

# 观察运用电针治疗对阿尔茨海默病模型大鼠行为学影响的实验研究

朱晓东 蒋希成 毛翔 张蕴

**【摘要】**目的 通过针刺的方法治疗阿尔茨海默病模型大鼠,观察对其学习和记忆的改善效果。方法 通过给大鼠灌服D-半乳糖制剂,造成大鼠阿尔茨海默病模型。分别设立正常对照组、模型对照组、药物对照组、普通针刺对照组、电针对照组。正常对照组、模型对照组只给予相同剂量的生理盐水灌服,药物对照组给予哈伯因混悬液灌服治疗,普通针刺组采用针刺“百会”、“神庭”、“肾俞”、“太溪”、“足三里”的方法进行治疗,电针组采用针刺“百会”、“神庭”、“肾俞”、“太溪”、“足三里”穴,并在些基础上联接电针进行治疗。以10d为1个疗程,共治疗3个疗程。通过大鼠跳台试验来检测大鼠的学习和记忆能力,并对大鼠海马CAI区的tau蛋白含量进行观察。结果 造模后,正常对照组大鼠的记忆逃避潜伏期时间明显少于模型对照组( $P<0.05$ ),治疗结束后药物对照组、普通针刺组、电针组的逃避潜伏期短于模型对照组( $P<0.05$ )。电针组的疗效优于普通针刺组和药物对照组( $P<0.05$ )。而治疗后,海马CAI区的P-tau蛋白表达治疗组都低于模型组,且电针组的效果要优于药物对照组和普通针刺组( $P<0.05$ )。

**【关键词】**针刺;阿尔茨海默病;记忆能力

doi:10.3969/j.issn.1673-5552.2011.23.0012

**【中图分类号】**R338.2;R749.1 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-5552(2011)23-0028-02

随着年龄的增大,老年人中痴呆的发生率逐渐增高,其中以阿尔茨海默病(又叫老年性痴呆)最为多见。这是一种中枢神经系统(大脑)神经细胞的脱髓鞘退变。临床上主要表现为记忆能力、判断能力、学习能力以及行动能力、生活自理能力普遍下降,给患者生活质量和家庭生活都带来了不利的影响。而目前尚未有特效药物和治疗方法问世,而中医的针灸治疗在临床上却收到了较为明显的改善效果。而其中的作用机理却未被揭示,本文从神经行为学和组织化学的层面作了观察,期望为针刺治疗该病的机理提供佐证。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要器材:采用由上海欣软信息科技有限公司生产的Morris水迷宫,为改良型水迷宫,其跳台可以定时出现。由日本株式会社生产的B50型天平,由美国Sigma生物技术有限公司提供的测试AD P-tau蛋白的原位原位杂交试剂盒,中国江苏华佗医疗设备厂出产的“长城牌”电针仪。

1.1.2 主要应用试剂:诱发AD模型所用D-半乳糖由北京贝瑞和康生物技术有限公司生产,药物对照组所用药物为河南竹林众生制药有限公司生产的哈伯因混悬液。

### 1.2 动物筛选

将所有购自黑龙江中医药大学动物实验中心的Wistar大鼠放入水迷宫中,进行适应性的游泳训练,记录其游泳距离,学习逃避潜伏期和学习错误次数,训练1周。然后将游泳能力障碍,学习记忆能力先天不足的大鼠予以淘汰,最后选取符合实验条件的50只大鼠进入最后实验程序。

### 1.3 模型制备方法

将准备造模的大鼠放入相同环境中进行适应性喂养1周,保持充足的光线、水分和食物。然后按每只大鼠200mg/kg体重的剂量向齐腹部注射D-半乳糖,1次/d注射,共持续6周时间。然后将所有造模大鼠编号,按随机原则分为模型对照组10只、药物

对照组10只、普通针刺治疗组10只、电针组10只。取正常大鼠10只作为正常对照组。

### 1.4 治疗方法

治疗开始后,正常对照组、模型对照组均给予每日捆绑30min,并灌服与药物对照组灌服药物相同量的生理盐水;药物对照组则每日灌服哈伯因混悬液2ml(17μg);普通针刺组则用“华佗牌”30号针灸针刺大鼠“百会”、“神庭”、“肾俞”、“太溪”、“后三里”穴,得气后行针2min,留针30min;电针组则在普通针刺组的基础上加用“长城牌”电针仪,采用疏密波刺激以上穴位,时间30min。“百会”穴在头顶正中线上中点头骨中央;“神庭”穴在头顶正中线上前端;“肾俞”穴在后正中线上,于第二腰椎棘突下旁开一寸;“太溪”穴在后肢踝部外侧后方凹陷处;“后三里”在大鼠后肢膝部外侧前方。

所有大鼠治疗时间为6周,治疗1次/d。

### 1.5 测试和取材观察方法

跳台试验。Morris水迷宫的游泳池中有一块橡胶平台,离水面有1cm。将大鼠放入水池中开始计时,当大鼠通过游泳寻找到水下的平台时记为学习逃避潜伏期。24h后再重复以上试验,第2次所需时间为记忆逃避潜伏期。以此作为大鼠的学习和记忆能力的反应指标。分别在造模前第1周、治疗前第7周、治疗后第13周3个时间点进行大鼠学习逃避潜伏期、记忆逃避潜伏期的测试。

水迷宫试验结束后,将大鼠进行麻醉,接着通过脑过量灌注致其死亡。将大鼠头骨切开取出大鼠组织,放入深度为4%的1/1000 DEPC溶液中保存,再使用多聚甲醛予以固定待检。将固定的脑组织由额极向枕极顺序平均分成五份,取出第2份脑组织放入24℃的水中用酒精进行梯度脱水处理。其顺序是70%乙醇→80%乙醇→95%乙醇→100%乙醇一度→100%乙醇二度→100%乙醇三度,然后染色切片并用二甲苯使组织透明。用AD P-tau蛋白原位杂交试剂盒进行tau蛋白过度磷酸化阳性检测。细胞中出现的棕黄色颗粒者即为过度磷酸化tau蛋白表达。最后对tau蛋白阳性表达数进行统计。

### 1.6 统计学处理

用电子计算机编辑图像和表格。所有数据用SPSS13.0软件包进行统计。计量资料的表示方式为平均数±标准差,用方差来

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(编号:11541380)

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学

作者简介:朱晓东(1966-),男,硕士学历,研究员。

Email: xiaodongzhu@126.com

分析组与组之间的均数对比,以 $P<0.05$ 为衡量标准。在对阳性细胞数的观察时每个载玻片取3个视野,计取其平均颗粒数。

## 2 结果

### 2.1 大鼠的一般情况

正常对照组的大鼠体力充沛,反应灵敏,动作迅捷,毛色光泽,饮食、排便情况正常。

造模组的大鼠均不同程度的出现了神疲乏力,反应迟笨,行动萎钝,体力差,毛色粗糙,饮食量差,排便便质少或稀溏。这种情况自造模后开始呈现,直至实验结束。

### 2.2 大鼠行为学指标观察

从表1可以看出,造模前各组大鼠的学习逃避潜伏时间大致相等,差异无统计学意义;治疗前,即造模6个月后,各造模组大鼠学习逃避潜伏时间明显延长,与正常组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ ),提示造模成功,大鼠学习能力有所下降,具备AD初步特征。治疗后,即第13周,各治疗组大鼠的学习逃避潜伏时间又比模型对照组显著缩短,差异有统计学意义,说明经过针灸或药物治疗,AD大鼠学习能力有了一定的恢复。而电针对照组的情况更为乐观,与其它治疗组相比,学习逃避潜伏时间缩短更为明显,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表1 各组大鼠学习逃避潜伏期的比较(s,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	造模前学习		治疗后学习
		逃避潜伏时间	逃避潜伏时间	逃避潜伏时间
正常对照组	10	200.34 ± 32.13	208.13 ± 24.16	198.23 ± 20.31
模型对照组	10	201.20 ± 10.22	228.19 ± 18.12*	252.14 ± 20.33
西药对照组	10	192.25 ± 22.23	238.23 ± 25.34*	221.41 ± 12.35 <sup>△</sup>
普通针刺组	10	195.21 ± 18.25	236.16 ± 32.31*	225.22 ± 16.28 <sup>△</sup>
电针对照组	10	198.23 ± 23.21	235.42 ± 21.25*	209.14 ± 16.23 <sup>△▲</sup>

和正常对照组造模后学习逃避潜伏时间相比较,\* $P<0.05$ ;和模型对照组治疗后学习逃避潜伏时间相比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;和西药对照组、普通针刺组治疗后学习潜伏时间相比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$

从表2可以看出,造模前,各组大鼠的记忆逃避潜伏时间大致相等,差异无统计学意义;治疗前,即造模6个月后,各造模组大鼠记忆逃避潜伏时间明显延长,与正常组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ ),提示造模成功,大鼠记忆能力有所下降,具备AD初步特征。治疗后,即第13周,各治疗组大鼠的记忆逃避潜伏时间又比模型对照组显著缩短,差异有统计学意义,说明经过针灸或药物治疗,AD大鼠记忆能力有了一定的恢复。而电针对照组的情况更为乐观,与其它治疗组相比,记忆逃避潜伏时间缩短更为明显,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表2 各组大鼠记忆逃避潜伏期的比较(s,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	造模前记忆		治疗后记忆
		逃避潜伏时间	逃避潜伏时间	逃避潜伏时间
正常对照组	10	156.34 ± 32.13	148.13 ± 24.16	143.23 ± 20.31
模型对照组	10	160.20 ± 10.22	188.19 ± 18.12*	222.14 ± 20.33
西药对照组	10	158.25 ± 22.23	188.23 ± 25.34*	193.41 ± 12.35 <sup>△</sup>
普通针刺组	10	154.21 ± 18.25	198.16 ± 32.31*	199.22 ± 16.28 <sup>△</sup>
电针对照组	10	162.23 ± 23.21	195.42 ± 21.25*	178.14 ± 16.23 <sup>△▲</sup>

和正常对照组造模后记忆逃避潜伏时间相比较,\* $P<0.05$ ;和模型对照组治疗后记忆逃避潜伏时间相比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;和西药对照组、普通针刺组治疗后记忆潜伏时间相比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$

### 2.3 大鼠生物化学观察指标

从表3可以看出,造模6周后,造模组的大鼠海马区脑组织中的tau蛋白阳性细胞表达数比造模前有了明显的增长,说明大鼠的大脑细胞正在发生退行性的改变。而治疗后,即第13周时,治

疗组的tau蛋白阳性细胞表达数有了明显的抑制,相对模型对照组来说没有进一步增长,并呈现出减少的趋势,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。而三组治疗组中,尤以电针的效果最好,和其它两组治疗组相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表3 各组大鼠脑组织中海马区的tau蛋白表达情况比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Tau蛋白阳性细胞表达数
正常对照组	10	10.24 ± 2.32
模型对照组	10	50.21 ± 12.14*
西药对照组	10	40.28 ± 8.31 <sup>△</sup>
普通针刺组	10	43.25 ± 5.12 <sup>△</sup>
电针对照组	10	35.24 ± 9.24 <sup>△▲</sup>

和正常对照组阳性细胞表达数比较,\* $P<0.05$ ;和模型对照组阳性细胞表达数比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;和西药对照组、普通针刺组治疗后阳性细胞表达数相比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$

## 3 讨论

许多研究都充分地证实,人对空间结构的学习能力和记忆力更多的建立在大脑组织中的海马神经元,而阿尔茨海默症则是对该区的脑组织造成持续性的神经细胞的退行性改变而使空间学习和记忆能力下降。学习和记忆能力作为痴呆患者智力指标的重要考查要点,具有金指标的指示地位,所以在实验中我们把大鼠的学习、记忆逃避潜伏期作为观察指标。以上结果清楚表明,经过腹腔灌服D-半乳糖后,AD模型大鼠的空间学习和记忆能力已经是明显地退化了,说明D-半乳糖的吸收可以造成大鼠大脑细胞退行性改变,tau蛋白等负面物质的产生,使大脑功能退化。然而通过针刺后,大鼠在水迷宫的表现令人欣慰,虽然在治疗的6周期间,大鼠的脑细胞仍然处于退变状态,但潜伏时间并没有下降得很快,甚至电针组还有所提升。实验证实,针刺治疗能够和西药一样起到改善脑部功能的作用。经过治疗,大鼠在学习和记忆能力都较治疗前有回升。当然,由于AD不仅是功能,也有一部分器质上的改变,所以针刺只能在一定范围内起到治疗恢复的作用,而不能使AD大鼠的记忆功能完全恢复;但是实验也显示,针刺配合电针相对于普通针刺更有效果,说明如果对针刺手法和方式进行改进,能够进一步扩大疗效,使治疗后效果无限接近于正常。从生物化学层面分析,tau蛋白过量产生,对脑功能是一种负面影响,而西药组和针刺组都不同程度的达到抑制该蛋白产生的目的。而电针更是有效地降低了tau蛋白的表达率,一则说明了tau的确对大鼠记忆系统造成紊乱,另一方面也提示如果能降低tau蛋白的表达,那么就能一定程度地改善大脑功能。

## 参考文献

- [1]Jarvik GP, WijSmán EM, Kukull WA, *et al.* Interactions of apolipoprotein E genotype, total cholesterol level, age, and sex in prediction of Alzheimer's disease: a case-control study[J]. *Neurology*,1995,45:1092-1096.
- [2]孙景波,曹晓菊.老年性痴呆病中医病机探讨[J].*陕西中医*,2004,12(2):71-72.
- [3]韩景献,李平,刘庆忠,等.针刺对快速老化痴呆模型小白鼠行为学影响的实验研究[J].*中医杂志*,2003,39(4):239.
- [4]陈焕松.化痰醒脑汤治疗老年性痴呆58例[J].*中华实用中西医结合杂志*,2003,(6):332-335.
- [5]盛树力.老年性痴呆及相关疾病[M].北京:科学技术文献出版社,2006:45.

(收稿日期:2011-10-20)

(本文编辑:夏凯艳)