

·针灸推拿·

本文引用:魏歆然,魏高文,郑雪娜,吴雪芬,郭鑫,岳增辉.循经选穴针刺对失眠大鼠褪黑素的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(7):787-790.

循经选穴针刺对失眠大鼠褪黑素的影响

魏歆然¹,魏高文²,郑雪娜²,吴雪芬²,郭鑫²,岳增辉^{2*}

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

[摘要] **目的** 观察固定局部取穴(百会)分别配伍循经(本经、他经、非经)选穴针刺治疗对失眠大鼠生物褪黑素(MT)含量的影响,探索循经选穴对腧穴配伍效应的影响。**方法** 将60只SD雄性大鼠随机分为5组:空白组、模型组、本经穴组(百会+神门组)、他经穴组(百会+三阴交组)、非经非穴组(百会+非经非穴组),每组12只,用腹腔注射对氯苯丙氨酸法(PCPA,500 mg/kg)2 d建立失眠模型,针刺治疗7 d,用ELISA法检测下丘脑腹外侧视前区(VLPO)、视交叉上核(SCN)与血浆中的MT含量。**结果** 与空白组比较,模型组MT含量均降低($P<0.05$);与模型组比较,本经穴组、他经穴组MT含量升高($P<0.05$);治疗组之间比较,本经穴组高于非经非穴组($P<0.05$)。**结论** 固定局部百会穴配伍本经选穴(神门)针刺治疗可以提高失眠大鼠的褪黑素含量,从而提高腧穴配伍效应。

[关键词] 循经选穴;针刺;失眠;褪黑素

[中图分类号] R256.23

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.07.016

Effect of Acupuncture with Acupoint Selection Along the Meridians on the Level of Melatonin in Rats with Insomnia

WEI Xinran¹, WEI Gaowen², ZHENG Xuena², WU Xuefen², GUO Xin², YUE Zenghui^{2*}

(1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of acupuncture at Baihui acupoint combined with acupoint selection along the meridians (the same meridian, the related meridians, and non-meridians) on the level of melatonin (MT) in rats with insomnia and the effect of acupoint selection along the meridians on acupoint compatibility. **Methods** A total of 60 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into blank group, model group, same meridian group (Baihui and Shenmen), related meridian group (Baihui and Sanyinjiao), and non-meridian/acupoint group (Baihui and non-meridians/acupoints), with 12 rats in each group. A model of insomnia was established by intraperitoneal injection of para-chlorophenylalanine (500 mg/kg) for 2 days, and acupuncture was performed for 7 days. ELISA was used to measure the content of MT in the ventral lateral preoptic area, the suprachiasmatic nucleus, and plasma. **Results** Compared with the blank group, the model group had a significant reduction in the content of MT ($P<0.05$); compared with the model group, the same meridian group and the related meridian group had a significant increase in the content of MT ($P<0.05$); the same meridian group had a

[收稿日期] 2018-02-17

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2014CB543102)。

[作者简介] 魏歆然,女,医学硕士,医师,研究方向:针灸治病的临床与实验研究。

[通讯作者] *岳增辉,男,教授,博士研究生导师,E-mail:624755064@qq.com。

significantly higher level of MT than the non-meridian/acupoint group ($P<0.05$). **Conclusion** Acupuncture at Baihui acupoint with acupoint selection along the same meridian (Shenmen) can increase the content of MT in rats with insomnia and improve acupoint compatibility.

[**Keywords**] acupoint selection along the meridians; acupuncture; insomnia; melatonin

失眠(Insomnia),中医称之为“不寐”,是由于情志、饮食内伤、禀赋不足、心虚胆怯、病后及年迈等病因,引起心神失养或心神不安,从而导致经常不能获得正常睡眠为特征的一类病证。主要表现为睡眠时间、深度的不足以及不能消除疲劳、恢复体力与精力,轻者入睡困难,或寐而不酣,时寐时醒,或醒后不能再寐,重则彻夜不寐^[1]。针灸治疗失眠症有悠久的历史,具有见效快及改善晨醒后伴随症状等非药物疗法的优点^[2]。中医认为失眠病位在心,主要病机为脏腑功能紊乱,气血亏虚,阴阳失调,致神不安^[3]。本实验通过观察大鼠的下丘脑与视交叉上核以及血浆中的褪黑素(MT)含量的影响,探讨固定部位取穴(百会穴)配伍循经选穴(本经穴、他经穴、非经穴)对腧穴配伍效应的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 SPF级SD雄性大鼠60只,体质量220~250 g。由湖南中医药大学实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK(湘)2013-0004。

1.1.2 主要药物与仪器 Para-chlorophenylalanine(PCPA)由美国Sigma公司生产,批号为SHBC0245V;碳酸氢钠片由成都市科龙化工试剂厂生产,批号为2014120601;戊巴比妥钠由Merck公司生产,批号为908M034;阿拉伯胶由天津市光复精细化工研究所生产,批号为204-2000;(动物型超纯水机由摩尔公司生产;离心机由湘仪公司生产,型号为TD5A-WS;华佗牌一次性无菌针灸针0.25 mm×25 mm由苏州医疗用品厂生产);trizol试剂盒由Invitrogen公司生产;逆转录试剂盒由Promega公司生产;褪黑素ELISA试剂盒由上海晶天生物公司生产。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 60只SD雄性大鼠随机分为5组:空白组,模型组,治疗组;固定部位取穴配伍本

经穴组(百会+神门组)、固定部位取穴配伍他经穴组(百会+三阴交组)、固定部位取穴配伍非经非穴组(百会+非经非穴组),每组12只。实验期间,模型组4只大鼠由于撕咬致死,百会+三阴交组1只大鼠尾部受伤感染死亡,百会+非经非穴组2只大鼠由于打斗死亡。

1.2.2 失眠大鼠模型的建立 模型组与治疗组腹腔注射PCPA混悬液,PCPA临用前按大鼠体质量500 mg/kg配成1 mL溶液进行腹腔注射,用弱碱性生理盐水配制成混悬液备用,每天1次,连续2 d,空白组腹腔注射等体积弱碱性生理盐水^[4]。

1.2.3 模型成功的判定 第二次注射氯苯丙氨酸(PCPA)24 h后,观察模型组大鼠白天夜晚活跃度与行为学表现,结合采用经典的戊巴比妥钠翻正实验进行失眠模型评价^[5],若模型组与空白组对比,差异具有统计学意义($P<0.05$),提示造模成功。

1.3 治疗方法

选穴参照李忠仁主编的《实验针灸学》^[6]。百会:顶骨正中;神门:前肢内侧腕部横纹尺骨边缘,左右两侧各一;三阴交:后肢内踝尖直上10 mm,左右两侧各一;非经非穴点^[7]:肘内侧,肘尖与腋窝连线中点。常规进针法后留针30 min,每10分钟行针1次,只捻转不提插,行平补平泻手法,连续治疗7 d。

1.4 检测指标与方法

所有大鼠于末次治疗后,禁食不禁水12 h,水合氯醛麻醉,切开腹腔,用采血针进行腹主动脉采血后,离心,置于-80℃冰箱里保存待测;断头处死后立即剪开颅骨顶骨、硬脑膜,在冰台上取出下丘脑及相连的视交叉上核组织,置于-80℃冰箱里保存待测。ELISA检测方法按照说明书执行,最终测定以空白管调零,450 nm波长依序测量各孔的吸光度(OD值)。测定应在加终止液后10 min以内进行。根据标准品的浓度及对应的OD值计算出标准曲线的直线回归方程,再根据样品的OD值在回归方程

上计算出对应的样品浓度。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析,假设检验时以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料满足正态性时以 $\bar{x} \pm s$ 来描述,组间对比时首先进行正态性、方差齐性检验,满足正态性、方差齐性时采用单因素方差分析,若 $P \leq 0.05$ 时采用最小显著差异法(LSD)进行多重比较^[6]。

2 结果与分析

2.1 戊巴比妥钠睡眠实验结果

所有大鼠首次注射 PCPA 36 h 后,观察模型组大鼠昼夜节律消失,日间与夜晚皆活动不断,结合采用经典的戊巴比妥钠翻正实验进行失眠模型评价,模型组与空白组对比,差异具有统计学意义($P < 0.05$),提示造模成功,见表1。

表1 造模前后戊巴比妥钠睡眠实验的比较 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	睡眠潜伏期/s		睡眠时间/min	
	造模前	造模后	造模前	造模后
空白组	223.50±22.56	240.33±29.14	49.58±5.43	45.75±1.81
模型组	233.75±22.67	362.25±36.49 [#]	49.33±5.36	31.58±1.37 [#]

注:潜伏期指标自身前后配对的均数比较协方差分析;协变量 $P=0.837$,组别 $F=24.59, P=0.000$;睡眠时间指标自身前后配对的均数比较协方差分析;协变量 $P=0.175$,组别 $F=35.46, P=0.000$;与造模前比较,* $P < 0.05$;与空白组比较,# $P < 0.05$ 。

2.2 下丘脑腹外侧视前区、视交叉上核的 MT 含量

下丘脑腹外侧视前区 MT 含量比较:与空白组比较,模型组降低($P < 0.05$);与模型组比较,百会+神门组、百会+三阴交组、百会+非经非穴组含量升高($P < 0.05$);与百会+非经非穴组比较,百会+神门组升高($P < 0.05$)。视交叉上核 MT 含量比较:与空白组比较,模型组降低($P < 0.05$);与模型组比较,百会+神门组、百会+三阴交组含量升高($P < 0.05$);与百会+非经非穴组比较,百会+神门组升高($P < 0.05$)。见表2。

2.3 血浆的 MT 含量

血浆 MT 含量比较:与空白组相比,模型组降低($P < 0.05$);与模型组比较,百会+神门组、百会+三阴交组、百会+非经非穴组均升高($P < 0.05$);与百会+三阴交组比较,百会+神门组较多($P < 0.05$),与百会+非经非穴组比较,百会+神门组升高($P < 0.05$)。见表3。

表2 下丘脑腹外侧视前区(VLPO)与视交叉上核(SCN)的 MT 浓度比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	n	VLPO 区	SCN
空白组	12	291.35±40.69	332.21±42.62
模型组	8	90.35±26.25 [#]	134.78±35.22 [#]
百会+三阴交组	11	250.86±42.80 ^{#△}	288.18±40.99 ^{#△}
百会+非经非穴组	10	136.25±26.09 ^{#△}	142.17±31.82 [#]
百会+神门组	12	258.53±39.93 ^{△▲}	299.25±19.81 ^{△▲}

注:与空白组比较,# $P < 0.05$;与模型组比较,△ $P < 0.05$;与百会+非经非穴组比较,▲ $P < 0.05$ 。

表3 血浆的 MT 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	n	血浆 MT 浓度
空白组	12	32.58±1.64
模型组	8	17.33±1.87 [#]
百会+三阴交组	11	21.15±1.61 ^{#△}
百会+非经非穴组	10	19.08±0.81 ^{#△}
百会+神门组	12	27.91±2.45 ^{#△●▲}

注:与空白组比较,# $P < 0.05$;与模型组比较,△ $P < 0.05$;与百会+三阴交组比较,● $P < 0.05$;与百会+非经非穴组比较,▲ $P < 0.05$ 。

3 讨论

现代医学认为视交叉上核能调控内源性昼夜节律系统,与下丘脑共同参与睡眠-觉醒节律调节,若这些结构或功能发生病变,就会导致失眠,其机制即为上述生理功能的抑制作用减弱和顺化作用增强^[8]。

褪黑素的主要作用是调节睡眠,视交叉上核是褪黑素受体最为集中的区域之一,褪黑素释放抑制视交叉上核的活动,从而促进睡眠的产生^[9]。近年来的研究表明^[10-13],失眠与中枢褪黑素能功能下降密切相关,包括褪黑素分泌减少和褪黑素受体表达下调。

针灸具有调和阴阳、调节脏腑的作用,多项研究表明针灸对异常的生物节律有良好的调节作用^[14]。选穴是影响腧穴配伍效应的关键因素,其基本方式为按部选穴和循经选穴^[15]。循经选穴是指根据经脉循行所过部位的病变、经脉所属脏腑的病变选择相应经脉上的腧穴进行治疗的方法,是“经脉所过,主治所及”的具体体现。在病机上,中医学认为失眠与脑密切相关,在脑神衰弱基础上,五脏神乱,上逆犯脑,脑神失调,从而导致失眠,故提出脑神衰弱是失眠的病理基础,五脏神紊乱是失眠的病因,脑神失调是失眠的主要病机^[16]。在五脏中,失眠病位主要在心^[17],睡眠为心神所主,神安则寐,神不安则不寐,因此失

眠的本经取心经。内经认为失眠与脾有关,《景岳全书·不寐》也指出“劳倦思虑太过,必致血液耗亡,神魂无主,所以不眠”,意即思虑太过,导致气机运行失调,影响脾胃的升降功能,导致气血生化乏源,心神不安而致失眠。故在脑部、本经(心经)、他经(脾经)选穴上,通过文献筛选^[18-20],本实验对固定局部取穴(百会)配伍本经穴(神门)、他经穴(三阴交)、非经非穴进行对比研究,以探讨循经选穴的特异性。通过ELISA结果显示,下丘脑与视交叉上核中的MT含量变化趋势一致,并且血浆中的MT含量百会+神门组高于模型组、百会+三阴交组、百会+非经非穴组($P<0.05$)而低于空白组($P<0.05$),表明固定局部取穴配伍按本经选穴针刺治疗可以提高失眠大鼠褪黑素含量,循经选穴可以提高腧穴配伍效应。

参考文献:

- [1] AE Hammes, DL Wahnerroedler, BA Bauer. Treating the root cause-acupuncture for the treatment of migraine, menopausal vasomotor symptoms, and chronic insomnia[J]. *Explore*, 2014,4(4):256-259.
- [2] C. L. GUSTAFSON, C. L. Patch, Emerging models for the molecular basis of mammalian circadian timing[J]. *Biochemistry*, 2015, 54(2):134-149.
- [3] 王 艳,岳增辉,李 萍. 针灸治疗失眠症用穴规律探究[J]. *上海针灸杂志*, 2016,35(6):642-645.
- [4] 魏歆然. 循经选穴针刺对失眠大鼠下丘脑 Clock mRNA 和 Bmal1 mRNA 影响的研究[D].长沙:湖南中医药大学,2017.
- [5] BRENNAN L M, CREASIA D A. The effects of methapyrilene hydrochloride on hepatocarcinogenicity and pentobarbital-induced sleeping time in rats and mice.[J]. *Toxicology & Applied Pharmacology*, 1982, 66(2):252-258.
- [6] 李忠仁.实验针灸学(新世纪第二版)[M].北京:中国中医药出版社,2007:255-256.
- [7] MELCHART D, STRENG A, HOPPE A, et al. Acupuncture in patients with tension-type headach-e: randomised controlled trial[J]. *BMJ*, 2005,331(7513):376-382.
- [8] 魏高文.卫生统计学[M].北京:中国中医药出版社,2014:103,117.
- [9] J.A. MOHAWK, C.B. GREEN, J.S. TAKAHASHI. Central and peripheral circadian clocks in mammals[J]. *Annu. Rev. Neurosci.* 2012, 35(1):445-462.
- [10] 童毅爱,陈丽琰,谷华运,等.大鼠视交叉上核的组织结构[J].*上海医科大学学报*,1987,14(1):39-41.
- [11] 李少源,焦 玥,徐伟伟,等.从褪黑素与阴阳的关系探讨失眠症的治疗[J].*世界科学技术*,2016,18(2):270-272.
- [12] DENOYER M, SALLANON M, KITAHAMA K, et al. Reversibility of para-chlorophenylalanine-induced insomnia by intrahypothalamic microinjection of L-5-hydroxytryptophan[J]. *Neuroscience*, 1989,28(1):83-94.
- [13] 涂 星,郜红利,卢 映,等.荧光高效液相色谱法测定三种失眠模型大鼠脑组织氨基酸类神经递质的含量[J].*中国实验动物学报*,2013,21(5):74-77.
- [14] 刘 臻,赵 娜,谢 晨,等.电针对失眠大鼠睡眠-觉醒昼夜节律及褪黑素节律的影响[J].*中华中医药杂志*,2016,31(9):3695-3699.
- [15] 石云舟,单纯筱,王富春.影响腧穴配伍的关键因素——选穴[J].*中国针灸*,2015,35(10):1025-1027.
- [16] 张颖颖.从脑与五脏的关系浅论失眠病机[J].*山东中医杂志*,2009,28(7):445-446.
- [17] 张珊珊,杜震生,朱晓平,等.针灸治疗失眠症古今理论分析[J].*新中医*,2011,43(9):91-92.
- [18] 陈月红.针灸治疗失眠临床选穴规律探讨[D].广州:广州中医药大学,2012.
- [19] 魏歆然,岳增辉,魏高文,等.三才配穴法的临床研究进展[J].*针灸临床*,2015,32(8):78-80.
- [20] 符惠果.电针对慢性疲劳大鼠体温、褪黑素昼夜节律的调整作用[D].四川:成都中医药大学,2010.

(本文编辑 匡静之)