

· 综述 ·

# 脑组织形态学在针刺干预 脑梗死机制研究中的应用\*

钱宇斐,樊小农,王 舒,石学敏

关键词:脑梗死;针刺干预;研究

中图分类号:R256.2

文献标识码:A

文章编号:1673-9043(2008)04-0288-02

形态是功能的基础。针刺治疗脑梗死的机制研究深入到分子水平,其中形态学研究发挥了重要作用。光学显微镜和电子显微镜是形态学研究的主要手段,从细胞、亚细胞水平了解脑梗死的病理,促进明确针刺干预的效应机制。

## 1 光学显微镜的研究方法及观察指标

光学显微镜操作相对简便、应用广泛、方法众多,在脑梗死机制的研究中说明微观结构的变化,有着不可替代的作用。

**1.1 普通苏木—伊红(HE)染色法** 主要观察神经细胞数、微血管数、炎性细胞数、阳性细胞数(出现核固缩、核破裂的神经元)、神经元死亡率(阳性细胞数所占比例)等指标,从以上指标的改变来探讨脑梗死的机制。

比较针刺人中、内关、曲池、足三里、地机、经渠<sup>[1]</sup>针刺组之间神经元死亡率与微血管数目,发现针刺地机、经渠组无论是血管数量还是神经元死亡率均显示出较好的改善作用,而这两个穴位是传统上不用于中风治疗的经穴,可能与腧穴的相对特异性有关。刘哲等<sup>[2]</sup>选取督脉腧穴(百会和大椎)进行电针刺激,与模型组相比较,发现针刺组的神经元损害程度较模型组明显减轻。阳明经穴一直用于中风病的治疗,这已经是比较公认的事实,选择针刺健侧和患侧阳明经穴(曲池、足三里)研究经脉的作用与经穴的特异性<sup>[3]</sup>,光镜下观察,无论针刺健侧还是患侧,均能减轻神经细胞的水肿,促进新生毛细血管和胶质细胞增生,说明阳明经穴对中风具有特异性。

对大脑中动脉阻塞(MCAO)大鼠选择督脉腧穴百会和头沟<sup>[4]</sup>,于造模后同时进行干预,分留针 10、30、60 min 组,最后在光镜 HE 染色下观察,留针 10 min 组模型组差别不明显。针刺 30、60 min 组能减轻大鼠 MCAO 神经元水肿程度,效果均优于

留针 10 min 组。

**1.2 免疫组化法** 用该方法了解钙结合蛋白(Calbindin-D28k)在 MCAO 阻塞一再灌注模型脑组织中的分布规律及电针的影响,结果发现电针组对免疫阳性细胞在梗死灶中心区和半影区 Calbindin-D28k 无明确的干预作用,但该研究的其他指标支持电针在脑缺血时对神经元具有保护效应,故可以说这种保护效应可能并非通过干预 Calbindin-D28k 的表达而实现<sup>[5]</sup>,提示对电针作用机制的研究可侧重到其他方面。

针刺手法的不同能观察到不同的形态学。对小胶质细胞的观察,疏密波电刺激水沟和百会<sup>[6]</sup>,可降低小胶质细胞数量,提示电针治疗通过减少小胶质细胞活化而发挥对神经元保护作用。相对电针,对凋亡细胞的观察,浅刺人中和内关抑制 Caspase-3 蛋白表达的作用更明显<sup>[7]</sup>,提示浅刺针法抑制 Caspase-3 启动的神经元凋亡,保护缺血半暗带,亦表明经络在体表有其物质基础,浅刺可取得有效的刺激作用,充分显示浅部组织的经络特异性。

王芳等<sup>[8]</sup>光镜下观察脑梗死大鼠尾壳核、海马 CA1 区缺血半影(IP)区神经元型一氧化氮合酶(nNOS)免疫阳性神经元的水平变化,研究电针足三里和外关,短期(电针 1 d)和长期干预(电针 14 d)的作用机制,发现电针对 nNOS 免疫阳性神经元调节具有双重性,早期干预既能减少急性期(造模成功后只电针 1 d)海马 IP 区 nNOS 表达而减轻一氧化氮(NO)的毒性作用(急性期 NO 升高与梗死面积扩大有关<sup>[9]</sup>);长期持续干预又能加速海马、尾壳核 IP 区 nNOS 表达的恢复,总之,电针早期治疗抑制了 NO 毒性作用,长期治疗促进缺血易损部位的 IP 区 nNOS 免疫阳性神经元的恢复。这为探讨针刺治疗脑梗死神经机制提供实验依据。还有从突触素(SYP)数量角度研究电针刺激足三里和内关的机制<sup>[10]</sup>,从造模后 6、24 h、3、7 d 4 个不同的干预时间点进行说明。结果发现梗死对照组梗死灶周围皮质阳性表达率于 6、24 h 表达减少,3 d 达最低值,7 d 时有增高现象,但不能回复正常水平,提示模型本身存在突触可塑性证据。

**1.3 原位杂交法与酶组化法** 这两种方法是从基因和蛋白层面探讨机制,在针刺干预脑梗死机制的研究中,主要是针对不同穴位的研究。如头穴针刺可明显增强皮质内 TGF2 $\beta$ 1mRNA 的表达<sup>[11]</sup>,电针刺激任脉督脉穴(人中穴和承浆穴)抑制缺血侧

\* 基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助(2006CB504500;2006CB504504);天津市科技发展计划项目(043609811);天津市高等学校科技发展基金项目(200301113)。

作者单位:300193 天津中医药大学(钱宇斐)

300193 天津市针灸研究所,天津市针灸学重点实验室(樊小农,王 舒)

300193 天津中医药大学第一附属医院(石学敏)

作者简介:钱宇斐(1982-),女,硕士,研究方向为针刺治疗老年病的临床及机制研究。

皮质和海马 NMDAR1mRNA 的过表达现象<sup>[12]</sup>。电针刺刺激体穴(内关和足三里)可促使 nestin mRNA 的表达,从而在神经再生中发挥作用<sup>[13]</sup>。针刺内关、水沟<sup>[14]</sup>可改善微血管内皮细胞的 ATP 酶代谢,保护血管内皮细胞钠钾跨膜转运功能,从而有效地减轻因缺血缺氧而导致的血管内皮细胞损伤,改善微血管的机能。

**1.4 原位末端标记(tunel)法** 李成永等<sup>[15]</sup>选取督脉膈穴百会和神庭,探讨推拿、针刺对急性脑梗死的治疗作用及作用机制,结果发现推拿、针刺均可减少缺血所致脑神经细胞的死亡及 DNA 双链断裂(TUNEL 阳性),减少梗死周边区皮质 P53 数量。而推拿和针刺两种干预无统计学差异<sup>[16]</sup>,电针任脉膈穴承浆同样可减少缺血侧梗死区凋亡神经元数目。也表明传统针刺、推拿、电针针刺都可通过抑制神经元凋亡而发挥治疗脑缺血性中风的作用。

## 2 电镜的研究方法及观察指标

目前常用的为透射电镜。根据所查相关文献,无论用什么样的针刺干预方法,归根到底均是研究针刺对脑梗死大鼠脑梗死边缘区神经元超微结构的变化<sup>[17-18]</sup>,从而探讨针刺治疗脑梗死的疗效和机制。结果均显示针刺干预后可使神经元水肿程度明显减轻,细胞器数量增多,线粒体稍有肿胀,核糖体、高尔基体等较丰富。说明针刺干预能使脑组织超微结构产生正向变化。

方燕南等<sup>[19]</sup>选取足三里、伏兔、三阴交、外关 4 个穴位,观察超微结构,发现针刺能增加星形胶质细胞增殖,增强神经元活性,激发脑微血管舒张,而且在第 1 周末就有这样的趋势,3 周末结果为最佳,说明针刺治疗可以促进瘫痪肢体功能恢复,且这种效果在治疗 3 周时表现为最突出。而何祥<sup>[20]</sup>则研究了不同方式针刺(同样穴位,分患侧针刺组和双侧针刺组)对脑梗死大鼠突触界面结构的影响。从突触间隙宽度、突触后致密质、活性区长度和界面曲率这几个方面进行统计比较,结果除界面曲率无明显差异外,其余各项针刺组均优于模型对照组,并且双侧针刺的效果更好。

## 3 结语

由于对形态学的研究缺少标准化的指标(都是在本研究中的自身比较),同时目前大多数研究都是仅局限于选取一种形态学研究方法加以说明甚至得出结论,影响了结论的说服力。所以,在诸多研究方法中考虑选择两个或以上形态学研究方法进行同步研究,如果能得出同向的结论,那就更能说明问题了。

### 参考文献:

[1] 王世军,崔可密. 针刺对 MCAO 大鼠海马 CA3 区微血管数目及神经死亡率的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2005, 29(1): 59-60.  
[2] 刘哲,赖新生. 电针对局灶性脑缺血大鼠神经功能缺损及病理形态的影响[J]. 中国针灸, 2005, 25(12): 879-884.  
[3] 王军,雷新强. 针刺不同侧肢体穴位对急性局灶性脑

缺血模型大鼠的影响[J]. 中国针灸, 1999, 19(12): 751-754.  
[4] 张天生,杨慎峭. 不同时程电针对大鼠 MCAO 再灌注区梗死面积及病理形态的影响[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(8): 1610-1612.  
[5] 张京钟,施静. 电针对大鼠局灶性脑缺血脑内 Calbindin-D28k 表达的影响[J]. 中国针灸, 2002, 22(1): 43-46.  
[6] 骆明军,程玲. 电针对缺血再灌注大鼠脑内小胶质细胞活化的影响[J]. 中国针灸, 2004, 24(5): 351-353.  
[7] 范郁山,罗燕. 浅刺水沟、内关穴对脑梗塞大鼠脑组织缺血半暗带 Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 针灸临床杂志, 2007, 23(2): 45-48.  
[8] 王芳,潘三强. 电针治疗对脑梗死大鼠 nNOS 免疫阳性神经元表达的影响[J]. 暨南大学学报, 2004, 25(4): 455-460.  
[9] 余跃,陈新加. NO 与疾病[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 166-177.  
[10] 陈加俊,石岩殊. 大鼠脑梗死后突触素的变化及针刺的影响[J]. 中国老年性杂志, 2004, 24(4): 333-335.  
[11] 裴海涛,郭壮丽. 头穴针刺对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑内 TGF $\beta$ 1mRNA 表达的调节[J]. 中国针灸, 2003, 23(12): 739-741.  
[12] 施静,刘晓春. 针刺穴位对脑缺血再灌注大鼠脑内 NMDAR1 mRNA 的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2000, 9(4): 371-375.  
[13] 陈加俊,方乐. 针刺对巢蛋白表达的影响[J]. 吉林医学, 2006, 27(1): 59-60.  
[14] 杜元灏. 针刺对急性脑梗死鼠微血管壁 ATP 酶的影响[J]. 中国针灸, 2000, 10(10): 621-622.  
[15] 李成永,吴嘉容. 推拿、针刺对急性脑缺血大鼠的脑保护作用[J]. 中医药信息, 2003, 20(6): 44-45.  
[16] 施静,刘晓春. 电针对脑缺血神经元凋亡影响的形态学研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1998, 7(3): 391-396.  
[17] 宿宝贵,潘三强. 电针刺刺激“曲池”和“足三里”对大鼠脑梗死影响的形态学观察[J]. 解剖学报, 2005, 36(4): 403-406.  
[18] 王家有,宿宝贵. 电针对脑梗塞大鼠缺血半影区微血管和神经细胞超微结构的影响[J]. 解剖学研究, 2005, 27(4): 274-278.  
[19] 方燕南,黄海威. 电刺激对大鼠脑梗塞康复中星形细胞与神经元的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(7): 531-533.  
[20] 何祥. 电刺激对脑梗死大鼠突触界面结构的影响[J]. 中国临床康复, 2004, 31(8): 6900-6902.

(收稿日期:2008-06-10)