生長的跡象，而壞死周圍區域的神經細胞一旦供血恢復，就有修復的可能性，因此，儘快恢復缺血區域的供血是治療缺血性腦血管病的重要環節。

針刺可明顯改善腦缺血後的血液循環，對於腦缺血損傷具有保護作用。但同時應該看到現在的研究尚存在著一些不足之處。在基礎實驗中，儘管大多在超早期介入針灸治療，但在此期間內究竟何時介入更爲有效，尚存在爭議。針灸治療缺血性腦血管病的效應是多種因素相互綜合作用的結果，其療效機制也是多方面的，但文獻報導多爲針灸對某項或幾項指標的影響，未把針灸治療該病的機理作爲一個統一的整體來研究。雖然腦缺血的機理十分複雜，尚待解決的問題還有很多，但對針灸抗腦缺血損傷的機制研究還有待於從分子生物學方面進一步深化。

第五節 百會、大椎穴研究近況

百會穴爲督脈之要穴，又稱三陽五會，爲百脈聚會處，火灸該穴直至“外生內熱”，則能溫補百脈之經氣，使氣血上榮，補益腦髓，治眩治本。

百會穴在頭部，《醫宗金鑑》：“百會主治卒中風，兼治癲癩……，提補諸陽氣上升”，認爲百會具有提升陽氣作用。

《針灸大成》提到百會穴“主頭風中風，言語謇澀……，頭痛目眩，飲食無味，百病皆治”，百會穴屬督脈，入絡於腦以止眩暈，並可升提氣血，充盈髓海，腦髓得養則眩暈自除，因此通過針刺百會穴可以迅速改善眩暈。

大椎穴爲“三陽督脈之會”（《針灸甲乙經》）。經云：“督脈者，起於下極之俞，並於脊裏，上至風府，入屬於腦。”大椎爲督脈入腦之樞紐要穴，刺之可開通督脈，活血行氣。一開一補，相得益彰，共奏醒腦開竅，活血行氣之功。

百會和大椎均屬督脈穴位，百會爲“三陽五會”，大椎爲“諸陽之會”，爲手足諸陽之會。《難經·二十八難》云：“督脈者，……，上至風府，入屬於腦。”。督脈爲“陽脈之海”是奇經八脈的主體，具有對全身整個經絡系統組合統率作用；“腦爲髓之海，其輸上在於其蓋（百會）”。督脈與腦密切相關，督脈通於腦。

中醫學認爲腦爲髓海，其氣血上沖於蓋（百會），下在風府。因此，百會與大椎對腦部疾患具有特殊的治療作用。百會穴位于頭頂正中，此處有顱骨中穿出的頂導血管，以聯絡頭頂的靜脈和顱骨板障靜脈，而與顱內硬膜竇相交通。針灸百會可直接影響顱內血循，改善其血供。針刺大椎能通過刺激頸部淺靜脈，以帶動深靜脈血流改變，從而影響動脈血運，改善動脈痙攣狀態。兩法並施，共同作



用，改變了椎-基底動脈的循環障礙。增加了腦部供血，對缺血性腦中風起到良好的治療作用。

百會、大椎穴在中醫古籍記載是急症常用穴位，尤其在腦中風不論預防、急性期的中經絡或中臟腑、緩解期與後遺症皆為常用穴位，特別是腦中風急性期中臟腑在昏迷狀態是首選穴位，因此是非常值得深入研究的穴位。

綜觀古今文獻，百會穴和大椎穴的主治範圍都十分廣泛，臨床應用頻率高，治療疾病的種類幾乎涉及臨床各科。百會穴有清熱開竅、健腦寧神、升提陽氣、平肝熄風等多種功效，應用於臨床可治療多種病變。治療時可單穴應用，或與其他腧穴形成處方應用；可採用針刺、艾灸、針藥結合或電針等方法。大椎穴可治療風熱感冒、發熱、痤瘡、扁桃體炎、咽炎、麥粒腫等，證雖各異，然其基本病機均屬熱證，故治療均以清熱瀉火為主，採用大椎穴刺絡拔罐法治之，從而充分體現了《內經》“異病同治”的思想。通過掌握更多百會穴、大椎穴的治療特點，在臨床上才能夠靈活應用，正如《針灸大成》所說：“執簡可以驛繁，觀會可以得要，而按經治疾之余，尚何疾之有不愈，而不足以仁壽斯民也哉。”

第二章 實驗研究

第一節 研究設計依據與思路

1 動物模型的選擇依據

1.1 實驗動物的選擇

動物模型是進行科學研究的有效工具，它能夠近似地模擬人體疾病的發生，發展過程，並能簡化實驗條件、避免人體試驗的限制。因此，動物模型的穩定性、可行性和與人體疾病的相似性關係到實驗研究的價值。在動物模型建立中，實驗動物的選擇和準備直接關係到實驗的成敗。必須根據實驗內容與動物特點選取符合要求的實驗動物，才能保證實驗的順利進行以及實驗結果的可靠性。大鼠腦血管解剖結構與人類相類似，種內重合性好，梗死部位相對容易控制，可重複性高，抗感染能力強，存活時間長，利於缺血後急性、亞急性和慢性相關病理改變的過程研究，有關係列大鼠的生理、生化指標可供比較此外，大鼠品種多，價格便宜，容易被動物保護者所接受，因此，被廣泛應用於腦血管疾病的動物模型製備。

1.2 腦缺血動物模型建立的影響因素

腦缺血動物模型複製的成功與否，麻醉劑的選擇十分重要。有證據表明全身麻醉劑可直接或間接地影響腦血流、腦代謝、神經遞質的傳遞甚至膜的結構等。國內多採用動物一般狀態下的水合氯醛、苯巴比妥鈉、戊巴比妥鈉或烏拉坦麻



醉。其中，戊巴比妥鈉對動物生理指標影響較小，可優先選用；而常規劑量的苯巴比妥鈉、烏拉坦可使腦溫明顯下降，成爲極強的腦保護因素；水合氯醛及苯巴比妥鈉能使呼吸頻率下降一半左右，致使動物出現低氧血症和酸中毒，這些都會對缺血模型造成影響。目前國際上腦缺血研究常用的麻醉方法是使用肌松劑及人工輔助通氣狀態下的氟烷吸入麻醉，術中連續監測心電圖、血壓及呼吸，整個過程接近人類的手術麻醉過程。所以，在動物模型製作過程中需嚴格排除麻醉劑對實驗結果的影響，對可能影響結果的因素加以控制或校正，盡可能地選用對動物機體影響較小而作用持續時間短的麻醉劑。

1.3 動物模型的選擇

隨著腦血管疾病的發病率日益增加，人們對腦血管病的研究也越來越深入。建立重複性好，各項生命指標容易控制適應於各類研究的動物模型仍是腦血管病研究的重要課題。目前常用的腦缺血實驗動物模型分爲全腦缺血動物模型和局灶性腦缺血動物模型兩種。全腦缺血動物模型有四血管阻斷（4-VO）、三血管阻斷、二血管阻斷腦缺血模型以及人工增加顱內壓腦缺血模型等。局灶性腦缺血模型主要爲大腦中動脈阻斷模型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)，其製作方法分爲開顱和非開顱法。開顱法包括機械閉塞法、化學刺激誘導血栓性閉塞法、內皮素-1灌注誘導血管收縮法等，非開顱方法包括做栓子栓塞法、光化學誘導血栓形成法、線栓法等。

國際公認的四血管阻斷腦缺血模型是目前最爲常用的全腦缺血動物模型。1979年Pulsinelli首先製作了在清醒狀態下大鼠雙側半球缺血模型，後來Todd對Pulsinelli的4-VO進行了驗證，證明瞭該方法具有高度的可複製性，並認爲其操作細節非常重要，用這種方法的成功率幾乎爲100%，故在眾多的全腦缺血動物模型中，Pulsinelli的4-VO備受推崇。

局灶性腦缺血模型目前最爲常用的是MCAO模型，這種模型的製作有60多年歷史，隨著生命科學的不斷發展，製作MCAO模型在動物選擇及製作方式、方法上有著不斷改進。雖然該方法梗死面積形成率高、梗死面積恆定、重複性好，但需開顱，對動物的損傷大，感染率高，手術要求精細，難度大，動物死亡率高，對實驗條件和實驗人員的要求較高，故在一般研究中根據條件選用。

綜合本研究設計要求及實驗技術條件限制，在本研究中，我們選用國內改良的4-VO法複製大鼠全腦缺血-再灌注模型。

1.4 動物模型的評價

選擇正確的動物造模因素模擬臨床發病因素，觀察動物模型是否出現與人類疾病臨床相類似的表現，這是動物模型成功與否的關鍵因素。因此，選擇正確的、客觀的、科學的評價方法對衡量動物模型的成功與否至關重要。4-VO大鼠全



腦缺血-再灌注模型檢驗缺血是否成功指標明確，即反正反射消失。

2 電針治療處方的選擇依據

督脈是奇經八脈主體之一，《難經·二十八難》曰：“督脈者，起於下極之俞，並於脊裏，上至風府，入屬於腦。”，其分支兩絡於腎，腎為元陽，內寓命門之火。《靈樞·本輸》：“頸中央之脈，督脈也。”。督脈行於後背正中，背為陽，督脈與全身的陽脈交會於“大椎”，而腎與元陽密切關聯，故督脈為“陽脈之海”，並歸屬於腦。《靈樞·海論》雲：“腦為髓之海”，《本草綱目》曰：“腦為元神之府”，《醫學衷中參西錄》中也指出：“督脈者又腦髓神經之根也”，說明腦具有人的精神意識思維活動的物質基礎，是人體生命活動的中樞，督脈、腦及精神意識間的關係密切。

百會穴首見於《針灸甲乙經》，別名“三陽五會”，為督脈經穴，居一身之最高，是督脈與足太陽膀胱經的交會穴，刺之有通陽啓閉、醒腦利水之功；臨床實踐證明，百會極具升陽舉陷，益氣補虛之力。

大椎穴在第七頸推棘突下，位近於腦部，是手足三陽、督脈的交會穴。“此穴是督脈之結，統乎三陽而助衛氣”（《古法新解·會元針灸學》），調益陽氣之總綱。《針灸摘英集·治病直刺訣》云：“治中風，氣塞涎上，不語垂危者，……大椎，在第一椎上陷中，手足三陽，督脈之會，針入五分。”《針灸大成》曰：“中風風邪入臟，以致氣塞涎壅，不語垂危，百會、大椎、風池”。由上可見，古代醫家已意識到大椎治療腦病的重要性。故作為督脈上的重要穴位，大椎穴猶如上下內外的中轉站，調節諸陽經上傳下達，完成督脈統帥協調臟腑經絡功能活動的作用。所以針刺大椎可振奮六陽經和督脈之陽氣，使氣血流暢，上行於腦，而發揮活血化瘀，醒腦開竅的作用。

現代臨床及實驗研究已證實，二穴在中風的治療中療效顯著，一些研究表明，採用針刺百會可明顯改善老年性癡呆VD大鼠的學習記憶能力，並能提高其腦內SOD的活性，具有益智作用。還有一些學者發現腦缺血再灌注後腦微血管內皮細胞粘附分子表達增強，針刺“百會透曲鬢”穴位可明顯抑制其表達，從而減輕白細胞向周圍組織的浸潤，減少了大量炎性遞質對腦組織的損傷，發揮腦保護作用，並具有改善神經功能缺損、縮小腦梗死體積和減輕缺血性病理性損害程度的作用。電針大椎穴可使缺血缺氧動物中樞膽鹼能系統處於積極活動狀態，使腦源性神經營養因素上升，增進神經系統功能的修復功能，另有研究者報導電針百會、大椎穴可增加大鼠腦缺血區皮層神經生長因子的分泌和表達時程，從而對缺血性腦損傷產生保護作用。

3 觀察指標的選擇依據

腦動脈一旦阻塞，腦組織得不到足夠的血液灌注，發生缺血、缺氧，即開始



了缺血性腦血管病的生理病理演變過程，在這一過程中，諸多因素參與其中，大致可分成三類：一類是加重腦細胞缺血損傷，促進細胞死亡，諸如自由基的大量釋放、炎性細胞因數、興奮性氨基酸等；另一類是對腦細胞產生保護作用，減輕腦細胞的損害，減少腦細胞的死亡，如抑制性氨基酸的釋放、各種生長因數等；第三類在不同的情況下，產生雙重作用，如血管內皮生長因素、NO等。興奮性氨基酸細胞毒性，自由基反應是造成缺血性損傷的中心環節。缺血腦組織在恢復供血後還可繼續產生腦損傷數小時至數日。這種缺血腦組織發生再灌注後所產生的腦損傷是腦梗死形成的一個重要途徑。在臨床中，缺血腦組織發生再灌注十分常見，故再灌注損傷不可避免。在已知的參與缺血腦組織損傷的諸多因素中，活性氧或氧自由基的大量產生、炎性細胞因素的釋放是直接或間接導致再灌注損傷的主要原因。在本研究我們選擇與腦缺血-再灌注對腦組織產生損傷作用關係最為密切的細胞因數TNF- α 和IL-6以及興奮性氨基酸為觀察指標，探索性研究電針百會、大椎對腦缺血時腦組織的腦神經保護作用機制。

第二節 電針百會、大椎對全腦缺血-再灌注大鼠腦梗死體積及腦組織病理形態學的影響

一、材料和方法

1 實驗動物

SD大鼠，40只，SPF級，體重180~220g，雄性，由廣州中醫藥大學實驗動物中心提供，動物許可證號：SCXK（粵）2003-0001，使用實驗動物品質合格證編號：0011136。

2 動物模型製備

參照改良四血管阻塞法建立大鼠全腦缺血模型。

從40只大鼠中隨機抽取8只作為空白對照組，再從剩餘32中隨機抽取8只作為假手術組。假手術組和所有造模大鼠用2%戊巴比妥鈉（45mg/kg）腹腔注射麻醉，背側頸正中切口，暴露雙側第一頸椎橫突小孔，用直徑0.5mm電凝針插入雙側小孔燒灼雙側椎動脈，造成永久性閉塞。慶大黴素注射液局部塗擦傷口後用1號縫合線縫合傷口。然後，腹側頸正中切口，分離雙側頸總動脈，穿線備用，用微動脈夾可逆性夾閉雙側頸總動脈5min，共夾閉3次，每次間隔10min，縫合傷口。假手術組僅暴露4條血管，不用微動脈夾夾閉血管，不形成腦缺血，其餘手術程式同上。術後每天慶大黴素注射液局部塗擦傷口，以防感染。對牙齒長的大鼠進行剪齒，防止因饑餓致死。並在常規飼料中添加營養以助傷口癒合。



3 指標觀測及方法

3.1 模型評價方法

造模後觀察大鼠反正反射情況，以反正反射消失為模型成功標準。

3.2 TTC染色測量腦梗死體積

結果判斷：腦片TTC染色後可見正常組織為紅色，缺血梗塞區為蒼白色。

3.3 腦組織病理形態學

採用石蠟切片HE染色法。

3. 統計方法

多組比較採用方差分析，多重比較採用q檢驗，方差不齊時採用秩和檢驗。

二、結果和分析

1 造模大鼠的全腦缺血模型(4-VO)成功率

7天內造模大鼠死亡4只，假手術組全部存活。根據模型成功評價標準，存活的20只造模大鼠中，4只為反正反射未消失，視為模型複製失敗，16只大鼠均出現反正反射消失，視為模型複製成功。

2 各組實驗大鼠腦片梗死體積的比較

表1 各組大鼠腦片梗死體積的比較 ($\bar{x} \pm s$)

組別	n	梗死體積 (mm ³)
正常對照組	8	0.00
假手術組	8	0.00
模型組	8	94.17 ± 11.03
電針組	8	62.34 ± 9.82 [▲]

注：與模型組比較，[▲] $P < 0.05$

3 各組大鼠腦皮質正常神經細胞數目的比較

表2 各組大鼠腦皮質正常神經細胞數目的比較 ($\bar{x} \pm s$)

組別	n	正常神經細胞數
正常對照組	8	22.02 ± 5.61
假手術組	8	21.60 ± 5.43*
模型組	8	10.24 ± 2.91 [△]
電針組	8	16.28 ± 3.15 [▲]

注：1) 與正常對照組比較，* $P > 0.05$ ；

2) 與正常對照組比較，[△] $P < 0.05$ ；

3) 與模型組比較，[▲] $P < 0.05$ 。



4 各組大鼠腦組織病理形態改變（見圖2~5，附錄二）

腦組織常規石蠟切片，HE染色後，神經細胞胞漿呈淡紅色，核呈藍黑色。

正常對照組及假手術組皮層腦細胞結構正常，胞核清晰，胞漿豐富，間質無水腫表現，海馬錐體細胞2~3層，排列緊密（如圖2、3），細胞核圓而大，核仁清晰。

模型組可見皮層變薄，部分神經元變性，體積變小，胞核與胞漿界限模糊，核固縮成三角形或不規則形，核仁消失。海馬錐體細胞層數減少，排列稀疏、不規則，細胞體積變小，可見核固縮現象（如圖4）。

電針組仍有不同程度的神經細胞變性，但變性神經細胞數量顯著減少，零星可見一些損傷細胞，海馬錐體細胞層細胞形態、排列基本正常（圖5）。

三、討論

本研究顯示：大鼠全腦缺血-再灌注後，腦梗死體積，電針組與模型組比較，差異有統計學意義，提示電針可以減小腦梗死的體積，對全腦缺血再灌注腦損傷具有一定的保護作用；各組大鼠正常神經細胞數目比較，模型組頂葉皮質細胞丟失嚴重，與正常對照組比較有顯著差異，電針組頂葉皮質亦呈現細胞丟失，但無模型組嚴重，與其比較差異有統計學意義，提示電針對腦組織神經細胞有一定的保護作用。其機理可能為電針改善大腦局部血液迴圈，使神經細胞和神經膠質細胞能夠得到充分的供血和供氧，從而減小梗死面積，減少毒性物質的釋放和抗原的產生，使腦皮質神經細胞凋亡減少。

第三節 電針百會、大椎對全腦缺血-再灌注大鼠腦皮質TNF- α 和IL-6的影響

一、材料和方法

1 實驗動物

SD大鼠，40只，SPF級，體重180~220g，雄性，由廣州中醫藥大學實驗動物中心提供，動物許可證號：SCXK(粵)2003-0001，使用實驗動物品質合格證編號：0011136。

2 主要藥品及試劑

兔抗大鼠免疫組化(SABC)試劑盒：IL-6 1抗（BA0562，2007年1月生產，博士德公司）；TNF- α 1抗（BA0562），博士德公司。



3 動物模型製備

4 指標觀測及方法

免疫組化法測腦皮質IL-6、TNF- α 的表達。

5 結果觀察

每張切片在10×20倍光鏡下隨機觀察每一組動物同一部位切片，選擇4個不重複視野進行觀察，並聯接圖像分析系統做定量圖像分析，測出每個時間段平均每張切片內血腫周圍組織IL-6、TNF- α 染色百分比，即染色面積。陽性物質在胞漿（膜上）內呈棕黃色細顆粒狀，細胞核為淺藍色，陰性對照為陰性。

免疫組化染色後發現染色強度各有差異，有的呈棕黃色，有的呈淡黃色，因此採用染色指數計數法，該方法綜合考慮了陽性細胞百分比及細胞染色強度兩方面，染色指數=染色面積×染色強度。陽性細胞染色強弱（按顯色強度分為無色、淡黃、黃色、棕黃色，分別計為0、1、2、3分），上述兩項乘積即為該例病變的染色指數。如在同一病變中存在不同評分標準的視野，則取最大值和最小值的平均值作為其染色指數評分。算出每個視野的均數及標準差，採用方差分析進行顯著性檢驗。

3. 統計方法

多組比較採用方差分析，多重比較採用q檢驗，方差不齊時採用秩和檢驗。

二、結果和分析

1 各組大鼠腦皮質TNF- α 蛋白表達陽性細胞染色指數比較（見圖6～9，附錄二）

表3 各組大鼠腦皮質TNF- α 蛋白表達陽性細胞染色指數比較（ $\bar{x} \pm s$ ）

組別	n	TNF- α 染色指數
正常對照組	8	0.64±0.18
假手術組	8	0.71±0.22*
模型組	8	1.48±0.11 [▲]
電針組	8	0.83±0.20 [△]

注：1) 與正常對照組比較，* $P > 0.05$ ，[▲] $P < 0.05$ ；

2) 與模型組比較，[△] $P < 0.05$ 。

2 各組大鼠腦皮質IL-6蛋白表達陽性細胞染色指數的比較（見圖10～13，附錄二）



表4 各組大鼠腦皮質IL-6蛋白表達陽性細胞染色指數比較 ($\bar{x} \pm s$)

組別	n	IL-6染色指數
正常對照組	8	0.59 ± 0.15
假手術組	8	0.61 ± 0.17*
模型組	8	0.95 ± 0.23 [▲]
電針組	8	0.70 ± 0.22 [△]

注：1) 與正常對照組比較，* $P > 0.05$ ；[▲] $P < 0.05$ ；

2) 與模型組比較，[△] $P < 0.05$ 。

三、討論

炎症細胞因數是一組由淋巴細胞、單核-巨噬細胞和血管內皮細胞等產生的免疫應答分子，包括IL-1、IL-6和TNF- α 等，它們共同參與機體免疫應答、應激反應和炎症的調節。國內外研究發現，炎症細胞因數在凝血和血管內皮損傷中具有重要作用，尤其是在腦缺血中的表達及作用已成為腦卒中的熱點之一，細胞因數水準的變化及其與缺血腦損傷的關係也越來越多的被學者所關注。目前，無論是動物模型還是臨床實驗均支援炎症反應參與了腦缺血組織損傷的病理過程。

本研究顯示：大鼠全腦缺血-再灌注後，模型組大鼠腦皮質中TNF- α 、IL-6陽性染色指數升高，在進行電針幹預後，電針組大鼠腦皮質TNF- α 、IL-6蛋白表達顯著下降，與模型組比較差異有統計學意義($P < 0.05$)，說明電針百會、大椎穴對全腦缺血-再灌注後腦皮質TNF- α 、IL-6的蛋白表達均有良好的抑制作用。我們探討其機理可能為：①改善大腦局部血液迴圈，使神經細胞和神經膠質細胞能夠得到充分的供血和供氧，減小梗死面積，減少毒性物質的釋放和抗原的產生，從而使抗原刺激免疫系統發生免疫應答的作用減弱，腦組織中免疫細胞分泌TNF- α 、IL-6的能力降低。②調整“神經-免疫-內分泌”網路功能。越來越多的資料顯示，缺血性中風在急性期存在著不同程度的神經-免疫-內分泌功能紊亂。主要表現為糖皮質激素水準升高，其大量釋放既推動了急性期反應，同時又抑制了TNF- α 、IL-6的合成，最終導致了炎症和急性期反應的儘快消失。

第四節 電針百會、大椎對全腦缺血-再灌注大鼠腦皮質Glu、Asp表達的影響

一、材料和方法

1 實驗動物

SD大鼠，40只，SPF級，體重180~220g，雄性，由廣州中醫藥大學實驗動物



中心提供，動物許可證號：SCXK(粵)2003-0001，使用實驗動物品質合格證編號：0011136。

2 主要試劑

Glu、Asp標準品為Sigma公司產品。

3 動物模型製備

同第二節。

4 指標觀測及方法

採用LC-6A高效液相色譜儀。

3. 統計方法

多組比較採用方差分析，多重比較採用q檢驗，方差不齊時採用秩和檢驗。

二、結果和分析

表5 各組實驗大鼠腦皮質Glu、Asp含量影響的比較 ($\bar{x} \pm s$)

組別	n	Glu	Asp
正常對照組	8	12.02±0.94	5.18±0.67
假手術組	8	12.13±0.82*	5.08±0.65*
模型組	8	16.45±0.66 [▲]	8.57±0.61 [▲]
電針組	8	14.71±0.80 [△]	6.87±0.53 [△]

注：1) 與正常對照組比較，* $P > 0.05$ ；[▲] $P < 0.05$ ；

2) 與模型組比較，[△] $P < 0.05$ 。

三、討論

近年來，EAA是缺血性腦損傷中研究較熱的焦點之一，大量研究表明，Glu和Asp是腦內毒性最強的興奮性氨基酸，在腦缺血時Glu和Asp的過度釋放會造成神經元的損傷，即興奮性毒性。實驗研究表明，腦缺血及再灌注早期，腦透析法取得細胞外液中EAA濃度明顯升高，並認為這是EAA合成增多、釋放增加和再攝取減少的共同結果。腦缺血時不同種類的EAA釋放速度和時相不同，且不同部位的腦組織釋放EAA的種類和數量也不同，其中Glu在細胞外液中的釋放濃度升高最為明顯，分泌速度最快。

本實驗結果表明，大鼠發生全腦缺血-再灌注後，模型組腦皮層中Glu、Asp含量顯著高於正常對照組，從而說明Glu、Asp的興奮毒性作用參與了腦缺血的病



理生理過程；電針組與模型組比較，差異非常顯著（ $P < 0.05$ ），表明大腦皮層中Glu、Asp含量明顯下降，提示它們對缺血腦組織有一定的保護作用，其機制可能為幹擾腦缺血組織中興奮性氨基酸的代謝，從而抑制鈣內流及大量NO、氧自由基的產生，使缺血腦組織受損的程度減輕，從而對缺血腦組織產生保護作用。

結 語

腦中風在全球，已成為第一致殘及第三致死的疾病，而在國內，腦血管病則是第一位的致殘原因和第二位的致死原因的疾病。腦中風分為缺血型和出血型，缺血型腦中風約占80%，出血型腦中風約占20%，“缺血型腦中風”是主要的證型，發病率占了腦中風的絕大區塊，雖然對缺血中心區已壞死組織，現在任何藥物都無能為力，但若能於有效時間內，阻止缺血半影區可存活組織發生進一步不可逆損傷，則可降低死亡率、致殘率、提高病人生活品質，所以缺血型腦中風急性期予以及時治療，對疾病轉歸是至關重要的。

取穴百會、大椎穴是取穴於督脈，百會、大椎穴在中醫古籍記載是急症常用穴位，也是臨床與研究治療腦中風有效的穴道，尤其在腦中風，不論預防、急性期的中經絡或中臟腑、緩解期與後遺症皆為常用穴位，特別是腦中風急性期中臟腑在昏迷狀態是首選穴位。

本研究通過觀察電針百會、大椎穴對全腦缺血-再灌注大鼠幹預作用後得出以下結論：

1. 電針百會、大椎對缺血-再灌注腦損傷組織有一定的保護作用。
2. 電針百會、大椎可明顯抑制缺血-再灌注腦損傷組織炎症細胞因數的蛋白表達。
3. 電針百會、大椎可明顯降低缺血-再灌注腦損傷組織興奮性氨基酸的含量。



附錄一

英文縮略詞表

縮寫	英文全稱	中文
4-VO	four-vessel occlusion	四血管阻斷法
TNF- a	tumor necrosis factor	腫瘤壞死因數- a
IL-6	Interleukin 6	白介素-6
EAA	excitatory amino acid	興奮性氨基酸
Glu	glutamate	谷氨酸
Asp	aspartic acid	天門冬氨酸
NOS	nitric oxide synthase	一氧化氮合酶
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	環磷酸腺苷
NO	nitric oxide	一氧化氮
SOD	superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
CSF	cerebrospinal fluid	腦脊液
NMDAR	n methyl d aspartate receptor	N-甲基D-天冬氨酸受體
MCAO	middle cerebral artery occlusion	大腦中動脈阻斷模型
cGMP	cyclic guanosine monophosphate	環磷酸鳥苷
DNA	deoxyribonucleic acid	去氧核糖核酸
IP	ischemic Penumbra	缺血半影區
PCID	Post-cerebral infarction dePression	腦梗死後抑鬱症



附 錄 二

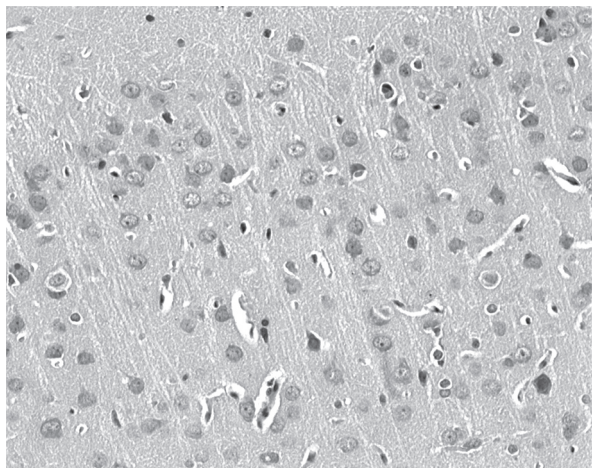


圖2 正常對照組腦組織HE染色，(10×20)

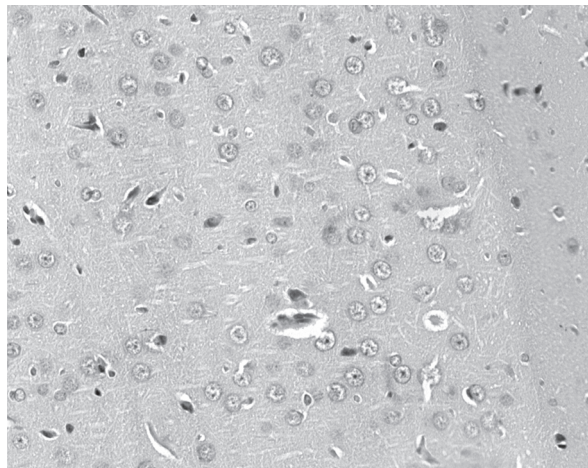


圖3 假手術組腦組織HE染色，(10×20)

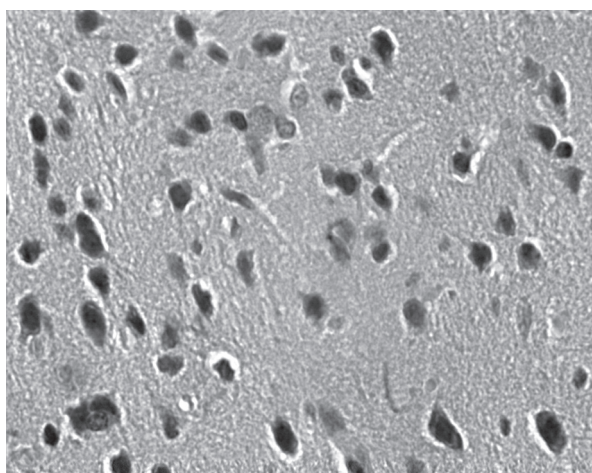


圖4 模型組腦組織HE染色，(10×20)

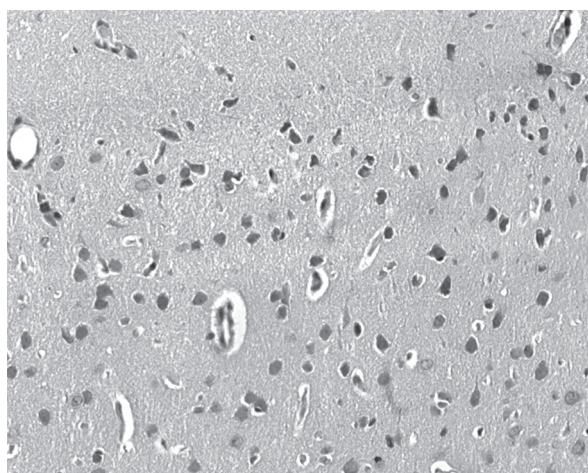


圖5 電針組腦組織HE染色，(10×20)

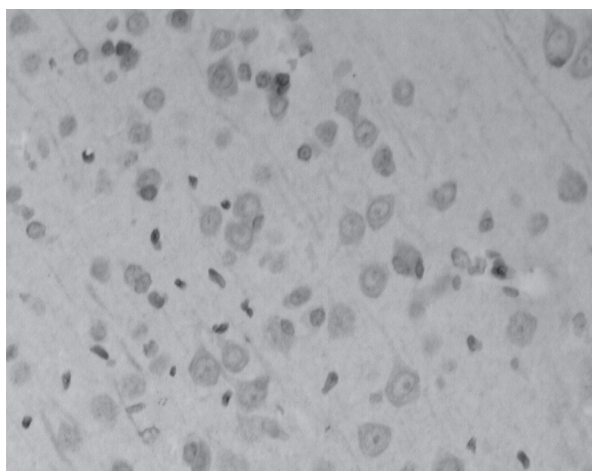


圖6 正常對照組TNF- α 蛋白表達 (SABC法，10×20)

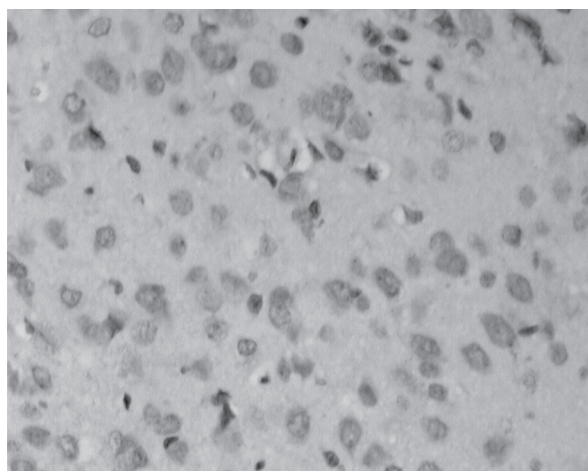


圖7 假手術組TNF- α 蛋白表達 (SABC法，10×20)

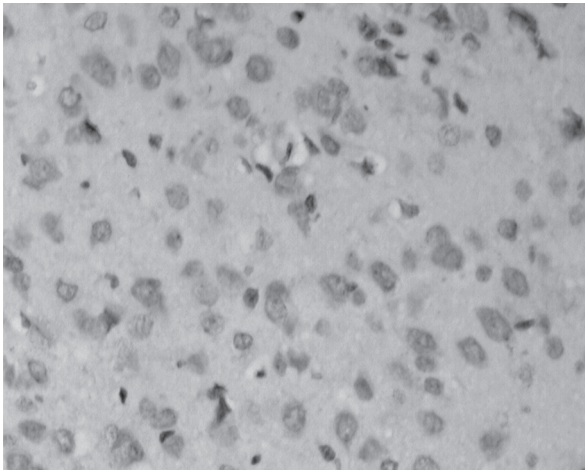


圖8 模型組TNF- α 蛋白表達 (SABC法，
10 \times 20)

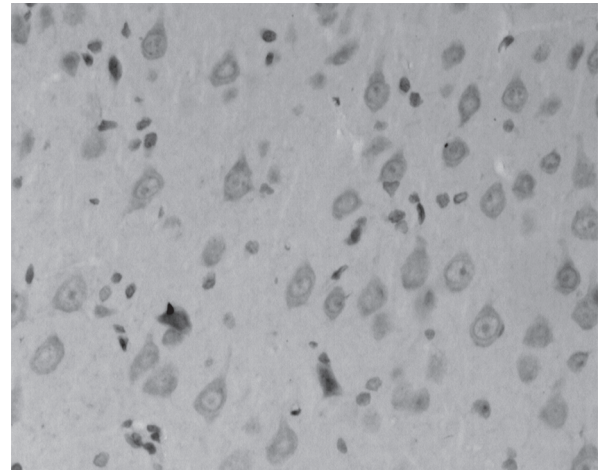


圖9 電針組TNF- α 蛋白表達 (SABC法，
10 \times 20)

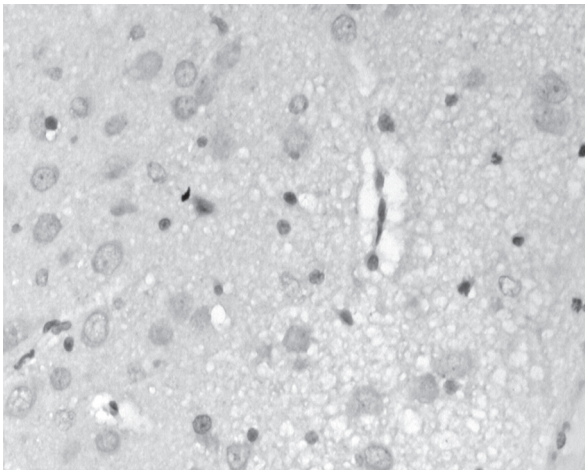


圖10 正常對照組IL-6蛋白表達 (SABC法，
10 \times 20)

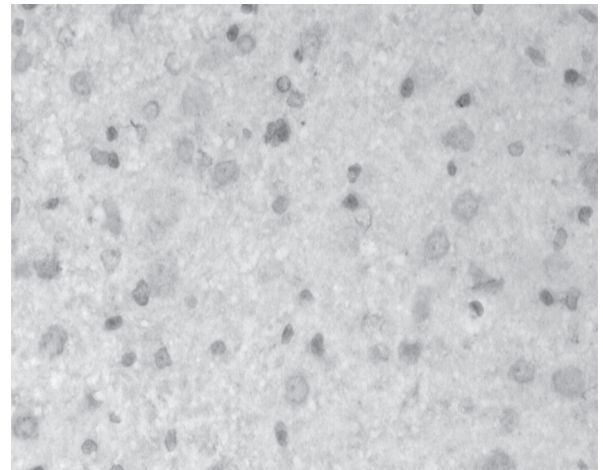


圖11 假手術組IL-6蛋白表達 (SABC法，
10 \times 20)

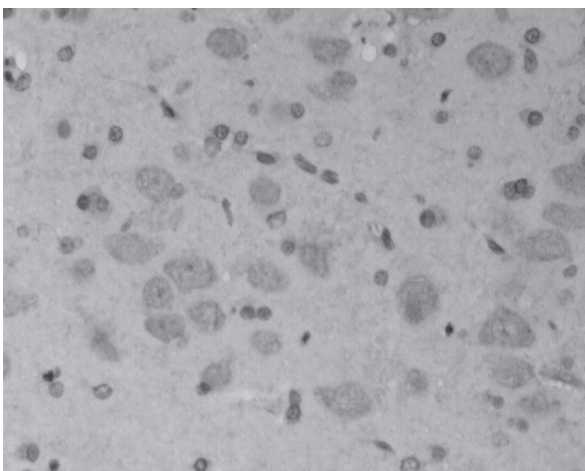


圖12 模型組IL-6蛋白表達 (SABC法，
10 \times 20)

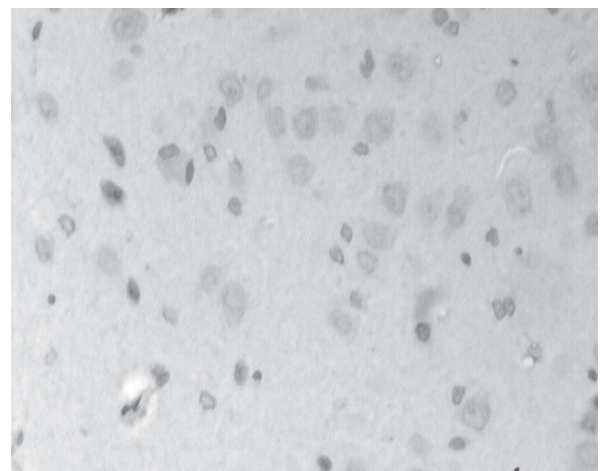


圖13 電針組IL-6蛋白表達 (SABC法，
10 \times 20)